

Федеральное агентство по образованию
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

Национальный проект «Образование»
Инновационная образовательная программа ННГУ. Образовательно-научный центр
«Информационно-телекоммуникационные системы: физические основы и
математическое обеспечение»

И.В. Мухина

Физиология и биофизика возбудимых систем

*Учебно-методические материалы по программе повышения
квалификации «Хранение и обработка информации в биологических
системах»*

Нижний Новгород

2007

Учебно-методические материалы подготовлены в рамках инновационной образовательной программы ННГУ: Образовательно-научный центр «Информационно-телекоммуникационные системы: физические основы и математическое обеспечение»

Мухина И.В. Физиология и биофизика возбудимых систем. Учебно-методический материал по программе повышения квалификации «Хранение и обработка информации в биологических системах». Нижний Новгород, 2007, 105 с.

Учебно-методические материалы включают разделы, посвященные обобщению и систематизации накопленных знаний по разделу «Физиология и биофизика возбудимых систем», а также разделы, посвященные краткому описанию новых технологий изучения биоэлектрической активности возбудимых тканей как способа передачи информации в биологических системах. В физиологии возбудимых тканей произошли наибольшие изменения за последние годы. Это объясняется, прежде всего, достижениями клеточной и молекулярной биологии, а также расширившимися возможностями экспериментальной электрофизиологии. В результате трудоемких исследований стали понятными многие закономерности функционирования отдельных структур на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Это позволило не только уточнить представления о механизмах работы отдельных клеток, но и объяснить ряд процессов, которые были известны ранее.

Пособие иллюстрировано схемами и рисунками, помогающими прочтению и пониманию материала. Предназначено для преподавателей и аспирантов физических и биологических специальностей университета.

© Мухина И.В.

ГЛАВА 1. РАЗДРАЖИМОСТЬ И ВОЗБУДИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

1. 1. Раздражимые системы

Организм животных и человека обладает высочайшей способностью приспосабливаться к постоянно меняющимся условиям внешней и внутренней среды. В основе приспособительных реакций организма лежит раздражимость, как универсальное свойство живой ткани. Раздражимость – способность живой материи активно отвечать на воздействие внешней и внутренней среды изменением обменных процессов. Например, ожог покровных тканей после воздействия горячего утюга, ускорение клеточного деления при действии факторов роста, стимуляция апоптоза и т.п. Раздражителем в том случае является любое изменение внешней или внутренней среды организма, воспринимаемое клетками и вызывающее ответную реакцию. Раздражимость характерна для всех биосистем (например, животные, растительные клетки) и является эволюционно наиболее древней формой реагирования недифференцированных тканей. В процессе эволюции произошла постепенная дифференцировка тканей. Раздражимость в некоторых специализированных тканях, таких как нервная, мышечная и секреторная, достигла наивысшего выражения и получила название возбудимость. Таким образом, возбудимость – *частное проявление* раздражимости. Ткани, обладающие этим свойством, называются *возбудимыми*. Возбудимость - способность специализированных тканей отвечать на раздражение быстрой деполяризацией мембраны, т.е. генерацией потенциала действия (ПД). Возбудимостью обладают нервная, мышечная и железистая ткани. В основе возбуждения лежат сложные физико-химические процессы. Начальный пусковой момент возбуждения – быстрое изменение ионной проницаемости и электрических потенциалов мембраны. Таким образом, возбуждение – процесс, характеризующийся изменением обмена клетки в ответ на раздражение в виде временной деполяризации мембраны, т.е. генерации ПД. Любое возбуждение имеет ряд признаков. Неспецифические признаки имеются во всех тканях. Это изменение проницаемости клеточной мембраны, изменение движения ионов через клеточную мембрану, изменение заряда клеточной мембраны, изменение уровня обменных процессов, изменение потребления кислорода и выделения углекислого газа, изменение температуры ткани и т. д. Легче всего регистрируется изменение заряда клеточной мембраны в виде быстрого колебания мембранного потенциала или ПД. Таким образом, можно выделить следующие компоненты

возбуждения: химический; физико-химический (ионная проницаемость); физический (электрические, термические, механические проявления); физиологический (изменение функциональных свойств, например, клетка может утратить возбудимость во время возбуждения). Следует отметить, что электрическое проявление возбуждения – наиболее значимый компонент возбуждения. Специфические признаки возбуждения характерны для определенного вида ткани. Так ответной реакцией нервной клетки является генерация и проведение нервного импульса, мышечной клетки – сокращение, секреторной – синтез и выделение биологически активного вещества.

1.2. История открытия «животного электричества»

Первые данные о существовании биоэлектрических явлений («животное электричество») были получены в середине 18 века при изучении природы электрического разряда, наносимого некоторыми рыбами при защите (Адамсон, 1751). В конце 18 века Луиджи (Алоизий) Гальвани (итальянский естествоиспытатель) изучал влияние атмосферного электричества на живые ткани (рис. 1).

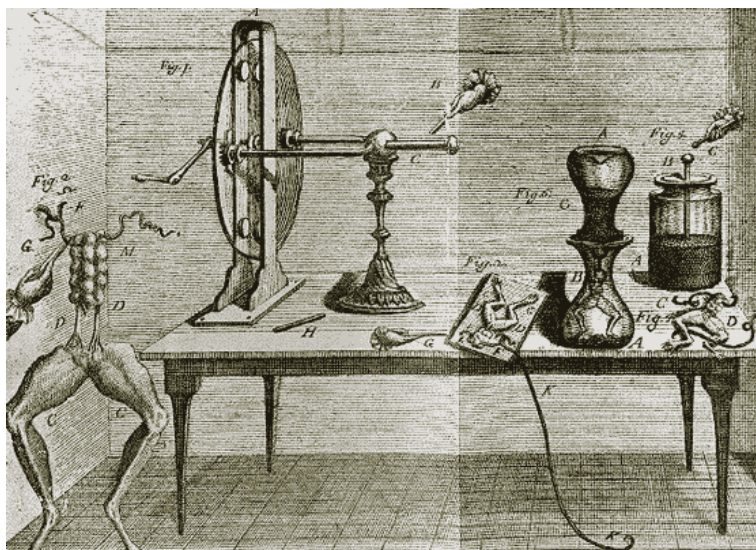


Рис. 1. Лягушка, препарированная для опытов с электрофорной машиной и лейденской банкой (рисунок из трактата Гальвани).

В ряде экспериментов препараты задних лап лягушки на медных крючках были подвешены на железном заборе. Гальвани заметил, что еще до грозы при покачивании от ветра мышцы лапок сокращались при касании железных перекладин. На основании этих наблюдений Гальвани был сделан ошибочный вывод: в живой системе существует «животное электричество», которое возникает в спинном мозге и передается по металлическим проводникам к мышцам, вызывая их сокращение. В настоящее время это

случайное наблюдение итальянского ученого называется *первым опытом Гальвани*. Алессандро Вольта, друг Гальвани и ученый – физик, опроверг такое объяснение и доказал, что электрический ток возникает в месте контакта разнородных металлов (Cu и Fe, или медь-цинк, медь-свинец, серебро-цинк) с электролитом, которым являются тканевые жидкости (раствор солей). В доказательство справедливости своей точки зрения Гальвани предложил через два года другой опыт без использования металлов. Гальвани набрасывал на препарированную икроножную мышцу лягушки дистальный отрезок седалищного нерва, который иннервирует эту мышцу, в отсутствие каких либо металлов и проводников, чем действительно доказал существование «животного электричества». Данный эксперимент называется *вторым опытом Гальвани*.

Многолетний научный спор (1791-97) между естествоиспытателем Л. Гальвани и физиком А. Вольта о природе «животного электричества» завершился двумя крупными открытиями: были получены факты, доказывающие существование биоэлектрических явлений в живых тканях и открыт новый принцип получения электрического тока с помощью разнородных металлов - создан гальванический элемент или вольтов столб (рис. 2).



Рис. 2. А - Вольта демонстрирует перед Наполеоном свое изобретение - Вольтов столб. Художник Дж. Бертини. 1801 год; Б - Вольтов столб, состоящий из металлических дисков, разделенных кружками мокрой ткани.

Правильная оценка наблюдений Гальвани стала возможной лишь после применения достаточно чувствительных электроизмерительных приборов - гальванометров. Поврежденные и неповрежденные участки мышцы при снятии кожи лягушки оказались заряжены неодинаково. При набрасывании нерва (как проводника) между поврежденным и неповрежденным участками мышцы возникает ток, который раздражает нерв и через

нервно-мышечный синапс вызывает возбуждение мышцы и ее сокращение. Ток между поврежденным и неповрежденным участком был назван током покоя, или током повреждения. Позднее К. Маттеуччи с помощью гальванометра впервые определил, что поврежденный участок мембраны – заряжен «-», а неповрежденный – «+».

Окончательное доказательство существования электрических явлений в живых тканях было получено в опыте «вторичного тетануса» К. Маттеуччи (1811-1868), в котором один нервно-мышечный препарат возбуждался током, а биотоки сокращающейся мышцы (токи действия) раздражали нерв второго нервно-мышечного препарата, вызывая сокращение второй мышцы (рис. 3).

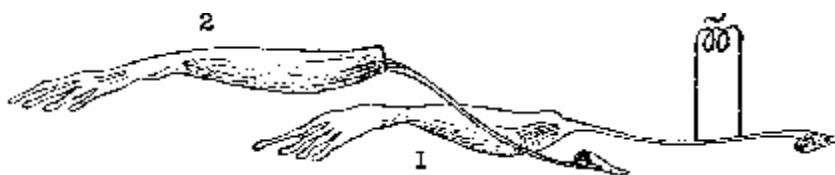


Рис. 3. Схема опыта, демонстрирующего вторичный тетанус Маттеуччи.

Итак, к середине девятнадцатого века было определено, что биотоки возникают между поврежденным и неповрежденным участком (токи покоя) или между возбужденным и невозбужденным участком мембраны (токи действия). Систематическое изучение биопотенциалов было начато немецким физиологом Э. Дюбуа-Реймоном (1848). Будучи студентом второго курса медицинской академии (1841) под руководством И. Мюллера он сконструировал наиболее чувствительный гальванометр. Вместо циркуля с медным и цинковым концами стал использовать для электрической стимуляции живых тканей модифицированный им индукционный аппарат Румкорфа, который с тех пор называется катушкой Дюбуа-Реймона. Позднее, Дюбуа-Реймон создал в Берлинском университете физиологический институт, через который прошли почти все физиологи и врачи, интересовавшиеся электрофизиологией. Институт Дюбуа-Реймона стал местом рождения нового раздела физиологической науки – нервно-мышечной физиологии, которая потом стала называться физиологией возбудимых тканей и явилась зародышем важнейшего направления биофизики. Именно Дюбуа-Реймон ввел понятия «возбуждение» и «возбудимые ткани». Но ему не удалось (в силу большой инерционности гальванометра) зарегистрировать быстрые, длящиеся тысячные доли секунды колебания биопотенциалов при проведении импульсов вдоль нервов и мышц. В 1886 немецкий физиолог Ю. Бернштейн проанализировал форму потенциала действия; французский учёный Э. Ж. Марей (1875) применил для записи колебаний потенциалов бьющегося

сердца капиллярный электрометр; русский физиолог Н. Е. Введенский использовал (1883) для прослушивания ритмических разрядов импульсов в нерве и мышце телефон, а голландский физиолог В. Эйнтховен (1903) ввёл в эксперимент и клиническую практику струнный гальванометр - высокочувствительный и малоинерционный прибор для регистрации электрических токов в тканях. Значительный вклад в изучение биопотенциалов внесли русские физиологи: В. В. Правдич-Неминский (1913-21) впервые зарегистрировал электроэнцефалограмму, А. Ф. Самойлов (1929) исследовал природу нервно-мышечной передачи возбуждения, а Д. С. Воронцов (1932) открыл следовые колебания биопотенциалов, сопровождающие потенциал действия в нервных волокнах. Дальнейший прогресс в изучении биопотенциалов был тесно связан с успехами электроники, позволившими применить в физиологическом эксперименте электронные усилители и осциллографы (работы американских физиологов Г. Бишопа, Дж. Эрлангера и Г. Гассера в 30-40-х гг. 20в.).

Качественно новый этап в изучении электрических явлений в живых тканях наступил в середине 20 века в связи с разработкой точных методов регистрации электрических потенциалов. Важное значение для выяснения механизмов генерации биопотенциалов имело использование гигантских нервных волокон головоногих моллюсков, главным образом кальмара. Диаметр этих волокон в 50 - 100 раз больше, чем у позвоночных животных, он достигает 0,5-1 мм, что позволяет вводить внутрь волокна микроэлектроды, инъецировать в протоплазму различные вещества и т.п. Изучение ионной проницаемости мембраны гигантских нервных волокон позволило английским физиологам А. Ходжкину, Э. Хаксли и Б. Катцу (1947-52) сформулировать современную мембранно-ионную теорию биоэлектrogenеза (Нобелевская премия, 1963).

Оказалось, что ток покоя, возникающий между поврежденным и неповрежденным участком мембраны, обусловлен *трансмембранной* разностью потенциалов между наружной и внешней мембраной, названной в последствие *мембранным потенциалом покоя* (МПП). Мембранный потенциал покоя можно определить как

$$E_m = E_i - E_o,$$

где E_m – мембранный потенциал,

E_i – потенциал на внутренней стороне мембраны,

E_o - потенциал на наружной стороне мембраны.

Поскольку потенциал снаружи можно принять за 0, то мембранный потенциал покоя равен E_i . Он отрицателен, так как внутренняя мембрана заряжена отрицательно по сравнению с наружной. Суть мембранно-ионной теории состоит в том, что мембранный

потенциал покоя возникает благодаря направленному движению заряженных частиц через мембрану клетки из внутриклеточной среды во внеклеточную, которыми в основном являются ионы K^+ . В возбудимых клетках потенциал покоя участвует в поддержании состояния готовности молекулярной структуры мембраны к возбуждению в ответ на действие раздражителя. Все воздействия на клетку, вызывающие длительное стойкое снижение потенциала покоя (например, нарушение обмена веществ, повышение внеклеточного содержания ионов K^+ , действие сильного электрического тока и т.д.), ведут к изменению возбудимости клетки или к полной утрате ею способности к генерации потенциалов действия. У живых возбудимых клеток в покое существует разность потенциалов порядка 60-90 мВ. Таким образом, именно клеточная мембрана является носителем электрического заряда. Чем это обусловлено? Прежде всего, следует рассмотреть структуру клеточной мембраны и транспорт веществ через клеточную мембрану возбудимых клеток.

ГЛАВА 2. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

2.1. Строение мембраны

Термин "мембраны" как окружающей клетку невидимой плёнки, служащей барьером между содержимым клетки и внешней средой и одновременно - полупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и некоторые растворенные в ней вещества, был впервые использован, по-видимому, ботаниками фон Модем и независимо К. фон Негели (1817-1891) в 1855 г для объяснения явлений плазмолиза. В 1877 г. ботаник В. Пфедфер (1845-1920) опубликовал свой труд "Исследования осмоса" (Leipzig), где постулировал существование клеточных мембран, основываясь на сходстве между клетками и осмометрами, имеющими искусственные полупроницаемые мембраны, которые были приготовлены незадолго до этого М. Траубе. Дальнейшее изучение осмотических явлений в растительных клетках датским ботаником Х. де Фризом (1848-1935) послужило фундаментом при создании физико-химических теорий осмотического давления и электролитической диссоциации датчанином Я. Вант-Гоффом (1852-1911) и шведским ученым С. Аррениусом (1859-1927). В 1888 году немецкий физико-химик В. Нернст (1864-1941) вывел уравнение диффузионного потенциала. В 1890 году немецкий физико-химик и философ В. Оствальд (1853-1932) обратил внимание на возможную роль мембран в биоэлектрических процессах. Между 1895 и 1902 годами Э. Овертон (1865-1933) измерил проницаемость клеточной мембраны для большого числа соединений и показал прямую зависимость между способностью этих соединений проникать через мембраны и их растворимостью в липидах. Это было чётким указанием на то, что именно липиды формируют плёнку, через которую проходят в клетку вещества из окружающего раствора. В 1902 году Ю. Бернштейн (1839-1917) привлек для объяснения электрических свойств живых клеток мембранную гипотезу.

В 1925 году Э. Гортер и Ф. Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в два раза больше суммарной площади эритроцитов. Э. Гортер и Ф. Грендел экстрагировали липиды из гемолизированных эритроцитов ацетоном, затем выпаривали раствор на поверхности воды и измеряли площадь образовавшейся мономолекулярной пленки липидов. На основе результатов этих исследований было сделано предположение, что липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя. Поверхностное натяжение клеточной мембраны (0,1 мн/м, или дин/см) меньше натяжения слоя чистого липида (10 мн/м, или дин/см) и близко к

поверхностному натяжению белков. Поэтому было предположено, что в биологических мембранах бимолекулярный липидный слой покрыт с двух сторон слоями белка (структура «сэндвича»). Изучение клеточной поверхности с помощью поляризационного микроскопа позволило предположить, что молекулы липидов расположены перпендикулярно, а молекулы белка — параллельно клеточной поверхности. Методом электропроводности удалось измерить электрическую ёмкость клеточной мембраны, равную 1 мкф/см^2 , электрическое сопротивление, порядка $10^7 \text{ Ом}\cdot\text{м}^2$ и рассчитать толщину её липидного слоя, которая оказалась равной 55 \AA .

На основе всех этих данных английские биологи Л. Даниелли и Г. Даусон в 1935 предложили “бутербродную” модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течение почти 40 лет. Согласно этой модели, на поверхности фосфолипидного бислоя в мембранах располагаются белки.

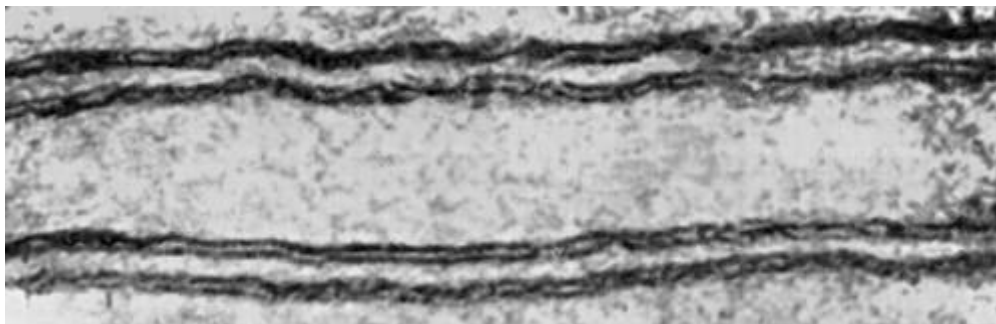


Рис. 4. Мембраны двух соседних нервных клеток (электронная микроскопия, ув. $\times 400\,000$). Каждая мембрана имеет толщину 75 \AA и видна в виде двух тёмных полос, разделённых более светлой полосой, толщиной 35 \AA . Щель между клетками достигает 150 \AA . Две тёмные полосы соответствуют белковому слою модели Даниелли и Даусона, а светлая полоса между ними — липидному слою

Огромную роль в развитии представлений о строении биологических мембран сыграли такие методы визуализации, как рентгеноструктурный анализ, основанный на дифракции коротковолновых рентгеновских лучей на атомах, электронно-микроскопический анализ, флюоресцентный метод, электронный парамагнитный резонанс и ядерный магнитный резонанс.

В настоящее время общепринятой моделью строения мембран является жидкостно-мозаичная, предложенная в 1972 году С. Синджером и Дж.Николсоном (рис. 5). Согласно современным представлениям, все клеточные и внутриклеточные мембраны устроены сходным образом: основу мембраны составляет двойной молекулярный слой липидов (липидный бислой) на котором и в толще которого находятся белки. Согласно жидкостно-

мозаичной модели слой липидов является прерывистым, белки клеточной мембраны подвижны и свободно плавают в липидном геле. Эти белковые молекулы по-разному погружены в мембрану. Но всегда сохраняют контакт с окружающей средой с помощью полярной группы.

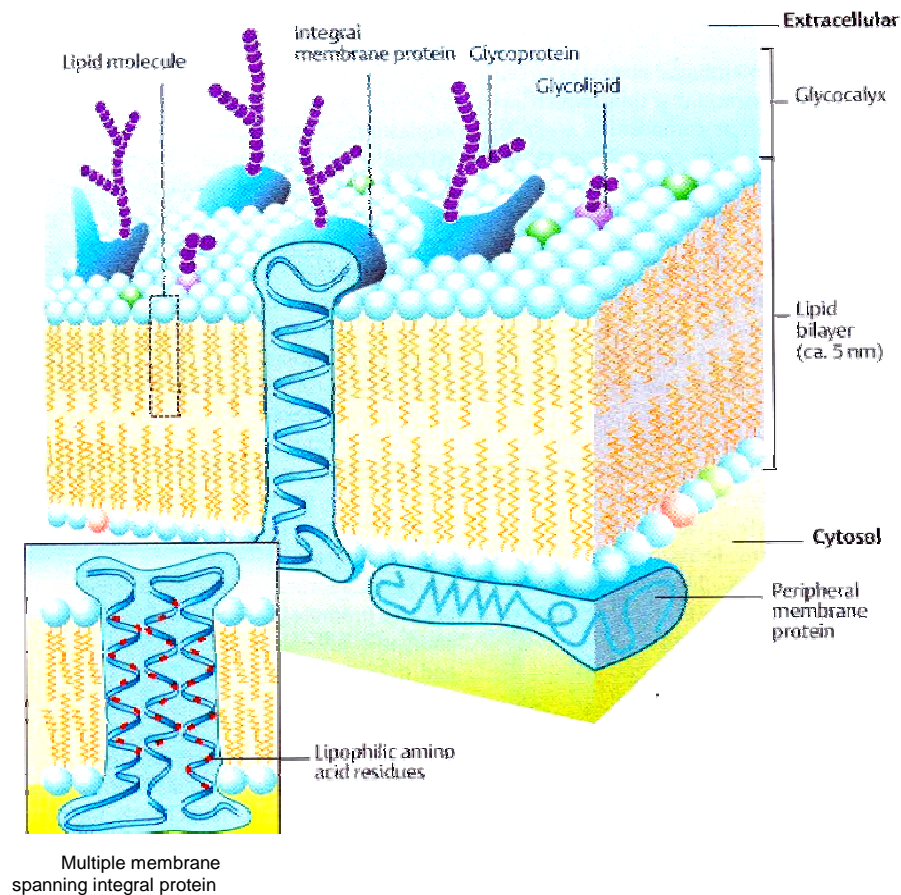


Рис. 5. Схема строения клеточной мембраны (S. Silbernagl, 2002).

На внутренней поверхности мембраны белков больше, чем на наружной поверхности. Современные данные, полученные методом рентгеноструктурного анализа, показали, что цепи мембранных белков сворачиваются таким образом, что спиральные и структурные участки оказываются погруженными в гидрофобную область мембраны; находящиеся вне мембраны части молекулы образованы преимущественно неупорядоченными структурами.

Липидный бислой образуется амфифильными молекулами фосфолипидов и сфингомиелина в водной фазе (рис. 6). Амфифильными эти молекулы называют потому, что они состоят из двух частей, различных по своей растворимости в воде:

- полярной “головки”, обладающей высоким сродством к воде, т. е. гидрофильной,

- “хвоста” образуемого неполярными углеводородными цепями жирных кислот; эта часть молекулы обладает низким сродством к воде, т. е. гидрофобна.

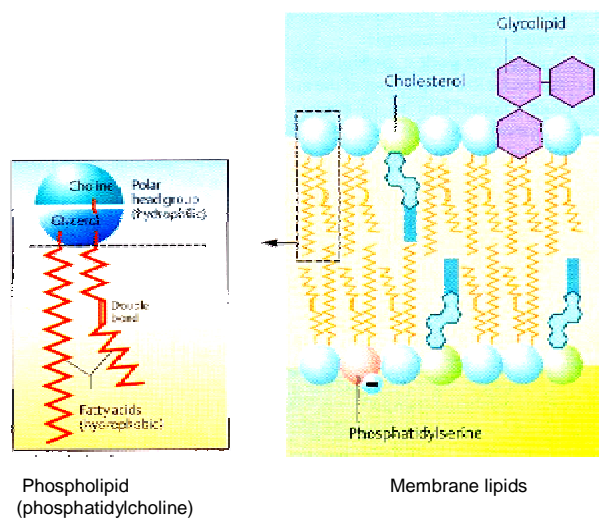


Рис. 6. Структура липидной молекулы клеточной мембраны (S. Silbernagl, 2002).

Липидный бислой включает (табл. 1): фосфолипиды: фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидинозит, кардиолипин; сфингомиелин; холестерол; гликолипиды.

Таблица 1

Содержание фосфолипидов и сфингомиелина в мозгу и почках человека (Котык А. и Яначек К., 1980)

Фосфолипиды	Мозг	Почки
Фосфатидилхолин	29,2	37,9
Фосфатидилэтаноламин	35,0	30,8
Фосфатидилсерин	17,6	7,0
Фосфатидинозитол	2,2	6,1
Кардиолипин	0,4	4,2
Фосфатиловая кислота	0,5	0,6
Сфингомиелин	13,6	12,8

Подвижность мембранных молекул в значительной мере зависит от состава жирных кислот. Более упорядоченной и стабильной является структура мембран, содержащая большое число насыщенных жирных кислот в фосфолипидах, менее упорядоченной – содержащая значительные количества ненасыщенных жирных кислот. При оптимальных для жизнедеятельности живых организмов температурах мембрана, как правило, имеет

жидкокристаллическое состояние (промежуточное между жидким и твердым). Это состояние обусловлено, прежде всего, наличием в мембранах системы липид – белок – вода, формирующей различного типа упорядоченные структуры, обладающие в то же время определенной подвижностью. Такое состояние мембран оказывает существенное влияние на их функционирование и объясняет большую чувствительность к различным внешним факторам.

Мембранные белки согласно их морфофункциональной классификации подразделяются на:

- Интегральные (образуют каналы, переносчики, насосы, рецепторы). Интегральные белки имеют обширные гидрофобные участки на поверхности и нерастворимы в воде. С липидами мембран они связаны гидрофобными взаимодействиями и частично погружены в толщу липидного бислоя, а зачастую и пронизывают бислой, оставляя на поверхности сравнительно небольшие гидрофильные участки. Отделить эти белки от мембраны удается только с помощью детергентов, типа додецилсульфата или солей желчных кислот, которые разрушают липидный слой и переводят белок в растворимую форму (солюбилизируют его), образуя с ним ассоциаты. Все дальнейшие операции по очистке интегральных белков осуществляются также в присутствии детергентов;

- Периферические (формируют цитоскелет, гликокаликс). Периферические белки связаны с поверхностью липидного бислоя электростатическими силами и могут быть отмыты от мембраны солевыми растворами.

Соседние клетки одной возбудимой ткани сообщаются друг с другом для того, чтобы координировать свою жизнедеятельность и функционировать как целое в соответствии со спецификой ткани. Такое сообщение достигается с помощью **синапсов** и специальных коротких «трубочек», которые собраны в дискообразные структуры в местах щелевых контактов или **нексусов**.

Синапс - специализированный межклеточный контакт, обеспечивает передачу сигналов с одной клетки на другую.

Электрические синапсы морфологически представляют собой слияние, или сближение, участков мембран. В последнем случае синаптическая щель не сплошная, а прерывается мостиками полного контакта. Эти мостики образуют повторяющуюся ячеистую структуру синапса, причем ячейки ограничены участками сближенных мембран, расстояние между которыми в синапсах млекопитающих 0,15—0,20 нм. В участках слияния мембран находятся каналы, через которые клетки могут обмениваться некоторыми продуктами. Кроме описанных ячеистых синапсов, среди электрических

синапсов различают другие — в форме сплошной щели; площадь каждого из них достигает 1000 мкм, как, например, между нейронами ресничного ганглия. Электрические синапсы обладают односторонним проведением возбуждения. Функции электрических синапсов заключаются, прежде всего, в обеспечении срочных реакций организма. Этим, видимо, объясняется расположение их у животных в структурах, обеспечивающих реакцию бегства, спасения от опасности и т. д. Электрический синапс сравнительно мало утомляем, устойчив к изменениям внешней и внутренней среды. Видимо, эти качества наряду с быстродействием обеспечивают высокую надежность его работы.

В *химическом* синапсе сигнальной молекулой является нейромедиатор или нейротрансмиттер (рис. 7, 8). Синапсы формируют только клетки возбудимых тканей (нервные клетки между собой, нервные клетки и мышечные волокна). В синапсе различают пресинаптическую часть (содержит синаптические пузырьки с нейромедиатором, пресинаптическую мембрану и митохондрии), постсинаптическую часть (представлена постсинаптической мембраной с рецепторами для нейромедиаторов, также содержит митохондрии) и расположенную между клетками синаптическую щель (промежуток между пре- и постсинаптическими мембранами шириной 20-35 нм). В синаптическую щель из синаптических пузырьков выделяется нейромедиатор.

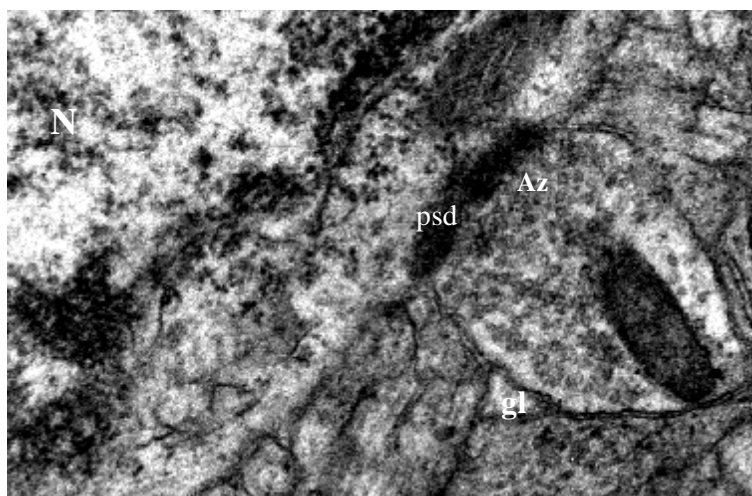


Рис. 7. Электроннограмма химического аксо-соматического синапса. Az – активная зона, psd – постсинаптическое уплотнение, gl – астроцит, N – ядро нейрона.

В покое медиатор попадает в синаптическую щель постоянно, но в малом количестве. Под влиянием пришедшего возбуждения количество медиатора резко возрастает. Для синапсов с химическим способом передачи возбуждения характерны синаптическая задержка проведения возбуждения, длящаяся около 0,5 мс, и развитие постсинаптического потенциала (ПСП) в ответ на пресинаптический импульс. Этот

потенциал при возбуждении проявляется в деполяризации постсинаптической мембраны и возникновении возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСП), а при торможении — в гиперполяризации ее, в результате чего развивается тормозной постсинаптический потенциал (ТПСП). При возбуждении проводимость постсинаптической мембраны увеличивается. Величина ВПСП зависит от количества выделившегося медиатора и может составлять 0,12—5,0 мВ. Под влиянием ВПСП электротонически деполяризуются соседние с синапсом участки мембраны, затем деполяризация достигает аксонного холмика нейрона, где возникает возбуждение, распространяющееся на аксон. ВПСП возникает в нейронах при действии в синапсах ацетил холина, норадреналина, дофамина, серотонина, глутаминовой кислоты, вещества Р и др. ТПСП возникает при действии в синапсах глицина, гамма-аминомасляной кислоты. ТПСП может развиваться и под действием медиаторов, вызывающих ВПСП, но в этих случаях медиатор вызывает переход постсинаптической мембраны в состояние гиперполяризации. В формировании и модуляции работы синапса принимают участие активные вещества, выделяющиеся из пресинаптического окончания, а также различные активные вещества из отростков астроглии, клетки которой тесно граничат с синаптическим контактом (рис. 7, 8). Кроме того, доказано, что нейроглиальные взаимоотношения могут носить и характер электрического сопряжения.

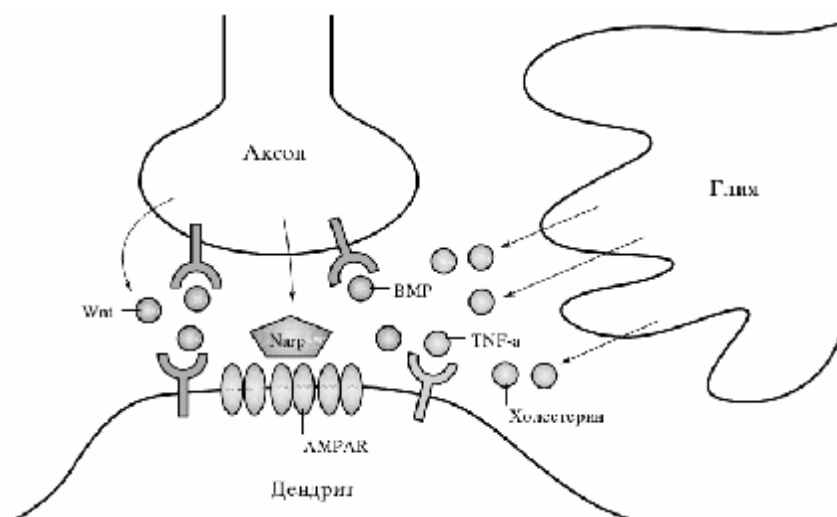


Рис. 8. Схема химического синапса. Narg – секретируемая молекула, которая при связывании с AMPA-рецепторами, может инициировать образование их кластеров, Wnt участвует в пресинаптической дифференцировке. Глиальная клетка выделяет холестерин, который необходим для стабилизации синапсов, фактор некроза опухоли TNF-α, который повышает синаптическую эффективность, усиливая экспрессию постсинаптических AMPA-рецепторов (Li Z., Sheng M., 2003)

Нервно-мышечные синапсы обеспечивают проведение возбуждения с нервного волокна на мышечное благодаря медиатору ацетилхолину, который при возбуждении нервного окончания переходит в синаптическую щель и действует на концевую пластинку мышечного волокна. Следовательно, как и межнейронный синапс, нервно-мышечный синапс имеет пресинаптическую часть, принадлежащую нервному окончанию, синаптическую щель, постсинаптическую часть (концевая пластинка), принадлежащую мышечному волокну (рис. 9). Рецепторы, возбуждаясь, открывают белковый канал, встроенный в липидный слой мембраны. Через открытый канал внутрь мышечной клетки проникают ионы Na^+ , что приводит к деполяризации мембраны мышечной клетки, в результате развивается так называемый потенциал концевой пластинки (ПКП). Он вызывает генерацию потенциала действия мышечного волокна.

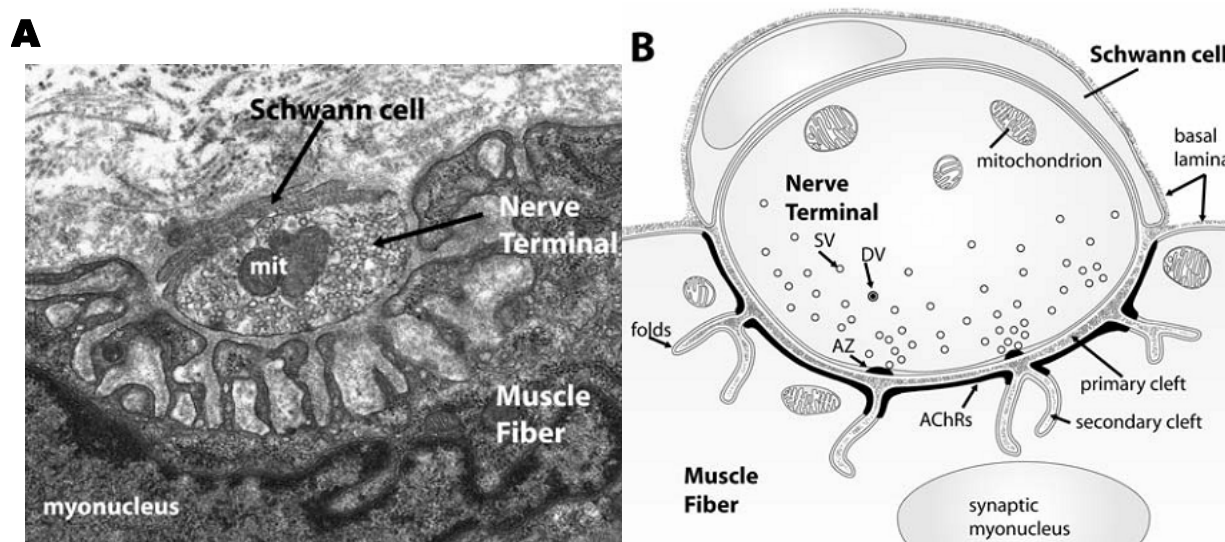


Рис. 9. Нервно-мышечное соединение. А – электронная микроскопия; В – схема строения нервно-мышечного соединения. Mit – митохондрия, SV – синаптическая везикула, AZ – активная зона, AChRs - ацетилхолиновые рецепторы (Jaworski A, Burden SJ, 2006).

Нексус. Каждая трубочка (коннексон) состоит из цилиндрических белковых молекул – коннексинов (рис. 10). Молекула – коннексина частично погружена в клеточную мембрану, а ее выступающая часть способна связываться в межклеточном пространстве с коннексоном соседней клетки, так что образуется непрерывный канал, соединяющий внутреннее пространство двух клеток. При определенных конформационных изменениях белков канал открывается или закрывается, либо активируя, либо прекращая передачу информации между клетками через щелевые контакты. Канал коннексона диаметром 1,5 нм пропускает ионы и молекулы с молекулярной массой до 1,5 кД.

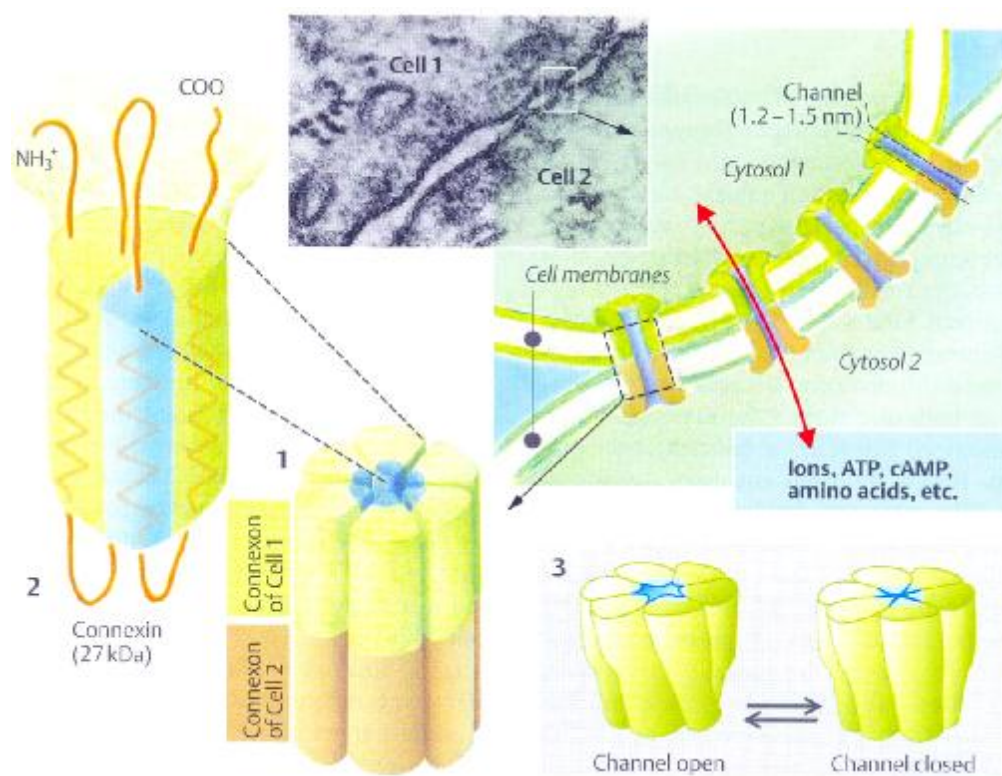


Рис. 10. Строение нексуса. Электронная микроскопия участка мембраны со щелевым контактом (S. Silbernagl, 2002: фото: H. Lodish. reproduced with permission from Scientific American Books, New York, 1995) и схема работы каналов щелевых контактов.

Щелевой контакт контролирует проницаемость между взаимодействующими клетками. В некоторых клетках (*например*, глиальные) подобный механизм имеет важное значение в регуляции уровня внутриклеточного Ca^{2+} . Через щелевые контакты проходят низкомолекулярные вещества, регулирующие рост и развитие клеток. Щелевые контакты обеспечивают распространение возбуждения — переход ионов между мышечными клетками миокарда и гладкомышечными клетками. Коннексины - нестабильные белки, живущие несколько часов. Имеется 20 различных коннексинов у мыши и 21 у человека. Многие клетки образуют несколько видов коннексинов, которые способны полимеризоваться в различных комбинациях.

Различные типы коннексинов человека и мыши:

человек	Cx23	Cx25	Cx26	Cx30.2	Cx30	Cx31.9	Cx30.3	Cx31	Cx31.1	Cx32	Cx36
	Cx37	Cx40.1	Cx40	Cx59	Cx43	Cx45	Cx46	Cx47	Cx50	Cx62	
мышь	Cx23	Cx26	Cx29	Cx30	Cx30.2	Cx30.3	Cx31	Cx31.1	Cx32	Cx33	Cx36
	Cx39	Cx40	Cx43	Cx45	Cx46	Cx47	Cx50	Cx57			

Объединение шести коннексинов двух типов может образовывать 14 вариантов коннексонов, из которых может образоваться до 196 различных вариантов каналов!

Коннексины - политопные интегральные мембранные белки 4 раза пересекающие мембрану, имеющие две внеклеточные петли (EL-1 и EL-2), цитоплазматическую петлю (CL) с N-концом (AT) и C-концом (CT), вдающимся в цитоплазму. Белки, взаимодействующие с коннексонами Cx43: v-, c-src киназы, киназа C, MAP киназа, Cdc2 киназа, казеин киназа 1, киназа A, ZO-2, ZO-1, β -катенин, дребрин, α -, β -тубулин, кавеолин-1, NOV, CIP85. Киназы, фосфорилирующие коннексины и меняющие их свойства, могут регулировать работу канала. Тубулины (белки микротрубочек), могут способствовать транспорту различных веществ вдоль микротрубочек непосредственно к каналу. Белок дребрин взаимодействует с коннексонами и с микрофиламентами, что указывает на взаимосвязь каналов и организации цитоскелета клетки.

Коннексоны могут закрываться при действии тока, изменения pH, напряжения мембраны, Ca^{2+} .

2.2. Типы транспорта веществ через мембрану

Различают несколько типов транспорта веществ через мембрану: диффузия, осмос, активный транспорт, везикулярный транспорт. В свою очередь каждый из этих типов подразделяется на несколько подтипов.

Диффузия

Различают простую и облегченную диффузию.

Простая диффузия - пассивный процесс движения частиц в растворе согласно их концентрационному градиенту из области высокой концентрации в область низкой концентрации. Проницаемость веществ путем диффузии через мембрану зависит от свойств мембраны и самих растворенных веществ:

- Липидрастворимые вещества диффундируют легко через липидный бислой (этанол, кислород, углекислый газ);

- Водорастворимые вещества (ионы с гидратной оболочкой) диффундируют через водные каналы, формируемые специальными трансмембранными белками транслоказами. Проницаемость ионов через канал пропорциональна их молекулярному размеру, форме, заряду (рис. 11).

Облегченная диффузия – пассивный перенос веществ с помощью специальных белков-переносчиков по концентрационному градиенту. К ним относятся ферменты транслоказы и пермиазы.

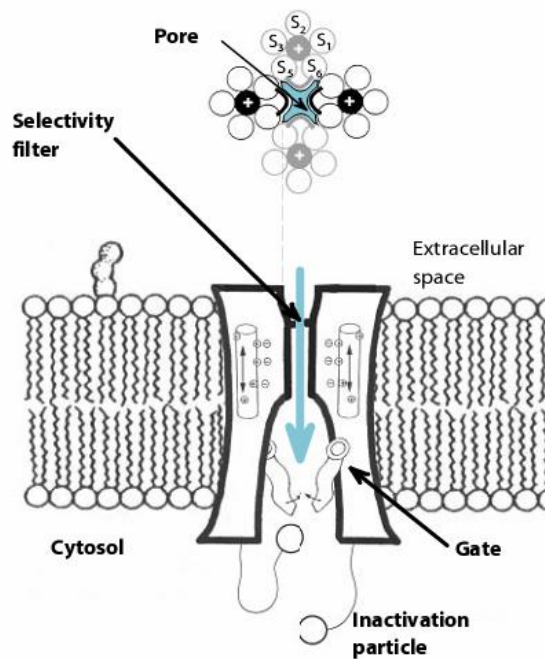


Рис. 11. Схематическое строение типичного ионного канала.

Они связывают своим активным центром вещество с одной стороны мембраны и переносят его сквозь гидрофобный слой мембраны на ее другую поверхность. Еще один вариант такой диффузии: после присоединения транспортируемого вещества меняется конформация белка-переносчика и в мембране открывается специальный гидрофильный канал, по которому и проникает вещество. Подчиняется кинетике Михаэлиса-Ментена, согласно которой насыщение переносчика веществом ограничивает диффузию (рис. 12).

Например, белок-переносчик инсулинзависимая пермеаза для глюкозы. Специфичность пермеазы проявляется уже в том, что L-изомер почти не транспортируется в эритроциты в отличие от D-галактозы и D-маннозы, но для достижения полунасыщения транспортной системы требуются более высокие их концентрации. Оказавшись внутри клетки, глюкоза подвергается фосфорилированию и более не способна покинуть клетку. Пермеазу для глюкозы называют также D-гексозной пермеазой. Она представляет собой интегральный мембранный белок с молекулярной массой 45кД.

Конкретный механизм функционирования переносчиков при облегченной диффузии исследован недостаточно. Они могут, например, обеспечивать перенос путем вращательного движения в мембране. В последнее время появились сведения, что белки-переносчики при контакте с транспортируемым веществом изменяют свою конформацию, в результате в мембране открываются своеобразные «ворота», или каналы.

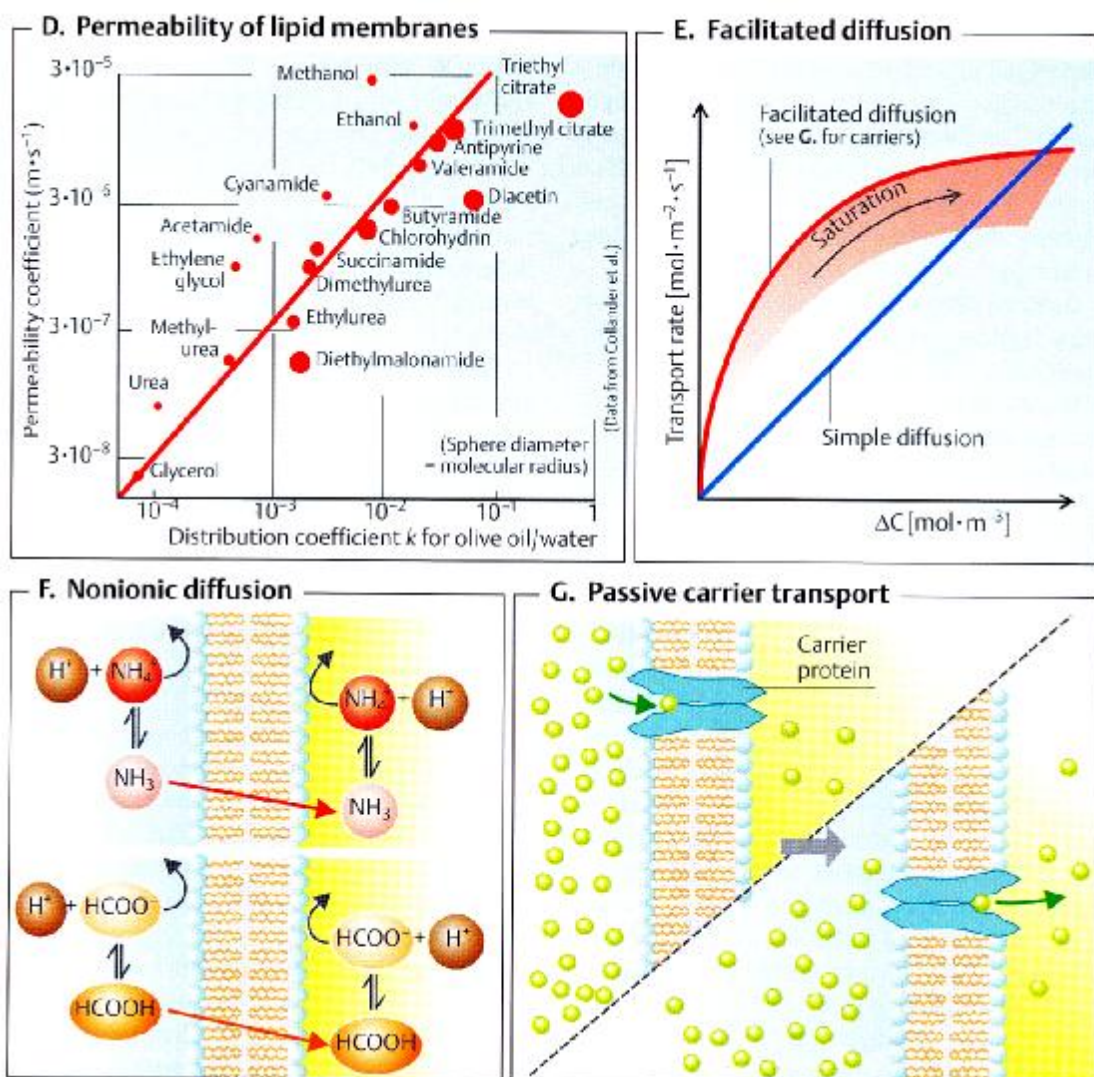


Рис. 12. Пассивная диффузия веществ через клеточную мембрану.

D – Кривая проницаемость мембраны для различных веществ в зависимости от коэффициента растворимости в липидах и воде; E – кривые зависимости транспорта веществ от их концентрации; F – схема диффузии молекул через липидный бислой; G – схема облегченной диффузии веществ через клеточную мембрану (S. Silbernagl, 2002).

Эти изменения происходят за счет энергии, высвобождающейся при связывании транспортируемого вещества с белком. Возможен также перенос эстафетного типа. В этом случае сам переносчик остается неподвижным, а ионы мигрируют вдоль него от одной гидрофильной связи к другой. Моделью переносчика такого типа может служить антибиотик грамицидин. В липидном слое мембраны его длинная линейная молекула принимает форму спирали и образует гидрофильный канал, по которому может мигрировать по градиенту ион K^+ .

Осмоз

Осмоз – пассивное движение воды через полупроницаемую мембрану по градиенту осмотического давления. Сила, которая определяет движение растворителя, называется осмотическим давлением (рис. 13). Осмотическое давление обусловлено количеством растворенных в воде частиц. Движение воды осуществляется из области с низкой концентрацией частиц в область с высокой концентрацией частиц. Часть осмотического давления, которую создают белки, называют онкотическим давлением. В плазме крови: осмотическое давление – 5600 мм рт.ст., онкотическое – 25-30 мм рт.ст.

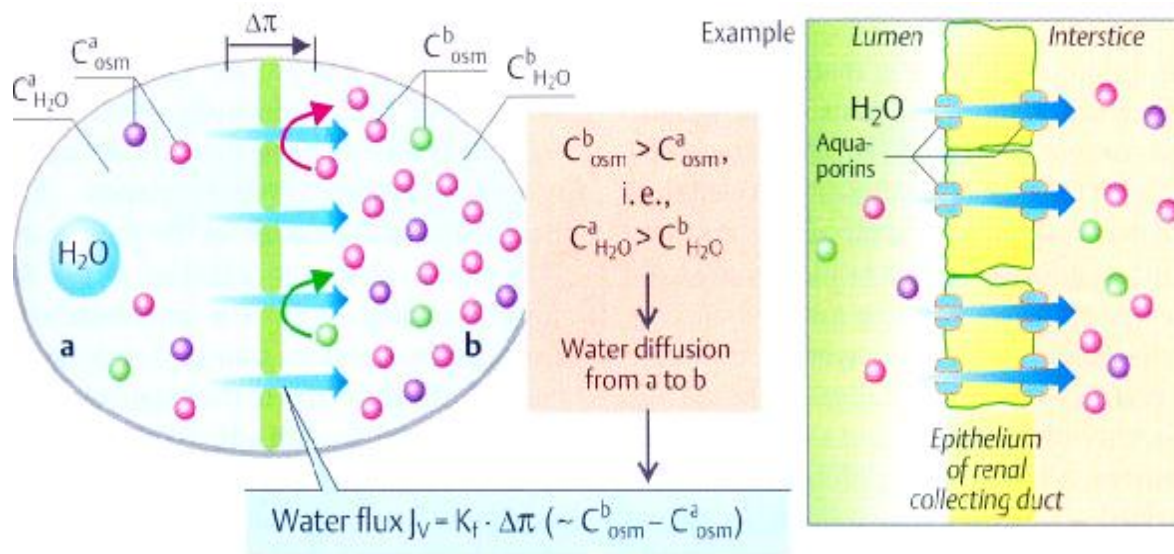


Рис. 13. Схема движения молекул воды через клеточную мембрану согласно осмотическому градиенту (S. Silbernagl, 2002).

Активный транспорт

Активный транспорт подразделяется на первично активный и вторично активный.

Первично активный транспорт обеспечивается наличием специальных белковых комплексов, именуемых насосами или помпами, и использованием энергии АТФ (транспортные АТФазы - Na, K – АТФаза, K, H – АТФаза, Ca – АТФаза и др.). Функция первично активного транспорта – поддержание постоянства ионного состава, которое осуществляется благодаря транспорту веществ против градиента концентрации. Сам фермент АТФаза представляет собой олигомер, состоящий из 2-х α-субъединиц по 110 кД и 2 гликопротеиновых β-субъединиц по 55 кД каждая (рис. 14).

При гидролизе АТФ происходит обратимое фосфорилирование определенного остатка аспартата на α-субъединице с образованием β-аспартамилфосфата.

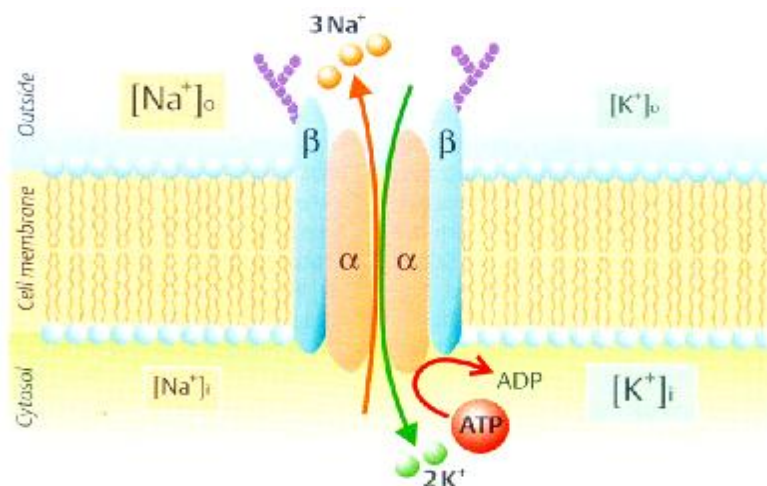


Рис. 14. Схематичное строение транспортной Na, K – АТФазы клеточной мембраны (S. Silbernagl, 2002). Описание в тексте.

Для фосфорилирования необходимы Na^+ и Mg^{2+} , но не K^+ , тогда как для дефосфорилирования необходим K^+ , но не Na^+ или Mg^{2+} . Описаны два конформационных состояния белкового комплекса с различным энергетическим уровнем, которые принято обозначать E1 и E2, поэтому АТФазу называют также переносчиком типа E1 - E2. Сердечные гликозиды, например дигоксин и убаин, подавляют активность АТФазы. Убаин вследствие хорошей растворимости в воде широко применяют в экспериментальных исследованиях для изучения натриевого насоса.

Общепринятое представление о работе одной из транспортных АТФаз - Na^+/K^+ - АТФазы, сводится к следующему (рис. 15). Ионы Na^+ и АТФ присоединяются к молекуле АТФазы в присутствии Mg^{2+} . Связывание ионов Na^+ запускает реакцию гидролиза АТФ, в результате которой образуются АДФ и фосфорилированная форма фермента. Фосфорилирование индуцирует переход ферментативного белка в новое конформационное состояние и участок или участки, несущие Na^+ , оказываются обращенными к внешней среде. Здесь Na^+ обменивается на K^+ , так как для фосфорилированной формы фермента характерно высокое сродство к ионам K^+ .

Обратный переход фермента в исходную конформацию инициируется гидролитическим отщеплением фосфорильной группы в виде неорганического фосфата и сопровождается освобождением K^+ во внутреннее пространство клетки. Дефосфорилированный активный центр фермента способен присоединить новую молекулу АТФ, и цикл повторяется. Количества поступивших в клетку в результате работы насоса ионов K^+ и Na^+ не равны между собой.

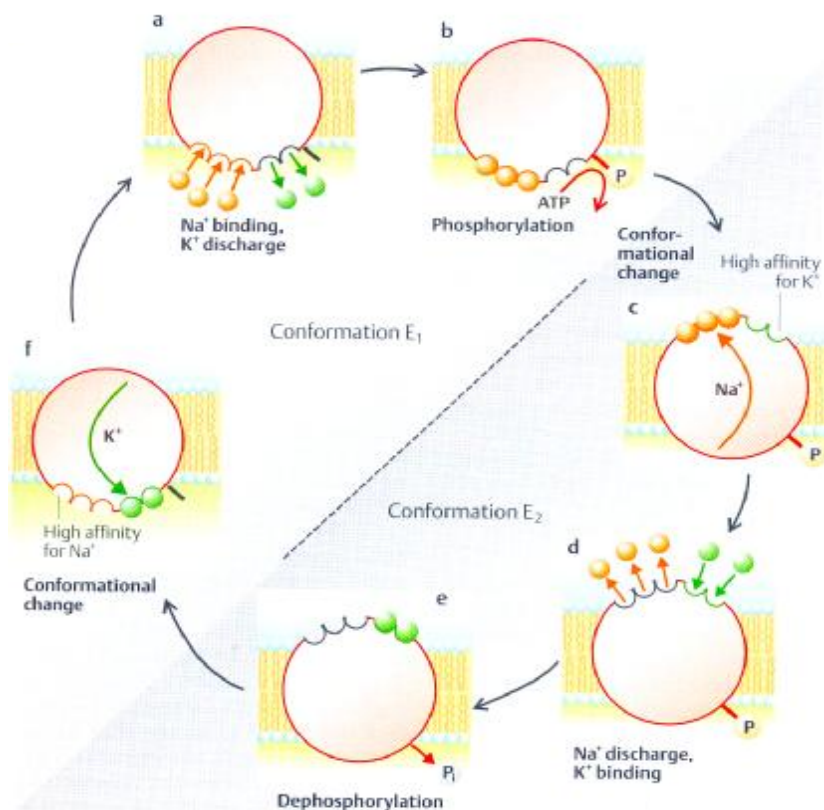


Рис. 15. Схема переноса 3-х ионов Na⁺ и 2 ионов K⁺ против их градиента концентрации с помощью транспортной Na, K – АТФазы (S. Silbernagl, 2002 по P.Laufer).

На три выведенных иона Na⁺ приходится два введенных иона K⁺ при одновременном гидролизе одной молекулы АТФ. Открывание и закрывание канала на противоположных сторонах мембраны и чередующееся изменение эффективности связывания Na⁺ и K⁺ обеспечиваются энергией гидролиза АТФ. Транспортируемые ионы – Na⁺ и K⁺ - кофакторы данной ферментативной реакции. Теоретически можно представить самые различные насосы, действующие по этому принципу, хотя в настоящее время известны лишь немногие из них.

Вторично активный транспорт - обеспечивает транспорт веществ (углеводов и аминокислот, кальция) белками-переносчиками против концентрационного градиента за счет энергии транспорта Na⁺ по концентрационному градиенту. Поддержание концентрационного градиента для Na⁺ обеспечивается Na, K – АТФазой. При этом перенос натрия против градиента концентрации требует затраты энергии, поэтому транспорт и называется вторично активный. Некоторые белки функционируют как котранспортные системы, в которых перенос одного растворенного вещества зависит от одновременного или последовательного переноса другого вещества либо в том же

направлении, либо в противоположном, например транспорт некоторых пептидов (рис. 16).

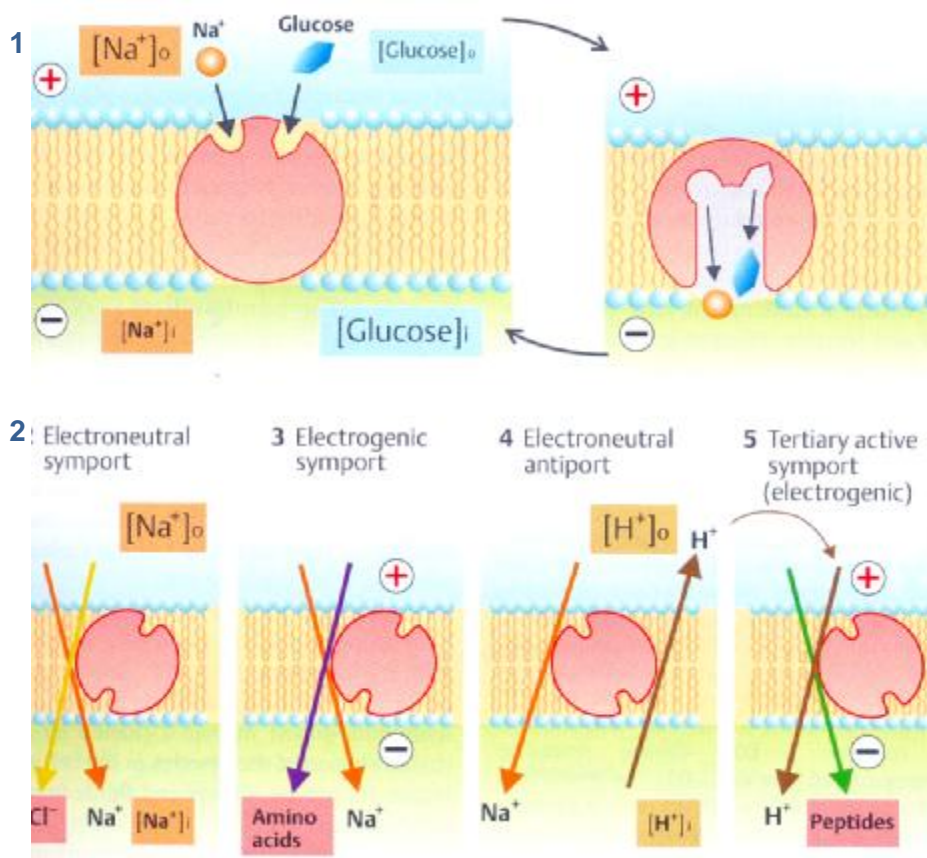


Рис. 16. Примеры использования электрохимического градиента Na для вторично активного транспорта веществ через мембрану. 1 – котранспорт глюкозы; 2 - котранспорт ионов хлора; 3 - котранспорт аминокислот; 4 – антипорт ионов водорода и 5 – транспорта пептидов за счет энергии транспорта ионов натрия и водорода (S. Silbernagl, 2002).

Вторично-активный транспорт может быть однонаправленным (симпорт), либо разнонаправленным (антипорт). Энергия ионных насосов не всегда используется в том участке плазматической мембраны, через который осуществляется сопряженный транспорт. Например, симпорт натрия и глюкозы в клетку: 1 молекула натрия и 1 молекула глюкозы (реабсорбция в проксимальном канальце нефрона и абсорбция в энтероците). Мембранный транспортный белок переносит молекулу глюкозы в клетку против градиента концентрации за счет энергии, образующейся при входе 1 Na⁺ по градиенту концентрации, в то же время Na⁺ движется по градиенту концентрации, поддерживаемому за счет Na,K-АТФазы. Такой транспорт полностью зависит от существования высокого градиента Na⁺. Если его внеклеточная концентрация существенно падает, то транспорт сахаров прекращается. Для различных сахаров

существуют разные симпортные системы. Существует около 5 различных систем симпорта и для аминокислот, каждая из которых специализирована для какой-либо одной группы родственных аминокислот. Антипорт – противоположно направленный транспорт веществ через мембрану. Например, за один цикл переносится один ион кальция из клетки в обмен на три входящие иона натрия (кардиомиоциты). Энергия для транспорта Ca^{2+} используется за счет энергии, образующейся при входе 3 Na^+ по градиенту концентрации, поддерживаемому за счет Na,K-АТФазы.

Везикулярный транспорт через мембрану

Клетки способны поглощать макромолекулы и частицы. Поглощенное вещество постепенно окружается небольшим участком плазматической мембраны, который сначала впячивается, а затем отщепляется, образуя внутриклеточный пузырек, содержащий захваченный клеткой материал. Такой процесс образования внутриклеточных пузырьков вокруг поглощенного клеткой материала называется *эндоцитозом*. В зависимости от размера образующихся пузырьков различают два типа эндоцитоза:

1) Пиноцитоз - поглощение жидкости и растворенных веществ с помощью небольших пузырьков,

2) фагоцитоз - поглощение больших частиц, таких, как микроорганизмы или обломки клеток. В этом случае образуются крупные пузырьки, называемые вакуолями и поглощение корпускулярного материала: бактерий, крупных вирусов, отмирающих собственных клеток организма или чужеродных клеток, таких, например, как эритроциты различных видов осуществляется клетками (макрофагами, нейтрофилами).

Жидкость и растворенные вещества непрерывно поглощаются большинством клеток посредством пиноцитоза, тогда как большие частицы поглощаются главным образом специализированными клетками - фагоцитами. Поэтому термины "пиноцитоз" и "эндоцитоз" обычно употребляются в одном и том же смысле. Пиноцитоз характеризуется поглощением и внутриклеточным разрушением макромолекулярных соединений, таких как белки и белковые комплексы, нуклеиновые кислоты, полисахариды, липопротеины. Объектом пиноцитоза как фактора неспецифической иммунной защиты являются, в частности, токсины микроорганизмов. На рис. 17 показаны последовательные этапы захвата и внутриклеточного переваривания находящихся в экстрацеллюлярном пространстве растворимых макромолекул (эндоцитоз макромолекул фагоцитами). Адгезия таких молекул на клетке может осуществляться двумя способами: неспецифическим - в результате случайной встречи молекул с клеткой, и специфическим, который зависит от предсуществующих рецепторов на поверхности пиноцитирующей клетки. В последнем

случае внеклеточные вещества выступают в качестве лигандов, взаимодействующих с соответствующими рецепторами. Адгезия веществ на клеточной поверхности приводит к локальной инвагинации (впячиванию) мембраны, завершающейся образованием пиноцитарного пузырька очень небольшого размера (приблизительно 0,1 микрона). Несколько слившихся пузырьков формируют более крупное образование - пиносому. На следующем этапе пиносомы сливаются с лизосомами, содержащими гидролитические ферменты, которые разрушают полимерные молекулы до мономеров. В тех случаях, когда процесс пиноцитоза реализуется через рецепторный аппарат, в пиносоме до слияния с лизосомами наблюдается отсоединение захваченных молекул от рецепторов, которые в составе дочерних пузырьков возвращаются на клеточную поверхность.

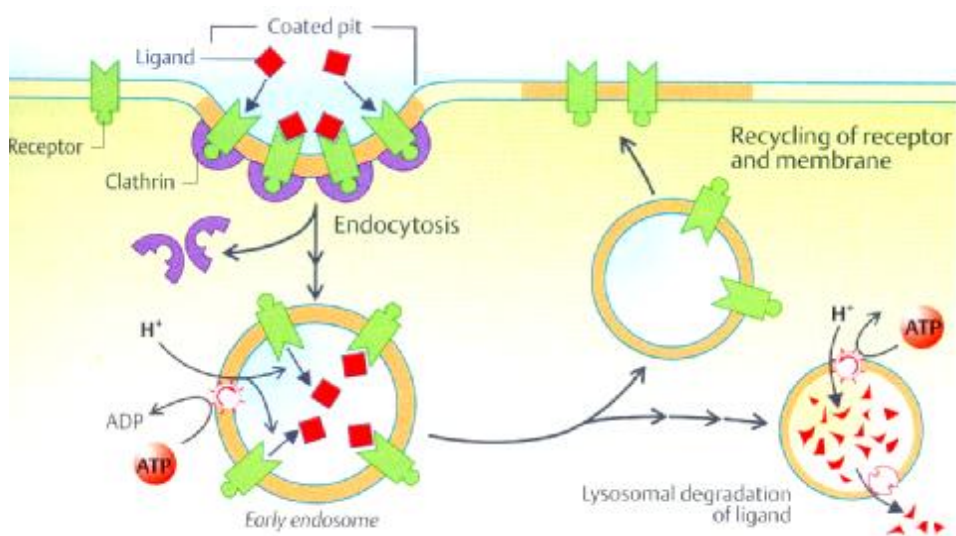


Рис. 17. Рецептор-зависимый эндоцитоз (S. Silbernagl, 2002).

Как эндоцитоз лиганд-рецепторного комплекса с поверхности плазматической мембраны, так и транспорт вновь синтезируемых секреторных белков из эндоплазматического ретикулума через цис-, медиал-, транс- Гольджи к поверхности плазматической мембраны осуществляются в везикулах. Транспортные везикулы формируются и отпочковываются от донорной мембраны и после осуществления раунда внутриклеточного транспорта сливаются с акцепторной мембраной. Специализированные белки цитоплазмы покрывают вновь образованные везикулы. Согласно современным представлениям, формирование транспортной везикулы на мембране внутриклеточного компартмента начинается после взаимодействия белков, переносимых везикулой, с трансмембранным рецептором. Например, холестерин и железо поступают в клетку путем опосредованного рецептором эндоцитоза. Изменение структурного состояния

связанного рецептора может распознаваться цитоплазматическими белками, которые ассоциируются с мембраной и инициируют образование транспортной везикулы.

Экзоцитоз – слияние внутриклеточных пузырьков с плазматической мембраной и выделение веществ из клетки. Например, синтез и выделение гормонов, нейротрансмиттеров, пищеварительных ферментов (рис. 18).

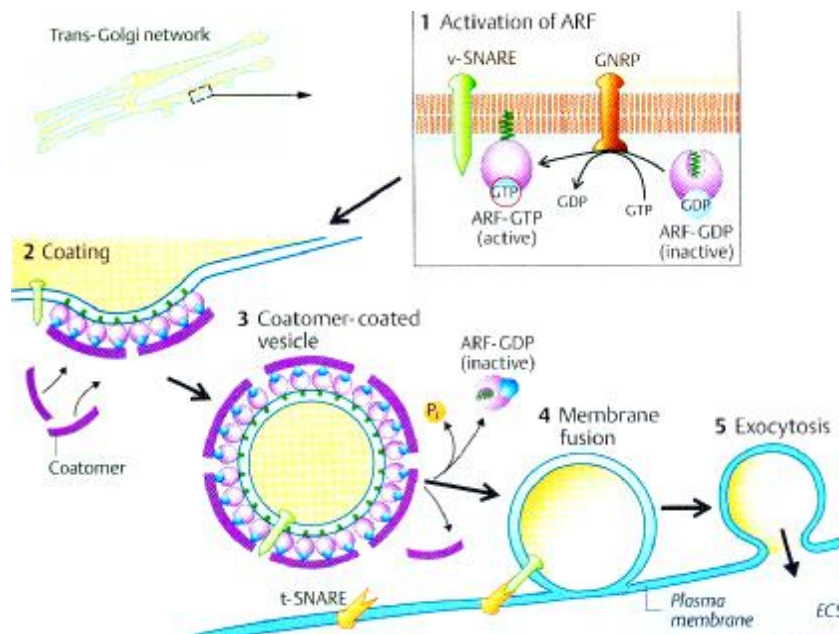


Рис. 18. Механизм формирования мембранных везикул при экзоцитозе (S. Silbernagl, 2002).

В эукариотических клетках секреция макромолекул почти всегда происходит за счет экзоцитоза. Одни секретируемые молекулы адсорбируются на поверхности клетки и становятся частью клеточной оболочки, другие включаются в межклеточный матрикс, третьи попадают в интерстициальную жидкость или кровь, где они служат для других клеток в качестве питательных веществ или каких-то сигналов. Секретируемые белки синтезируются на рибосомах, связанных с мембранами шероховатого эндоплазматического ретикула (ЭР). Эти белки проходят в полость ЭР и транспортируются к комплексу Гольджи с помощью отпочковавшихся от ЭР транспортных пузырьков. В комплексе Гольджи белки модифицируются, концентрируются, сортируются и затем упаковываются в пузырьки, которые отщепляются от аппарата Гольджи и сливаются с плазматической мембраной. В отличие от транспорта макромолекул, секретируемые молекулы малых размеров активно транспортируются в уже сформированные секреторные пузырьки. Этот процесс часто приводится в действие ионным градиентом. Небольшие молекулы зачастую связываются со специфическими макромолекулами внутри пузырьков и в результате могут накапливаться в высокой

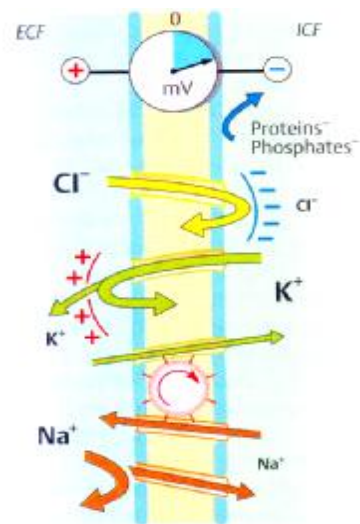
концентрации, не создавая при этом чрезмерного осмотического градиента. Одни вещества непрерывно секретируются производящими их клетками, тогда как другие запасаются в секреторных пузырьках и высвобождаются только после получения клеткой соответствующего сигнала извне. Этот сигнал к секреции часто представляет собой химический медиатор, например гормон, связывающийся с рецепторами на поверхности клетки. В результате происходит активация рецепторов, которая вызывает обычно кратковременное повышение концентрации свободного кальция в цитозоле. Последнее инициирует процесс экзоцитоза, побуждая секреторные пузырьки к слиянию с плазматической мембраной и, таким образом, высвобождая их содержимое во внеклеточное пространство. Мембраны секреторных пузырьков объединяются с плазматической мембраной и в дальнейшем посредством эндоцитоза возвращаются в первоначальное состояние.

ГЛАВА 3. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ

При создании мембранного потенциала покоя важную роль играют процессы простой диффузии через белковые каналы в мембране и первично активный транспорт.

В основном это диффузия ионов K^+ через мембрану клетки из внутриклеточной среды во внеклеточную, что предопределено:

1. Электрохимическим градиентом для K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- ;
2. Избирательно высокой проницаемостью мембраны для K^+ ;
3. Наличием Na^+K^+ - насоса в мембране.



3.1. Роль электрохимического градиента для K^+ , Na^+ и Cl^- в создании мембранного потенциала на мембране возбудимой клетки

Ионы K^+ , Na^+ , Cl^- проходят через транспортные каналы мембраны согласно *электрохимическому градиенту* (рис. 19). Этот градиент составляют два компонента:

- *электрический* (статический - в результате того, что мембрана непроницаема для анионов клетки - глутамата, аспартата, органических фосфатов, белков, на внутренней поверхности мембраны образуется избыток отрицательно заряженных частиц, а на наружной – избыток положительно заряженных частиц);

- *химический градиент концентрации* ионов по обе стороны мембраны (концентрация внутри K^+ клетки больше, чем вне в 30-50 раз раз, ионов Na^+ наоборот, вне клетки больше в 10-20 раз, чем внутри клетки, анионов хлора снаружи больше в 15 раз, а кальция - в 20000 раз).

Поскольку концентрация K^+ в цитоплазме примерно в 50 раз выше, чем во внеклеточной жидкости, диффундируя из клетки, ионы выносят на наружную сторону мембраны положительные заряды, при этом внутренняя сторона мембраны, практически не проницаемая для крупных органических анионов, приобретает отрицательный потенциал. Проницаемость мембраны в покое для Na^+ примерно в 100 раз ниже, чем для K^+ , диффузия натрия из внеклеточной жидкости (где он является основным катионом) в

протоплазму мала и лишь незначительно снижает МПП, обусловленный ионами K^+ . В скелетных мышечных волокнах в возникновении потенциала покоя важную роль играют также ионы Cl^- , диффундирующие внутрь клетки.

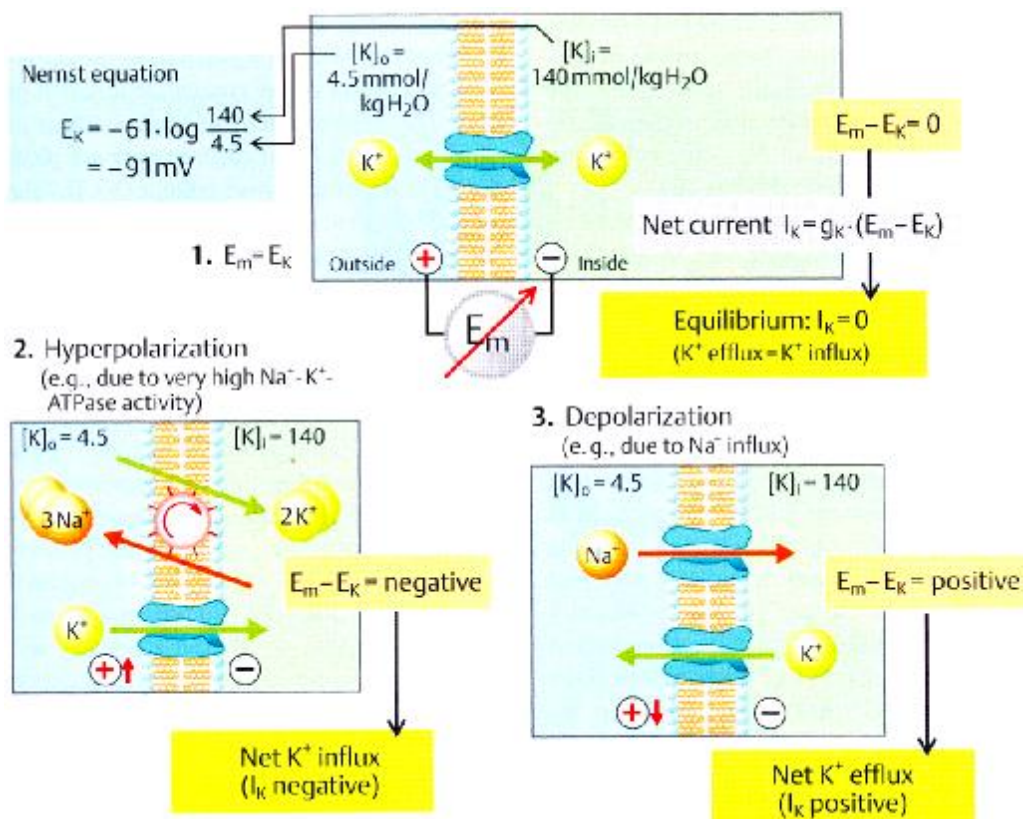


Рис. 19. Электрохимический потенциал и ионные токи. 1 – состояние покоя; 2 – гиперполяризация мембраны; 3 – деполяризация мембраны (S. Silbernagl, 2002).

Мембраны возбудимых клеток способны изменять ионную проницаемость в ответ на сдвиги мембранного потенциала. При увеличении МПП (гиперполяризация мембраны) проницаемость поверхностных клеточных мембран для Na^+ и K^+ падает, а при уменьшении МПП (деполяризация) она возрастает, причём скорость изменений проницаемости для Na^+ значительно превышает скорость увеличения проницаемости мембраны для K^+ . Статистические небольшие изменения (флуктуации) мембранного потенциала, обусловленные спонтанными изменениями проводимости ионов в мембране называются шумом. Проявляются в виде открывания и закрывания ионных каналов. Когда химический концентрационный градиент, способствующий выведению K^+ из клетки, уравновешивается отрицательным внутриклеточным потенциалом, вовлекающим K^+ в клетку, потоки K^+ становятся сбалансированными. Возникает состояние, когда суммарный калиевый ток через мембрану равен нулю (число выходящих ионов K^+ сравнивается с числом входящих ионов K^+ в клетку).

Мембранный потенциал, при котором наблюдается такое равновесие, называется *потенциалом равновесия* или равновесным потенциалом и рассчитывается согласно уравнению Нернста:

$$E_x = (R \cdot T / z \cdot F) \cdot \ln ([X]_o / [X]_i),$$

где R – газовая постоянная

T – температура по Кельвину

z – валентность иона

F – константа Фарадея

$[X]_o / [X]_i$ - концентрации ионов снаружи и внутри клетки.

E_x – равновесный потенциал

Итак, равновесный потенциал зависит только от концентрации ионов по обе стороны мембраны, но не от свойств ионного канала или механизма проникновения ионов через канал (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация ионов и равновесный потенциал для некоторых ионов скелетной мышцы (37°C)

Ионы	Внеклеточная концентрация (ммоль/л)	Внутриклеточная концентрация (ммоль/л)	Равновесный потенциал (мВ)
K ⁺	4,5	160	-95
Na ⁺	144	7	+80
Ca ²⁺	1,3	0,0001-0,00001	+125 до +310
H ⁺	4 · 10 ⁻⁵ (рН 7,4)	10 ⁻⁴ (рН 7,4)	-24
Cl ⁻	114	7	-80
HCO ₃ ⁻	28	10	-27

Опытное значение равновесного потенциала для K⁺ менее отрицательно, чем рассчитанное по формуле Нернста, так как мембрана проницаема не только для этого иона, но и для Na⁺, Cl⁻. Например, для нервных клеток опытное значение равновесного потенциала для K⁺ равно -70 мВ (по формуле Нернста – 97,5 мВ, знак показывает заряд на внутренней поверхности мембраны), для Na⁺ +55 - +67 мВ, ионов кальция - +123 мВ, для хлора - -89 мВ.

Расчетное значение мембранного потенциала покоя согласно формуле Goldman-Hodgkin-Katz равно:

$$E_{rest} = 61 \log \frac{P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i + \dots}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o + \dots}$$

где $P_{K, Na, Cl}$ – коэффициент мембранной проницаемости для ионов;

$[K^+]_o, [Na^+]_o, [Cl^-]_o$ – внеклеточная концентрация ионов;

$[K^+]_i, [Na^+]_i, [Cl^-]_i$ – внутриклеточная концентрация ионов.

61 – постоянная при $t=37^\circ\text{C}$, 58 - при 20°C .

3.2. Избирательно высокая проницаемость мембраны для ионов

Ионный ток определяется не абсолютным значением мембранного потенциала, а разницей между мембранным потенциалом и равновесным потенциалом для данного иона. Таким образом, ток через одиночный канал пропорционален разнице между значением мембранного потенциала и значением равновесного потенциала для иона. Эта разница является *итоговой движущей силой для иона*:

$$i = g \times (E_m - E_x),$$

где i - ток через одиночный канал (пА)

E_m - мембранный потенциал (мВ);

E_x – равновесный потенциал (мВ);

g – проводимость канала, измеряется в пикосименсах, пСм.

Проводимость канала прямо пропорциональна току, проходящему через канал и обратно пропорциональна потенциалу. Итак, итоговая движущая сила зависит от потенциала на мембране. Знак указывает направление движения ионов через открытый канал, «+» - выход ионов из клетки, «-» - вход в нее (например, при потенциале -80 мВ для ионов $K^+ = +15$ мВ, $Na^+ = -147$ мВ). Абсолютное значение итоговой движущей силы пропорционально величине ионного тока через канал.

Другим характерным свойством зависимости «ток-потенциал» является ее нелинейность. При сдвиге от равновесно потенциала K^+ в сторону деполяризации ток меняется более быстро, чем при переходе в сторону гиперполяризации. Это происходит вследствие того, что проводимость канала является функцией концентрации ионов. В примере с ионом K^+ его концентрация внутри клетки больше, чем снаружи. Это приводит к тому, что током, идущим наружу, переносится больше ионов, чем током, направленным внутрь. По мере сдвига от равновесного потенциала в сторону деполяризации, этот

эффект становится более заметным. Нелинейные отношения «ток-потенциал» наблюдаются также в ионных каналах, обладающих выпрямляющими свойствами. Одним из таких примеров является потенциал-зависимый калиевый канал внутреннего выпрямления (inward rectifier). Такой тип канала позволяет ионам калия двигаться внутрь клетки при потенциале, более негативном, чем равновесный калиевый потенциал. При потенциалах, менее негативных по отношению к равновесному калиевому потенциалу, выходящий ток или очень мал, или полностью отсутствует.

Ток через мембрану определяется током через каждый конкретный канал, общим количеством каналов (N) и вероятностью того, что данный канал откроется при воздействии (P):

$$I = i \times P \times N$$

На 1 мкм² содержится от 1-50 каналов Na, с расстоянием между ними 140 нм. Диаметр молекулы канала 8 нм, просвет открытого канала – 0,5 нм. В течение 1 мс открытого канала через канал проходит 1 пА тока, перенося заряд 10⁻¹⁵ Кл, что достаточно для смещения МПП на 100 мВ и переноса 6000 ионов Na⁺.

В нервных клетках на 1000 калиевых каналов приходится всего 20-30 натриевых. Значение мембранного потенциала покоя (E_m) зависит от вклада открытых каналов для каждого иона – K⁺, Na⁺, Cl⁻ и работы насоса. Поскольку в условиях равновесия калиевый ток через мембрану равен 0, то E_m=E_к. Но если открыто много каналов для разных ионов, то:

$$E_m = \frac{g_K \times E_K + g_{Na} \times E_{Na} + g_{Cl} \times E_{Cl}}{g_K \times g_{Na} \times g_{Cl}},$$

где E_m – мембранный потенциал;

g_{Na, K, Cl} – проводимость канала.

Проницаемость канала определяется особенностями прохождения ионов через канал. Это связано с простой диффузией и взаимодействием ионов с белками ионного канала при прохождении через него. Модели, описывающие ионную проницаемость по данному механизму, называются моделями Эйринга.

Транспортные белки обладают высокой *избирательной проницаемостью* для ионов, особенно для K⁺, Na⁺, Cl⁻. Было рассчитано, что в изолированном гигантском аксоне кальмара соотношение проницаемостей P_{K+} : P_{Na+} : P_{Cl-} относительно калия для некоторых ионов можно представить как 1 : 0,04 : 0,45.

По строению все ионные каналы похожи друг на друга, состоят из разного количества субъединиц, каждая из которых состоит из повторяющихся доменов, которые в свою очередь состоят из шести спиральных сегментов, пронизывающих мембрану. Эта структура сворачивается с образованием поры канала за счет наружных аминокислотных петель между 5 и 6 сегментами. Сенсор располагается в четвертом сегменте. Возможно, что все каналы произошли от одного источника – калиевого или кальциевого канала простейших.

Различают каналы неуправляемые – безворотные или каналы утечки и управляемые – одноворотные или двуворотные. Управляемые каналы могут быть потенциалчувствительными, лигандчувствительными или механочувствительными (рис. 20).

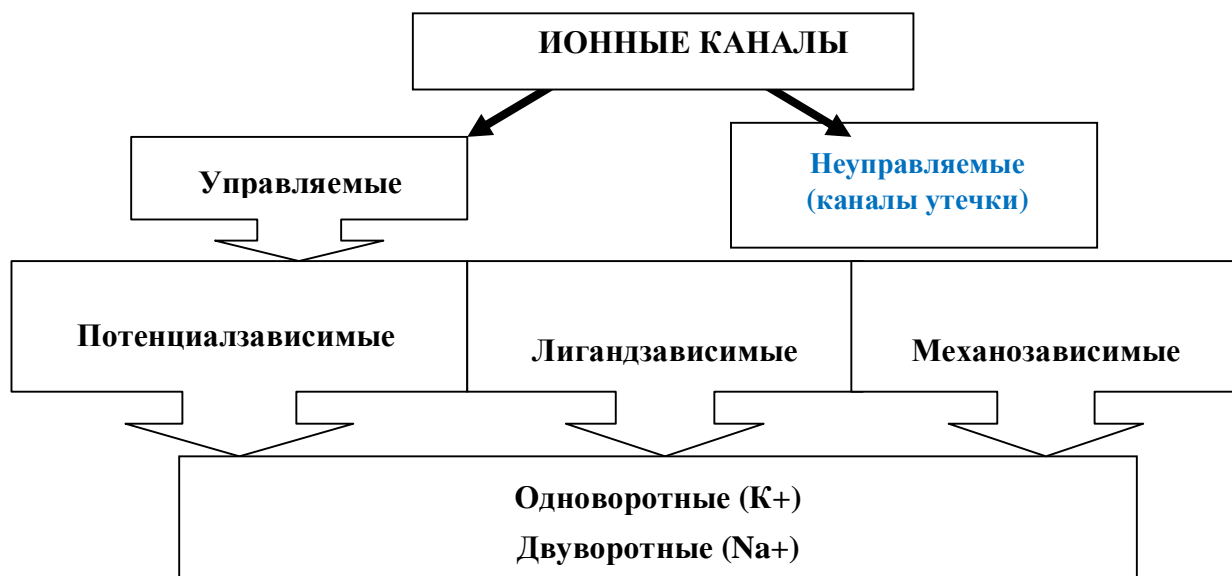


Рис. 20. Типы ионных каналов. Лигандзависимые - лигандом является либо внешний фактор, либо вторичный мессенджер, либо метаболический фактор внутренней среды, 5 – механочувствительные (стреч-каналы).

Ионные **потенциалзависимые каналы** - это ионные каналы, которые открываются и закрываются в ответ на изменение мембранного потенциала, например, натриевые каналы, кальциевые каналы. Потенциалзависимые каналы устроены таким образом, что интегральный белок канальной структуры образует пору в мембране (рис. 21). В канале выделяют внутреннее и наружное устье и пору, которая с помощью воротного механизма может открываться и закрываться. Гидрофильные аминокислоты выстилают стенки поры, а гидрофобные - контактируют с липидной фазой мембраны. В канале имеются селективный фильтр, обеспечивающий специфичность канала, и сенсор градиента электрического потенциала на мембране.

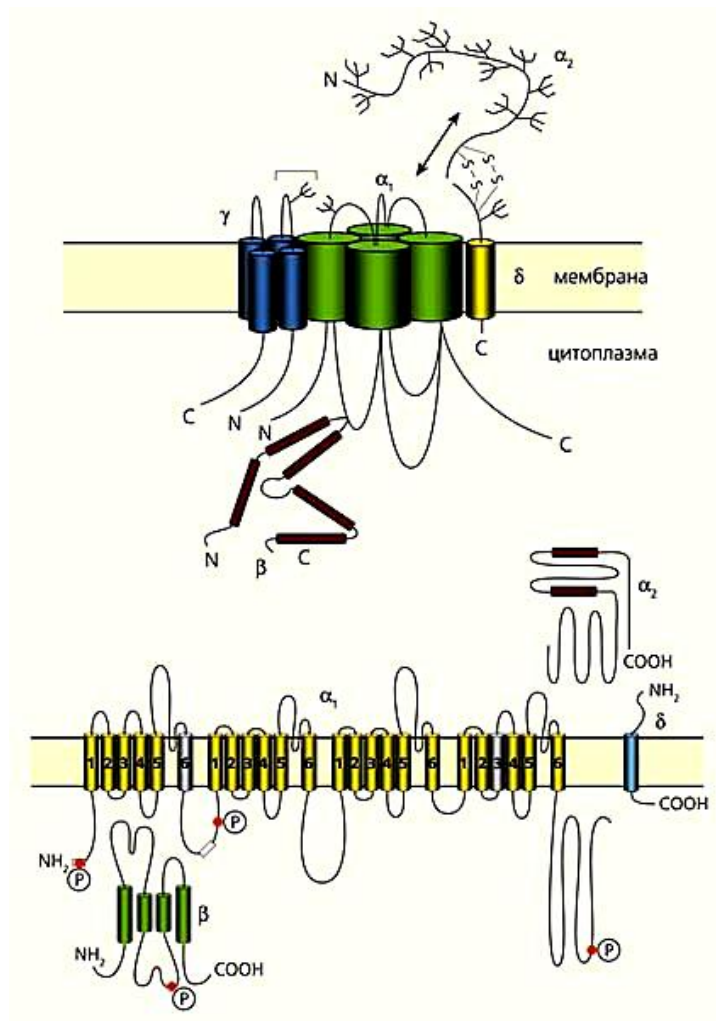


Рис. 21. Модель, отражающая взаимодействие субъединиц потенциалуправляемого кальциевого канала (вверху), и его доменная структура. Этот белок-канал построен из пяти субъединиц (α_1 , α_2 , β , γ и δ), три из которых - α_1 , γ и δ - прошивают плазматическую мембрану, причем их N- и C-концы расположены в цитоплазме. β -субъединица полностью находится в цитозольном пространстве, а α_2 -субъединица, взаимодействующая через S-S-мостики с δ -субъединицей, выступает над наружной стороной мембраны. Все субъединицы, за исключением δ , состоят из нескольких доменов, соединенных между собой петлями. В виде цилиндров изображены α -спиральные участки субъединиц; места фосфорилирования (P) аминокислотных остатков показаны красным цветом.

Селективный фильтр канала включает в себя кольцо кислородных атомов, способных осуществлять дегидратацию ионов. Селективные свойства канала определяются последовательностью аминокислот, входящих в состав фильтра. Открывание и закрывание воротного механизма каналов является результатом конформационных изменений в белке.

Воротный механизм — это группа атомов в молекуле канала, несущая электрический заряд и способная к локальным смещениям (конформациям) внутри молекулы канала в ответ на действие электрического поля. Перемещающиеся группировки, именуемые «воротными системами», в зависимости от своего местоположения либо перекрывают просвет ионной поры, то есть запирают (инактивируют) канал, либо открывают просвет поры. Причем в канале сосуществуют два «воротных» механизма, действующие в противоположном направлении. В покое, когда канал закрыт, одни «ворота» (активационные) закрыты, а инактивационные — открыты. При действии раздражающего электрического стимула (деполяризации) обе воротные заряженные группировки смещаются в канале почти одновременно, но в противоположном направлении. Поскольку инактивационные ворота смещаются более медленно, канал успевает сначала активироваться (открыться), а затем — инактивироваться (закрыться). Присутствие двух типов «ворот» в составе канала обеспечивает возможность саморегуляции работы канала.

При открывании ионного канала регистрируется резкое возрастание электрического тока через мембрану. Проницаемость каналов составляет от 10^6 до 10^8 ионов в секунду, что на три порядка выше, чем транспорт ионов, катализируемый помпами и переносчиками, и на 11 порядков выше, чем простая диффузия ионов через мембрану. Отличительной особенностью ионных каналов является то, что в открытом состоянии они катализируют относительно постоянный поток ионов в одном направлении при конкретном значении мембранного потенциала и в определенной ионной среде. Односторонняя проницаемость - еще одна особенность транспорта ионов через каналы. В процессе транспорта через канал происходит взаимодействие иона с белком, поэтому передвижение ионов по каналам отличается от их транспорта через водные поры, в которых эти взаимодействия минимальны. Проводимость канала зависит от заполнения ионами участков на входе и выходе. Выход иона из канала облегчается при появлении на входе канала другого иона такого же знака, из-за их электростатического отталкивания. Однако при высоких концентрациях электролита может происходить насыщение проводимости канала из-за заполнения ионами его входа и выхода и, как следствие, блокировка канала. В процессе передвижения иона через канал молекулы воды гидратной оболочки иона замещаются на полярные группы в полости канала. Характер взаимодействия иона с молекулярными группами канала соответствует профилю потенциальной энергии иона в канале, представляющему ряд потенциальных ям и барьеров. Следует отметить, что каждый ион достаточно долго (по сравнению со временем тепловых колебаний) задерживается в потенциальной яме. Другой ион не может

попасть в занятую потенциальную яму из-за электростатического взаимодействия с уже находящимся там ионом. Поэтому перескок возможен только в пустую яму. Перескоки между ямами происходят под действием тепловых флуктуаций и зависят от напряженности электрического поля. Поскольку увеличение свободной энергии иона при дегидратации с избытком компенсируется энергией его взаимодействия с полярными группами канала, то общая энергия иона снижается, что облегчает его прохождение через канал. Наличие в центре канала полярных групп и фиксированных отрицательных зарядов приводит к снижению энергетического барьера для перехода катионов из раствора в канал.

Построена физико-математическая модель кинетики воротного механизма ионных каналов. Согласно модели, воротные частицы подвергаются действию следующих сил: 1) детерминированной силе трения, определяющей взаимодействие частиц с окружающим раствором (средой); 2) детерминированной потенциальной силе, обусловленной строением поры и ее конформационным состоянием, зависящим от трансмембранного потенциала, и определяющей движение частиц, преодолевающих потенциальные барьеры при переходе из закрытого состояния канала в открытое и наоборот; 3) детерминированной силе взаимодействия воды с гидрофобными участками поры и 4) случайной силе тепловых флуктуаций. В основе модели лежит подход, в котором подвижные части трансмембранных сегментов канального белка, формирующих пору, рассматриваются как воротные макрочастицы, находящиеся под воздействием тепловых флуктуаций со стороны окружающего раствора в детерминированном поле сил. Динамика таких частиц обычно описывается уравнением Ланжевена.

Механизм действия потенциалзависимых каналов изучают в системе *фиксации потенциала (voltage clamp)*. Впервые разработали этот метод А.Л. Ходжкин, А.Ф. Хаксли и Б. Катц, когда ввели в волокно гигантского аксона кальмара вдоль оси два электрода, один из которых служил для регистрации мембранного потенциала, а второй – для подачи импульсов стимулирующего тока. Электрическое состояние мембраны можно описать обыкновенным дифференциальным уравнением для общего тока, текущего в покое через мембрану:

$$I_m = I_i + C_m \cdot dV_m / dt,$$

где I_i – трансмембранный ионный ток, который является простой функцией проводимости мембраны (g_m) и напряжения (ΔV_m).

Если V_m задать равным константе, то емкостной ток $C_m \cdot dV_m / dt$ становится равным нулю. При этом I_m становится равным I_i , т.е. ионный ток оказывается выведенным во внешнюю измерительную цепь. Технически это достигалось очень просто. К мембране

подключался управляемый источник напряжения, способный за короткое время изменить мембранный потенциал до нового заданного постоянного значения (быстро перезарядить мембранную емкость). Как только достигалось это фиксированное значение, емкостной ток становился равным нулю, а I_m равным I_i .

Метод фиксации потенциала позволяет зарегистрировать ионные токи, разделить на компоненты и измерить вольтамперные характеристики отдельных элементов ионной проводимости мембраны. В данном методе используют электронную систему с обратной связью, которая обеспечивает автоматическое поддержание мембранного потенциала (рис. 22).

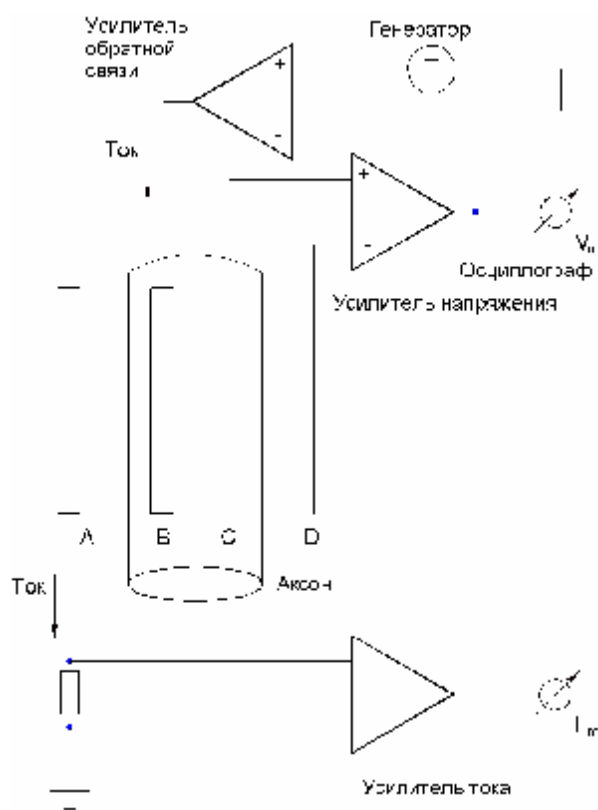


Рис. 22. Схема фиксации напряжения в опытах на аксонах кальмара.

A, B, C, D – электроды.

Технически фиксация потенциала осуществляется следующим образом. Электроды C и D связаны с входом усилителя напряжения, а соединенный с ним осциллограф регистрирует мембранный потенциал. С помощью электронной схемы с обратной связью этот потенциал можно длительное время фиксировать на любом уровне путем пропускания тока необходимой величины между электродами A и B, поэтому он называется поддерживающим потенциалом (holding potential). При помощи генератора

прямоугольных импульсов электрического тока на участке мембраны его можно смещать до некоторой новой величины и удерживать на этом уровне также с помощью электронной схемы с обратной связью. Ток, протекающий через этот участок мембраны при поддерживаемом потенциале или под влиянием приложенного напряжения, измеряют отдельным усилителем тока, который также подсоединен к осциллографу. Эта характерная для экспериментов на аксонах схема используется и в настоящее время. Именно А.Л. Ходжкин, А.Ф. Хаксли и Б. Катц с ее помощью описали ионные токи гигантского аксона кальмара, а затем Б. Франкенхаузер (B. Frankenhaeuser) применил этот метод к перехвату Ранвье, обнаружив некоторые несущественные отличия его токов по сравнению с токами у гигантских аксонов.

При помощи усилителя-регулятора внутриклеточный потенциал сравнивают с управляющим потенциалом. Любое отклонение мембранного потенциала от управляющего усиливается и на выходе усилителя возникает управляющий ток. Этот ток течет через электроды, расположенные по разные стороны мембраны в таком направлении, что мембранный потенциал вновь становится равным управляющему. Такое автоматическое согласование происходит за долю миллисекунды после того, как задается ступенчатый управляющий потенциал. Когда в ответ на такую ступенчатую деполяризацию открываются натриевые (или какие-либо другие) каналы, соответствующие ионы входят в аксон по электрохимическому градиенту и переносят с собой электрические заряды. Эти входящие заряды стремятся сдвинуть мембранный потенциал в положительном направлении, однако малейшее отклонение от управляющего потенциала немедленно компенсируется в результате удаления из клеток избыточных зарядов с помощью усилителя-регулятора. При этом записывается тот ток, который подается усилителем для поддержания мембранного потенциала на необходимом уровне, и этот ток в точности равен ионному току, протекающему через мембрану.

Если мембранный потенциал поддерживать на уровне потенциала покоя, натриевый ток практически отсутствует, что означает, что натриевые каналы закрыты. Если сдвинуть мембранный потенциал в положительную сторону и удерживать его на постоянном уровне, то потенциалзависимые натриевые каналы откроются и ионы натрия начнут передвигаться в клетку по градиенту концентрации. Этот натриевый ток достигнет максимума примерно через 0,5 мс после того, как установится новое значение потенциала. Через несколько миллисекунд ток падает почти до нуля, даже если клеточная мембрана остается деполяризованной, что означает, что каналы, открывшиеся на какой-то момент, снова закрылись. Закрывшись, каналы переходят в инактивированное состояние,

отличающееся от первоначального закрытого состояния, при котором они были способны открыться в ответ на деполяризацию мембраны. Каналы остаются инактивированными до тех пор, пока мембранный потенциал не вернется к исходному отрицательному значению и не закончится восстановительный период длительностью в несколько миллисекунд.

Для понимания механизма удобно рассмотреть электрическую модель аксона, описанную А.Л. Ходжкиным, А.Ф. Хаксли и Б. Катцем. На рис. 23 сопротивление r представляет собой сопротивление осевого электрода, который связывает разные участки мембраны. Каждый элемент мембраны, представленный на рис. 23, содержит емкость мембраны C , калиевую и натриевую батареи E_K и E_{Na} и сопротивления R_K и R_{Na} . Сопротивление утечки R_l и батарея E_l введены для учета движения ионов, проходящих по каналам, которые не изменяются во время активности. Однако ток утечки мал, и в первом приближении его можно не принимать во внимание. Зная величину калиевого и натриевого тока, нетрудно оценить проводимость мембраны для каждого иона. При подпороговых значениях деполяризации выходящий калиевый ток больше входящего натриевого, что препятствует достижению мембранным потенциалом порога. Как только входящий Na^+ -ток хотя бы слегка превысит выходящий K^+ -ток, мембранный потенциал неизбежно начнет смещаться регенеративным образом в сторону E_{Na} .

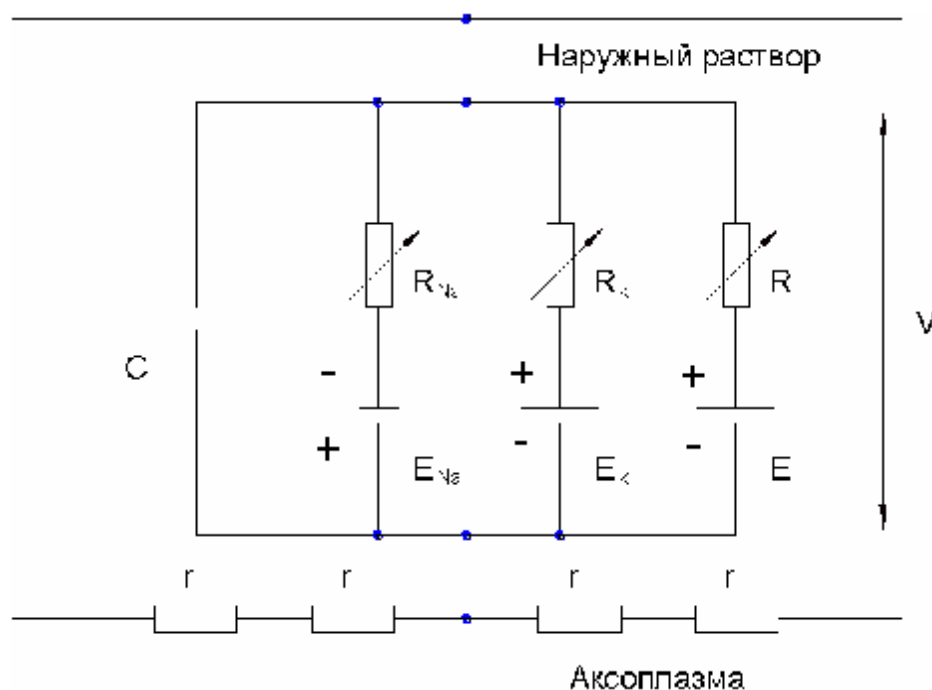


Рис. 23. Эквивалентная электрическая схема элемента возбудимой мембраны аксона: r – сопротивление осевого электрода, введенного в аксон, C – емкость мембраны, E_K и E_{Na} – калиевая и натриевая батареи, R_K и R_{Na} – сопротивления K^+ и Na^+ каналов, R_l – сопротивление утечки и E_l – батарея утечки.

При изучении трансмембранного тока было замечено, что наблюдаются небольшие непредсказуемые колебания тока, которые, видимо, отражают открывание и закрывание отдельных каналов. При регистрации токов в очень малых участках мембраны было обнаружено, что канал открывается по принципу "все или ничего". Открытые каналы обладают одинаковой проводимостью, но открываются и закрываются независимо друг от друга, поэтому суммарный ток через мембрану всей клетки с ее многочисленными каналами определяется не степенью открытости каналов, а вероятностью быть открытым для каждого отдельного канала.

Предполагают, что потенциалзависимые каналы состоят из белков, которые могут принимать несколько альтернативных конформаций, каждая из которых стабильна при воздействии небольших сил, но может смениться другой конформацией, если белок подвергнется достаточно сильному удару в результате теплового движения окружающих молекул. Для того, чтобы белок прошел через ряд нестабильных промежуточных конформаций, отделяющих одну квазистабильную конформацию от другой, требуется энергия. Чем выше этот энергетический барьер, тем реже осуществляется переход. Каналы будут очень редко принимать квазистабильные конформации с высокой энергией, обычно они находятся в низкоэнергетических состояниях. Если альтернативные конформации различаются распределением заряда, то при изменении электрического поля будут изменяться относительные энергии этих конформаций, а вместе с тем и вероятность принятия каналом той или иной конформации.

Большинство потенциалчувствительных ионных каналов высоко специфичны (проводят только один ион). Все слышали про незадачливого хозяина, который выпилил в заборе два отверстия большое для собаки и маленькое для кошки. Но белковые ионные каналы в мембранах нейронов и других клеток устроены именно так: отдельно для Na^+ и отдельно для K^+ , хотя ионный радиус натрия 0,095 нм, а калия 0,133 нм. Причем каналы обладают и большой проводимостью, и большой избирательностью (калиевый пропускает в секунду 106–108 K^+ , но лишь один чужак Na^+ проскочит на 10 000 своих). Так почему же «кошка»-натрий не пробегает там, где проходит «собака»-калий? В принципе, ответ известен; ионы гидратированы, то есть, заключены в «шубы» из молекул воды, размер и структура которых у каждого типа ионов свои. А геометрия и химические свойства каналов таковы, что позволяют «раздеться» и после этого пройти только определенным ионам. Узкая часть K^+ канала диаметром 0,3 и длиной 1,2 нм имеет достаточно жесткую конструкцию; она выстлана карбонильными группами, кислород которых служит для K^+ заменителем кислородного атома в молекуле воды, когда ионы избавляются от гидратной

оболочки, – для калия этот процесс идет почти без затрат энергии. Для более мелких ионов Na^+ , с которыми H_2O связана прочнее, он будет энергетически невыгодным.

Интересным примером специфического канала служит семейство мембранных каналообразующих белков, обеспечивающих транспорт воды через мембрану. Открыты аквапорины были всего лишь 10 лет назад, и с тех пор исследователи со всего мира пристально изучают их структуру и функции (рис. 24). Аквапорины в высшей степени селективны для воды, они не пропускают даже ион гидроксония (H_3O^+). В то же время некоторые представители семейства аквапоринов помимо воды способны пропускать небольшие нейтральные молекулы, такие как глицерин или мочевины, в связи с чем и получили название акваглицеропоринов. В настоящее время идентифицировано 10 разновидностей аквапоринов у человека. Все они имеют схожую структуру и распределены между различными тканями организма.

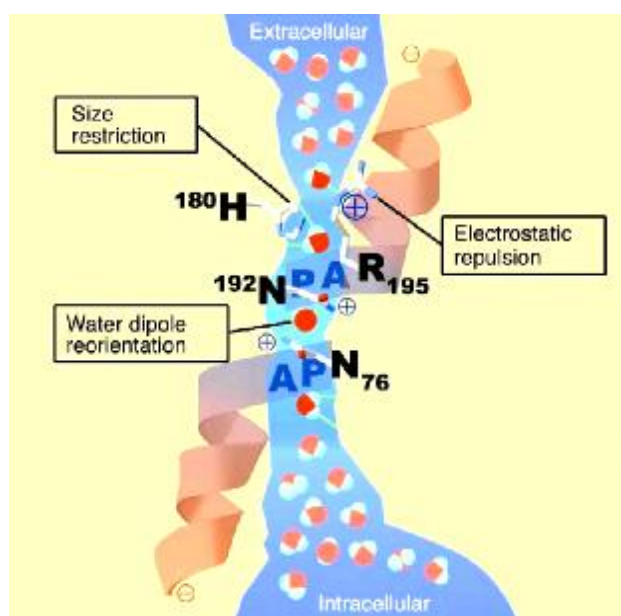


Рис. 24. Схематическая архитектура канала в субъединице АП1 (Kozono D., Yasui M., King L.S., Agre P., 2002) Водная пора показана голубым цветом. Четыре молекулы воды, проходящие через канал и взаимодействующие с остатками аминокислот, выделены яркими цветами.

Белок аквапорин состоит из четырех субъединиц, каждая из которых имеет индивидуальную водную пору. В первичной структуре субъединицы одного из таких белков, аквапорина 1 (АП1), обнаружены две повторяющиеся последовательности. Одна такая последовательность представляет собой три спиральных участка с короткой петлей, которые пронизывают мембрану и образуют одну половину поры. Две половинки поры ориентированы в мембране на 180° относительно друг друга и, встречаясь в центре бисюля, образуют полноценную пору. Концы цепи аквапорина расположены внутри

клетки. Теоретически представляется, что протоны (H^+) тоже могли бы проходить через канал за счет временного взаимодействия с молекулами воды, связанными водородными связями. Однако особенности строения канала АП1 препятствуют этому. Первый барьер для протона локализуется в самом узком участке АП1. В этом месте канал образован такими аминокислотами, как аргинин, фенилаланин и гистидин. Диаметр поры в этом участке составляет 2.8 ангстрема, что примерно соответствует размерам молекулы воды, а остаток аргинина несет положительный заряд, отталкивающий протонированную воду (H_3O^+).

Лигандзависимые каналы - ионные каналы, расположенные в постсинаптической мембране в нервно-мышечных соединениях. Связывание медиатора с этими каналами с наружной стороны мембраны вызывает изменения в их конформации - каналы открываются, пропуская через мембрану ионы и тем самым изменяя мембранный потенциал. В отличие от потенциалзависимых каналов, ответственных за возникновение потенциала действия и выделение медиатора, лигандзависимые каналы относительно нечувствительны к изменению мембранного потенциала и поэтому не способны к самоусиливающемуся возбуждению типа "все или ничего". Вместо этого они генерируют электрический сигнал, сила которого зависит от интенсивности и продолжительности внешнего химического сигнала, т.е. от того, сколько медиатора выводится в синаптическую щель и как долго он там остается. Рецепторы, связанные с каналами, специфичны, подобно ферментам, лишь по отношению к определенным лигандам и поэтому отвечают на воздействие только одного медиатора - того, который высвобождается из пресинаптического окончания, другие медиаторы не оказывают никакого эффекта. Для каналов разного типа характерна различная ионная специфичность: одни могут избирательно пропускать ионы натрия, другие - калия и т.д., могут быть и такие, которые мало избирательны по отношению к различным катионам, но не пропускают анионы. Однако ионная специфичность постоянна для данной мембраны: обычно все каналы в синапсе обладают одной и той же избирательностью.

Из всех лигандзависимых ионных каналов наиболее изучен никотиновый ацетилхолиновый рецептор. Это молекула массой 250 000 дальтон представляет собой пентамерный гликопротеин, состоящий из трансмембранных полипептидов четырех разных типов, каждый из которых кодируется отдельным геном, хотя они все во многом сходны по последовательности аминокислот, что говорит о происхождении их генов от общего гена-предшественника. Два из пяти полипептидов пентамера идентичны и образуют места связывания ацетилхолина. Две молекулы ацетилхолина присоединяются

к пентамерному комплексу и вызывают конформационное изменение, приводящее к открытию канала. Пентамер объединяет две (по 461 аминокислоте) альфа-субъединицы, одну (493 аминокислоты) бета-субъединицу, одну (506 аминокислот) гамма-субъединицу и одну (522 аминокислоты) дельта-субъединицу. Каждая из субъединиц образует 4 трансмембранных сегмента, а все вместе 5 субъединиц компактно собраны вокруг центральной ионной поры. Когда лиганд, в данном случае ацетилхолин (АХ), присоединяется к сайтам связывания двух альфа-субъединиц, канал открывается и одновалентные катионы двигаются по электрохимическому градиенту. Свое название никотиновый ацетилхолиновый рецептор получил из-за его сродства к никотину. Никотин связывается непосредственно с α - субъединицей рецептора и стимулирует открывание неспецифического катионного канала, сформированного различными комбинациями α , β , γ , δ и ϵ субъединиц. Эти рецепторы являются неспецифическими ионными каналами, которые проводят Na^+ и K^+ . Антагонистом для никотиновых рецепторов в мышцах является тубокурарин. Никотиновые рецепторы являются членами суперсемейства мембранных белков, включающих рецепторы серотонина (5-гидрокситриптамин, 5-НТ), рецепторы для глицина и рецепторы ГАМК (гамма-аминомасляной кислоты). Ацетилхолин-зависимый канал, подобно потенциал-зависимому натриевому каналу, имеет несколько дискретных альтернативных конформаций и в присутствии лиганда переходит из одного состояния в другое, внезапно открываясь или закрываясь. Связав ацетилхолин и перейдя в открытое состояние, канал остается некоторое время открытым, это время варьирует случайным образом и составляет в среднем 1 мс. При длительном воздействии ацетилхолина (что в нормальных условиях случается редко) канал переходит в состояние десенсibilизации, аналогичное инактивированному состоянию натриевых потенциалзависимых каналов. В открытой конформации канал имеет просвет, сужающийся от наружного конца диаметром 2,5 нм к внутреннему концу диаметром 0,65 нм. Заряды распределены по стенке канала таким образом, что отрицательные ионы не проходят через него, а положительные могут проникать в клетку. Ток создают в основном ионы натрия и калия, а также некоторое количество ионов кальция. Так как в отношении катионов заметной избирательности нет, вклад каждого иона в каналный ток зависит от его концентрации и электрохимической движущей силы. Открытие каналов в ацетилхолиновых рецепторах приводит к значительному притоку катионов в клетку и в результате к деполяризации мембраны. Никотиновые холинергические рецепторы подразделяют на два типа- мышечный и нейрональный. Оба типа рецептора стимулируют токи Na^+ , K^+ и Ca^{2+} за счет того, что формируют ионные каналы с электропроводимостью

50 pS (мышечный) и 15-40 pS (нейрональный), однако эти каналы существенно различаются по структуре: мышечный состоит из (альфа1)² бета1 эpsilon , дельта (мышцы эмбриона или электрический орган ската) нейрональный - из альфа3бета2-субъединиц. Полипептидная цепь каждой из субъединиц 4 раза пронизывает мембрану. Альфа-субъединица, связывающая ацетилхолин, имеет 7, а бета-субъединица - 4 изоформы. Ацетилхолиновый никотиновый рецептор (Ah-рецептор), существует в неактивном состоянии в цитоплазме в комплексе с рядом белков, в том числе с $\rho 60$ src, которые высвобождаются при связывании рецептора с лигандом и фосфорилируют клеточные белки, индуцируя ряд генов. Белковый комплекс лиганд-(Ah-p)-pТБ взаимодействует с участком ДНК, называемым ксенобиотик чувствительный элемент (КЧЭ) (xenobiotic responsible element) и являющимся энхансером. В результате взаимодействия изменяется структура определенных участков ДНК и транскрипционные факторы получают доступ к началу считывания ряда структурных генов.

Ацетилхолиновый мускариновый рецептор относится к классу серпентиновых рецепторов, осуществляющих передачу сигнала через гетеротримерные G- белки. Семейство мускариновых рецепторов впервые было обнаружено благодаря их способности связывать алкалоид мускарин. Мускариновые рецепторы были изначально разделены фармакологически на M1 и M2 типы, на основании различия в их чувствительности к пирензепину, оказавшемуся селективным антагонистом M1 рецептора. Показано, что стимуляция M1 рецептора активирует фосфолипазу C (PLC), приводя к высвобождению вторичного мессенджера инозитол 3-фосфата и последующей мобилизации внутриклеточного кальция. Показано также, что ингибирование M2 рецептора подавляет активность аденилатциклазы, приводя к уменьшению внутриклеточного уровня cAMP . Мускариновые рецепторы можно разбить на подтипы в соответствии с их способностью мобилизовать внутриклеточный кальций (m1,m3,m5) или ингибировать аденилатциклазу (m2,m). Подтипы m1, m3 и m5 рецептора активируют фосфолипазы A2, C и D, тирозинкиназу и вход кальция. Подтипы M2, M также увеличивают активность фосфолипазы A2. В передаче сигнала с b-адренергического рецептора G белки.

Низкоселективные катионные каналы, активируемые циклическими нуклеотидами с внутренней стороны мембраны, впервые были обнаружены в палочках сетчатки (Fesenko et al.,1985), а затем их существование было показано в колбочках сетчатки. В фоторецепторных клетках эти каналы активируются под действием цГМФ, а в обонятельных нейронах сродство к обоим циклическим нуклеотидам примерно одинаково. По данным Колесникова и соавт. (1990), полученным в опытах на

обонятельных нейронах, каналы данного типа имеют слабовыраженную селективность в ряду одновалентных катионов (Li , Na $\text{K} > \text{Rb} > \text{Cs}$) и несколько более селективны по отношению к Ca^{2+} ($\text{Ca} > \text{Na} > \text{Mg} > \text{Ba}$). В обонятельных нейронах цАМФ/цГМФ-чувствительные каналы подавляются 1-цис-дилтиаземом (10-5-10-4М) и аналогом амилорида 3',4'-дихлорбензамилом (10-6-10-5М). Чувствительные к циклическим нуклеотидам каналы также относятся к типу лигандактивируемых каналов. Они открываются при непосредственном связывании с ними циклических нуклеотидов - цГМФ (фоторецепторы) или цАМФ/цГМФ (обонятельные нейроны), без участия протеинкиназ. Каналы образованы одним полипептидом с молекулярной массой около 75 кДа. Анализ аминокислотных последовательностей показывает, что в молекуле чувствительных к циклическим нуклеотидам каналов имеется шесть трансмембранных доменов и по крайней мере один участок гликозилирования с наружной стороны мембраны. Первичная структура каналов данного типа не имеет существенного сходства с каналами других типов и с зависимыми от циклических нуклеотидов протеинкиназами. В их молекуле есть фрагмент, похожий на сенсор потенциала в потенциалчувствительных каналах, однако он, возможно, является "рудиментом", поскольку каналы данного типа не управляются потенциалом. В функционально активном состоянии цАМФ/цГМФ-чувствительные каналы представляют собой, по всей вероятности, гомоолигомер, образованный четырьмя или пятью 75 кДа-полипептидами. Исходя из структурных данных, активируемые циклическими нуклеотидами каналы можно выделить в отдельное семейство катионных каналов.

Механозависимые каналы. Способность клеток трансформировать механическое воздействие в электрический и химический сигналы (механотрансдукция) обеспечивает восприятие звука и вибрации, гравитации, ускорения, скорости, давления, прикосновения, изменения формы и объема клетки, ее местоположения относительно внеклеточного матрикса и окружающих клеток. Эта способность лежит в основе таких разнообразных явлений, как слух и чувство равновесия, тактильная чувствительность, проприорецепция, осморегуляция. Системы управления механочувствительным каналом разнообразны. В одной из них управление механотрансдукционным каналом осуществляется латеральным натяжением в клеточной мембране (рис. 25). Предполагается, что во второй системе механотрансдукционный канал управляется молекулярными мостиками, которые связаны с одной стороны с цитоскелетом, а с другой – с внеклеточными структурами (рис. 26). Смещение любой из этих структур, вызванное механическим стимулом, передается через молекулярные мостики на канал, изменяя вероятность его нахождения в открытом

состоянии. Чувствительность такого молекулярного комплекса может изменяться молекулярным мотором, который регулирует натяжение связанных с каналом молекулярных мостиков.

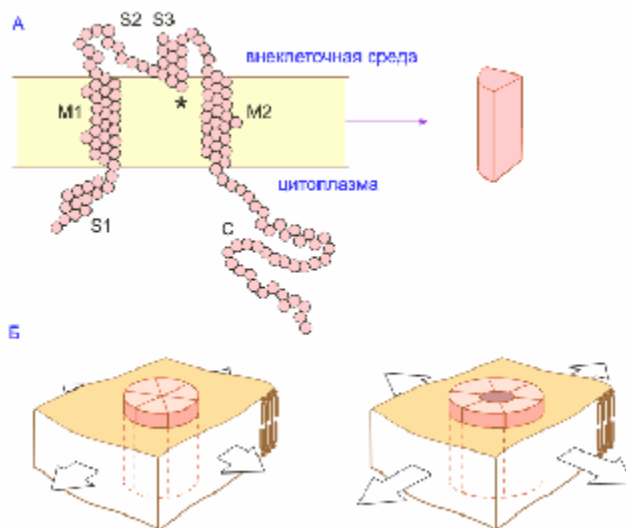


Рис. 25. А - ориентация белка механочувствительного канала в мембране. Критичный глутаминовый остаток в 56-м положении аминокислотной цепи обозначен звездочкой. Б - 6 субъединиц механочувствительного группируются, образуя компактный цилиндр, пронизывающий мембрану. Когда мембрана напряжена в центре цилиндра открывается гидрофильная пора (Sukharev et al., 1997).

В последние годы накапливаются данные о том, что существуют иные механизмы, лежащие в основе восприятия механического стимула. Так, в механотрансдукции с участием белков клеточной адгезии – интегринов на начальном этапе требуется высокоспецифичное лиганд-рецепторное взаимодействие с внеклеточным матриксом. В механочувствительных первичных ресничках ключевым моментом для запуска механопреобразования является взаимодействие рецепторного белка полицистина-1 с канальным белком полицистином-2.

Аутокринный механизм механопреобразования с участием растворенных лигандов (факторов роста) выявлен в клетках эпителия легких млекопитающих.

Одним из интересных примеров механочувствительных каналов являются каналы сердечных клеток (МСК). Было показано, что суммарный ток, протекающий через мембрану кардиомиоцита, увеличивается по мере растяжения клетки и исчезает при возвращении ее длины к исходной. Выяснилось, что при растяжении клетки за ток ответственны ионы натрия, входящие в нее через механочувствительные каналы (ионы гадолиния – ингибитор механочувствительных каналов мембраны кардиомиоцитов).

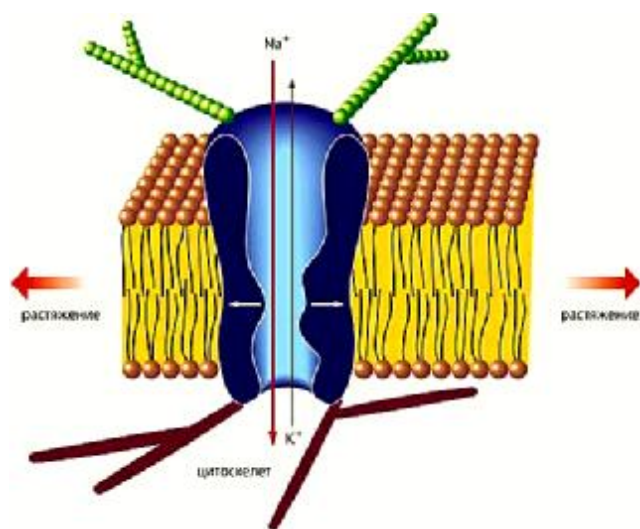


Рис. 26. Модель механочувствительного ионного канала в клеточной мембране
(Камкин А.Г., Киселева И.С., Ярыгин В.Н., 2002).

В исследованиях было доказано, что не только кардиомиоциты, но и фибробласты – немышечные электроневоозбудимые клетки генерируют механоиндуцированные потенциалы (МИП), форма которых совершенно не похожа на форму потенциала действия кардиомиоцитов. Амплитуда МИП фибробластов либо соизмерима с величиной потенциала покоя кардиомиоцитов, либо значительно меньше его. Характерно, что МИП никогда не перескакивает через нулевое значение, т.е. в его форме отсутствует овершут. В одинаковых экспериментальных условиях механоиндуцированный потенциал фибробластов генерируется позднее, чем потенциал действия кардиомиоцитов: в сердце лягушки на 90 мс, крысы – на 10, человека – на 40 мс. По длительности МИП фибробластов совпадает со временем сокращения препарата. В нормальных физиологических условиях МИП фибробластов возникает в ответ на сокращения сердца. В период систолы фаза нарастания этого потенциала связана с активацией неселективных механочувствительных каналов, через которые в клетку поступают различные ионы, в том числе Ca^{2+} . Его амплитуда растет до тех пор, пока не начнется расслабление миокарда, ведущее к инактивации этих каналов. Нисходящую фазу МИП обуславливает, видимо, ток, который возникает за счет выхода из клетки K^+ через калиевые каналы, активируемые кальцием. Но возможно, эта фаза связана с инактивацией МСК. Фибробласты специфически, иначе, чем кардиомиоциты, реагируют и на растяжение ткани сердца. Дополнительное растяжение ткани спонтанно сокращающегося фрагмента правого предсердия вызывает сдвиг потенциала покоя в сторону гиперполяризации мембраны фибробласта, в то время как кардиомиоциты на растяжение реагируют деполяризацией.

Соответственно увеличивается и амплитуда МИП фибробластов, причем ее величина прямо связана со степенью гиперполяризации. Если растяжение устранить, потенциал покоя возвратится к исходной величине. Столь выраженная реакция фибробластов на растяжение свидетельствует об их участии в осуществлении механоэлектрической обратной связи преимущественно через высокопроницаемые контактные зоны мембран, содержащие кластеры специфических межклеточных каналов. Они резко снижают сопротивление мембраны соседствующих клеток и делают возможным их электрическое взаимодействие. Такие же каналы, но распределенные диффузно, существуют и в зоне контакта фибробластов с кардиомиоцитами. Изменение мембранного потенциала первых клеток может вызвать такой же отклик в соседних с ними кардиомиоцитах. Вокруг клеток водителя ритма в сердце образованы кольца из фибробластов. Именно их мембранный потенциал увеличивается по абсолютной величине и сдвигает потенциал покоя кардиомиоцитов. В результате такого смещения у клеток водителя ритма уменьшается частота возникновения потенциала действия, а значит, и частота сердечных сокращений. Таким образом, фибробласты сердца отвечают на механическую стимуляцию изменением ионных токов. Обусловлено это, предположительно, неселективной катионной проводимостью. Поскольку механочувствительные каналы фибробластов реагируют на направление приложенной силы (инактивируются растяжением и активируются сдавливанием), сокращающиеся в систоле кардиомиоциты действуют на лежащие между ними фибробласты как биологическое сдавливающее устройство. Итак, кардиомиоциты, а в еще большей степени фибробласты, эффективно преобразуют механическое раздражение в электрические ответы, причем работа первых клеток модулируется вторыми. В здоровом сердце растяжение кардиомиоцитов, приводящее к деполяризации их мембраны, и растяжение фибробластов, вызывающее гиперполяризацию, находятся в равновесии. При патологии же реакция на такое механическое раздражение выражена особенно сильно, но по-разному в тех и других клетках. Если величина гиперполяризации фибробластов больше, чем деполяризации кардиомиоцитов, сердечный ритм становится реже и даже может прекратиться. И наоборот, если преобладает последняя, начинается аритмия и может развиваться фибрилляция. Математическое моделирование полностью подтверждает такие выводы из экспериментальных данных.

Таким образом, избирательность ионных каналов обусловлена:

- Геометрией каналов (размер устья, селективного фильтра, отрицательный заряд на поверхности канала);
- Воротным механизмом каналов;

- Электрическим зарядом окружающих структур (потенциалчувствительные каналы) или лигандом, т.е. либо внутриклеточным метаболитом, либо внутриклеточным вторичным мессенджером либо внеклеточным лигандом, имеющим сродство к определенным рецепторам на мембране (хемочувствительные или лигандзависимые каналы), структурным изменением мембраны при растяжении (механочувствительные каналы).

Суммарная проницаемость мембраны определяется соотношением открытых и закрытых каналов. При регистрации токов в очень малых участках мембраны было обнаружено, что канал открывается по принципу "все или ничего". Открытые каналы обладают одинаковой проводимостью, поэтому проводимость одиночного открытого канала стабильна. Открываются и закрываются каналы независимо друг от друга, поэтому суммарный ток через мембрану всей клетки с ее многочисленными каналами определяется не степенью открытости каналов, а вероятностью быть открытым для каждого отдельного канала.

Для измерения токов одиночного канала был разработан специальный метод, который получил название *пэтч-кламп (patch-clamp)*. Метод пэтч-кламп позволяет осуществлять локальную (точечную) фиксацию мембранного потенциала и измерять токи через одиночные ионные каналы (рис. 27). На данный момент этот метод является мощным средством для исследования биомембран. Метод позволяет:

1. Проводить многие исследования в рамках классических электрофизиологических подходов;
2. Регистрировать токи и потенциалы от клеток очень малых размеров (3-10 мкм);
3. Регистрировать токи одиночных каналов амплитудой порядка пикоампер;
4. Исследовать действие лекарственных препаратов при быстром подведении их как к наружной, так и к внутренней стороне мембраны.

Метод пэтч-кламп был введен в исследовательскую практику Э.Неером и Б.Сакманом, когда в 1976 году ими была опубликована статья в журнале "Nature", которая называлась "Токи через одиночные каналы в мембране волокна денервированной мышцы лягушки". Это открыло путь для изучения на молекулярном уровне электрических свойств мембран и регуляции различных транспортных процессов. За разработку этого метода была присуждена Нобелевская премия в 1991 г. Э. Нейер и Б. Сакман.

Основой для создания метода послужило обнаружение факта, что при определённых условиях клеточная мембрана формирует очень плотный контакт с поверхностью кончика стеклянного микроэлектрода. При небольшом разрежении, создаваемом внутри пипетки,

между стеклом и мембранным фрагментом возникает контакт, имеющий гигаомное сопротивление. В результате образуется электрически изолированный участок мембраны, и шум регистрирующего сигнала уменьшается на несколько порядков. Так как контакт мембраны со стеклом очень прочен, то находящийся под кончиком электрода фрагмент надо либо изолировать от клетки, либо разрушить, и таким образом проникнуть внутрь клетки.

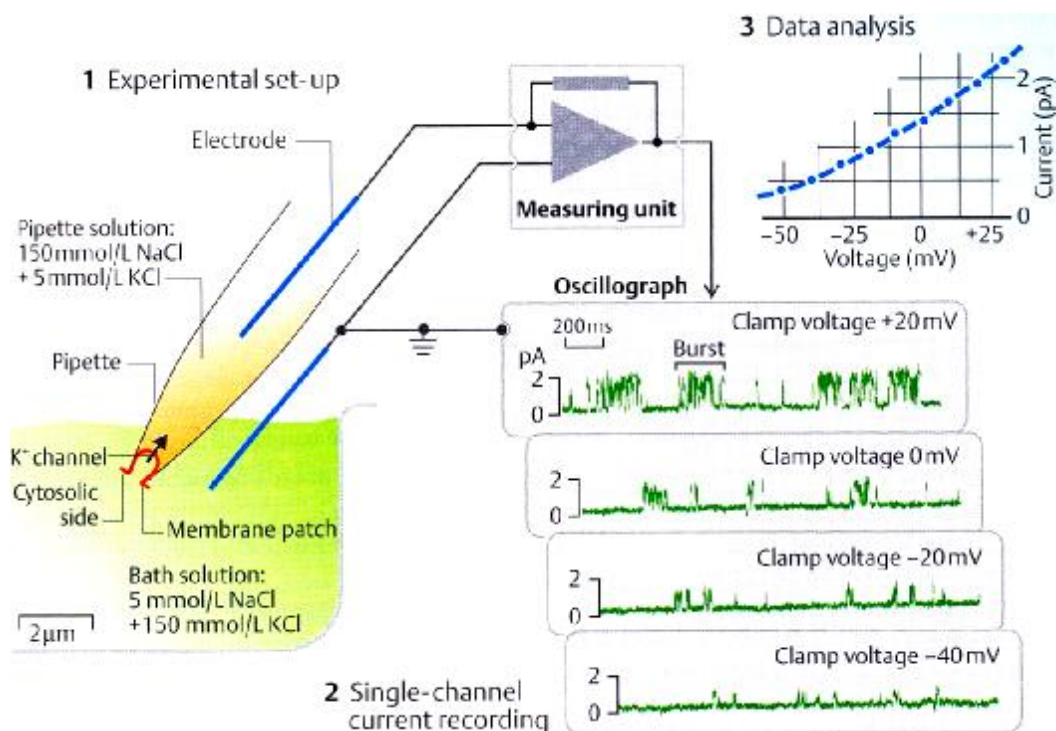


Рис. 27. Регистрация прямоугольных токовых сигналов при использовании петч-кламп метода (R. Greger). 1 – схема эксперимента; 2 – запись токов через одиночные каналы; 3 – математическая обработка данных (S. Silbermagl, 2002).

Существует несколько способов этого метода (рис. 28):

- *Cell attached*. Стеклопипетка (электрод) плотно контактирует с мембраной клетки – «контакт с клеткой». Между клеточной мембраной и стеклом пипетки создается сопротивление больше 10^9 Ом;
- *Inside out*. Отводя электрод, оттянуть участок мембраны и оторвать его – «внутренняя сторона наружу». Мембрана будет обращена к раствору, в котором находится клетка;
- *Whole-cell*. Увеличив присасывание, можно прорвать участок мембраны, расположенный внутри регистрирующего электрода, обеспечив контакт последнего с цитоплазмой – «целая клетка»;

- *Outside-out*. Оттянув электрод от клетки, сформировать из мембраны тонкую перемычку, а затем, после отделения этого участка, получить конфигурацию – «наружная сторона наружу».

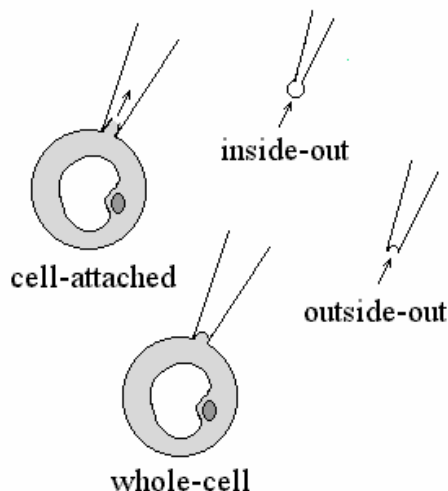


Рис. 28. Различные способы измерения ионных токов методом петч-кламп (Hedrich et. Fl., 1987)

Таким образом, при использовании петч-кламп метода происходит регистрация прямоугольных токовых сигналов, отражающих процессы открытия и закрытия одиночных ионных каналов.

Методом петч-кламп анализа было показано, что в состоянии покоя на мембране, в открытом состоянии находятся каналы, участвующие в формировании МПП. Это прежде всего каналы для K^+ , Na^+ , и СГ. Набор ионных каналов, обеспечивающих проводимость в состоянии покоя, различен в зависимости от вида клеток. Калиевую проводимость в покое могут обеспечивать Na^+ -активируемые калиевые и Ca^{2+} -активируемые калиевые каналы. Многие нервные клетки обладают так называемыми калиевыми каналами типа М, которые открыты при потенциале покоя и закрываются при участии внутриклеточных посредников. Показано, что активация 0,1 – 1% от общего числа потенциалзависимых калиевых каналов была бы достаточна, чтобы создать проводимость, сравнимую с проводимостью в покое. В формировании МПП также участвуют калиевые каналы утечки, открытые при нормальных значениях потенциала покоя и обеспечивающие ток утечки. Вклад в натриевую проводимость мембраны в покое вносят потенциалзависимые натриевые каналы. В некоторой степени вход Na^+ может происходить через калиевые каналы, для большинства из которых проницаемость для Na^+ составляет от 1 до 3% от

калиевой проницаемости. Кроме того, вход Na^+ происходит при работе вторичноактивных натрийзависимых транспортных систем.

В нервных и мышечных клетках широко распространены хлорные каналы семейства CLC (chloride channel), обеспечивающие проводимость для СГ в покое. Эти каналы участвуют в установлении внутриклеточной концентрации СГ, взаимодействуя с системами хлорного транспорта. Влияние кратковременного увеличения хлорной проницаемости может выражаться как в гиперполяризации, так и в деполяризации, в зависимости от того, положителен или отрицателен потенциал хлора по отношению к потенциал покоя. Это, в свою очередь, зависит от работы транспортного механизма, либо наполняющего клетку хлором, либо выводящего его наружу. Однако влияние хлора на мембранный потенциал обычно не велико, хотя и необходимо для поддержания электрической стабильности клетки.

Таким образом, открытие одних типов ионных каналов может происходить при изменении мембранного потенциала, других при связывании с лигандом. Диффузия ионов, участвующих в формировании МПП, а, следовательно, и ионная проводимость клеточной мембраны в состоянии покоя, обеспечивается различными селективными каналами, открытыми при нормальных значениях МПП.

Итак, в покое состояние наиболее важных для поддержания потенциала покоя возбудимых мембран описывается следующими положениями:

- 1) безворотные каналы открыты для K^+ и Na^+ и ионы диффундируют согласно электрохимическому градиенту;
- 2) Большая часть одноворотных K^+ -каналов закрыта;
- 3) Подавляющее большинство управляемых Na^+ -каналов закрыто.

Возникает вопрос:

Почему при непрекращающейся диффузии (утечки) ионов K^+ , и Na^+ не происходит выравнивания их концентрации и формирования динамического равновесия?

Ответ:

Существуют специальные насосные механизмы, поддерживающие градиент концентрации ионов, т.е. активный транспорт ионов против градиента их концентрации.

3.3. Роль Na^+K^+ - насоса в мембране при создании мембранного потенциала покоя возбудимых клеток

Неравенство концентраций ионов K^+ и Na^+ внутри и снаружи клетки (волокна) поддерживается специальным механизмом (т. Н. натриевым насосом), выталкивающим

ионы Na^+ из клетки и нагнетающим ионы K^+ в протоплазму, требующим затраты энергии, которая черпается клеткой в процессах обмена веществ. Работа таких механизмов обеспечивается, как правило, энергией, выделяемой при расщеплении аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Активный перенос Na^+ из клетки сопряжён с транспортом K^+ в обратном направлении и осуществляется особой ферментной системой – транспортной Na, K , - стимулируемой аденозинтрифосфатазой, локализованной в клеточной мембране. Последняя, гидролизуя АТФ, высвобождает энергию, которая и затрачивается на активный перенос катионов. Работа насоса в целом зависит от уровня метаболизма клетки. Na^+, K^+ - насос переносит из клетки ионы 3Na^+ , а вносит 2K^+ против градиента концентрации. В связи с этим перенос веществ через мембрану сопровождается изменением мембранного потенциала в среднем на 10 мВ, поэтому такой вид транспорта является электрогенным. Переносчик теряет сродство к Na^+ , но приобретает сродство к K^+ . В результате меняется конформация белка и K^+ пассивно вносится внутрь клетки.

Следовательно, для поддержания клетки в стабильном состоянии затрачивается метаболическая энергия. Чтобы получить более полную формулу потенциала покоя, необходимо принять во внимание активный транспорт, осуществляемый насосами. Поскольку насос поддерживает внутриклеточные концентрации натрия и калия на постоянном уровне, перенося ионы в соотношении 3:2, то и пассивные токи должны находиться в том же соотношении. Mullins L.J. и Noda K подобно Goldman D.E., Hodgkin A.L. и Katz В. впервые получили формулу для реальных клеток (1963). Уравнение точно описывает потенциал покоя при условии, что все остальные ионы, проникающие через мембрану (например, хлор), находятся в равновесии:

$$E_m = 61 \log \frac{rP_{\text{K}}[\text{K}]_o + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_o}{rP_{\text{K}}[\text{K}]_i + P_{\text{Na}}[\text{Na}]_i},$$

где r – абсолютное значение соотношения ионного транспорта 3:2.

$P_{\text{K}, \text{Na}}$ – коэффициент мембранной проницаемости для ионов;

$[\text{K}]_o, [\text{Na}]_o$ – внеклеточная концентрация ионов;

$[\text{K}]_i, [\text{Na}]_i$ – внутриклеточная концентрация ионов.

3.4. Методы регистрации мембранного потенциала покоя

Обнаружить МПП можно с помощью второго опыта Гальвани, т.е. зарегистрировать ток покоя между поврежденным и неповрежденным участками мембраны.

Для измерения потенциала покоя используют микроэлектродную технику. Микроэлектроды введены в 1946 американскими учёными Р. Джерардом и Дж. Лингом и стали применяться для отведения электрических потенциалов сначала от одиночного мышечного волокна, а затем и от отдельной клетки. В лабораторных исследованиях используются металлические микроэлектроды с диаметром кончика порядка 1 мкм, заполненные раствором электролита стеклянные микропипетки с диаметром кончика меньше 1 мкм и некоторые другие типы микроэлектродов. Для подведения их к объекту применяют микроманипуляторы. Околклеточное отведение позволяет регистрировать токи действия, внутриклеточное отведение, кроме того — уровень мембранного потенциала и постсинаптические потенциалы. Регистрация биопотенциалов с помощью микроэлектродов требует специальной усилительной техники. Микроэлектродная техника позволила исследовать электрические явления в нервных клетках, благодаря чему были сделаны фундаментальные открытия: раскрыты механизмы синаптической передачи и генерации токов действия, а также получены сведения о временном и пространственном распределении нервных импульсов, кодирующем передачу информации в нервной системе.

ГЛАВА 4. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ

4.1. Потенциал действия и фазы его развития

Исходя из вышесказанного, клеточная мембрана возбудимых систем мембрана несет заряд, величина которого колеблется от $-60 - 90$ мВ. Уменьшение заряда мембраны называется деполяризацией, а увеличение заряда – гиперполяризацией (рис. 29).

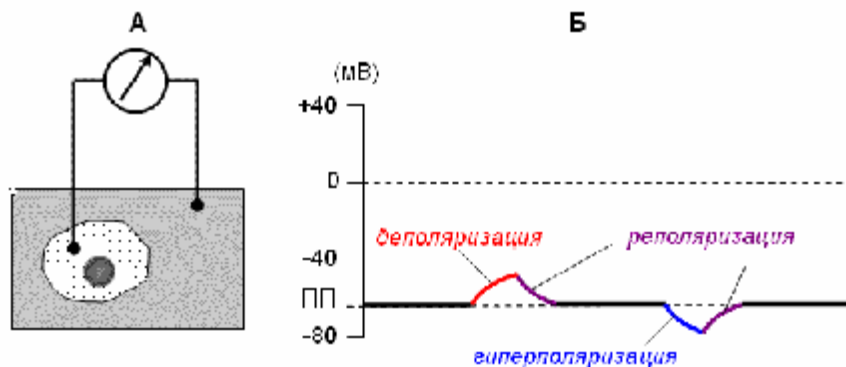


Рис. 29. Схема регистрации мембранного потенциала клетки (А); мембранный потенциал клетки в состоянии покоя и его возможные изменения (Б).

При нанесении раздражения с силой, равной некоторой критической величине, достигается критический уровень деполяризации (Екр или КУД) и развивается быстрая деполяризация или ПД, или спайк (рис. 30).

Разница между E_0 и $E_{кр}$ называется порогом деполяризации или пороговым потенциалом (ΔE). Чем меньше ΔE , тем выше возбудимость. Порог деполяризации – одна из характеристик мембраны, отражает ее особенности и функциональное состояние и является мерой возбудимости. При изменении функционального состояния мембраны наблюдаются разные ΔE .

При сдвиге МПП до критического уровня мембрана возбудимых структур резко изменяет свою ионную проницаемость. Под влиянием трансмембранных ионных потоков внутренняя поверхность мембраны не только теряет свой отрицательный потенциал, но и приобретает положительный заряд в момент пика, достигающий $+30; +50$ мВ (овершут), т.е. происходит инверсия потенциала мембраны. При достижении критического уровня деполяризации открываются все имеющиеся натриевые каналы по закону "все или ничего", поэтому при сверхпороговом раздражении критический уровень деполяризации достигается быстрее, однако амплитуда ПД остается такой же. Возникающий при этом потенциал получил название *потенциала действия* (его величина в среднем 110 мВ).

Таким образом, потенциал действия – это быстрое колебание МПП, возникающее при возбуждении нервных, мышечных и секреторных клеток.

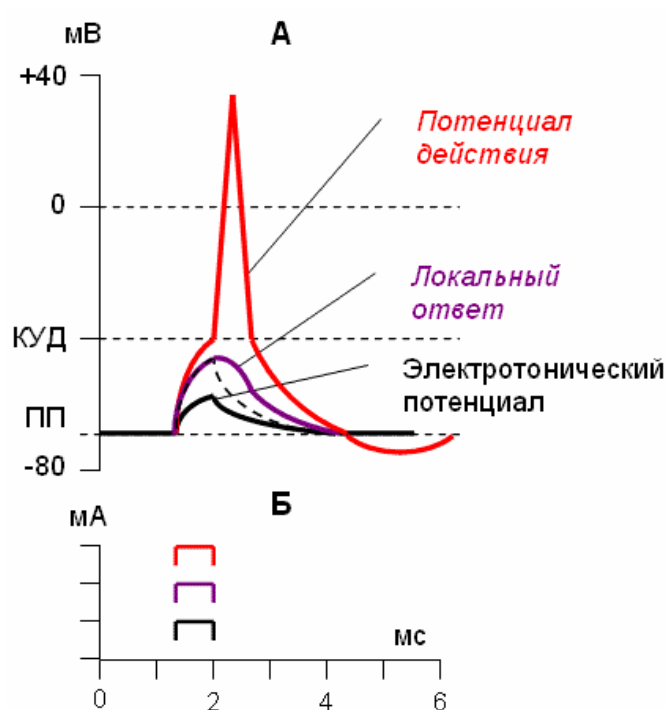


Рис. 30. Развитие потенциал действия при достижении критического уровня деполяризации

В развитии потенциала действия прослеживается несколько основных фаз (рис. 31А).

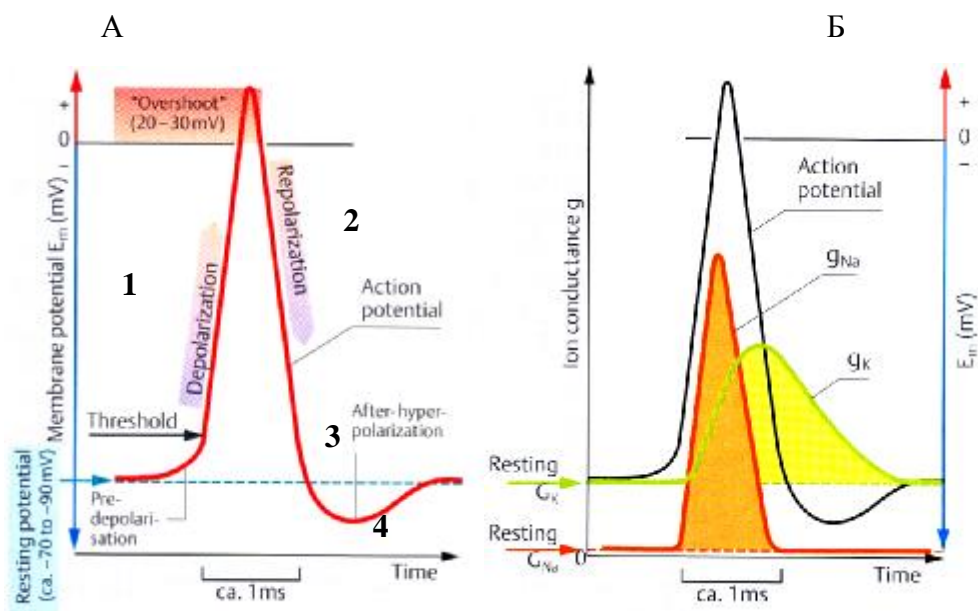


Рис. 31. Фазы развития потенциала действия (А) и изменение ионной проводимости мембраны возбудимых клеток при одиночном возбуждении (Б).

Action potential – потенциал действия; g_{Na} – ток натрия, g_K – ток калия

1. Фаза быстрой деполяризации
2. Фаза реполяризации
3. Фаза следовой деполяризации или отрицательный следовой потенциал (*замедление реполяризации*)
4. Фаза следовой гиперполяризации или положительный следовой потенциал.

4.2. Ионные механизмы возникновения потенциала действия

Фаза быстрой деполяризации. В соответствии с положениями мембранной теории, возникновение потенциала действия объясняется тем, что при достижении деполяризации критического уровня в мембране открываются все натриевые каналы. Изменение электрического поля мембраны приводит к открыванию воротных механизмов - активационных ворот (m) в потенциалзависимом натриевом канале (рис. 32).

При этом проницаемость для Na^+ резко (в 20 раз) увеличивается по сравнению с проницаемостью для K^+ , и в 500 раз по сравнению с исходной проницаемостью Na^+ в покое (рис. 31Б). Проницаемость для K^+ практически остается на прежнем уровне ($\text{K}^+ : \text{Na}^+ : \text{Cl}^-$ как 1:20:0,45). Ионы Na^+ по концентрационному и электрохимическому градиенту лавинообразно устремляются внутрь возбудимых клеток, неся с собой положительные заряды. Однако фаза быстрой деполяризации кратковременна (например, в нервной клетке она составляет всего 0,5 мс – 1 мс).

Фаза реполяризации. Пик ПД (+30 мВ) обусловлен максимальным повышением проницаемости для ионов K^+ (с началом деполяризации открываются дополнительно медленные одноворотные калиевые каналы) и резким снижением проницаемости для Na^+ (закрываются медленные инактивационные ворота h в натриевом канале). Наступает более длительная фаза реполяризации, обусловленная Na^+ -инактивацией и повышением проницаемости для K^+ .

Фаза следовых потенциалов. В конечной фазе возбуждения происходит замедление восстановления мембранного потенциала покоя, и при этом регистрируются следовые реакции в виде следовой деполяризации и гиперполяризации, обусловленные медленным восстановлением исходной проницаемости для ионов K^+ .

Итак, ПД развивается в основном в результате пассивного транспорта ионов Na^+ внутрь клетки согласно электрохимическому градиенту. Для поддержания концентрационного градиента после серии разрядов включается активная деятельность мембранных АТФаз (Na^+, K^+ -насосов), направленных на восстановление измененного концентрационного градиента Na^+ и K^+ .

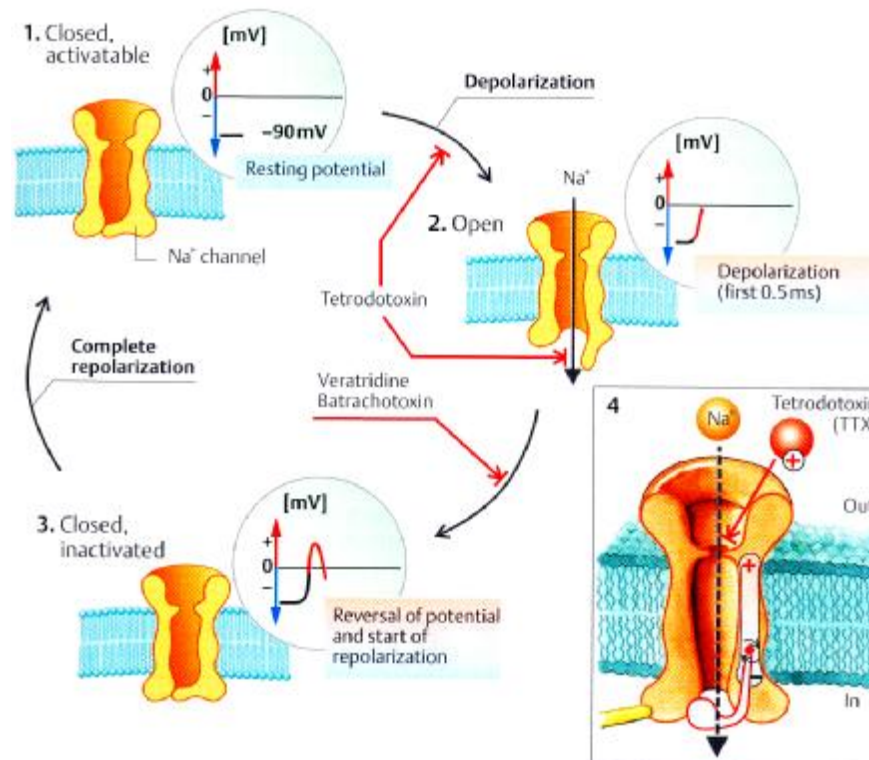


Рис. 32. Последовательность изменения состояния натриевого канала при быстрой деполяризации мембраны. 1 – канал закрыт: закрыты быстрые активационные ворота и открыты медленные инактивационные ворота, 2 - канал открыт: открыты быстрые активационные ворота, 3 – канал инактивирован: закрыты медленные инактивационные ворота и открыты быстрые активационные ворота, 4 – механизм действия блокатора натриевых каналов тетродотоксина (яд японской рыбы-шар и калифорнийских саламандр) (S. Silbermagl, 2002)..

Потенциал действия может быть зарегистрирован двумя способами:

1. внеклеточным - с помощью электродов, приложенных к внешней поверхности клетки;
2. внутриклеточным - с помощью электродов, один из которых введен внутрь клетки, а другой расположен на ее поверхности.

При внеклеточном отведении в одиночном цикле возбуждения (потенциале действия) различают следующие фазы:

- предспайк (препотенциал) - процесс медленной деполяризации мембраны до критического уровня деполяризации;
- пиковый потенциал или спайк (включая период перезарядки мембраны клетки);
- отрицательный следовой потенциал - от критического уровня деполяризации до исходного уровня поляризации мембраны;

- положительный следовой потенциал - увеличение мембранного потенциала покоя и постепенное возвращение его к исходной величине.

При внутриклеточном отведении регистрируются следующие состояния мембраны:

- местное возбуждение, локальный ответ (начальная деполяризация мембраны);
- деполяризация мембраны (восходящая часть спайка, включая инверсию);
- реполяризация мембраны (нисходящая часть потенциала действия);
- следовая деполяризация (соответствует отрицательному следовому потенциалу);
- следовая гиперполяризация (соответствует положительному следовому потенциалу).

Среди методов изучения биоэлектрической активности возбудимых биосистем особо необходимо выделить *in vitro* моделирование. Как в целостном мозге, так и в модельной изолированной системе можно обнаружить одни и те же закономерности проявления электрической активности возбудимой клетки. Однако при подходе *in vitro* можно более детально изучить молекулярный механизм внешних проявлений активности целостного мозга, проследить распространение потенциала действия в нейронных цепях и на основании полученных результатов сформировать гипотезу о механизмах работы мозга при обучении, формировании памятных следов и т.п.

Одной из таких систем является система **мультиэлектродной внеклеточной регистрации электрических сигналов (multielectrode array, MEA)** в тканях и клеточных культурах. Впервые этот метод был разработан и внедрен в клеточную электрофизиологию Thomas et al. (1972). Thomas использовал 15 плоских электродов (planar electrodes) для регистрации вызванных и спонтанных потенциалов (рис. 33).

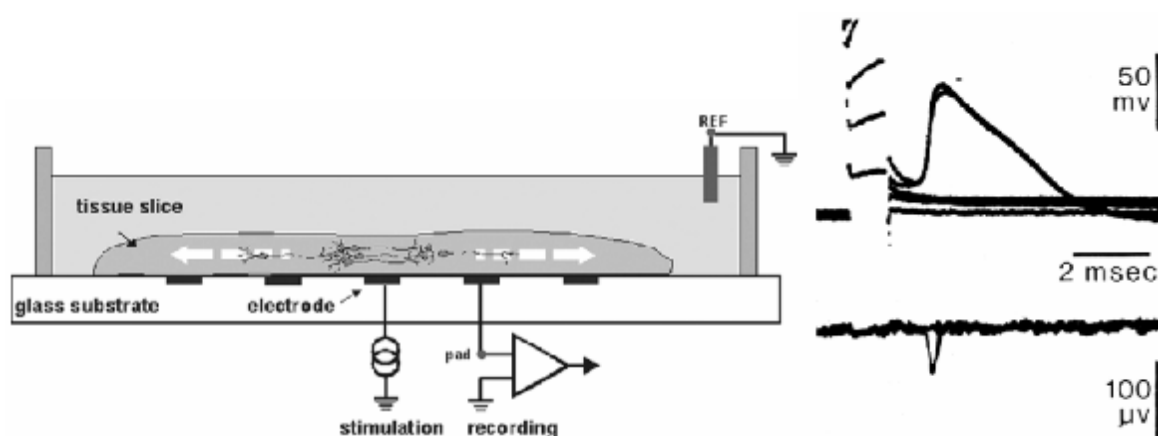


Рис. 33. Стимуляция и запись электрической активности со среза гиппокампа с помощью MEA системы (А) и запись ПД (Б) при внутриклеточной регистрации (верхний рисунок) и внеклеточной регистрации (нижний рисунок) (Taketani M., Baudry M., 2006 по Pine, 1980).

В настоящее время используют как плоские, так различной формы 3-D электроды, позволяющие снимать одновременно клеточную активность в 61-64 точках при межэлектродном расстоянии от 50 до 450 мкм (рис. 34).

Электрическую активность с использованием данных чипов можно снимать как в срезах гиппокампа и других отделах мозга, миокарда, так и при культивировании клеток возбудимых тканей. При этом мультиэлектродная система позволяет наблюдать изменение структуры межклеточных контактов, в частности, синаптических контактов, неинвазивным способом при использовании микроскопической техники в течение длительного времени (месяцы и даже по некоторым данным – годы в культурах тканей).

При воздействии различных стимулов (электрических, химических, физических) регистрируют различные ответные реакции, механизм возникновения которых связан с пластичностью мозга, формированием памятных следов, процессами научения, с проведением возбуждения по нейронным цепям, с модуляцией синаптической передачи глиальными клетками (рис. 35).

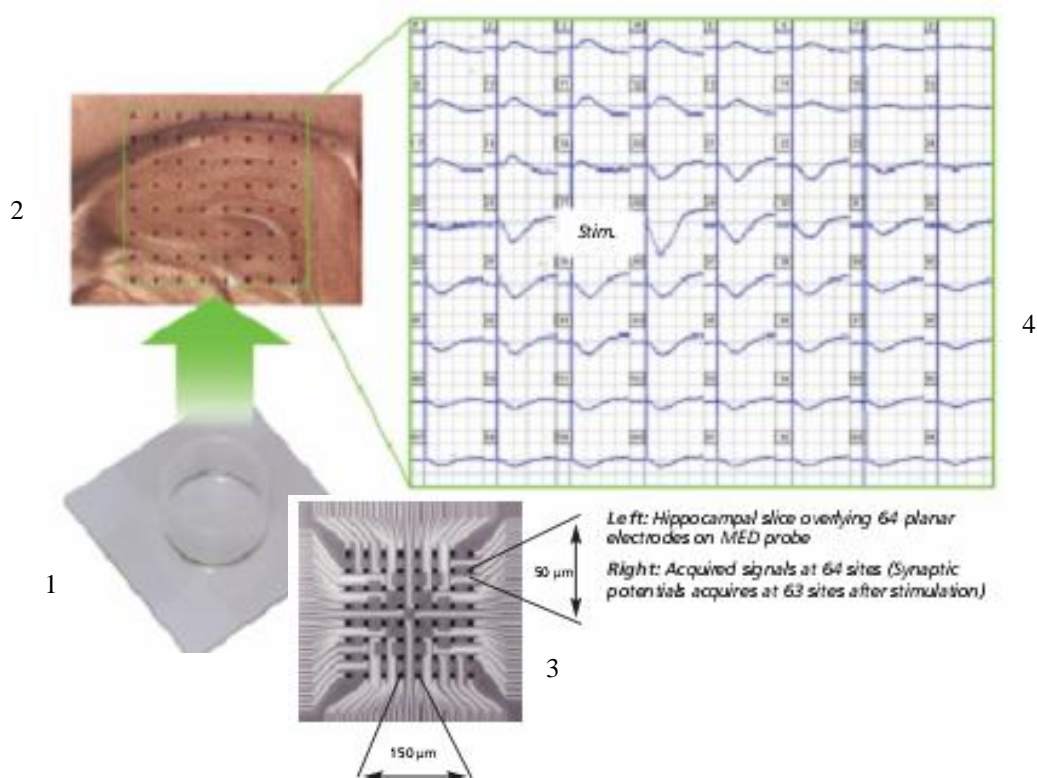


Рис. 34. Регистрация вызванных полевых потенциалов со среза гиппокампа с помощью мультиэлектродной системы MED64. 1 – Мультиэлектродный чип с 64 электродами, 2 – срез гиппокампа с наложенными электродами, 3 – система электродов, 4 - запись полевых потенциалов со среза гиппокампа.

Современное оборудование позволяет совместить запись электрических сигналов с имиджинговыми технологиями, например, записью кальциевых токов при использовании конфокальных микроскопов. Для анализа полученных данных часто использую метод Current source density analyses.

Интересной особенностью этой системы является возможность использования культуры клеток в течение нескольких месяцев, наблюдая за развитием спайковой генерации и синхронизации ритмов биоэлектрической активности в онтогенезе.

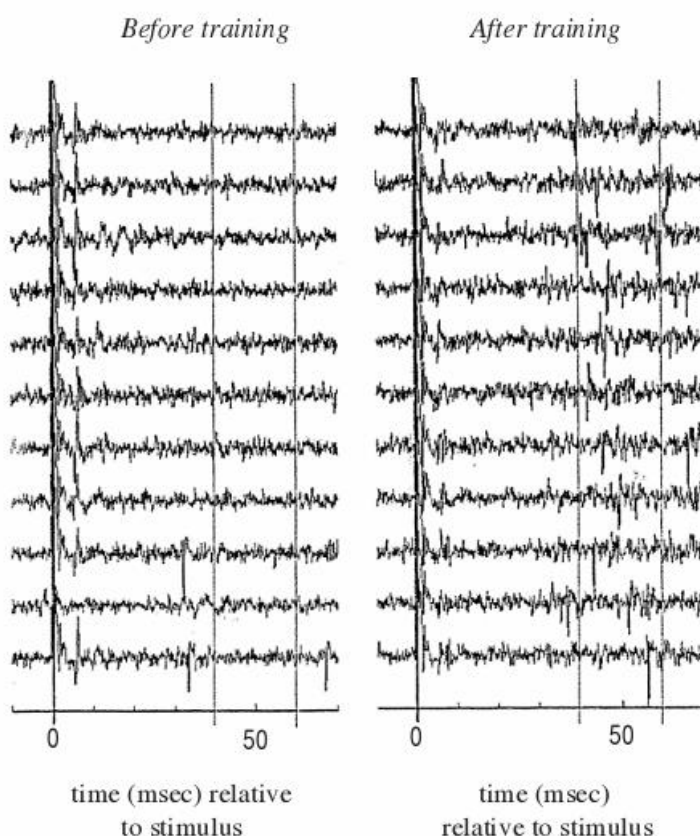


Рис. 35. Процесс научения культуры клеток коры. Справа показан «learned» ответ в течение 40-60 мс после научения (Taketani M., Baudry M., 2006 по Maron, Shahaf, 2002).

Важным направлением в этой области исследования биоэлектrogenеза возбудимых систем является создание искусственных нейросетей, состоящих из элементов с определенными связями, где в качестве элементов сети могут использоваться реальные нейроны, полученные из биологических культур или срезов мозга и размещенные на матрице микроэлектродов. Создание аппаратных моделей (Neurally Controlled Animat) на базе выращенных нейросетей («аниматов») позволит разработать уникальные системы управления сложными процессами и приблизиться к реализации технологий нейрокомпьютеров (Рис. 36).

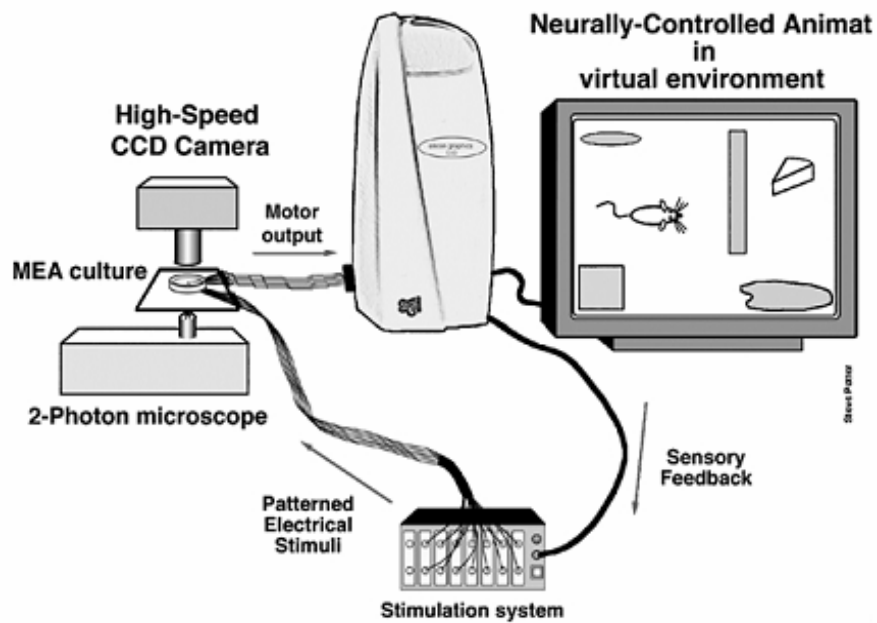


Рис. 36. Схема аппаратной модели Neurally Controlled Animat. Нейронная сеть из тысяч клеток диссоциированной ткани коры головного мозга, культивированной на MEA – системе. Клеточная активность, записанная внеклеточно, контролирует поведение искусственного животного «анимата» в ответ на изменившиеся условия внешней среды (Т.В. De Marse, D.A. Wagenaar, A.W. Blau, S.M. Potter, 2001).

4.3. Условия возникновения возбуждения в возбудимых системах

Не всякое раздражение приводит к возникновению возбуждения, т.е. развитию потенциала действия. Необходимы определенные условия для возникновения возбуждения в возбудимых системах:

1). Структурно-функциональное состояние мембраны (достаточный уровень МПП, определенный уровень Екр. или порогового потенциала (ΔE), уровень K^+ , Na^+ -проницаемости)

2). Значение параметров раздражителя (сила, время, градиент нарастания силы во времени), достаточное для возникновения возбуждения.

Первое условие достаточно подробно рассмотрено выше при описании МПП и развития ПД во времени.

Рассмотрим второе условие возникновения возбуждения: достаточный уровень параметров раздражителя, таких как: силы; времени; градиента нарастания силы во времени.

Минимальная сила раздражителя, способная вызвать возбуждение, называется порогом раздражения. В связи с данным определением можно выделить подпороговое, пороговое и сверхпороговое раздражение. При нанесении раздражения с силой <50% пороговой величины происходит пассивная деполяризация мембраны, называемая электротоническим ответом или электротонном. При нанесении раздражения с силой 50%-99,9% пороговой величины к пассивному изменению электрического поля мембраны добавляется активное изменение в форме повышения натриевой проводимости. Часть Na^+ -каналов открывается. Активные подпороговые изменения МПП называются локальным ответом. Локальные ответы:

- не способны к распространению,
- градуальны (чем больше раздражение, тем больше ответ).

Пример: ВПСП (возбуждающий постсинаптический потенциал), ТПСП (тормозной постсинаптический потенциал), рецепторный потенциал.

Итак, мерой возбудимости можно считать порог раздражения, хотя этот показатель возбудимости ткани относится к характеристике раздражителя, а не возбудимой системы. При пародонтозе, например, порог раздражения зуба ниже нормы, что свидетельствует о повышении возбудимости. При пульпитах, наоборот, отмечается повышение порога раздражения. Максимальное снижение возбудимости наблюдается при гибели пульпы.

Но для характеристики возбудимости тканей важно учитывать не только пороговую силу раздражителя, но и время действия раздражителя на ткань. Существует определенная

зависимость между временем действия раздражителя и его силой. Эта зависимость для электрического тока в графическом выражении (гипербола) получила название кривой «сила-длительность» (рис. 37). По имени ее авторов – кривая Гоорвейга-Вейса-Лапика (1892, 1901, 1909). Минимальная величина силы раздражителя, вызывающая возбуждение, называется абсолютным порогом силы (отрезок АВ), или реобазой (от греч. rheos - течение, поток и basis - ход, движение; основание). С другой стороны, раздражитель должен действовать не меньше определенного времени. Уменьшение времени действия раздражителя ниже критического значения приводит к тому, что раздражитель любой интенсивности не оказывает эффекта (высокочастотный переменный ток >10 кГц дает только тепловой эффект при коротком времени действия). Минимальная величина времени действия раздражителя, вызывающая возбуждение, называется абсолютным порогом времени (отрезок АС). С учетом действия двух параметров раздражителя для характеристики возбудимости ткани ввели понятие полезного времени. Полезное время - это минимальное время, в течение которого должен действовать раздражитель пороговой силы с тем, чтобы вызвать возбуждение (отрезок AD).

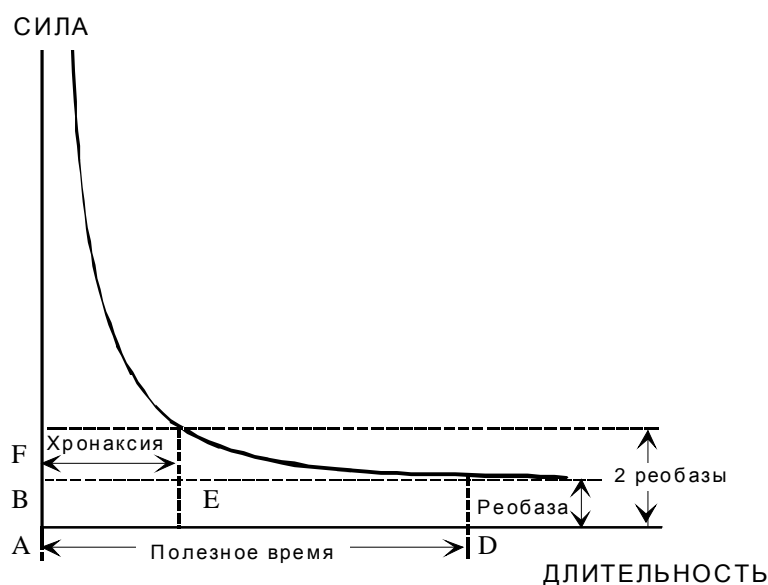


Рис. 37. Кривая зависимости между временем действия раздражителя и его силой.

Приближение кривой асимптотически к линии, параллельной абсциссе, не позволяет достаточно точно определять полезное время, т.к. незначительные отклонения реобазы, отражающие изменения функционального состояния биологических мембран в покое, сопровождаются значительными колебаниями времени раздражения. В связи с этим Лапик предложил измерять другую условную величину - хронаксию (от греч. chronos -

время и α - цена, мера). Хронаксия – время (отрезок АЕ), в течение которого должен действовать раздражитель удвоенной реобазы (отрезок АF), чтобы вызвать возбуждение. Использование этого критерия позволяет точно измерить временные характеристики возбудимых структур, поскольку измерение происходит на крутом изгибе гиперболы.

Чем меньше хронаксия, тем больше возбудимость. Например, хронаксия нервных волокон ниже, чем мышечных. Хронаксиметрия используется при оценке функционального состояния нервно-мышечной системы у человека (в случае повреждения нерва и его перерождения определяют истинную хронаксию мышцы, которая намного превышает таковую до травмы), в частности челюстно-лицевой области. Показатели хронаксии и реобазы могут значительно меняться при невритах и невралгиях тройничного и лицевого нервов, миозитах мимической и жевательной мускулатуры. Таким образом, количественная оценка физиологических свойств возбудимых биосистем в клинической практике производится опосредованно по характеристикам раздражителя.

Третьим параметром раздражителя является градиент нарастания силы во времени. Обычно при физиологических методах исследования применяют прямоугольные импульсы. Однако есть экспоненциальные импульсы (например, переменный ток), фронт подъема которых обладает определенной крутизной. Клетки по-разному реагируют на эту крутизну (рис. 38). Чем меньше крутизна, тем выше $E_{кр}$. и меньше амплитуда ПД. В этом и заключается закон градиента нарастания силы во времени.

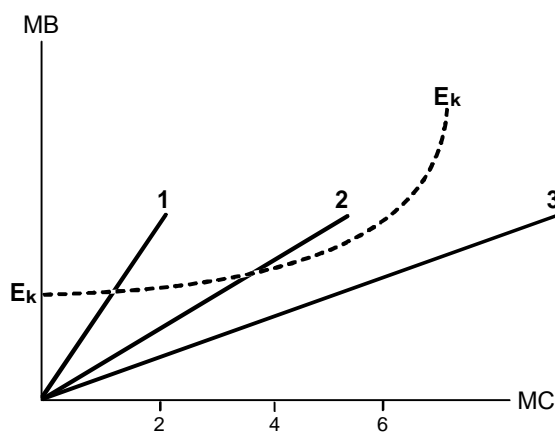


Рис. 38. Изменение критического уровня деполяризации при медленном нарастании силы раздражителя во времени.

При подпороговом минимальном градиенте ПД – нет ответа, при поровом – минимальная амплитуда ПД, при сверхпороговом градиенте (максимальной крутизне при прямоугольном импульсе) – максимальная амплитуда ПД.

Понижение возбудимости ткани и амплитуды ПД вплоть до полного его отсутствия при медленно нарастающем стимуле (малой крутизне) называется **аккомодацией**. В основе аккомодации лежат инактивация натриевой и повышение калиевой проводимости, развивающиеся во время медленно нарастающей деполяризации мембраны. Раздражитель неизменной величины (например, постоянный ток между моментами включения и выключения) вообще не вызывает возбуждения.

4.4. Действие постоянного тока на возбудимую систему

Электрический ток широко используется в экспериментальной физиологии при изучении характеристик возбудимых тканей, в клинической практике для диагностики и лечебного воздействия, поэтому мы рассмотрим механизмы действия электрического постоянного тока на возбудимые ткани.

Постоянный ток оказывает два вида действия:

- Физиологическое (электрический ток – фактор, изменяющий функциональное состояние биосистемы – возбудимость)
- Раздражающее (электрический ток – раздражитель);

Физиологическое действие описывается законом физиологического электротона. При кратковременном пропускании подпорогового постоянного электрического тока изменяется возбудимость ткани под стимулирующими электродами:

- Под катодом возбудимость повышается (катэлектротон)
- Под анодом возбудимость снижается (анэлектротон)

С чем это связано? Микроэлектродные исследования показали, что под катодом происходит пассивная деполяризация клеточной мембраны, под анодом – пассивная гиперполяризация. Значение критического потенциала (Екр.) не изменяется. ΔE – порог деполяризации, характеризующий возбудимость биосистемы, изменяется за счет сдвига МПП (E_0). При длительном воздействии подпорогового постоянного электрического тока изменяется не только мембранный потенциал (МПП), но и значение критического потенциала (Екр.). Под катодом происходит смещение уровня Екр. в сторону деполяризации, что свидетельствует об увеличении числа инактивированных натриевых каналов. Под анодом происходит, наоборот, смещение уровня Екр. в сторону гиперполяризации. В результате:

- под катодом возбудимость снижается (катодическая депрессия Вериги);
- под анодом возбудимость повышается (анодическая экзальтация).

Раздражающее действие постоянного электрического тока описывается полярным законом, содержание которого можно изложить *тремя положениями*:

1. Постоянный электрический ток оказывает раздражающее действие в момент замыкания и размыкания (или резкого увеличения и уменьшения силы электрического тока).

2. При замыкании раздражающее действие проявляется только под катодом, при размыкании – под анодом.

3. Катодно-замыкательный эффект больше анодно-размыкательного действия.

Увеличение значения тока до пороговой величины приведет к тому, что при замыкании цепи под катодом будет возникать возбуждение, т.е. генерация ПД. Во время замыкания произойдет сложение пассивной деполяризации и активной деполяризации. Через некоторое время при размыкании под катодом пассивные изменения исчезнут, не будет достигнут критический уровень деполяризации и ПД не возникнет. При длительном действии достаточно сильного тока смещение критического уровня под анодом может быть существенным и достигать первоначального значения мембранного потенциала покоя. Выключение тока приведет к тому, что пассивная гиперполяризация мембраны исчезнет, МПП вернется к первоначальному значению, а это соответствует величине Екр., возникнет ПД (анодно-размыкательное возбуждение). Однако амплитуда ПД при размыкании под анодом меньше, чем при генерации ПД под катодом при замыкании.

В клинике постоянный электрический ток применяется с лечебными целями:

1. Улучшение микроциркуляции, активация обмена веществ (местные реакции) и раздражающее действие на рецепторы (общее рефлекторное действие) – метод гальванизации (30-80 В и 50 мА);

2. Введение лекарственных веществ в ткани (электрофорез)⁴

3. Обезболивающее действие (электрообезболивание). Основано на явлении электротона. Под анодом снижается возбудимость, а значит блокируется деполяризация мембран клеток рецепторов, воспринимающих болевое раздражение. В более, чем 70% случаев, этот метод дает полный эффект обезболивания (15-20 мкА);

Эффективность действия переменного тока определяется не только амплитудой, продолжительностью воздействия, но и частотой. При этом низкочастотный переменный ток, например частотой 50 Гц (сетевой), представляет наибольшую опасность при прохождении через область сердца. В первую очередь это обусловлено тем, что при низких частотах возможно попадание очередного стимула в фазу повышенной уязвимости миокарда и возникновение фибрилляции желудочков сердца. Действие тока частотой

выше 10 кГц представляет меньшую опасность, поскольку длительность полупериода составляет 0,05 мс. При такой длительности импульса мембрана клеток вследствие своих емкостных свойств не успевает деполяризоваться до критического уровня. Токи большей частоты вызывают, как правило, тепловой эффект.

Следует заметить, что даже при наличии всех условий возникновения возбуждения, характер ответной реакции биосистемы на раздражение будет различным.

4.5. Факторы, определяющие характер ответа возбудимых биосистем на раздражение

Рассмотрим факторы, определяющие характер ответа возбудимых биосистем на раздражение. Первым фактором является влияние параметров раздражителя (силы, времени действия, крутизны нарастания силы во времени). Вторым фактором, определяющим характер ответа возбудимых биосистем, является функциональное состояние биосистемы. Рассмотрим влияние параметров раздражителя. Характер влияния параметров раздражителя описывается *тремя законами раздражения*:

- законом силы;
- законом времени;
- законом градиента нарастания силы во времени.

Прежде, чем обозначить характер раздражителя, необходимо определить вид биосистемы: например – это клетка или ткань?

Рассмотрим сначала ответ клетки как возбудимой системы на раздражитель. Для возникновения возбуждения должны быть достаточными сила, время действия раздражителя, крутизна нарастания силы раздражителя во времени. При подпороговом раздражении не возникает возбуждения, так как мы уже знаем о механизме формирования локального ответа на подпороговый раздражитель. При пороговом раздражении – возникает возбуждение, развивается ПД, обусловленный открытием сразу всех натриевых каналов, поэтому действие сверхпороговых раздражителей не вызовет увеличения амплитуды ответа. Таким образом, для клетки закон силы и времени действует по принципу «все или ничего».

Для третьего параметра раздражителя закономерность имеет иной вид, так как клетки по-разному реагируют на различную крутизну. Чем меньше крутизна, тем выше Екр. и меньше амплитуда ПД. В этом и заключается закон градиента нарастания силы во времени. При подпороговом минимальном градиенте ПД – нет, при пороговом –

минимальная амплитуда ПД, при сверхпороговом градиенте (максимальной крутизне при прямоугольном импульсе) – максимальная амплитуда ПД.

Перейдем к законам раздражения для ткани. Ответ ткани на раздражитель, прежде всего, зависит от различной возбудимости клеток ткани. Для ткани *законы силы и времени* действуют по принципу «силовых отношений». При подпороговом раздражении, например, мышца не отвечает сокращением. При пороговом стимуле – ответ ткани, т.е. самые возбудимые клетки пришли в возбуждение и сократились (здесь порог для мышцы и для клетки). При повышении стимула ответят самые возбудимые клетки по закону «все или ничего» и ответят другие клетки, для которых порог более высокий, т.е. увеличится количество сокращающихся клеток – возрастет суммарный ответ мышцы. В конце концов, возникнет ситуация, когда все элементы мышцы отреагируют. Дальнейшего увеличения амплитуды ответа не произойдет. В этом случае различают:

- 1). Подпороговые раздражители
- 2). Пороговые раздражители
- 3). Сверхпороговые раздражители – субмаксимальные, максимальный, супермаксимальные раздражители.

Та же закономерность существует и для градиента нарастания силы во времени действия раздражителя с той разницей, что беспредельно нарастать крутизну нельзя, так как дальше идет прямоугольный импульс. Приведем два примера практического применения знания законов раздражения.

1. Можно ли перерезать нерв так, чтобы иннервируемая им мышца (например, в НМП лягушки) не сократилась? Возможны два варианта. Какой из них легче осуществить?

Чтобы мышца не сократилась необходимо не вызвать возбуждения в возбудимой ткани. Если раздражитель не вызывает возбуждения, значит параметры этого раздражителя не соответствуют какому-либо из законов раздражения. При перерезке нерва наносится сильное механическое воздействие, следовательно, нарушения закона силы (или силовых отношений) не имеет места. Остаются два других закона. Соответственно нерв нужно перерезать или очень медленно и равномерно (закон крутизны нарастания) или очень быстро (закон времени). Практически легче перерезать очень быстро.

2. Если у новорожденного при перевязке пуповины затягивать лигатуру очень медленно, то первый вдох может не наступить, и ребенок погибнет. Почему? Еще один пример проявления закона крутизны нарастания раздражителя. При быстрой перевязке накопление в крови CO_2 идет скачкообразно. Происходит возбуждение рецепторов

дыхательного центра и вдох. При очень медленной перевязке связь с организмом матери прекращается медленно и накопление CO_2 идет медленно. В результате порог крутизны нарастания раздражителя не достигается, и возбуждения рецепторов не происходит - вдох не наступает.

Вторым фактором, определяющим характер ответа возбудимых биосистем, является функциональное состояние биосистемы. Оказывается, что даже в процессе возбуждения изменяется возбудимость мембраны, что проявляется как физиологический компонент возбуждения (рис. 39).

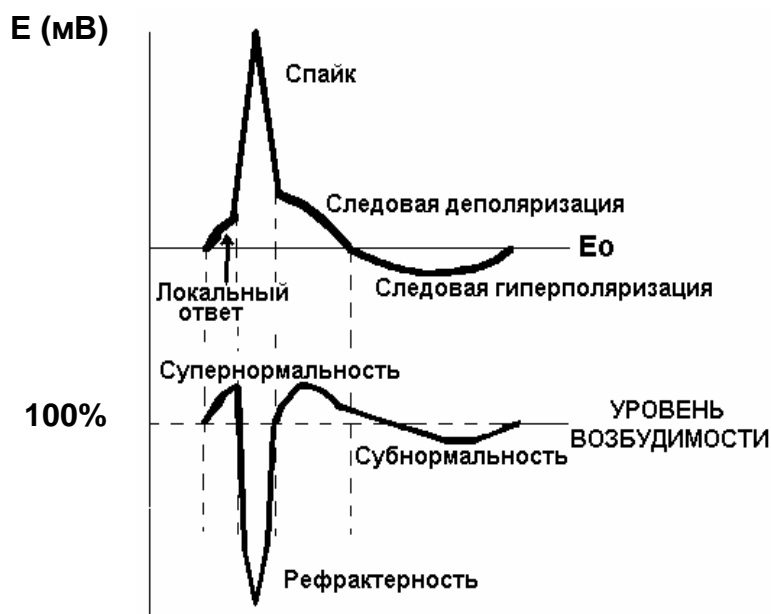


Рис. 39. Изменение возбудимости (нижний график) во время развития одиночного возбуждения (верхний график).

Изменение возбудимости во время возбуждения имеет фазный характер, в связи с чем выделяют несколько фаз:

1. Фаза абсолютной рефрактерности
2. Фаза относительной рефрактерности
3. Фаза супернормальной возбудимости (экзальтации)
4. Фаза субнормальной возбудимости

Фаза абсолютной рефрактерности - это полная невозбудимость клетки. Соответствует пику ПД и продолжается в клетках 1-2 и более мс. В этот период активационные m -ворота натриевых каналов открыты по закону "все или ничего", поэтому дополнительное раздражение не может вызвать еще большее открывание каналов и появление новых ПД.

Абсолютная фаза продолжается и в период реполяризации клетки до достижения уровня мембранного потенциала +10 мВ либо 0. В этот период закрываются инактивационные h-ворота натриевых каналов, которые представляют собой внутриклеточную петлю белка, состоящую из 45 аминокислотных остатков, и открываются в большом количестве активационные n-ворота калиевых каналов, препятствующие возникновению нового ПД. Процесс увеличения калиевой проводимости начинается с задержкой и протекает по S-образной кривой. Благодаря наличию этой задержки, а также тому, что увеличение калиевой проводимости возникает только в ответ на деполяризацию, но не гиперполяризацию, этот ионный канал получил название задержанного выпрямления (delayed rectifier). Согласно Ходжкин и Хаксли калиевую проводимость (в среднем 20 пСм) можно представить как

$$g_K = g_{K(\max)} n^4,$$

где $g_{K(\max)}$ – максимальная проводимость для данного скачка потенциала,

n – экспоненциальная функция, принимающая значения от 0 до 1: $n = 1 - e^{-t/\tau_n}$;

τ_n – временная константа экспоненты, зависящая от потенциала: чем больше деполяризация, тем быстрее возрастает проводимость.

Кроме описанного выше калиевого канала задержанного выпрямления в реполяризации принимают и другие типы калиевых каналов – А-канал, М-канал и S-канал. Кроме того кальций-активируемые калиевые каналы также могут вносить вклад в реполяризацию. Существует как минимум три подтипа кальций-активируемых калиевых каналов с большим (200 пСм), средним (30 пСм) и малым (10 пСм) уровнем проводимости. Существует также тип калиевых каналов, активируемый внутриклеточным натрием.

Временной ход возрастания натриевой проводимости также имеет форму S-образной кривой, но описывается экспонентой, возведенной в третью степень. Напротив, спад натриевой проводимости в результате инактивации происходит по моноэкспоненциальной кривой. Для каждого скачка потенциала общий временной ход изменений натриевой проводимости (в среднем 20 пСм) представляет собой результат наложения процессов активации и инактивации:

$$g_{Na} = g_{Na(\max)} m^3 h,$$

где $g_{Na(\max)}$ $g_{Na(\max)}$ - максимальный уровень натриевой проводимости при отсутствии инактивации;

$$m = 1 - e^{-t/\tau_m}; h = e^{-t/\tau}.$$

Фаза относительной рефрактерности – это период восстановления возбудимости, когда сильное раздражение может вызвать новое возбуждение. Пониженная возбудимость является следствием все еще повышенной проницаемости для K^+ и избыточного выхода его из клетки, препятствующего деполяризации клетки при действии раздражителя, и все еще большим количеством инактивированных натриевых каналов. Только сильное раздражение может вызвать возбуждение.

Фаза экзальтации – это период повышенной возбудимости. Он соответствует отрицательной следовой деполяризации. Очередной ПД можно вызвать более слабым раздражителем, т.к. мембранный потенциал несколько меньше обычного и оказывается ближе к критическому уровню деполяризации.

Фаза субнормальной возбудимости – это период пониженной возбудимости, соответствует периоду следовой гиперполяризации, когда мембранный потенциал больше обычного и дальше отстоит от критического уровня деполяризации.

В мембране нервов и мышечных волокон содержится большое количество потенциалзависимых кальциевых каналов. Кальций, входящий в клетку через эти каналы во время потенциала действия, оказывает влияние на самые разные процессы (секреция нейромедиаторов, сокращение мышечного волокна), в том числе и на развитие самого потенциала действия.

Кальциевые потенциалы действия описаны в сердечной мышце, в нейронах вегетативной и центральной нервной системы. Поразительным примером сосуществования натриевых и кальциевых потенциалов действия в одном типе клеток является клетка Пуркинье в мозжечке млекопитающих: натриевые потенциалы генерируются в теле клетки, а кальциевые – в дендритах. Ионы кальция влияют также на возбудимость мембраны: снижение внеклеточной концентрации кальция приводит к увеличению возбудимости, повышение внеклеточного кальция – снижению возбудимости.

Возбудимость меняется не только в ходе самого возбуждения, но и в ходе ритмической стимуляции любой возбудимой биосистемы. Те частоты, которые способствуют повышению возбудимости, улучшают функциональные свойства мембраны, называются оптимальными частотами.

Частоты, которые способствуют понижению возбудимости в ходе ритмической стимуляции, ухудшают функциональное состояние мембраны, называются пессимальными. Оптимум и пессимум частоты раздражения можно наблюдать, изучая тетанические сокращения мышцы (рис. 40).

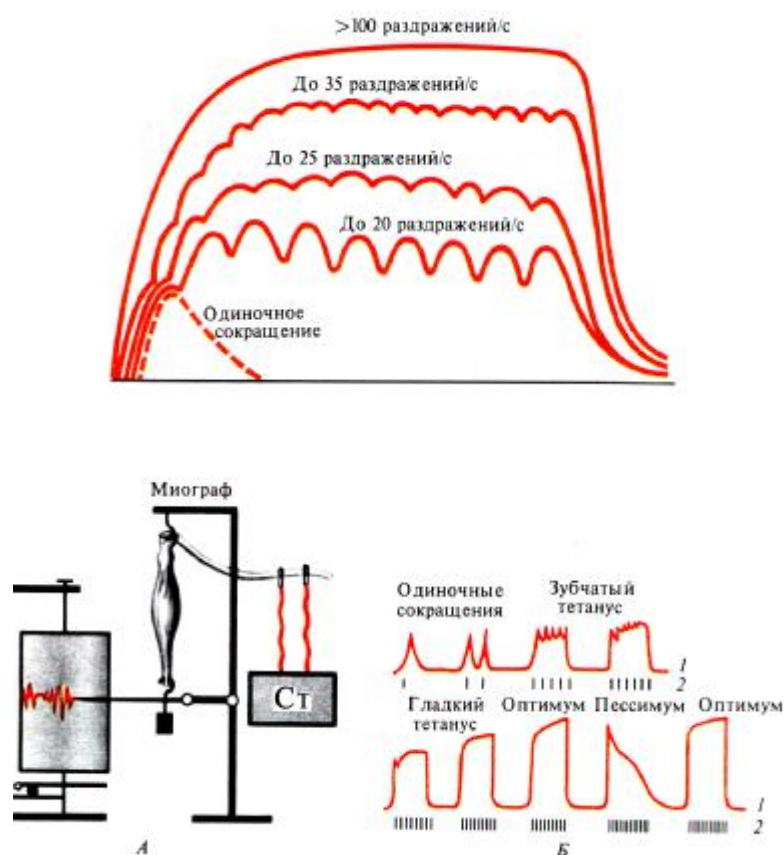


Рис. 40. Формирование тетануса в зависимости от частоты раздражения. А – экспериментальная установка для регистрации миограммы скелетной мышцы лягушки; миограммы сокращений скелетной мышцы лягушки в зависимости от частоты раздражения (Руководство к практическим занятиям по физиологии под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева, 1988).

4.6. Лабильность как одно из общих свойств возбудимых систем

Впервые понятие лабильности как функциональной подвижности возбудимых тканей ввел русский физиолог Н.Е. Введенский. На современном этапе развития физиологии лабильность рассматривается как способность биосистемы в течение времени развертывать одиночный процесс возбуждения. Мерой лабильности является максимальное число возбуждений или ПД, которое способна генерировать возбудимая биосистема за единицу времени в связи с навязанным ритмом возбуждения.

Лабильность нервного волокна – 1000 имп/с, мышцы – 200 имп/с. Лабильность возбудимых биосистем практически обусловлена длительностью фазы абсолютной рефрактерности. Так, фаза абсолютной рефрактерности нервного волокна равна в среднем 1 мс, то есть в 1 секунду при ритмическом раздражении с частотой 1000 Гц нерв может воспроизвести 1000 импульсов. Фаза абсолютной рефрактерности у мышцы – 5 мс, то есть

в 1 секунду мышца может воспроизвести 200 возбуждений. Лабильность также является мерой возбудимости.

Протекание процесса возбуждения во времени характеризует в возбудимых тканях и лабильность и хронаксия. Какой из этих показателей дает более полную характеристику процесса возбуждения? Хронаксия – это время, в течение которого должен действовать ток, силой в 2 реобазы, чтобы вызвать возбуждение. В таком случае, хронаксия характеризует только начальную стадию – возникновение импульса возбуждения, а лабильность – протекание всего импульса. Кроме того, хронаксия связана с одиночным возбуждением, а лабильность – с множеством импульсов возбуждения, взаимодействующих друг с другом. Поэтому лабильность более полно характеризует протекание возбуждения во времени.

Итак, общими свойствами возбудимых биосистем являются:

1. Возбудимость
2. Лабильность
3. Проводимость

При этом мерой возбудимости могут служить:

- Порог раздражения (характеристика раздражителя)
- Хронаксия (характеристика раздражителя)
- Пороговый потенциал (характеристика мембраны)
- Лабильность (характеристика мембраны)

ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНЫХ ПРОВОДНИКОВ

Нервное волокно (нервный проводник) представляет собой отросток нейрона, заключенный в глиальную оболочку. Нервные волокна образуют нервные пучки, совокупность которых формирует нервный ствол, или нерв.

5.1. Морфологическая организация нервных проводников

Различают два вида нервных волокон:

- Немиелинизированные (безмякотные).
- Миелинизированные (мякотные) (рис. 41)

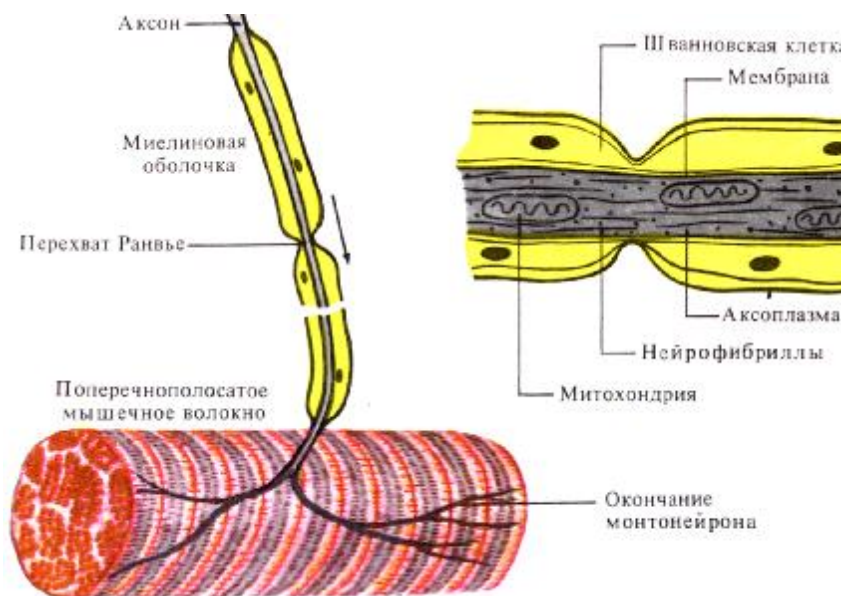


Рис. 41. Строение миелинизированного нервного волокна (Руководство к практическим занятиям по физиологии под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева, 1988).

Немиелинизированные нервные волокна образуются путем погружения аксона (осевого цилиндра) в цитоплазму леммоцитов (олигодендроцитов в ЦНС и Шванновских клеток на периферии), располагающихся в виде тяжей.

Миелинизированные волокна. Осевой цилиндр также окружен глиальными клетками, но эти клетки, многократно вращаясь вокруг осевого цилиндра, образуют пластинки миелиновой оболочки, на 80% состоящей из липидов и 20% из белка. Вокруг миелиновой оболочки располагается тонкий слой цитоплазмы, ядро леммоцита, или шванновской клетки. Снаружи волокно также покрыто базальной мембраной (рис. 42).

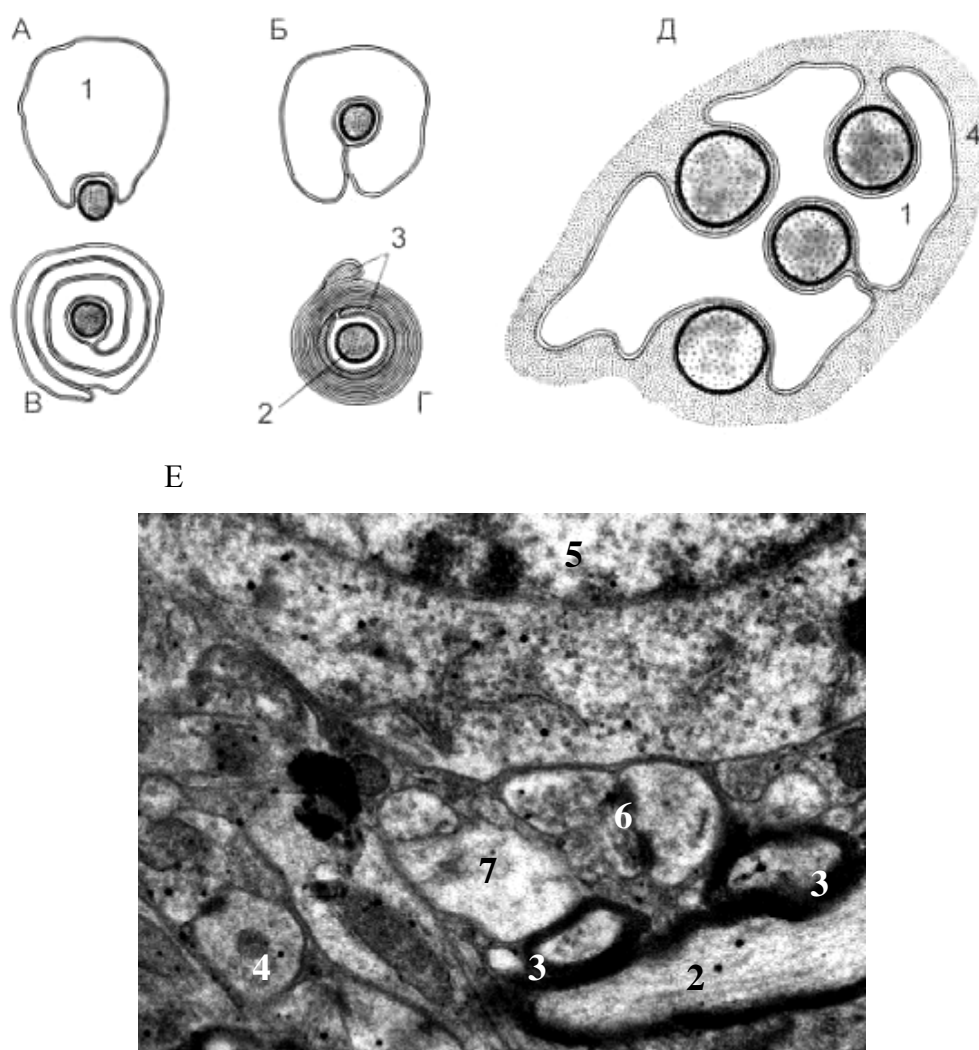


Рис. 42. Формирование миелиновой оболочки вокруг аксона на разных стадиях его развития (А–Г); соотношение леммоцита и безмиелиновых волокон (Д), Е – электроннограмма ткани мозга. 1 – леммоцит, 2 – миелиновое волокно, 3 – миелиновая оболочка, 4 – безмиелиновое волокно, 5 – ядро нейрона, 6 – аксо-дендрический синапс, 7 - астроцит.

5.2. Механизмы проведения нервного импульса в нервных волокнах

Нервные волокна как возбудимые системы обладают следующими общими свойствами: возбудимостью, лабильностью, проводимостью.

Однако для нервного волокна проводимость - это еще и специализированное свойство. Механизм распространения нервного импульса по нервному волокну заключается в электротонической связи между возбужденным и еще не возбужденным участком мембраны (рис. 43). Впервые в 1885 г. Л. Герман показал возникновение между возбужденными и невозбужденными участками нервного волокна круговых токов. При действии раздражителя имеется разность потенциалов между наружной и внутренней поверхностями ткани (участки несущие различные заряды). Между этими участками

возникает электрический ток (движение ионов Na^+). Доказательство наличия круговых токов: нервное волокно помещают в раствор NaCl и регистрируют скорость проведения возбуждения. Затем нервное волокно помещают в масло (повышается сопротивление) - скорость проведения уменьшается на 30 %. После этого нервное волокно оставляют на воздухе - скорость проведения возбуждения уменьшается на 50 %. В зависимости от наличия миелиновой оболочки изменяется скорость проведения нервного импульса по волокну.

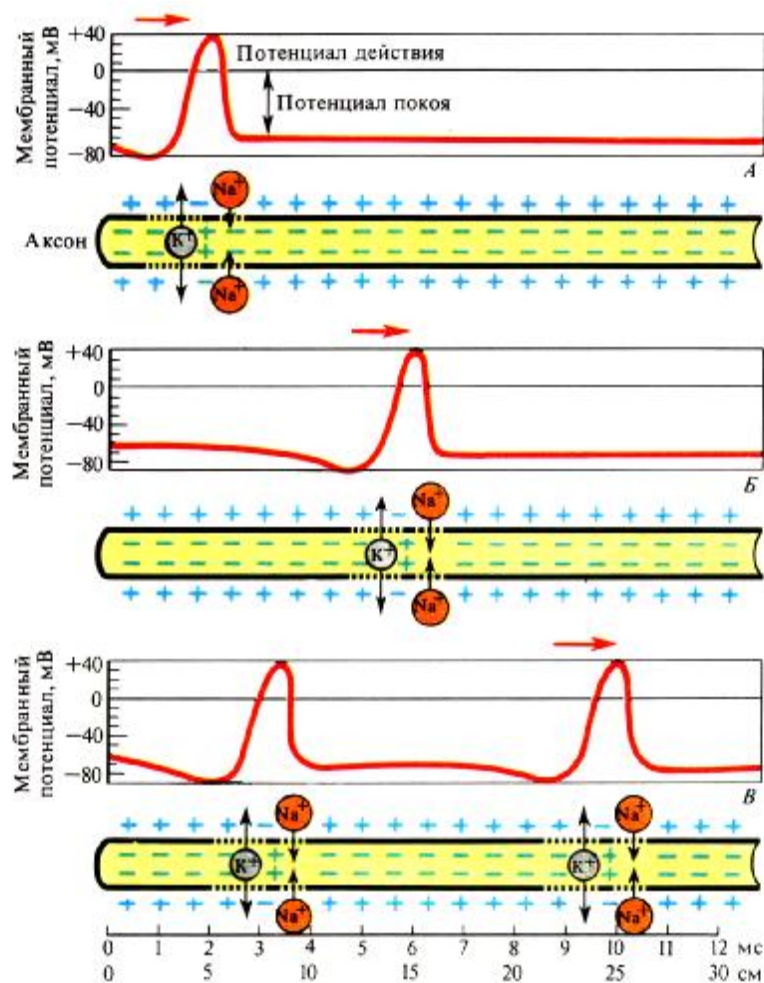


Рис. 43. Этапы распространения возбуждения по нервному волокну (Руководство к практическим занятиям по физиологии под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева, 1988).

Различают распространение возбуждения по нервному волокну: непрерывное (характерно для немиелинизированных волокон); сальтаторное (характерно для миелинизированных волокон).

Непрерывное распространение нервного импульса. В состоянии покоя вся внутренняя поверхность мембраны нервного волокна несет отрицательный заряд, а наружная сторона

мембраны – положительный. Электрический ток между внутренней и наружной стороной мембраны не протекает, т.к. липидная мембрана имеет высокое электрическое сопротивление. Во время развития потенциала действия, т.е. при открытии натриевых каналов, в возбужденном участке мембраны происходит реверсия заряда. На границе возбужденного и невозбужденного участка начинает протекать электрический ток (движение ионов Na^+) (рис. 44).



Рис. 44. Наличие круговых токов и области рефрактерности при проведении нервного импульса.

Внутри нервного волокна возникает ток от положительного полюса к отрицательному полюсу, т. е. ток направлен от возбужденного участка к невозбужденному. Электрический ток раздражает ближайший участок мембраны, деполяризует его и приводит его в состояние возбуждения, в то время как ранее возбужденные участки возвращаются в состояние покоя через стадию рефрактерности. В связи с наличием рефрактерности, обратный ход волны оказывается невозможным. Таким образом, волна возбуждения электротонически (пассивно) охватывает все новые участки мембраны нервного волокна. Таким образом, при непрерывном проведении поверхность обладает электрогенными свойствами на всем протяжении. Поэтому малые круговые токи возникают на расстоянии в несколько микрометров. Возбуждение имеет вид постоянно бегущей волны. Размер участка мембраны, находящегося под влиянием ПД, зависит от его длительности и скорости проведения. Например, если длительность ПД равна 2 мс, а скорость его проведения 10 м/с, то потенциал распространится на участке мембраны 2 см.

Сальтаторное распространение нервного импульса. В миелинизированном нервном волокне участки мембраны, покрытые миелиновой оболочкой, являются невозбудимыми;

возбуждение может возникать только в участках мембраны, расположенных в области перехватов Ранвье, где находится максимальное количество управляемых потенциалчувствительных натриевых каналов - 12 000 на 1 мкм. Время проведения возбуждения по миелиновому волокну обратно пропорционально длине между перехватами (рис. 45).

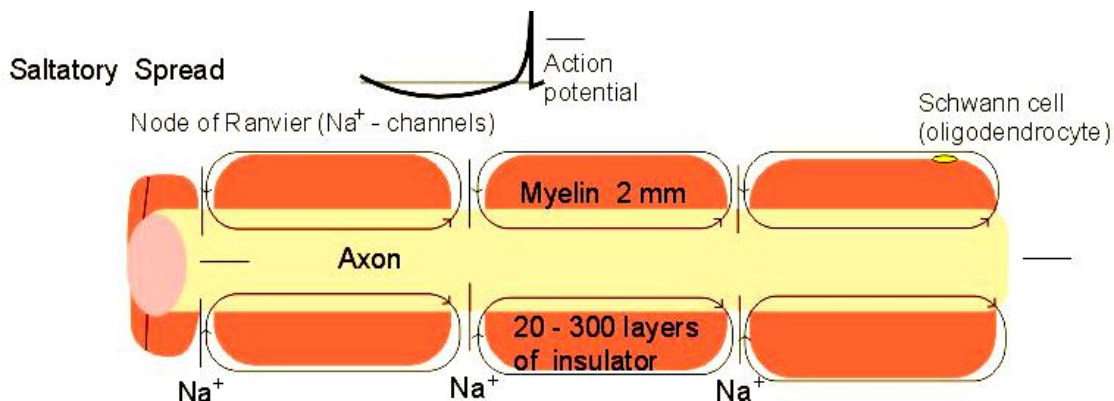


Рис. 45. Распространение потенциала по немиелинизированному и миелинизированному волокнам.

При развитии ПД в одном из перехватов Ранвье происходит реверсия заряда мембраны. Между электроотрицательными и электроположительными участками мембраны возникает электрический ток, который раздражает соседние участки мембраны. Однако в состояние возбуждения может перейти только участок мембраны в области следующего перехвата Ранвье. Таким образом, возбуждение распространяется по мембране скачкообразно (сальтаторно) от одного перехвата Ранвье к другому. "Перепрыгивание" потенциала действия через участок между перехватами возможно потому, что амплитуда ПД в 5-6 раз превышает пороговую величину, необходимую для возбуждения соседнего перехвата. ПД может "перепрыгивать" не только через один, но и через два межперехватных промежутка. Это явление может наблюдаться при снижении возбудимости соседнего перехвата под действием какого-либо фармакологического вещества, например, новокаина, кокаина и др. Сальтаторное проведение возбуждения является высокоскоростным, высокоэкономичным.

Нервные волокна по скорости проведения возбуждения, диаметру волокна, длительности различных фаз потенциала действия и строению принято подразделять на три типа: А, В, С. Волокна типа А в свою очередь делятся на подтипы: А-альфа, А-бета, А-гамма, А-дельта (табл. 3).

Проведение возбуждения по нервному волокну не нарушается в течение длительного (многочасового) времени. Это свидетельствует о малой утомляемости нервного волокна. Считают, что нервное волокно относительно неутомляемо вследствие того, что процессы ресинтеза энергии в нем идут с достаточно большой скоростью и успевают восстановить траты энергии, происходящие при прохождении возбуждения. В момент возбуждения энергия нервного волокна тратится на работу натрий-калиевого насоса. Особенно большие траты энергии происходят в перехватах Ранвье вследствие большой плотности здесь натрий-калиевых каналов.

Таблица 3

Классификация нервных волокон по Эрлангеру-Гассеру

Тип волокна	Средний диаметр (мкм)	Скорость проведения (м/с)	Функции
A α	15	70-120	Первичные афференты мышечных веретен, двигательные волокна скелетных мышц
A β	8	30-70	Кожные афференты прикосновения и давления
A γ	5	15-30	Двигательные волокна мышечных веретен
A δ	<3	12-30	Кожные афференты температуры, боли
B	3	3-15	Симпатические преганглионарные волокна
C (немиелини- зированные)	1	0,5-2	Симпатические постганглионарные волокна. Кожные афференты боли

Распространение потенциала действия в дендрите представляет собой гораздо более сложный процесс, чем в аксоне. Во-первых, в аксоне справедливо допущение, что подпороговые изменения потенциала не влияют на пассивные свойства мембраны. В дендритах, напротив, это допущение невозможно благодаря наличию целого ряда потенциалзависимых проводимостей, кроме тех, что обычно участвуют в генерации потенциала действия. Положение более усложняется тем, что в дендритном дереве ПД соседствуют с синаптическими потенциалами (ВПСП и ТПСП).

5.3. Законы проведения возбуждения в нервных волокнах

1. Закон двустороннего проведения - возбуждение, возникающее в одном участке нерва, распространяется в обе стороны от места своего возникновения. Это можно доказать, если на нервное волокно наложить регистрирующие электроды на некотором

расстоянии друг от друга, а между ними нанести раздражение. Возбуждение зафиксируют электроды по обе стороны от места раздражения. В организме возбуждение всегда распространяется по аксону от тела клетки (ортодромно).

2. Закон анатомической и физиологической целостности - возбуждение может распространяться по нервному волокну только в случае его морфологической и функциональной целостности. Различные факторы, воздействующие на нервное волокно (наркотические вещества, охлаждение, перевязка и т. д.) приводят к нарушению физиологической целостности, т. е. к нарушению механизмов передачи возбуждения. Несмотря на сохранение его анатомической целостности, проведение возбуждения в таких условиях нарушается.

Н. Е. Введенский обнаружил, что если участок нерва подвергнуть альтерации (т. е. воздействию повреждающего агента) посредством, например, отравления или повреждения, то лабильность такого участка резко снижается. Восстановление исходного состояния нервного волокна после каждого потенциала действия в поврежденном участке происходит медленно. При действии на этот участок частых раздражителей он не в состоянии воспроизвести заданный ритм раздражения, и поэтому проведение импульсов блокируется. Такое состояние пониженной лабильности было названо Н. Е. Введенским парабиозом. В развитии состояния парабиоза можно отметить три, последовательно сменяющих друг друга, фазы: уравнительную, парадоксальную, тормозную.

В уравнительную фазу происходит уравнивание величины ответной реакции на частые и редкие раздражители. В нормальных условиях функционирования нервного волокна величина ответной реакции иннервируемых им мышечных волокон подчиняется закону силы: на редкие раздражители ответная реакция меньше, а на частые раздражители - больше. При действии парабиотического агента и при редком ритме раздражении (например, 25 Гц) все импульсы возбуждения проводятся через парабиотический участок, так как возбудимость после предыдущего импульса успевает восстановиться. При высоком ритме раздражении (100 Гц) последующие импульсы могут поступать в тот момент, когда нервное волокно еще находится в состоянии относительной рефрактерности, вызванной предыдущим потенциалом действия. Поэтому часть импульсов не проводится. Если проводится только каждое четвертое возбуждение (т. е. 25 импульсов из 100), то амплитуда ответной реакции становится такой же, как на редкие раздражители (25 Гц) - происходит уравнивание ответной реакции.

В парадоксальную-фазу происходит дальнейшее снижение лабильности. При этом на редкие и частые раздражители ответная реакция возникает, но на частые раздражители

она значительно меньше, т. к. частые раздражители еще больше снижают лабильность, удлиняя фазу абсолютной рефрактерности. Следовательно, наблюдается парадокс - на редкие раздражители ответная реакция больше, чем на частые. В тормозную фазу лабильность снижается до такой степени, что и редкие, и частые раздражители не вызывают ответной реакции. При этом мембрана нервного волокна деполяризована и не переходит в стадию реполяризации, т. е. не восстанавливается ее исходное состояние.

Явление парабиоза лежит в основе медикаментозного локального обезболивания. Влияние анестезирующих веществ также связано с понижением лабильности и нарушением механизма проведения возбуждения по нервным волокнам. Парабиоз - явление обратимое. Если парабиотическое вещество действует недолго, то после прекращения его действия нерв выходит из состояния парабиоза через те же фазы, но в обратной последовательности. Механизм развития парабиотического состояния сводится к следующему. При воздействии на нервное волокно парабиотического фактора нарушается способность мембраны увеличивать натриевую проницаемость в ответ на раздражение. В участке альтерации инактивация натриевых каналов, вызванная повреждающим агентом, суммируется с инактивацией, вызываемой нервным импульсом, и возбудимость снижается настолько, что проведение следующего импульса блокируется.

3. Закон изолированного проведения - возбуждение, распространяющееся по волокну, входящему в состав нерва, не передается на соседние нервные волокна. Способность нервного волокна к изолированному проведению возбуждения обусловлена наличием оболочек, а также тем, что сопротивление жидкости, заполняющей межволоконные пространства, значительно ниже, чем сопротивления мембраны волокна. Поэтому ток, выйдя из возбужденного волокна, шунтируется в жидкости и оказывается слабым для возбуждения соседних волокон. Основная часть тока, возникающего между возбужденным и невозбужденным участками нервного волокна, проходит по межклеточным щелям, не действуя на рядом расположенные нервные волокна. Изолированное проведение возбуждения имеет важное значение. Нерв содержит большое количество нервных волокон (чувствительных, двигательных, вегетативных), которые иннервируют различные по структуре и функциям эффекторы (клетки, ткани, органы). Если бы возбуждение внутри нерва распространялось с одного нервного волокна на другое, то нормальное функционирование органов было бы невозможно

4. Закон бездекрементного проведения - амплитуда потенциала действия не изменяется с увеличением расстояния от места его возникновения.

ГЛАВА 6. ФИЗИОЛОГИЯ СКЕЛЕТНЫХ И ГЛАДКИХ МЫШЦ

6.1. Морфологическая организация скелетной мышцы

Все скелетные мышцы состоят из мышечных волокон (всего около 300 млн. мышечных волокон) (рис. 46).

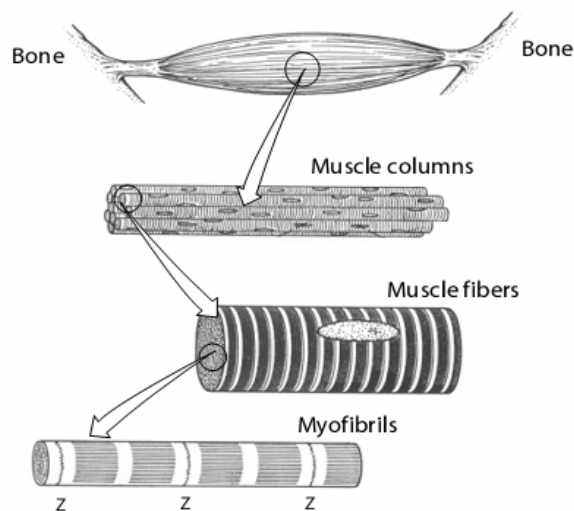


Рис. 46. Морфологическая организация скелетной мышцы. Z-линия (диск) состоит из α -актинина, актин-связывающего белка.

Мышечное волокно – многоядерное образование, имеет:

- плазматическую мембрану (сарколемму) от которой внутрь отходят многочисленные поперечные трубочки – Т-система,
- цитоплазму (саркоплазму), в которой находятся саркоплазматический ретикулум – продольные трубочки и их расширения – цистерны, ядра, миофибриллы, митохондрии и др. и многочисленные органеллы.
- миофибриллы – сократительный аппарат мышцы (в одном волокне до 2000). Миофибриллы расположены параллельно друг другу так, что А- и I-диски (band) одних миофибрилл точно совпадают с другими, обуславливая поперечную исчерченность всего волокна. Каждая миофибрилла состоит в среднем из 2500 миофиламентов (протофибрилл) (рис. 47) двух типов:
 - тонких нитей сократительного белка актина (А),
 - толстых нитей сократительного белка - миозина (М).

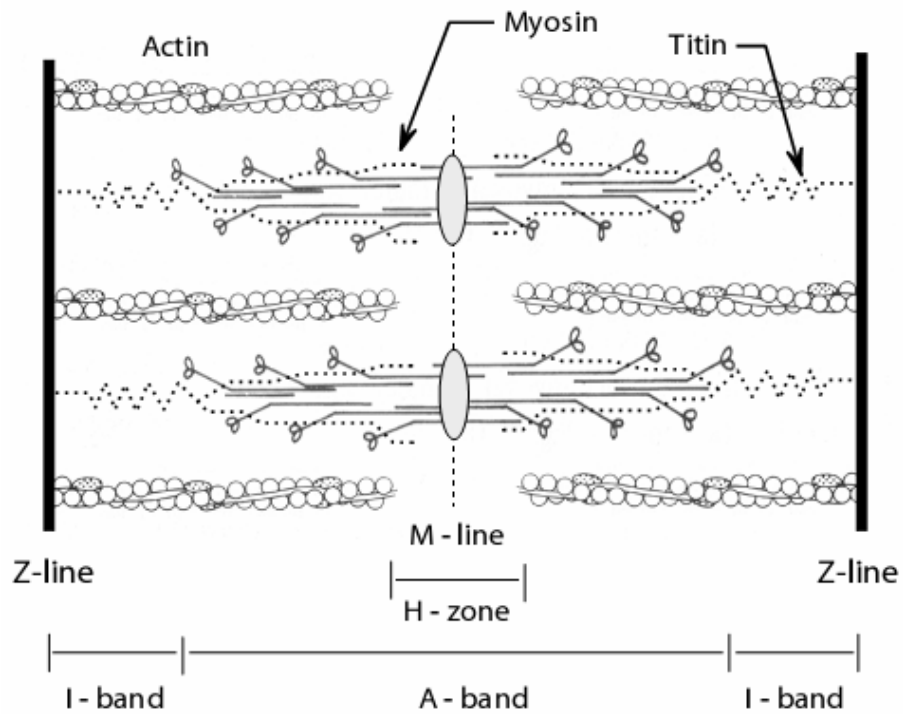


Рис. 47. Соотношение актиновых и миозиновых нитей в саркомере.

Актиновые миофиламенты состоят из двух закрученных одна вокруг другой, словно бусы, цепочек глобулярных молекул актина. На ней через 40 нм закреплены молекулы другого белка – тропонина, а в желобках между цепочками лежат нити тропомиозина, прикрывая активные центры актина (рис. 48).

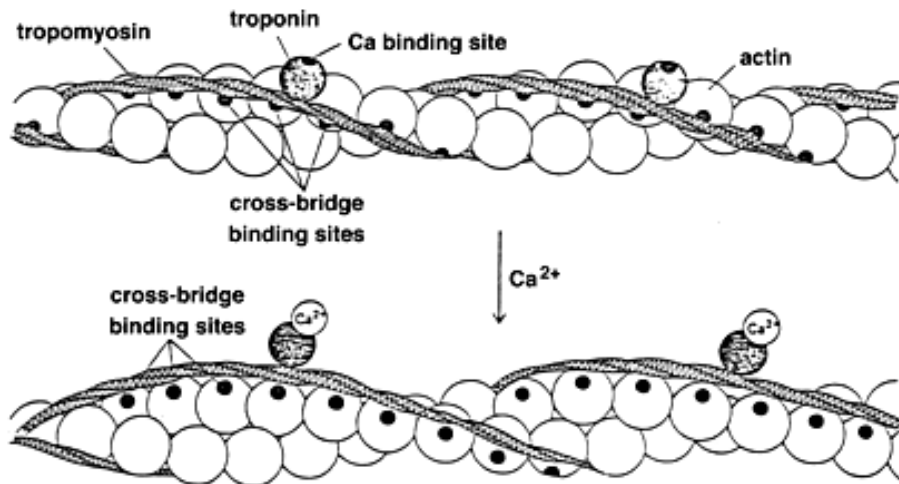


Рис. 48. Строение актиновых нитей.

Миозиновые филаменты состоят из попарно скрученных молекул миозина, каждая из которых, имеет отросток, называемый головкой (поперечные мостики) (рис. 49).

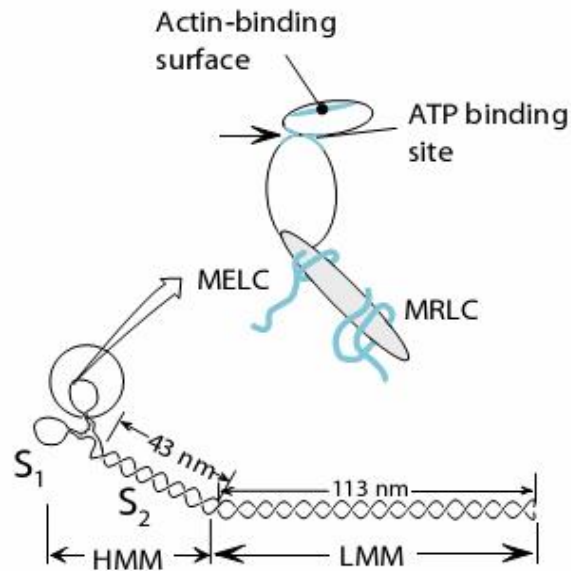


Рис. 49. Строение молекулы миозина. АТФ – аденозинтрифосфат; HMM – тяжелые цепи меромиозина; LMM – легкие цепи меромиозина; MELC – миозиновые эссенциальные легкие цепи; MRLC – миозиновые регуляторные легкие цепи.

6.2. Механизм сокращения скелетной мышцы

При сокращении актиновые и миозиновые нити не укорачиваются, а скользят относительно друг друга. Причиной скольжения является поступление к актиновым филаментам ионов кальция.

При проведении импульса через нервно-мышечное соединение в мышечной пластинке возникает локальная деполяризация и при суммации локальных потенциалов – потенциал действия (рис. 50), распространяющийся по мембране миоцита скелетной мышцы.

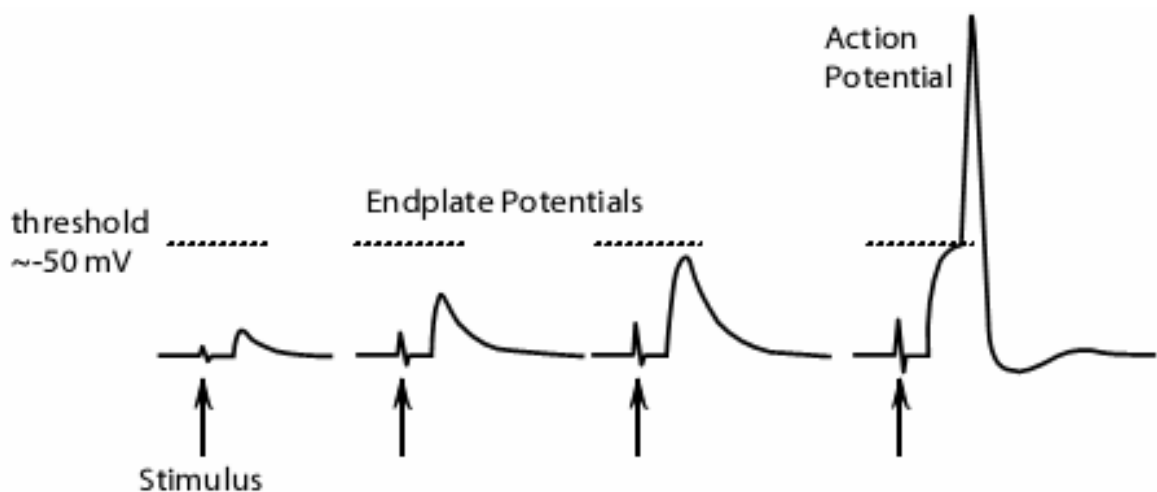


Рис. 50. Развитие потенциала действия в мышечной пластинке.

Механизм развития сокращения мышцы представлен несколькими этапами.

1. При распространении ПД по мембране миофибриллы на поперечную трубочку, а затем продольную систему клетки – саркоплазматический ретикулум (СПР) происходит высвобождение Ca^{2+} из цистерн СПР (с 10^{-7} до 10^{-5}M). В *скелетной* мышце этот процесс начинается с активации потенциалзависимых дигидропиридиновых рецепторов (dihydropyridine receptors, DHPR) в мембране поперечной трубочки. DHPR располагается напротив Ca^{2+} -канала в мембране СПР, который называется рианодиновым рецептором (ryanodine receptor, RYR1). Потенциалзависимая активация DHPR приводит к конформационным изменениям молекулы рецептора, которые улавливает связанный с ним RYR1 и канал для Ca^{2+} открывается. В *миокарде* DHPR является только частью потенциалзависимого Ca^{2+} -канала в мембране поперечной трубочки. В этом случае изменение потенциала вызывает открытие Ca^{2+} -каналанааружной мембраны кардиомиоцита. Внешний Ca^{2+} попадает в клетку через этот канал и стимулирует открытие Ca^{2+} -канала СПР – RYR2, в результате чего Ca^{2+} из СПР попадает в цитоплазму.

2. При связывании Ca^{2+} с тропонином (кальмодулином) молекула деформируется таким образом, что тропомиозин как бы заталкивается в желобок между двумя цепочками актина, открывая участки для прикрепления миозиновых поперечных мостиков.

3. В результате освобождения активного центра актина к нему присоединяется головка миозина. При этом активируется АТФаза, расположенная в головке миозина. Полный гидролиз соединения АДФ·Фн сопровождается поворотом головки на 45° (рис. 51А). При повороте миозин продвигается по актину на один «шаг» или «гребок», равный 10-20 нм (рис. 51В).

4. АДФ и Фн отходят, а на их место присоединяется новая молекула АТФ, что приводит к разрыву связи миозина с актином (рис. 51С). После присоединения молекулы АТФ сразу же происходит ее частичный гидролиз и образуется высокоэнергетическое соединение АДФ·Фн (рис. 51D).

Накоплению в системе продольных трубочек Ca^{2+} и поддержанию его низкой концентрации в цитоплазме у протофибрилл способствует Са-насос - Са-зависимая АТФаза. Расслабление мышцы вызывается обратным переносом ионов Ca^{2+} посредством кальциевого насоса в каналы саркоплазматического ретикулума. По мере удаления Ca^{2+} из цитоплазмы открытых центров связывания становится все меньше и в конце концов актиновые и миозиновые филаменты полностью рассоединяются; наступает расслабление мышцы.

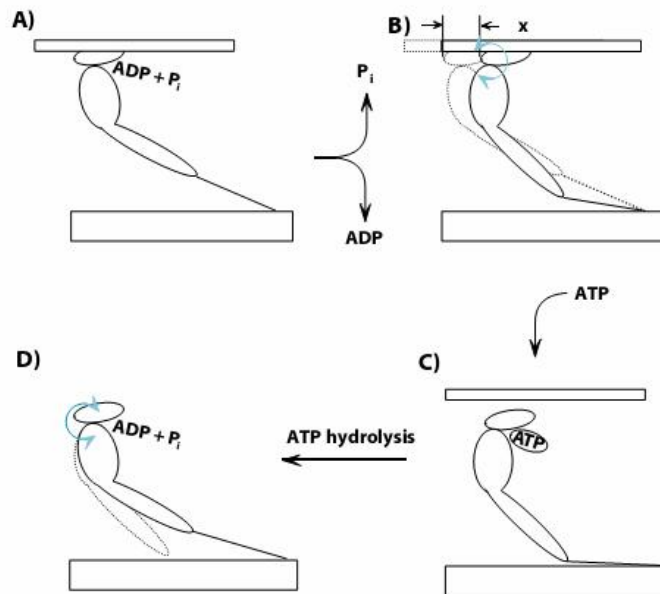


Рис. 51. Механизм «гребка» при развитии мышечного сокращения.

Контрактурой называют стойкое длительное сокращение мышцы, сохраняющееся после прекращения действия раздражителя. Кратковременная контрактура может развиваться после тетанического сокращения в результате накопления в саркоплазме большого количества Ca^{2+} ; длительная (иногда необратимая) контрактура может возникать в результате отравления ядами, нарушений метаболизма.

Таким образом, электрические проявления в мышцах при возбуждении приводят к механическому сокращению мышцы, т.е. имеет место *электромеханическое сопряжение* этих процессов.

6.3. Типы мышечных сокращений

В зависимости от условий, в которых мышца осуществляет сокращение, принято различать следующие типы (режимы):

1. изотоническое – мышца укорачивается при постоянном напряжении (внешней нагрузке); изотоническое сокращение воспроизводится только в эксперименте;
2. изометрическое - напряжение мышцы возрастает, а ее длина не изменяется; мышца сокращается изометрически при совершении статической работы (рис. 52);
3. смешанное – ауксотоническое или ауксометрическое - напряжение мышцы изменяется по мере ее укорочения; ауксотоническое сокращение выполняется при динамической преодолевающей работе.

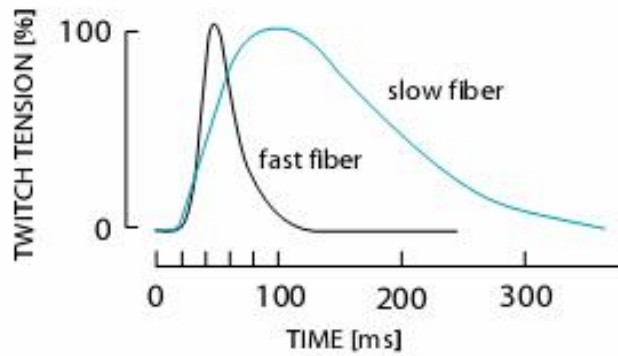


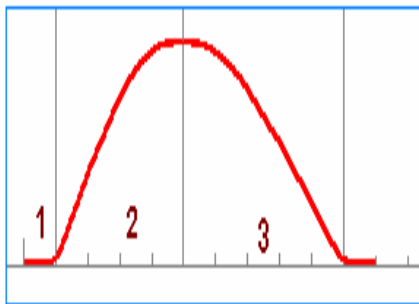
Рис. 52. Развитие напряжения в мышце при изометрических условиях.

В целостном организме наблюдаются в основном смешанные сокращения с преобладанием изменения либо длины, либо напряжения мышцы.

6.4. Виды мышечных сокращений

В зависимости от частоты раздражения мышца реагирует либо одиночными, либо тетаническими сокращениями. При раздражении одиночным стимулом мышца отвечает одиночным сокращением, в котором выделяют три фазы – латентная, укорочения (напряжения) и расслабления (рис. 53А):

А



Б

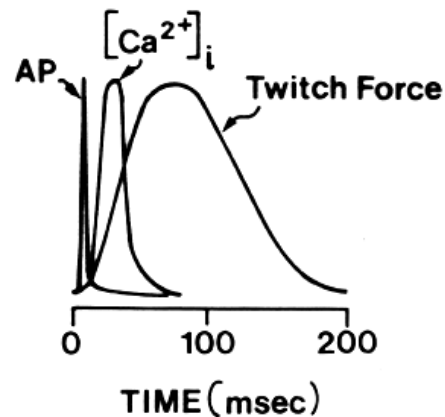


Рис. 53. Фазы одиночного сокращения скелетной мышцы: 1 – латентная; 2 – фаза укорочения; 3 – фаза расслабления; Б - временное соотношение между развитием потенциала действия на мембране (AP), током кальция $[Ca^{2+}]_i$ и одиночным сокращением скелетного волокна (twitch force).

Латентная (скрытая) фаза – от начала раздражения до начала укорочения. Именно в этот период происходит генерация ПД и выброс Ca^{2+} из цистерн в саркоплазму мышечного волокна (рис.53Б).

В естественных условиях к скелетным мышцам поступают не одиночные, а серийные импульсы с той или иной частотой. Если интервал между ними меньше времени одиночного сокращения, то происходит суммация сокращений и формируется слитное тетаническое сокращение (рис. 54).

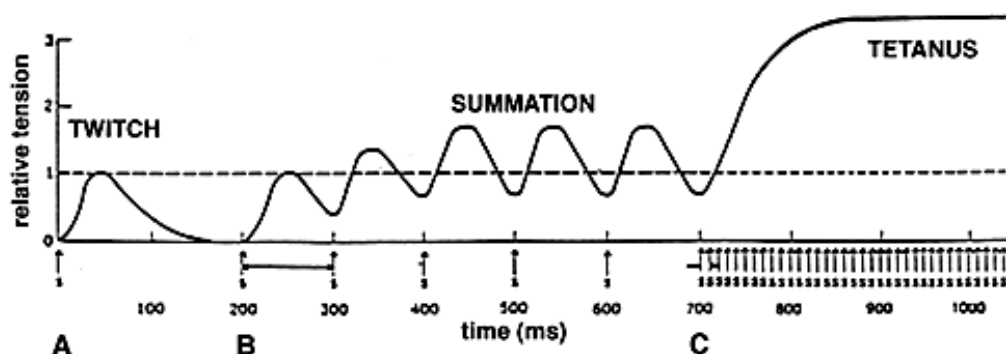


Рис. 54. Схема формирования одиночных и тетанических сокращений скелетной мышцы.

При более высокой частоте импульсов очередной импульс может совпасть с фазой расслабления предыдущего цикла сокращения. Амплитуда сокращений будет суммироваться, но не полностью, возникнет зубчатый тетанус – длительное сокращение, прерываемое периодами неполного расслабления мышцы. При дальнейшем увеличении частоты импульсов каждый следующий импульс будет действовать на мышцу во время фазы укорочения, в результате чего возникнет полная суммация или гладкий тетанус – длительное сокращение, не прерываемое периодами расслабления (рис. 55).

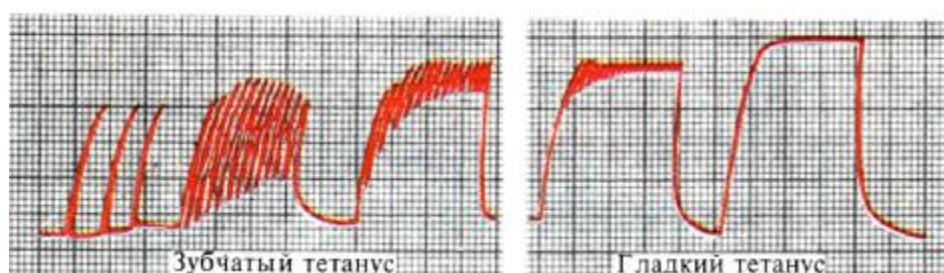


Рис. 55. Запись миограммы скелетной мышцы лягушки (Руководство к практическим занятиям по физиологии под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева, 1988).

6.5. Двигательные единицы

Мышцы иннервируются *мотонейронами*. Каждый аксон мотонейрона иннервирует группу мышечных волокон. Мотонейрон вместе с иннервируемыми им мышечными волокнами называется двигательной единицей (рис. 56А). Количество мышечных волокон колеблется от 10-20 (мышцы глаза, кисти) до 2000 (камбаловидная

мышца). Отдельные двигательные единицы могут возбуждаться и сокращаться независимо друг от друга. Различают *быстрые и медленные* двигательные единицы. Время сокращения быстрых двигательных единиц - 10-30 мс, медленных – 100 мс и более. Мышечные волокна, которые входят в состав двигательных единиц, неоднородны. Волокна, входящие в состав одной мышцы, могут отличаться по многим признакам: по количеству митохондрий и гликогена, по степени развития саркоплазматического ретикулума, по характеру иннервации и т.д. Детальное изучение биохимических, метаболических и гистохимических характеристик мышечных волокон, входящих в состав поперечнополосатых мышц млекопитающих позволило выделить четыре основные группы волокон.

Медленные тонические мышечные волокна (рис. 56Б). Такие волокна характеризуются низкой скоростью сокращения, мультитерминальной иннервацией и невозможностью совершать одиночные сокращения.

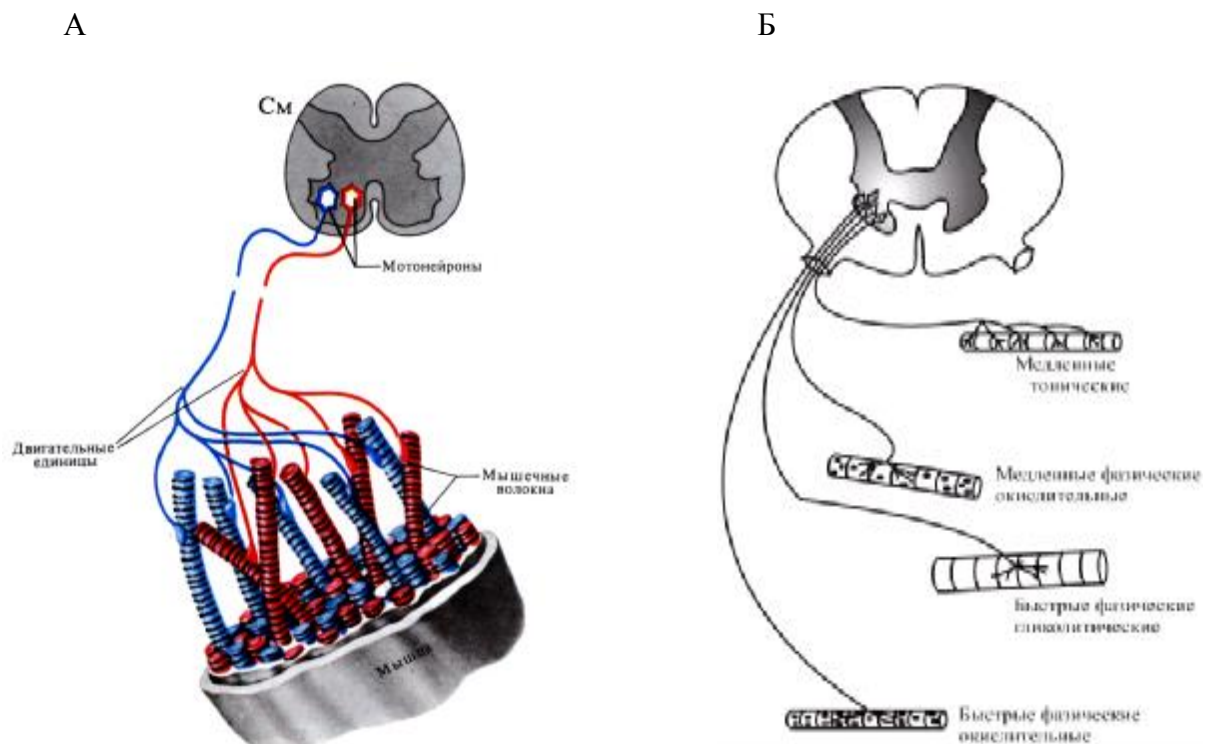


Рис. 56. Строение двигательной единицы (А) (Руководство к практическим занятиям по физиологии под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева, 1988) и метаболические подтипы поперечнополосатых мышц у позвоночных животных (Б).

У млекопитающих медленные тонические волокна обнаружены в наружных мышцах глазного яблока. Тонические волокна не обладают способностью генерировать потенциал действия, в нем нет необходимости, поскольку распространение возбуждения

осуществляется благодаря ответвлениям моторного нерва. Моторный нерв расположен вдоль мышечного волокна и образует с ним по всей длине чередование многочисленных синапсов. Одиночный пресинаптический импульс вызывает в таком волокне лишь незначительное сокращение. Серии импульсов приводят, благодаря временной суммации к плавно нарастающей (градуальной) деполяризации мембраны мышечного волокна. Это приводит к постепенной активизации сократительной системы и медленному развитию напряжения. По окончанию сокращения наступает расслабление в 100 раз более медленное, чем у быстрых волокон.

Медленные фазические волокна. Волокна этого подтипа характеризуются малой скоростью сокращения и довольно высокой выносливостью. В отличие от медленных тонических волокон, мембрана которых характеризуется градуальной деполяризацией, медленные фазические волокна генерируют потенциал действия в соответствии с законом "все или ничего". Иннервируются медленные фазические волокна одним двигательным аксоном и имеют обычно только одну концевую пластинку. Медленное развитие утомления в таких волокнах является следствием большого числа митохондрий и низкой скорости расходования АТФ. В организме млекопитающих медленные фазические волокна участвуют в поддержании позы, и обеспечивают выполнение медленных повторяющихся движений.

Быстрые фазические гликолитические волокна. Это чрезвычайно важные для передвижения волокна, они способны к быстрым сокращениям, причем в то время, когда кровеносная система еще только приспосабливается к более высокому уровню мышечной активности. Быстрые фазические гликолитические волокна имеют мало митохондрий и миоглобина. В качестве источника АТФ используются анаэробные процессы (гликолиз). Такие волокна некоторое время сокращаются даже тогда, когда кровеносная система не успевает обеспечить дополнительную доставку кислорода. В таких условиях в мышцах очень быстро создается кислородная задолженность.

Быстрые фазические окислительные волокна. Такой подтип мышечных волокон характеризуется способностью работать в режиме быстрых одиночных сокращений. При этом утомление в них развивается довольно медленно, что объясняется наличием довольно большого количества митохондрий. Интенсивный процесс окислительного формирования обеспечивает постоянное восполнение запасов АТФ. Низкая продолжительность одиночного сокращения обусловлена наличием высокоразвитой саркоплазматической системы, которая позволяет быстро высвободить и вновь захватывать саркоплазматический кальций.

Приведенная классификация в некоторой степени условна, поскольку существуют и промежуточные подтипы фазических волокон, которые сочетают определенные признаки мышечных волокон описанных выше. Вместе с тем в настоящее время не вызывает сомнений, что свойства мышечных волокон зависят от трех основных факторов:

1. Электрические свойства мембраны определяют: будет ли волокно реагировать одиночным сокращением по закону "все или ничего" или плавно нарастающим (градуальным) сокращением.

2. Скорость сокращения волокон определяется активностью миозиновой АТФазы и степенью развития саркотубулярной системы.

3. Способность к длительной работе зависит от содержания и активности митохондрий.

6.6. Физические свойства скелетной мышцы

1. Растяжимость – способность изменять длину под действием растягивающей силы.

2. Эластичность – способность принимать первоначальную длину или форму после прекращения растягивающей или деформирующей силы.

3. Работоспособность. Совершаемая мышцей работа измеряется в кг·м и представляет собой произведение величины груза на высоту подъема (величину укорочения). Работа увеличивается с возрастанием груза до некоторого его значения, после чего дальнейшее увеличение груза ведет к снижению работы за счет уменьшения высоты подъема груза. Работа окажется равной 0, когда груза нет или мышца не сможет поднять груз (рис. 57).

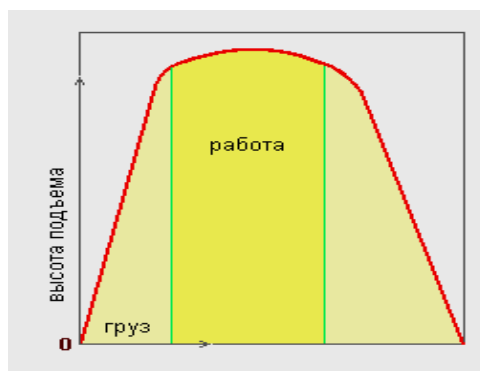


Рис. 57. Максимальная работа совершается при средних нагрузках.

При оценке работоспособности мышцы следует учитывать и такую их характеристику, как их сила. Сила мышц - максимальная величина груза, который она в состоянии поднять. Для сравнения силы разных мышц определяют их удельную силу, для чего максимальный груз относится к физиологическому поперечному сечению.

Физиологическое поперечное сечение отличается от геометрического. Оно совпадает с ним только в мышцах с продольным расположением миофибрилл; а в мышцах с косым их расположением (например, перистых), физиологическое поперечное сечение превышает геометрическое.

Утомление – физиологическое состояние мышцы, которое развивается после совершения длительной работы и проявляется снижением амплитуды сокращений, удлинением латентного периода сокращения и фазы расслабления. Причинами утомления являются: истощение запаса АТФ, накопление в мышце продуктов метаболизма. Утомляемость мышцы при ритмической работе меньше, чем утомляемость синапсов. Поэтому при совершении организмом мышечной работы утомление первоначально развивается на уровне синапсов ЦНС и нейро-мышечных синапсов.

6.7. Физиологические свойства скелетной мышцы

Кроме общих свойств, характерных для всех возбудимых систем - возбудимость, проводимость, лабильность ($200 - 300 \text{ с}^{-1}$) (табл. 5), скелетные мышцы обладают специфическим свойством – сократимостью:

Таблица 5

Сравнительная характеристика свойств скелетной, сердечной и гладкой мышц

Показатели	Скелетная мышца	Мышца сердца	Гладкая мышца
Хронаксия, мс	0,08–0,4	2–3	20–40
Длительность рефрактерного периода, с	0,005–0,01	0,3–0,4	десятыи доли секунды
Скорость проведения возбуждения, мс	6–11	1–4	0,5–1
Длительность одиночных сокращений, с	0,05–0,1	0,5–0,8	десятыи секунды

Сократимость – способность мышцы изменять длину и напряжение в ответ на действие раздражителя.

6.8. Особенности гладких мышц

Гладкие мышцы построены из веретенообразных одноядерных мышечных клеток, связанных между собой нексусами (рис. 58). Нексусы обеспечивают распространение ПД с одного мышечного волокна на другое. Т.о., гладкомышечная ткань представляет собой функциональный синтиций. У гладкомышечной клетки веретенообразная форма, длина

которой примерно 50 - 400 мкм и толщина 2-10 мкм. Отдельные нити соединены особыми межклеточными контактами - десмосомами и образуют сеть с вплетенными в нее коллагеновыми волокнами. Отсутствие поперечной исчерченности, характерной для сердечной и скелетной мускулатуры, объясняется нерегулярным распределением миозиновых и актиновых нитей. Укорачиваются гладкие мышцы также за счет скольжения миофиламентов относительно друг друга, но скорость скольжения и расщепление АТФ здесь в 100 - 1000 раз ниже, чем у поперечнополосатых мышц. В связи с этим гладкие мышцы особенно хорошо приспособлены для длительного устойчивого сокращения, не приводящего к утомлению и значительным энергозатратам.

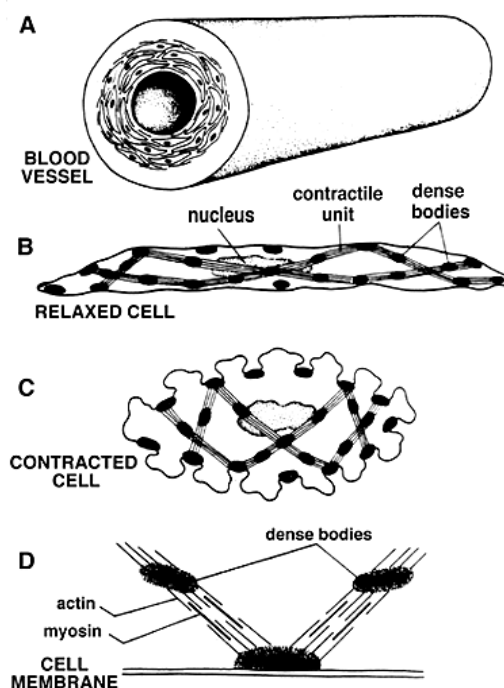


Рис. 58. Особенности строения гладких мышц.

Гладкие мышцы входят в состав внутренних органов, сосудов и кожи. Они отличаются наличием интересных функциональных особенностей: способностью осуществлять относительно медленные движения и длительные тонические сокращения. Медленные движения (сокращения), часто имеющие ритмический характер сокращения гладких мышц стенок полых органов: желудка, кишечника, протоков пищеварительных желез, мочевого пузыря, желчного пузыря, обеспечивают перемещение содержимого этих органов. Примером являются маятникообразные и перистальтические движения кишечника. Длительные тонические сокращения гладких мышц особенно резко выражены в сфинктерах полых органов; их тонические сокращения препятствуют выходу

содержимого. Это обеспечивает нахождение желчи в желчном пузыре и мочи в мочевом пузыре, формирование каловых масс в толстом кишечнике.

Волокна гладкой мышцы имеют по одному ядру, небольшой размер и веретенообразную форму. Они соединены между собой боковыми поверхностями через щелевые контакты и образуют электрически объединенные группы клеток. Висцеральная гладкая мышца имеет двойную иннервацию — симпатическую и парасимпатическую, функция которой заключается в изменении деятельности гладкой мышцы. Раздражение одного из вегетативных нервов обычно увеличивает активность гладкой мышцы, стимуляция другого — уменьшает. В некоторых органах, например кишечнике, стимуляция адренергических нервов уменьшает, а холинергических — увеличивает мышечную активность; в других, например, сосудах, норадреналин усиливает, а АХ снижает мышечный тонус. Строение нервных окончаний в гладкой мышце отличается от строения нервно-мышечного синапса скелетной мышцы. В гладкой мышце нет концевых пластинок и отдельных нервных окончаний (рис. 59).

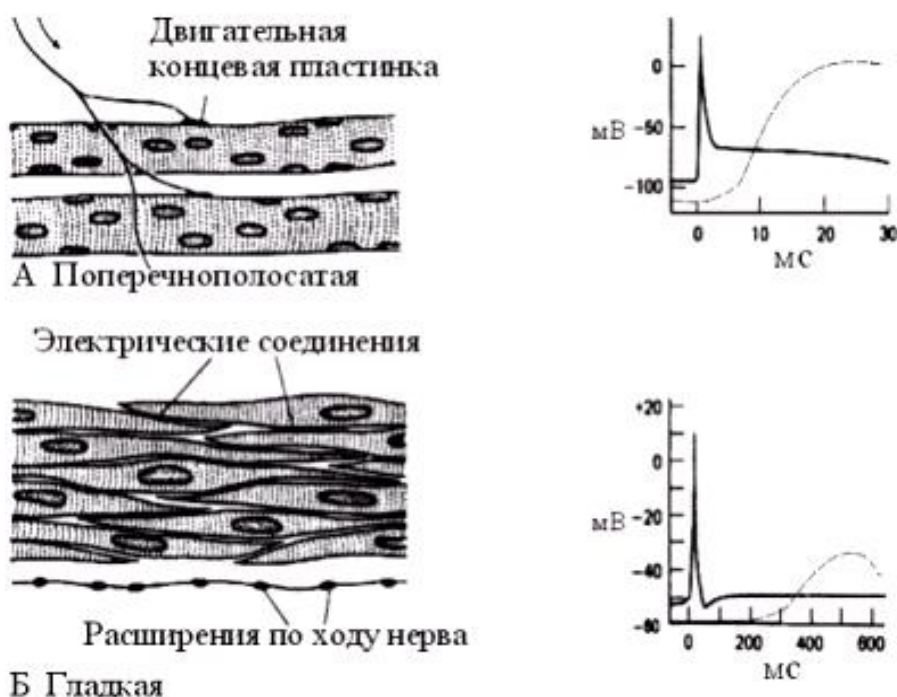


Рис. 59. Показано строение (слева) поперечнополосатых и гладких мышц у позвоночных и зависимость между электрической (сплошные линии) и механической (пунктирные линии) активностью (справа) (Hodgkin, Horowicz, 1957).

По всей длине разветвлений адренергических и холинергических нейронов имеются утолщения, называемые варикозами. Они содержат гранулы с медиатором, который выделяется из каждой варикозы нервных волокон. Таким образом, по ходу следования

нервного волокна могут возбуждаться или тормозиться многие гладкие мышечные клетки. Клетки, лишенные непосредственных контактов с варикозами, активируются потенциалами действия, распространяющимися через нексусы на соседние клетки. Скорость проведения возбуждения в гладкой мышце невелика и составляет несколько сантиметров в секунду. Возбуждающее влияние адренергических или холинергических нервов электрически проявляется в виде отдельных волн деполяризации. При повторной стимуляции эти потенциалы суммируются, и по достижении пороговой величины возникает ПД.

Тормозящее влияние адренергических или холинергических нервов проявляется в виде отдельных волн гиперполяризации, называемых тормозными постсинаптическими потенциалами (ТПСП). При ритмической стимуляции ТПСП суммируются. Возбуждающие и тормозные постсинаптические потенциалы наблюдаются не только в мышечных клетках, контактирующих с варикозами, но и на некотором расстоянии от них. Это объясняется тем, что постсинаптические потенциалы передаются от клетки к клетке через нексусы или посредством диффузии медиатора из мест его выделения. В состоянии постоянного тонического сокращения находятся тонкие гладкие мышцы стенок кровеносных сосудов, особенно артерий и артериол. Тонус мышечного слоя стенок артерий регулирует величину кровяного давления и кровоснабжение органов. Двигательная иннервация гладких мышц осуществляется отростками клеток вегетативной нервной системы, чувствительная - отростками клеток симпатических ганглиев. Тонус и двигательная функция гладких мышц регулируется также и гуморальными влияниями.

Все гладкие мышц можно разделить на две группы:

1. Гладкие мышцы с миогенной активностью. Во многих гладких мышцах кишечника (например, слепой кишки) одиночное сокращение, вызванное потенциалом действия, продолжается несколько секунд. Следовательно, сокращения, следующие с интервалом менее 2с, накладываются друг на друга, а при частоте выше 1 Гц сливаются в более или менее гладкий тетанус (тетанообразный тонус) (рис.60).

Природа такого тетануса миогенная; в отличие от скелетной мышцы гладкие мышцы кишечника, мочеочника, желудка и матки способны к спонтанным тетанообразным сокращениям после изоляции и денервации и даже при блокаде нейронов интрамуральных ганглиев. Следовательно, их потенциалы действия не обусловлены передачей к мышце нервных импульсов, а имеют миогенное происхождение.

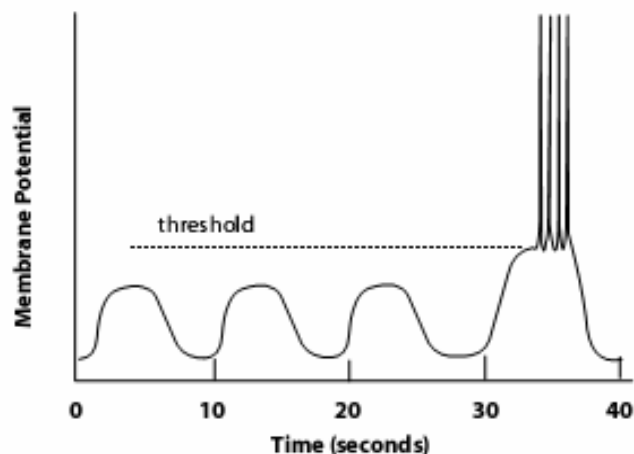


Рис. 60. Электрическая активность гладких мышц

Миогенное возбуждение возникает в клетках-ритмоводителях (пейсмекерах), которые идентичны другим мышечным клеткам по структуре, но отличаются электрофизиологическими свойствами. Пейсмекерные потенциалы деполяризуют мембрану до порогового уровня, вызывая потенциал действия. Из-за поступления в клетку катионов (главным образом Ca^{2+}) мембрана деполяризуется до нулевого уровня и даже на несколько миллисекунд меняет полярность до +20 мВ. После реполяризации следует новый пейсмекерный потенциал, обеспечивающий генерацию следующего потенциала действия. При воздействии на препарат толстой кишки ацетилхолина пейсмекерные клетки деполяризуются до околопорогового уровня, и частота возникновения потенциалов действия возрастает. Вызванные ими сокращения сливаются до почти гладкого тетануса (рис. 61).

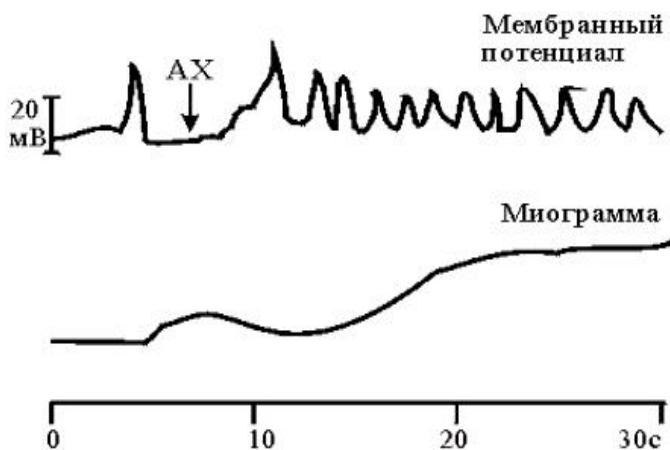


Рис. 61. Спонтанный потенциал действия (верхняя запись) вызывает в изолированной мышце толстой кишки одиночное сокращение. Обработка ацетилхолином (стрелка) повышает частоту возникновения потенциалов действия так, что одиночные сокращения сливаются в тетанус. Нижняя запись - временной ход мышечного напряжения

Чем выше частота следования потенциалов действия, тем слитнее тетанус и тем сильнее сокращение, возникающее в результате суммации одиночных сокращений. И, напротив, нанесение на тот же препарат норадреналина гиперполяризует мембрану и в результате снижает частоту возникновения потенциалов действия и величину тетануса. Таковы механизмы модуляции спонтанной активности пейсмекеров вегетативной нервной системой и ее.

2. Гладкие мышцы без миогенной активности. В отличие от мышц кишечника у гладких мышц артерий, семенных протоков, радужки, а также у ресничных мышц спонтанная активность обычно слабая или ее вообще нет. Их сокращение возникает под действием импульсов, поступающих к этим мышцам по вегетативным нервам. Такие особенности обусловлены структурной организацией их ткани. Хотя клетки в ней электрически связаны нексусами, многие из них образуют прямые синаптические контакты с иннервирующими их аксонами, но привычных нейро-мышечных синапсов в гладкомышечной ткани не образуют. Высвобождение медиатора происходит из многочисленных утолщений (расширений), расположенных по длине вегетативных аксонов. Медиаторы достигают путем диффузии мышечных клеток и активизируют их. При этом в клетках возникают возбуждающие потенциалы, переходящие в потенциалы действия, которые вызывают тетанообразное сокращение.

Нужно отметить, что важным свойством гладких мышц является их большая **пластичность**, т.е. способность сохранять приданную растяжением длину без изменения напряжения. Различие между скелетной мышцей, обладающей малой пластичностью, и гладкой мышцей с хорошо выраженной пластичностью легко обнаруживается, если их сначала медленно растянуть, а затем снять растягивающий груз. В отличие от скелетной гладкая мышца после снятия груза остается растянутой до тех пор, пока под влиянием какого-либо раздражения не возникнет ее активное сокращение. Следовательно, благодаря своей пластичности гладкая мышца может быть полностью расслаблена как в укороченном, так и в растянутом состоянии. Свойство пластичности имеет большое значение для нормальной деятельности гладких мышц стенок полых органов, например, мочевого пузыря: благодаря пластичности гладкой мускулатуры стенок пузыря давление внутри него относительно мало изменяется при разной степени наполнения. Сокращение, активируемое растяжением, играет важную роль в ауторегуляции тонуса артериол, а также обеспечивает автоматическое опорожнение наполнившегося мочевого пузыря в тех случаях, когда нервная регуляция этого процесса отсутствует в результате повреждения спинного мозга.

Механизм сокращения аналогичен таковому в скелетной мышце, но скорость скольжения филаментов и скорость гидролиза АТФ в 100–1000 раз ниже, чем в скелетной мускулатуре. Механизм сопряжения возбуждения и сокращения (рис. 62). При возбуждении клетки Ca^{2+} поступает в цитоплазму миоцита не только из саркоплазматического ретикулула, но и из межклеточного пространства. Ионы Ca^{2+} при участии белка кальмодулина активируют фермент (киназу миозина), который переносит фосфатную группу с АТФ на миозин. Головки фосфорилированного миозина приобретают способность присоединяться к актиновым филаментам.

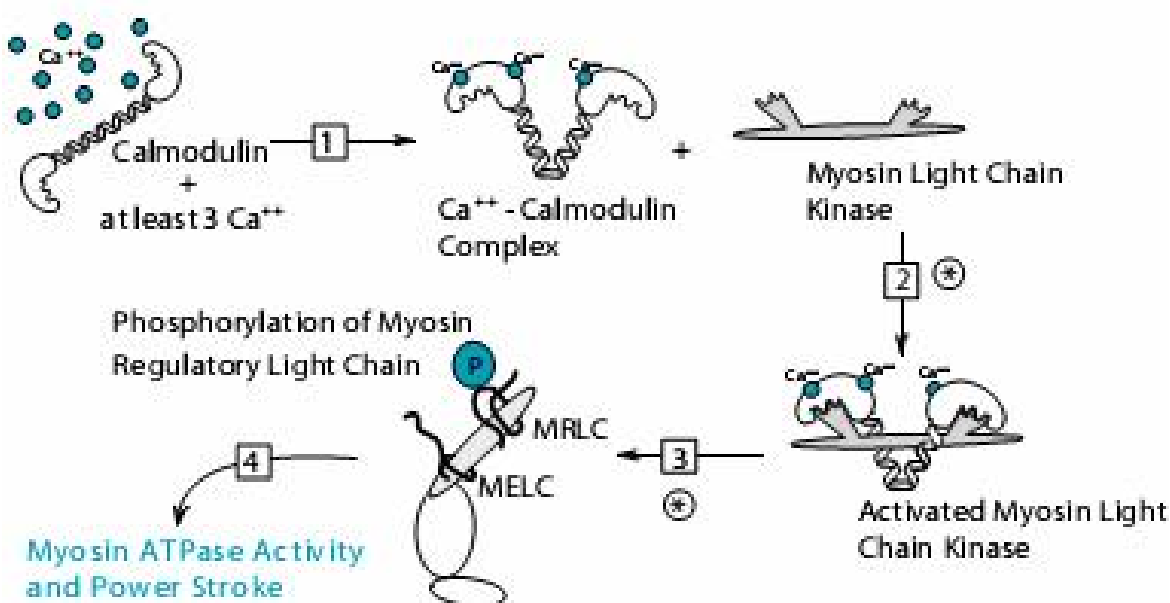


Рис. 62. Последовательность активации электромеханического сопряжения гладких мышц. Кальмодулин – цитоплазматический белок. При присоединении кальция кальмодулин изменяет свою конформацию и активизирует киназу легких цепей миозина. Активированный миозин катализирует фосфорилирование регуляторной легкой цепи миозина, повышая при этом АТФазную активность головки миозина. Фосфорилирование MRLC – необходимое и достаточное условие включения АТФазной активности.

Сокращение и расслабление гладких мышц. Скорость удаления ионов Ca^{2+} из саркоплазмы значительно меньше, чем в скелетной мышце, вследствие чего расслабление происходит очень медленно. Гладкие мышцы совершают длительные тонические сокращения и медленные ритмические движения. Вследствие невысокой интенсивности гидролиза АТФ гладкие мышцы оптимально приспособлены для длительного сокращения, не приводящего к утомлению и большим энергозатратам.

Таким образом, особенностями физиологии гладких мышц являются:

1. Распространение возбуждения происходит за счет нексусов. Эти области с низким электрическим сопротивлением обеспечивают электротоническую передачу деполяризации от возбужденных клеток к соседним.

2. Гладкие мышцы осуществляют медленные движения (от с до мин) и длительные тонические сокращения (например, сфинктер мочевого пузыря).

3. Гладкие мышцы обладают пластичностью, несвойственной скелетным мышцам. Пластичность – способность сохранять приданную мышце при растяжении длину. Например, пластичность мышцы мочевого пузыря предотвращает избыточное повышение давления внутри его по мере наполнения.

4. Гладким мышцам свойственна автоматия – способность самовозбуждаться. Автоматия обусловлена наличием спонтанно самовозбуждающихся клеток (пейсмекеров). У гладких мышц артерий, семенных протоков, радужки, а также у ресничных мышц спонтанная активность обычно слабая или ее вообще нет. Поэтому природа их активности не миогенная, а нейрогенная.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Большой практикум по физиологии. Под ред. Камкина А.Г. (1-е изд.) Учеб. пособие. М.: Академия, 2007 .
2. Введенский Н. Е., Возбуждение, торможение и наркоз. Полн. собр. соч., т. 4, Л., 1953.
3. Камкин А.Г., Каменский А.А.. Фундаментальная и клиническая физиология. М.: Академия, 2004.
4. Камкин А.Г., Киселева И.С., Ярыгин В.Н. Новый тип ионных каналов, Природа 2002; 3:13-20.
5. Костюк П.Г Микроэлектродная техника. К., Изд-во АН УССР, 1960.
6. Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. Междисциплинарный подход. Пер. с англ.; 1980.
7. Регистрация одиночных каналов. Под ред. Сакмана Б. и Неера Э. М.: Мир, 1991.
8. Руководство к практическим занятиям по физиологии: Учебное пособие. Под ред. Г.И. Косицкого, В.А. Полянцева. М.: Медицина, 1988.
9. Робертис Э. де, Новинский В., Саэс Ф., Биология клетки, пер. с англ. М., 1967.
10. Робертсон Дж., Мембрана живой клетки, в сборнике: Структура и функция клетки, пер. с англ. М., 1964.
11. Смирнов В.М., Яковлев В.Н. Физиология центральной нервной системы: Учебное пособие. М: Академия, 2004.
12. Физиология человека: В 3-х томах. Пер. с англ. /Под ред. Р. Шмидта и Г. Тевса. М.: Мир, 2006.
13. Эккерт Р., Рэнделл Д, Огастин Дж. Физиология животных, механизмы и адаптация. М: Мир, 1991.
14. Aldley D. J. The Physiology of Excitable Cells. Cambridge: Cambridge University Press; 1978.
15. Fatt P., Katz B. Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings. J. Physiol 1952; 117:109—128.
16. Finean J. B. The molecular organization of cell membranes, Progress in Biophysics and Molecular Biology 1966; 16:143—70.
17. Daniel A. Goodenough, David L. Paul Nature Reviews Molecular Cell Biology 2003, 4: 285 -295.
18. Davies A., Asa G.H. Blakeley, Cecil Kidd. Human physiology. Churchill Livingstone, 2001.

19. De Marse T.B., Wagenaar D.A., Blau A.W., Potter S.M. The Neurally Controlled animat: biological brains Acting with simulated Bodies. *Autonomous Robots* 11:305-310, 2001
20. Hamill O. P. Ion transport by single receptor channels. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1983; 48: 247—257.
21. Hedrich R., Schroeder J.I. and Fernandez J.M. *Trends biochemistry science.* 1987, 12:49-52.
22. Hodgkin AL, Horowicz P. Effects of K and Cl on the membrane potential of isolated muscle fibres *J Physiol* 1957 Jun 18;137(1):30P.
23. Kolesnikov VA, Alimov AA, Barmintsev VA, Beniumov AO, Zelenina IA, Krasnov AM, Dzhabur R, Zelenin AV. [High velocity mechanical injection of foreign DNA into fish oocytes *Genetika* 1990 Dec; 26(12): 2122-6.
24. Levy M.N.. Berne R.M. *Physiology* /edited by Robert M. Berne/ Mosby, Inc; 1998.
25. Li Z., Sheng M. Some assembly required: the development of neuronal synapses *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 Nov; 4(11): 833-41.
26. Jaworski A, Burden SJ. Neuromuscular synapse formation in mice lacking motor neuron- and skeletal muscle-derived Neuregulin-1. *J Neurosci.* 2006 Jan 11;26(2):655-61.
27. Katz B. *Nerve, Muscle, and Synapse.* New York, McGraw-Hill; 1966.
28. Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest* 2002 Jun; 109(11):1395-9
29. Neher E., Sakmann B. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature* 1976; 260:799—802.
30. Patton B. and Burgess R.W., 2005
31. Silbernagl S. *Color Atlas of Physiology.* New York: Thieme Stuttgart; 2002.
32. Stevens C. F., Study of membrane permeability changes by fluctuation analysis. *Nature* 1977; 270: 391—396
33. Sukharev SI, Blount P, Martinac B, Kung C. Mechanosensitive channels of *Escherichia coli*: the MscL gene, protein, and activities. *Annu Rev Physiol* 1997; 59:633-57.
34. Taketani M., Baudry M. *Advances in Network Electrophysiology Using Multi-Electrode Arrays.* New York: Springer Science + Business Media, Inc; 2006.
35. Unwin, P.N.T., Zampighi G. Structure of the junction between communicating cells. *Nature* 1980; 283: 545-49.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ГЛАВА 1. РАЗДРАЖИМОСТЬ И ВОЗБУДИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ	3
1.1. Раздражимые системы.....	3
1.2. История открытия «животного электричества».....	4
ГЛАВА 2. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ.....	8
2.1. Строение мембраны.....	8
2.2. Типы транспорта веществ через мембрану.....	18
ГЛАВА 3. ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ.....	29
3.1. Роль электрохимического градиента для K^+ , Na^+ , и Cl^- в создании мембранного потенциала на мембране возбудимой клетки.....	29
3.2. Избирательно высокая проницаемость мембраны для ионов.....	32
3.3. Роль Na^+K^+ - насоса в мембране при создании мембранного потенциала покоя возбудимых клеток.....	53
3.4. Методы регистрации потенциала покоя.....	54
ГЛАВА 4. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ.....	55
4.1. Фазы развития потенциала действия.....	55
4.2. Ионные механизмы возникновения потенциала действия.....	58
4.3. Условия возникновения возбуждения в возбудимых системах.....	64
4.4. Действие постоянного тока на возбудимую систему.....	67
4.5. Факторы, определяющие характер ответа возбудимых биосистем на раздражение	69
4.6. Лабильность как одно из общих свойств возбудимых систем.....	74
ГЛАВА 5. ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНЫХ ПРОВОДНИКОВ.....	76
5.1. Морфологическая организация нервных проводников.....	76
5.2. Механизмы проведения нервного импульса в нервных волокнах.....	77
5.3. Законы проведения возбуждения в нервных волокнах.....	81
ГЛАВА 6. ФИЗИОЛОГИЯ СКЕЛЕТНЫХ И ГЛАДКИХ МЫШЦ.....	83
6.1. Морфологическая организация скелетной мышцы.....	83
6.2. Механизм сокращения скелетной мышцы.....	86
6.3. Типы мышечных сокращений.....	88
6.4. Виды мышечных сокращений.....	89
6.5. Двигательные единицы.....	90
6.6. Физические свойства скелетной мышцы.....	93

6.7. Физиологические свойства скелетной мышцы.....	94
6.8. Особенности гладких мышц.....	94
ЛИТЕРАТУРА.....	102
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	105

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ - аденозиндифосфорная кислота

AMPA-рецепторы - ионотропные глутаматные рецепторы, регулируют проницаемость ионных каналов, чувствительны к действию AMPA (альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовой кислоты)

АП - аквапорин

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

ВПСП - возбуждающий постсинаптический потенциал

E – потенциал

МИП - механоиндуцированный потенциал

МПП – мембранный потенциал покоя

ПД – потенциал действия

ТПСП - тормозной постсинаптический потенциал

Ф_н – фосфор неорганический

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

цГМФ - циклический гуанилмонофосфат

ЭР - эндоплазматический ретикулум