

Цикл лекций по физиологии нервной системы

2011-2012 г.г.

Член-корр. РАН Лев Гиршевич Магазаник

Медицинский факультет СПбГУ

Лекция 1



- Электрогенез клетки. Мембранный потенциал
- Электрические сигналы, (локальный потенциал и потенциал действия)
- Ионные каналы

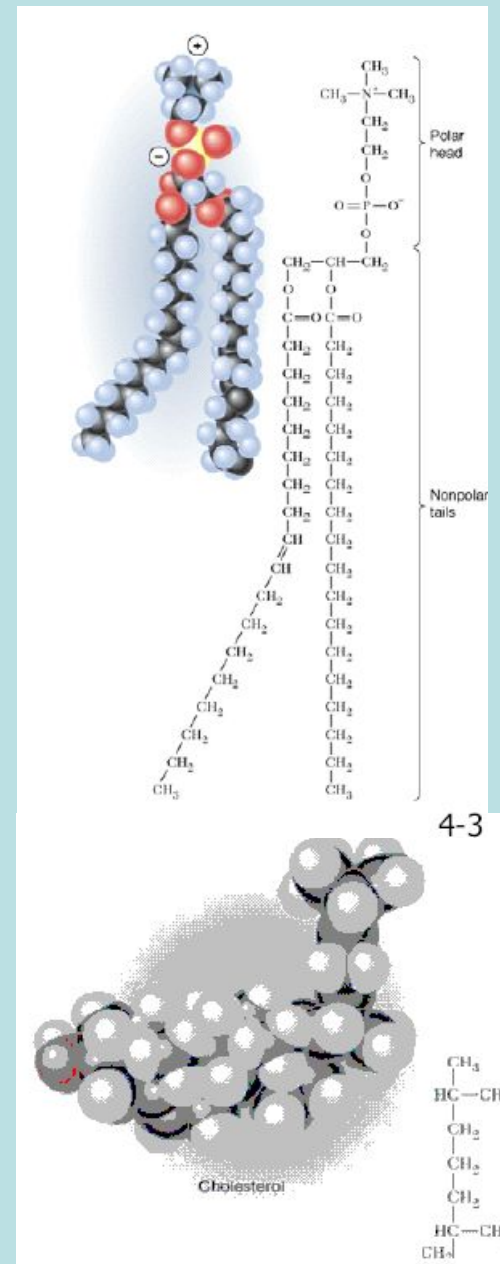
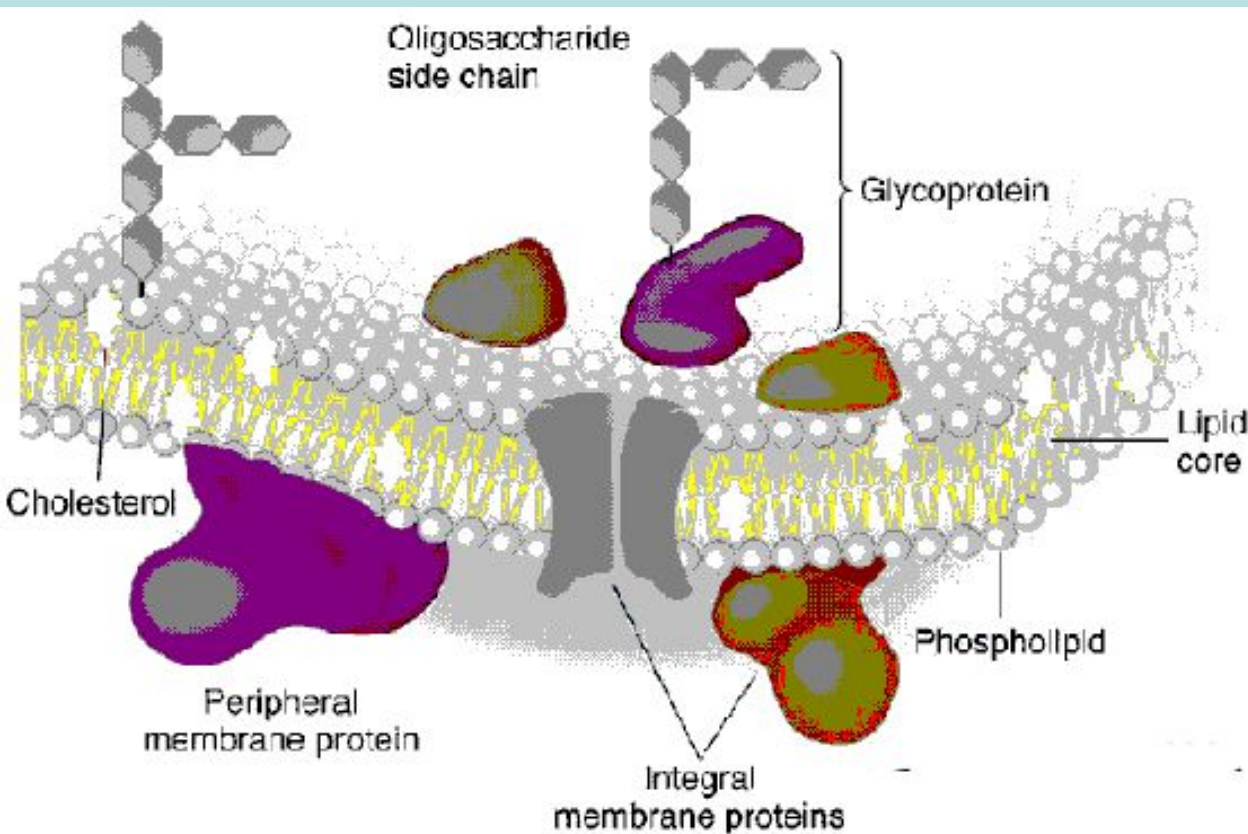
1. Электрогенез клетки. Мембранный потенциал

Схема строения клеточной мембраны

Мембрана – крепостная стена и одновременно ворота для входа в клетку и выхода из нее

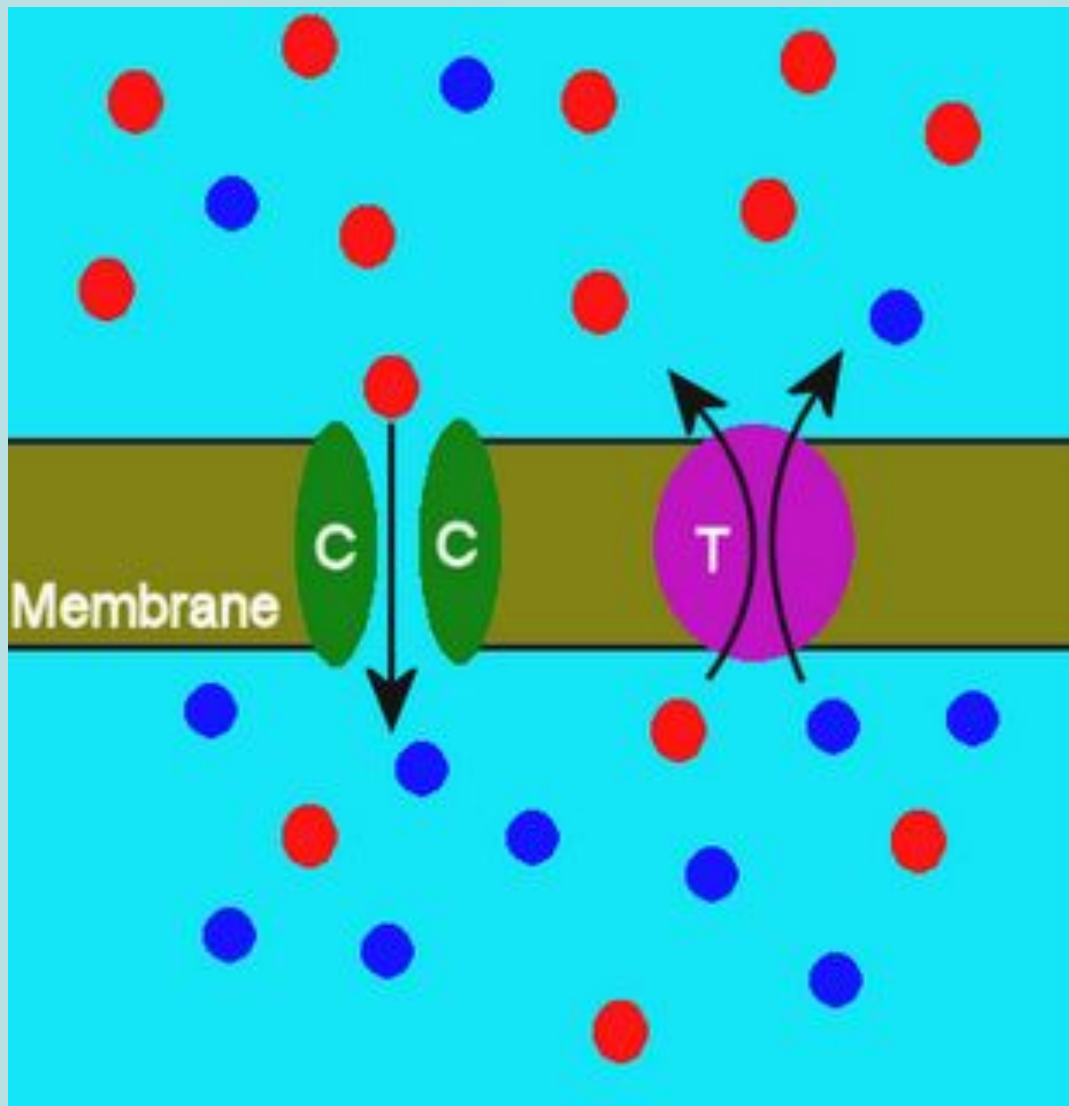
Ее основа – бислой фосфолипидных молекул с включениями молекул холестерина

Фосфолипид – производное трехосновного спирта глицерина, образующего эфирные связи с двумя жирными кислотами и через фосфорную кислоту с азотистым основанием



Два основных пути ионов через мембрану клетки

Облегченная
диффузия



Активный
транспорт

(b)

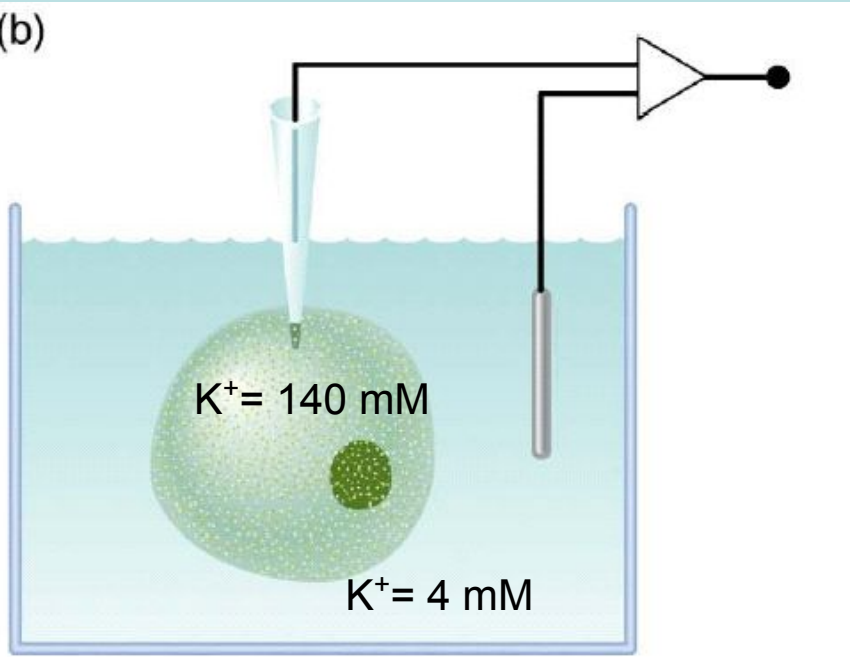
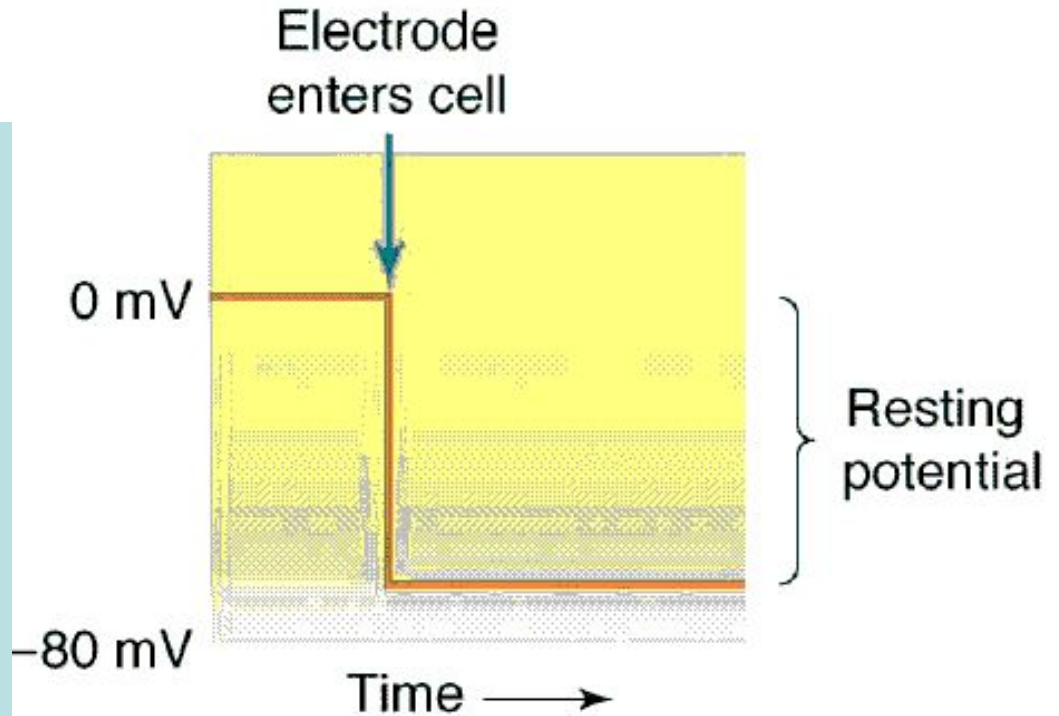


Схема опыта по измерению мембранного потенциала клетки

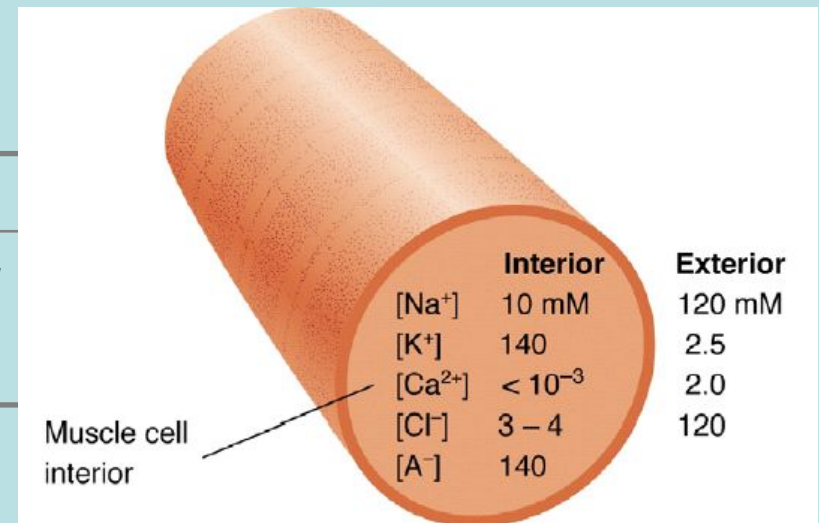
$$E_K = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K]_o}{[K]_i} = 58 \log \frac{[K]_o}{[K]_i}$$

Уравнение Нернста



Концентрация ионов в цитозоле и внеклеточной среде (в мМ/л)

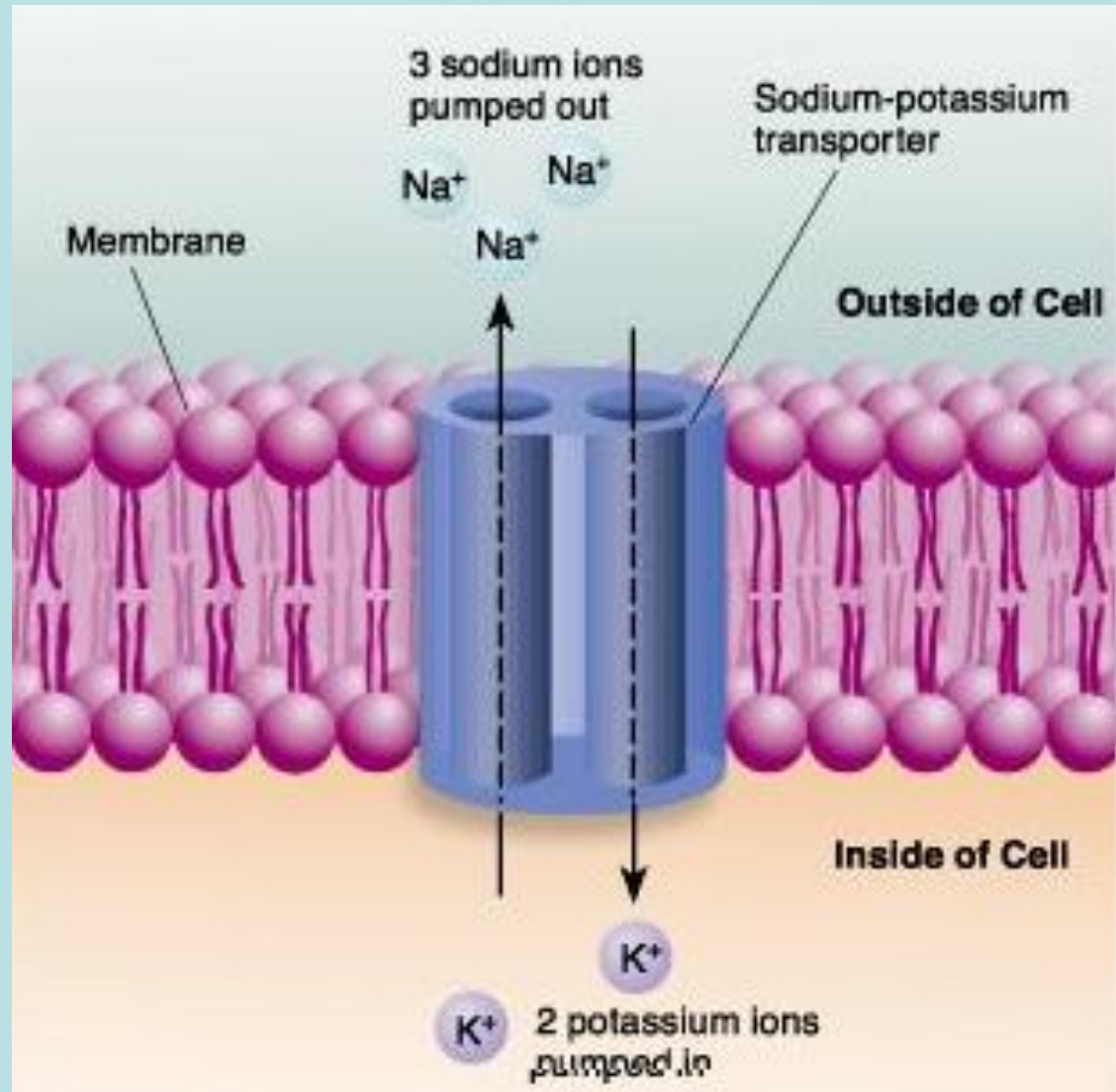
| | Плазма крови | Интерстициальная жидкость | Цитозоль |
|-----------------------------------|-----------------|------------------------------|------------|
| •[Na ⁺] | 142 | 142 | 14 |
| •[K ⁺] | 4,5 | 4 | 140 |
| •[Ca ²⁺] | 2,5 | 2,5 | 50 нмоль/л |
| [Mg ²⁺] | 0,6 | 0,55 | 1 |
| •[Cl ⁻] | 126 | 120 | 8 |
| •[HCO ₃ ⁻] | 20 | 24 | 10 |
| Органические анионы | 15 | 11 | 137 |
| pH | 7,4 | 7,4 | 7,2 |
| Осмолярность, мОсм/л | 292 | 292 | 292 |



Na-K транспортер - (Na-K-АТФаза) восстанавливает ионный градиент между клеткой и окружающей средой

Реально из клетки выходит очень мало ионов калия, тем не менее их потерю надо восполнять – эта роль отведена Na/K-АТФазе.

Энергия, освобождаемая при гидролизе АТФ, обеспечивает перенос ионов Na^+ и K^+



Ионные потоки через мембрану клетки

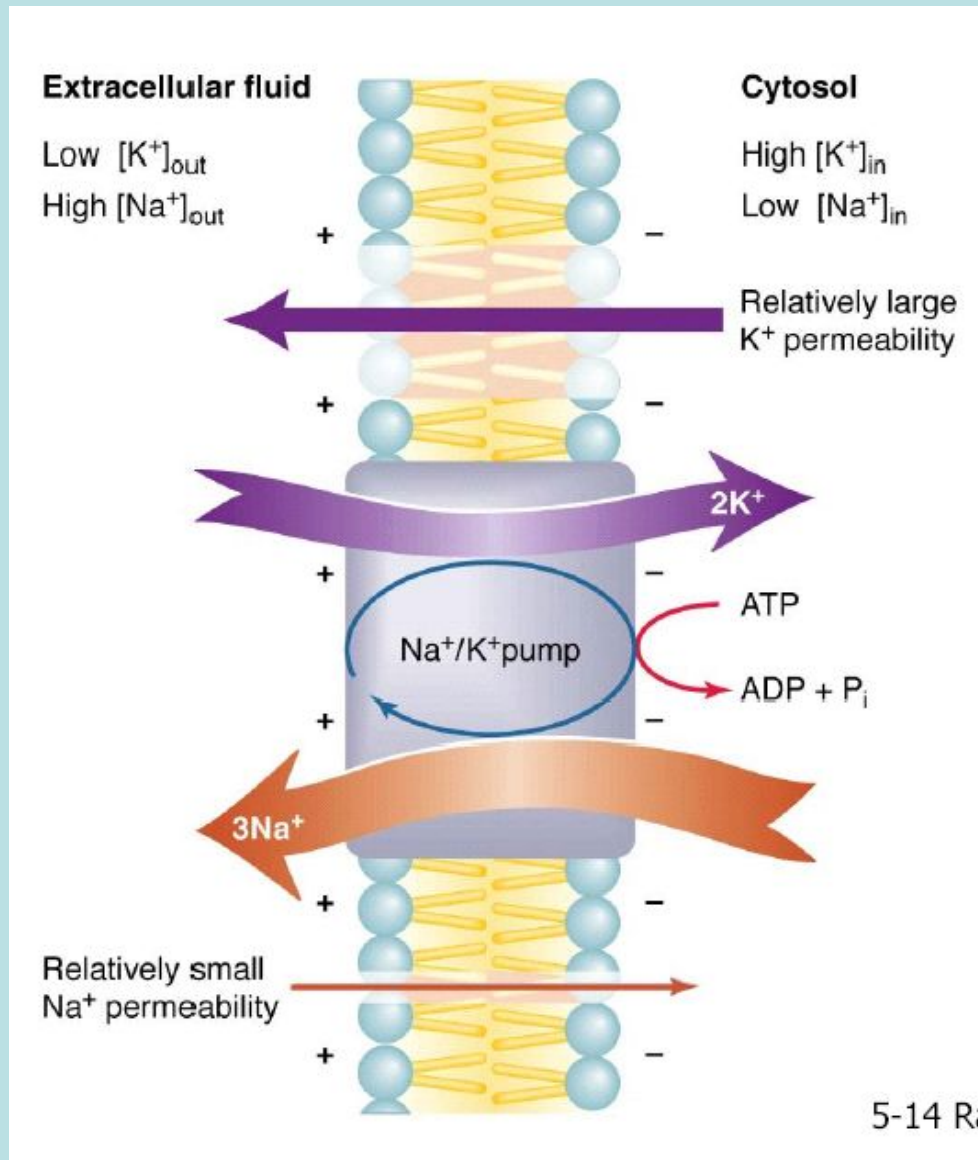
Снаружи

Мало калия

Много натрия

Активный транспорт калия внутрь и натрия наружу

Низкая натриевая проницаемость



Внутри

Много калия

Мало натрия

Высокая калиевая проницаемость

Величины мембранного потенциала в разных клетках

нейроны -50 mV to -80 mV

фоторецепторы -40 mV

поперечнополосатая
мышца -90 mV

эритроциты -60 mV

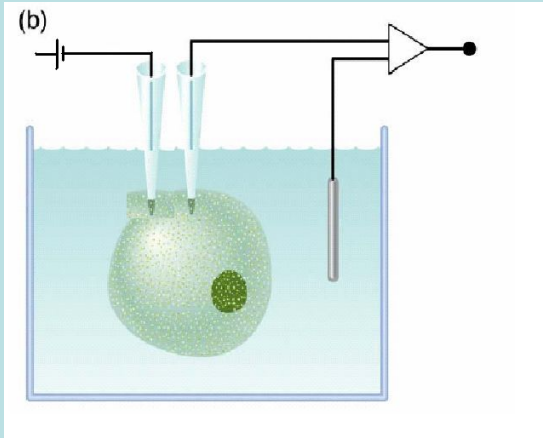
гепатоциты -35 mV

водоросли -150 mV

листья -100 mV

2. Электрические сигналы,
возникающие в нервной клетке
(локальный потенциал и
потенциал действия)

Типы локальных потенциалов



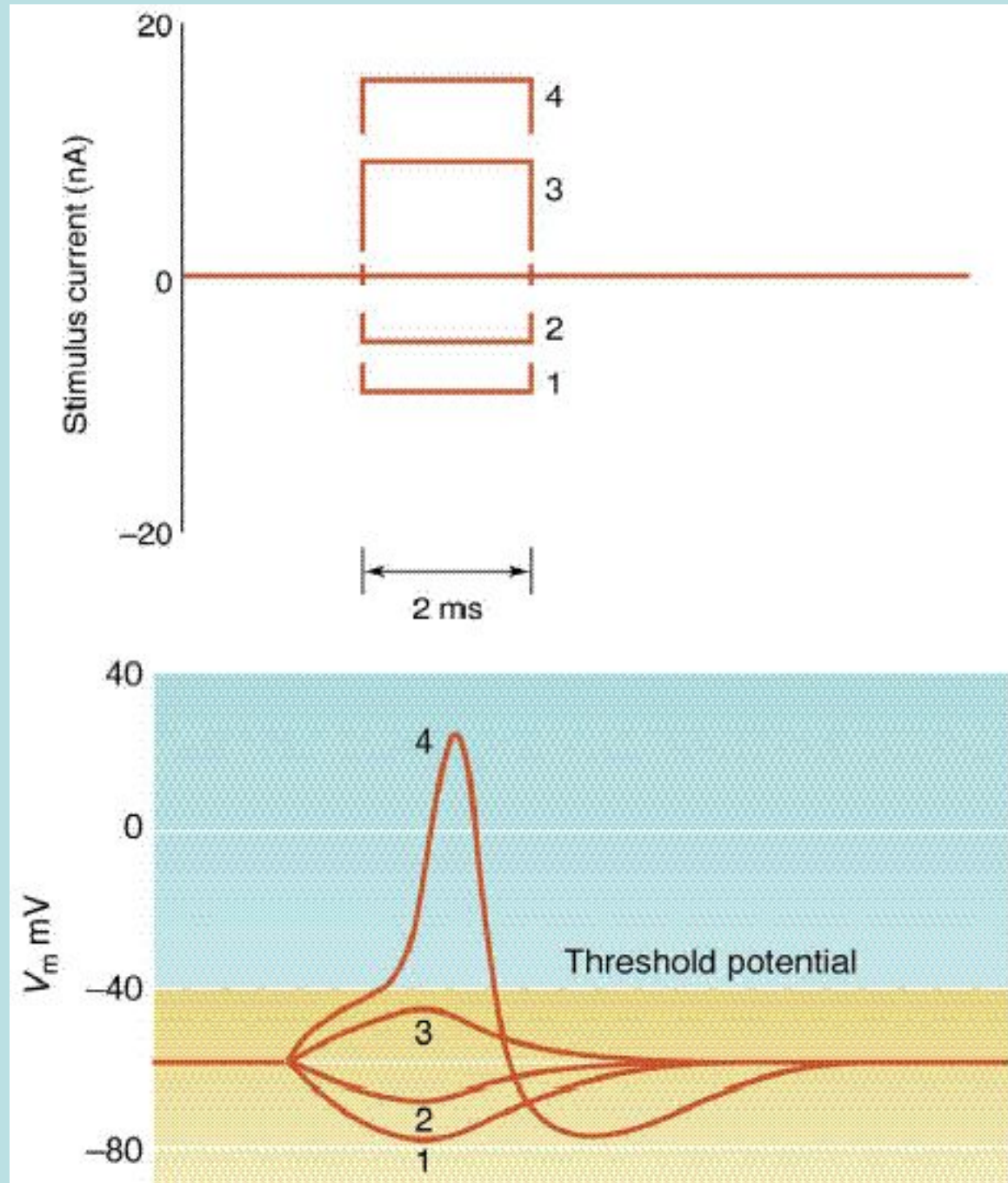
Локальные потенциалы градуальны:

1 и 2 гиперполяризующие (тормозящие)

3 деполяризующий (возбуждающий)

Потенциал действия имеет стандартную амплитуду:

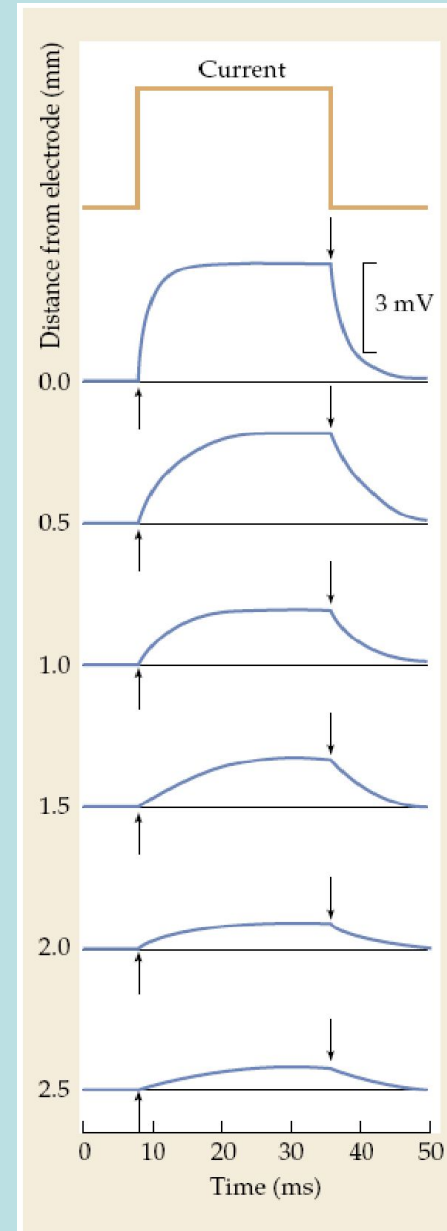
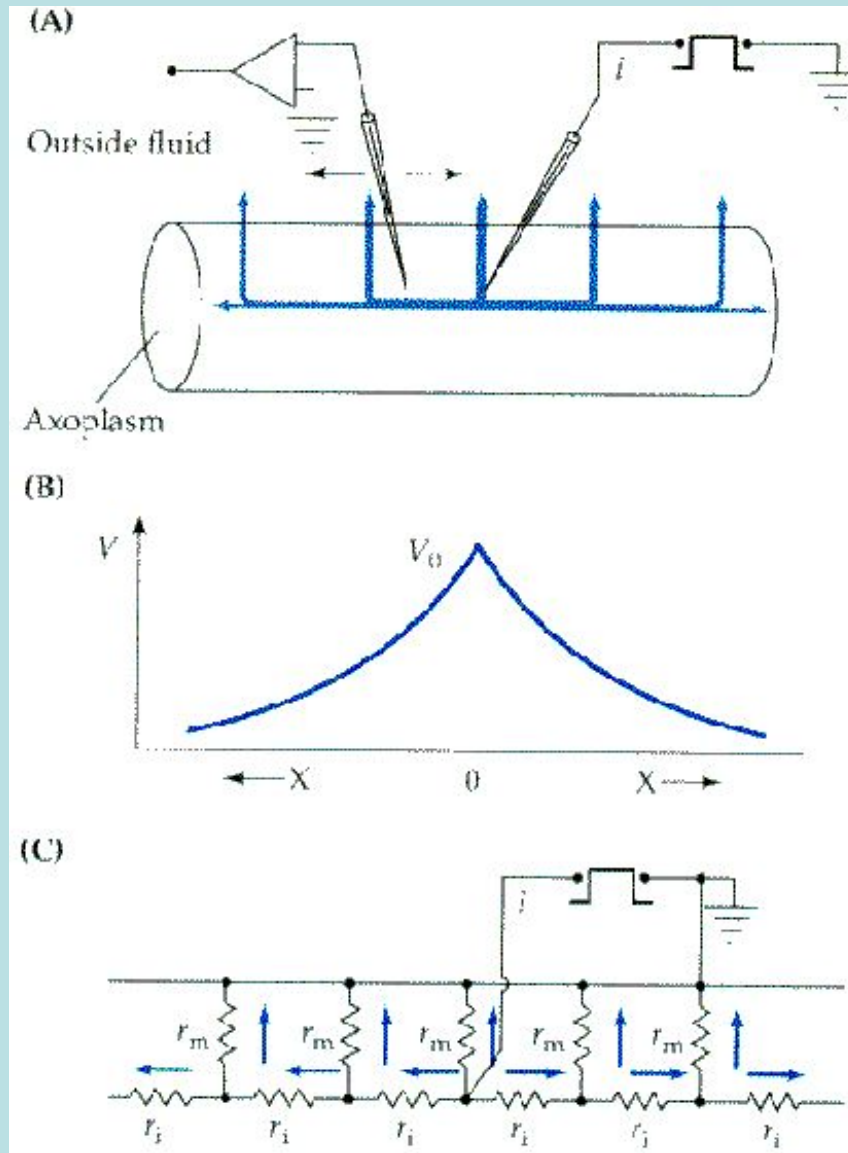
4 если амплитуда возбуждающего потенциала достигает уровня порога (порогового потенциала), возникает потенциал действия



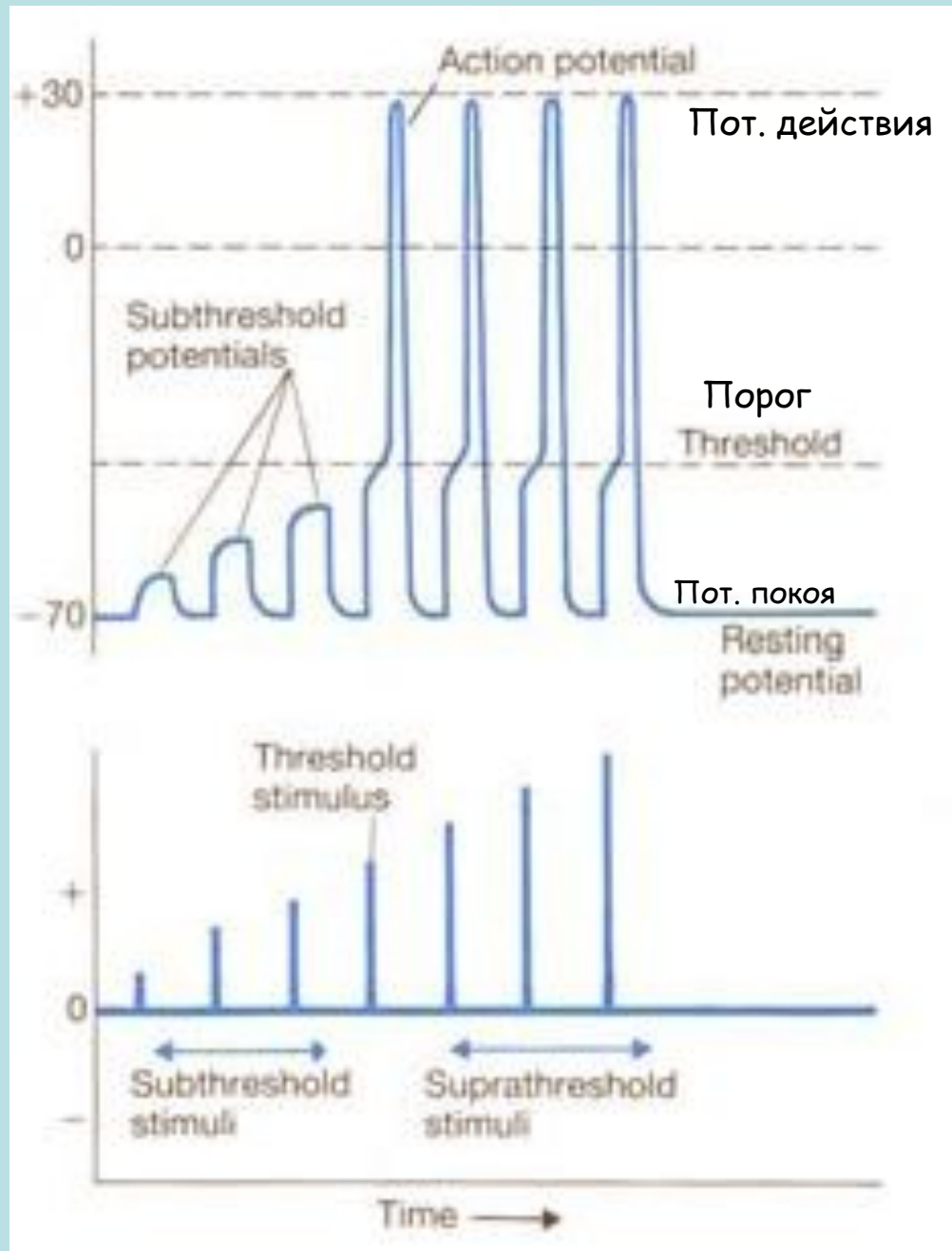
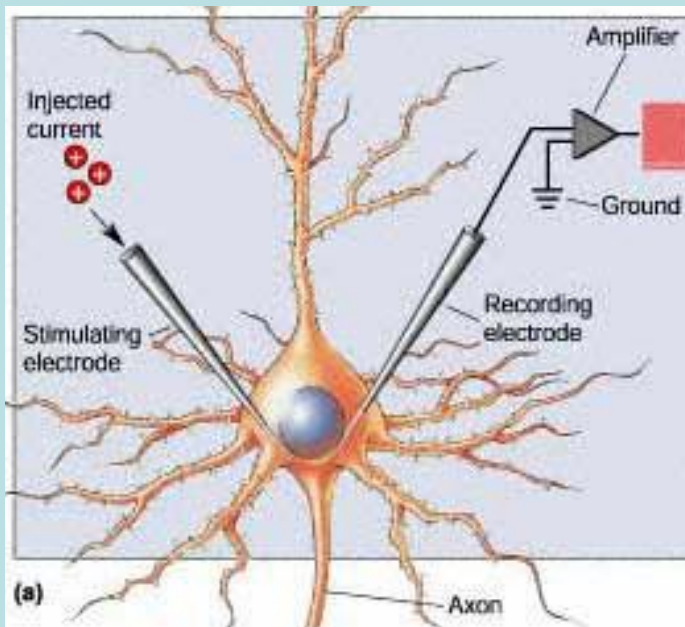
Локальные потенциалы

Пассивное распространение электротонического потенциала вдоль нервного проводника (с декрементом, т.е. затуханием)

Большинство нервных сигналов локальны, т.е. эффективны только вблизи места их генерации



Если локальный деполярирующий стимул достиг уровня порога, то появляются условия для генерации потенциала действия

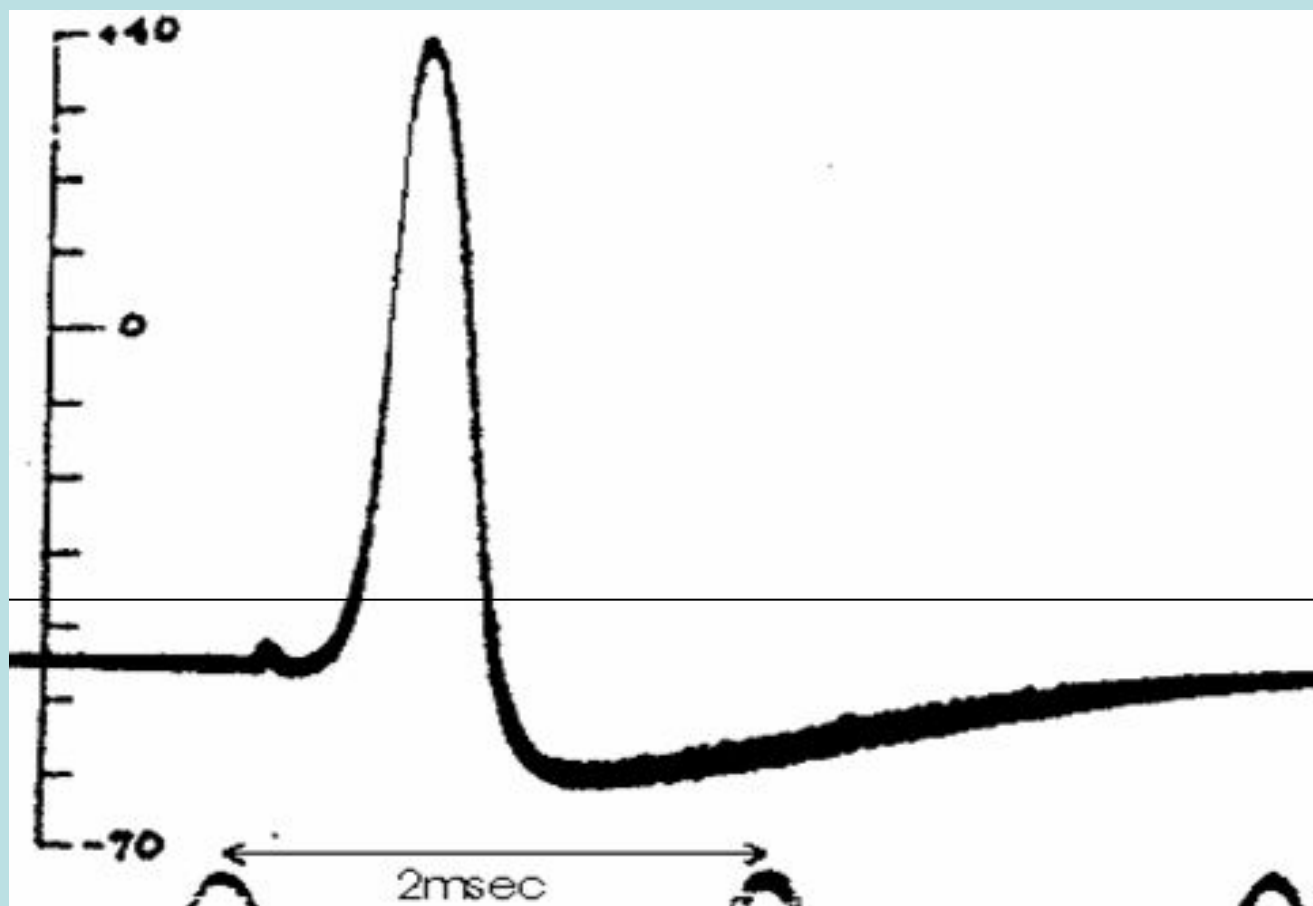


Hodgkin & Huxley, 1939 Action potential measured at a point

Потенциал действия

Обладает относительно постоянной амплитудой, подчиняется закону «все или ничего», воспроизводится по мере распространения по нерву.

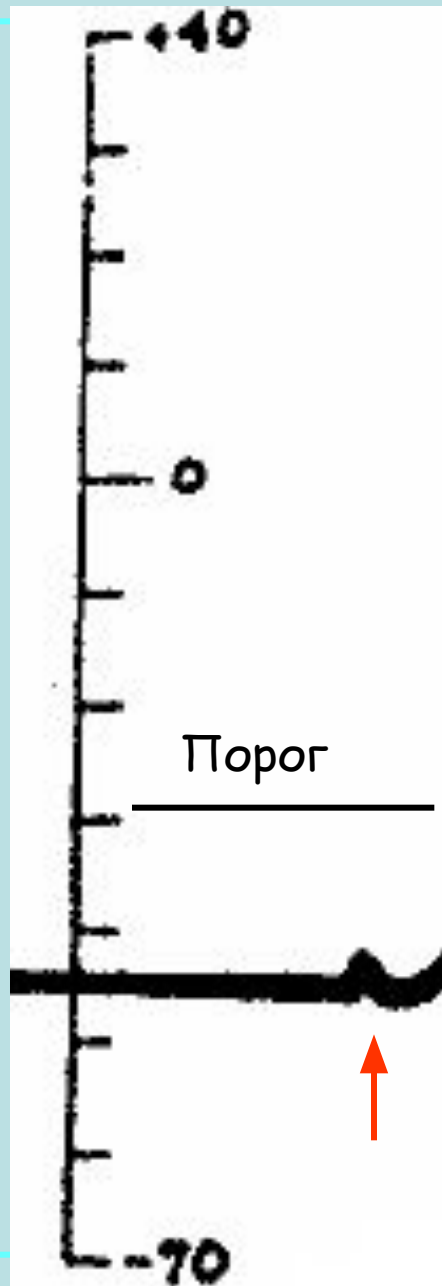
Поэтому нервный импульс может передаваться на большие расстояния



Потенциал
покоя (мВ)

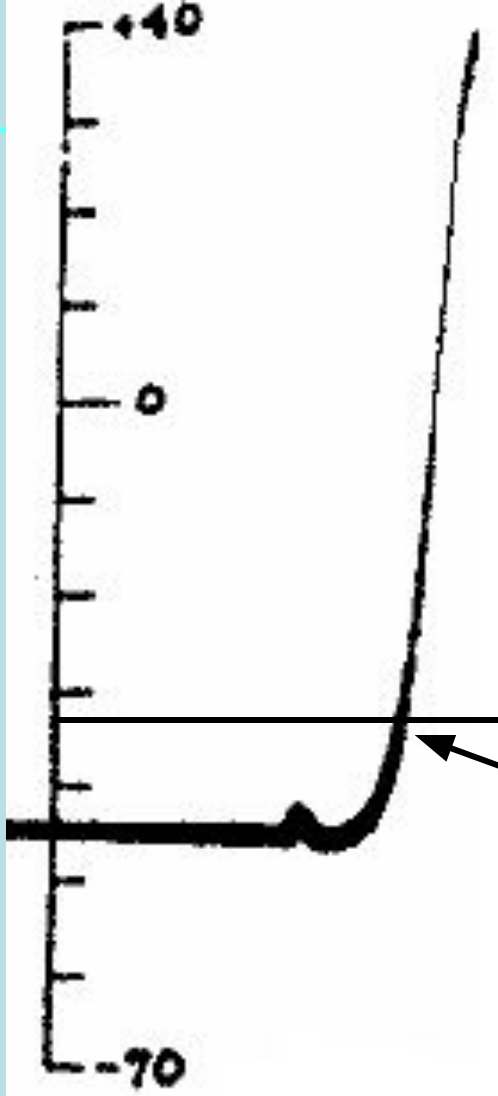
Начальный этап генерации потенциала действия

Все начинается с появления локального потенциала. Если его амплитуда достигает определенного уровня (порогового), происходит переход к следующему этапу ...



Локальный потенциал

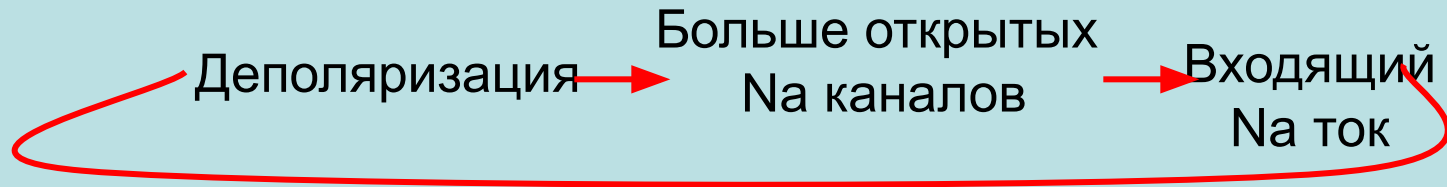
Возбуждающий стимул

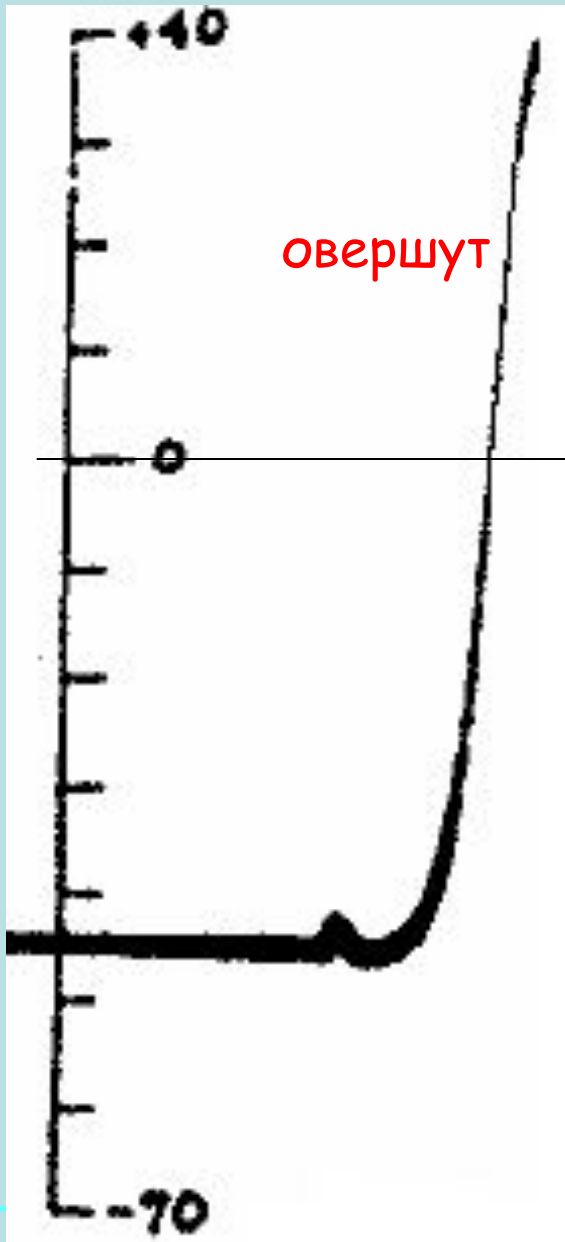


Локальный потенциал активирует сначала небольшое число самых чувствительных Na-каналов, но входящий через них Na^+ дополнительно деполаризует мембрану, что при достижении порога вызывает лавинообразное открытие большинства Na-каналов и тем самым глубокую деполаризацию мембраны

Порог генерации потенциала действия

Положительная обратная связь



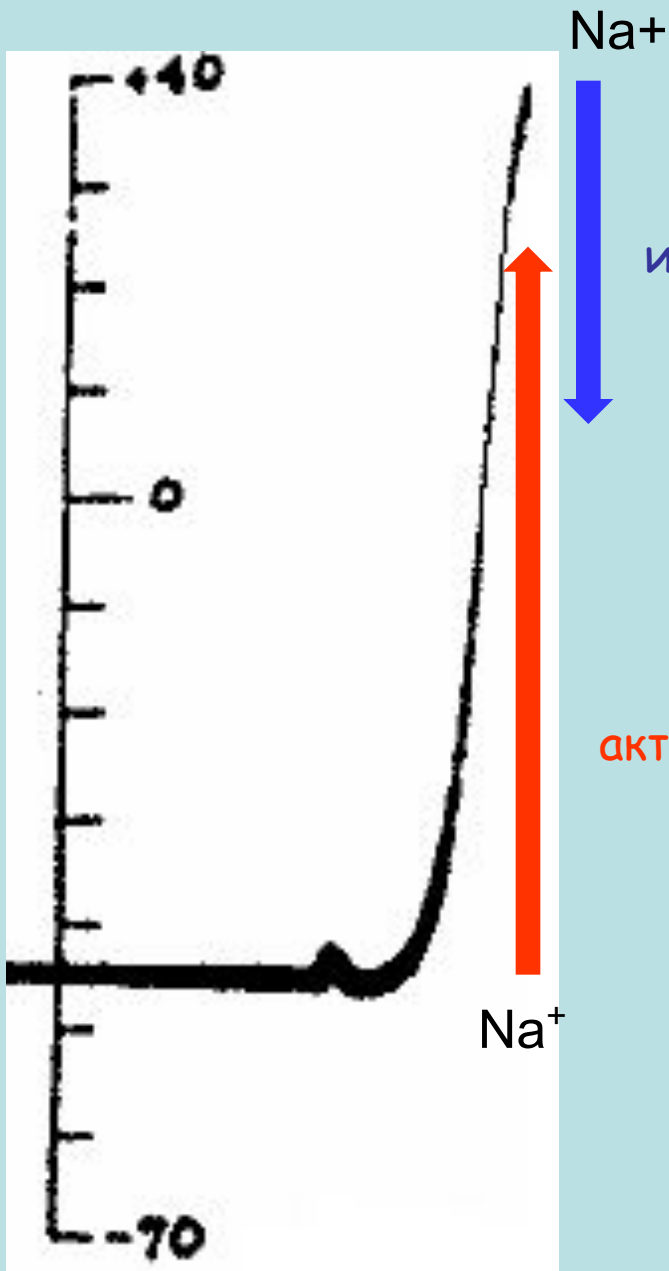


Пик потенциала действия (ПД)

Когда большинство натриевых каналов открыты – потенциал на мембране во время пика достигает уровень натриевого равновесного потенциала E_{Na}

При этом разность потенциалов на мембране начинает превышать исходный (в покое). Происходит на короткое время смена знака зарядов на поверхности мембраны -

овершут



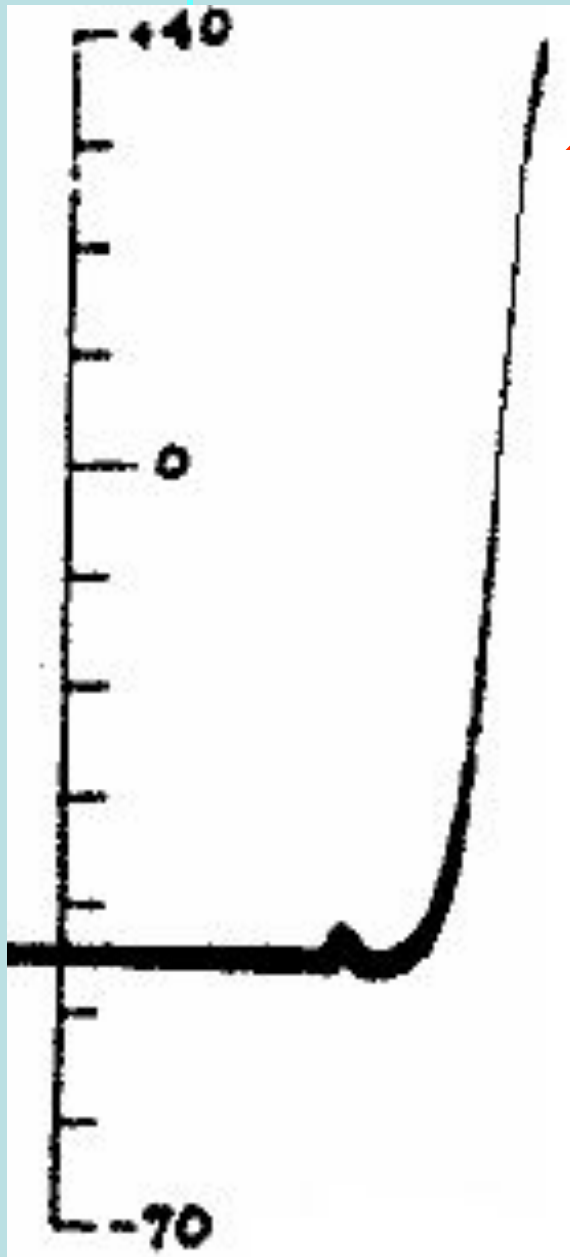
Начало спада потенциала действия

инактивация

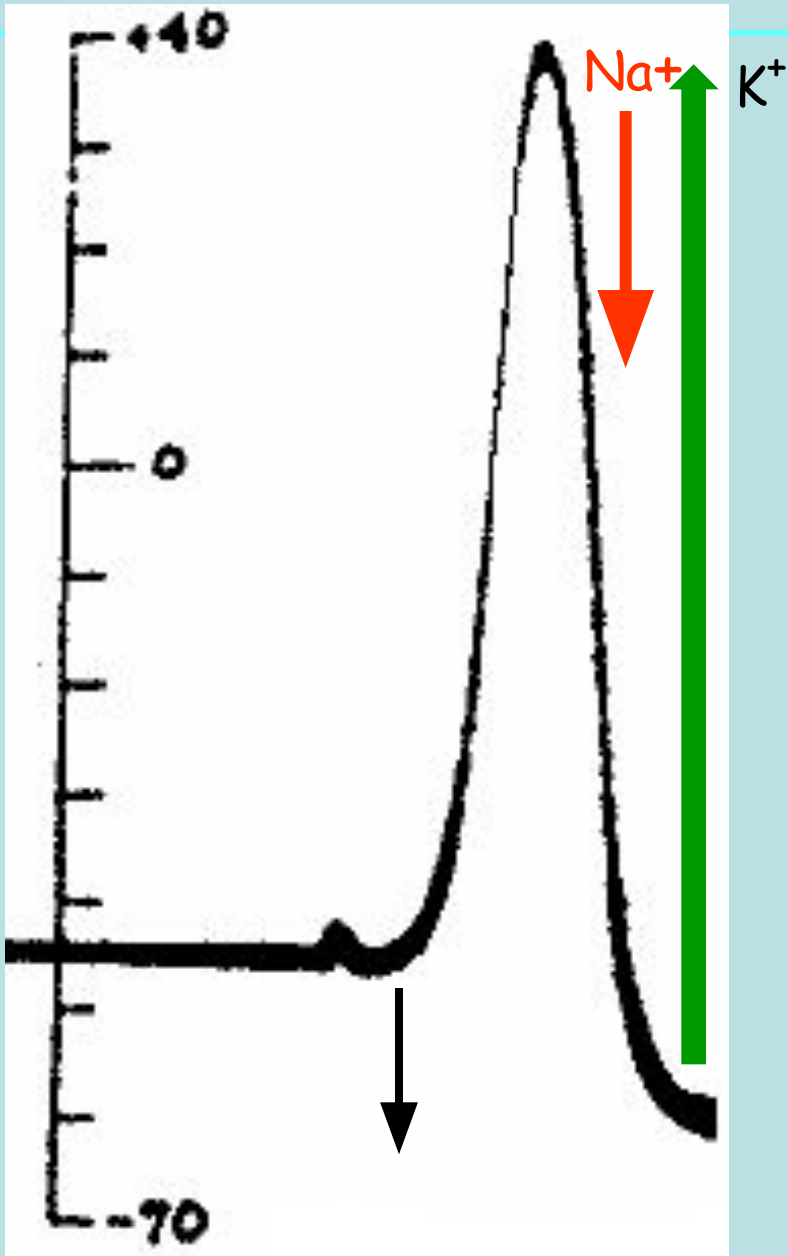
Натриевые каналы могут находиться в открытом состоянии в течение короткого периода – происходит их инактивация

активация

По мере достижения максимума входящего тока натриевые каналы начинают закрываться. Происходит переход к следующей фазе – спаду потенциала действия



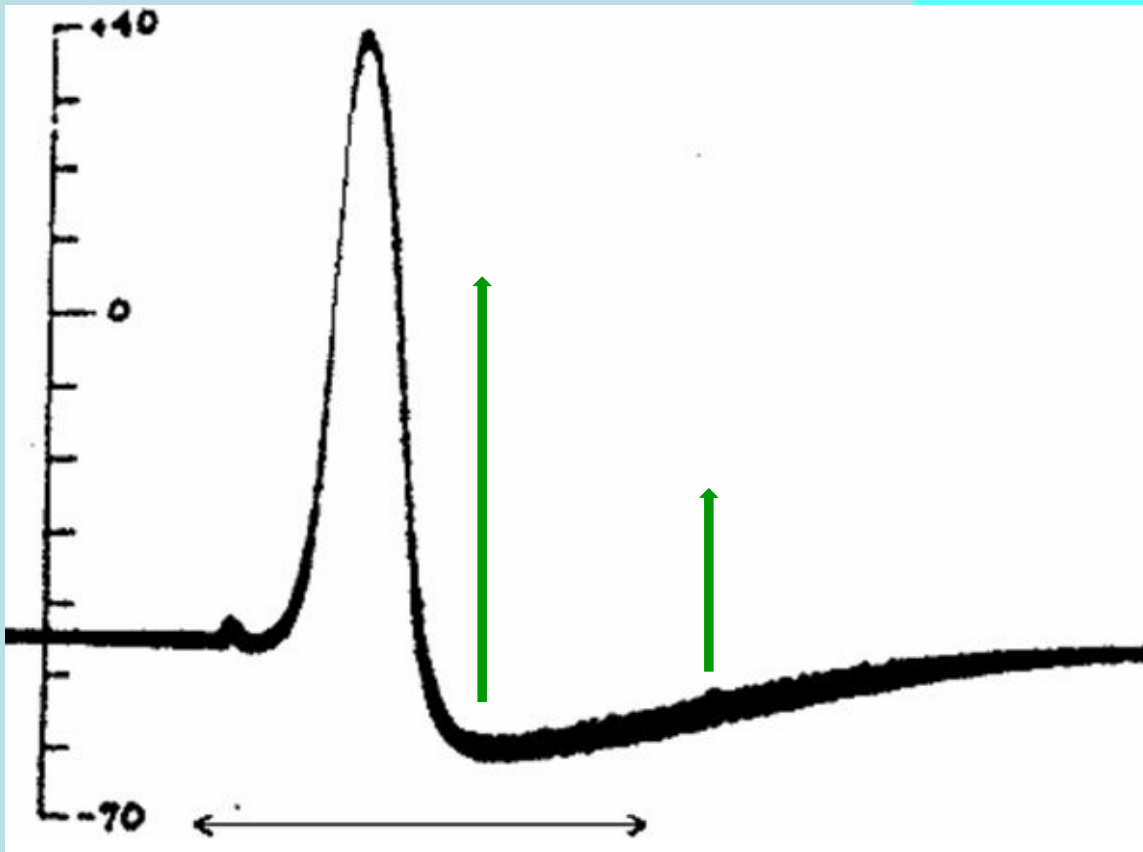
Уже в фазу роста ПД по мере быстро нарастающего натриевого тока начинают медленно открываться калиевые каналы, что ускоряет спад входящего тока через мембрану



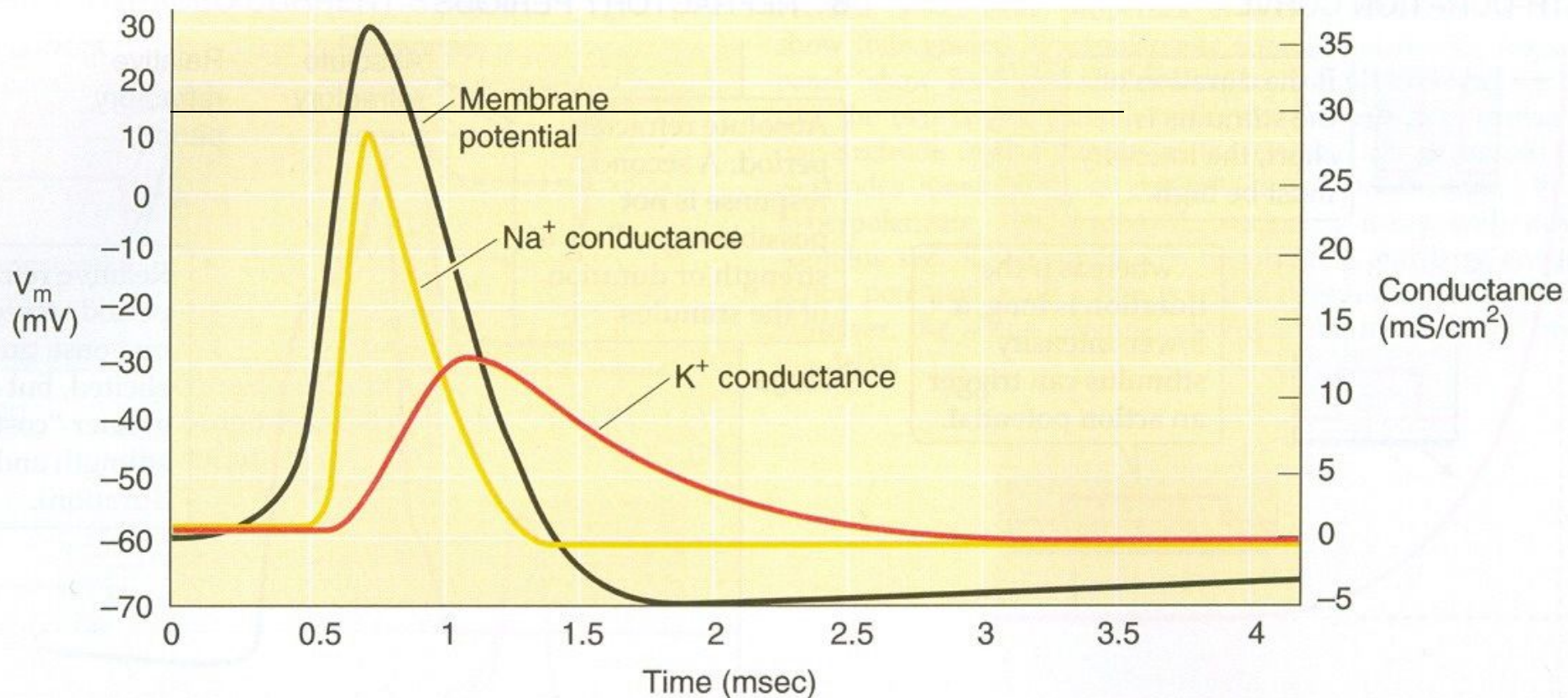
Ток через открытые калиевые каналы сдвигает мембранный потенциал к уровню калиевого равновесного потенциала (следовая гиперполяризация)

Конечный этап генерации потенциала действия

Часть **калиевых** каналов закрывается и мембранный потенциал медленно возвращается к исходному уровню покоя

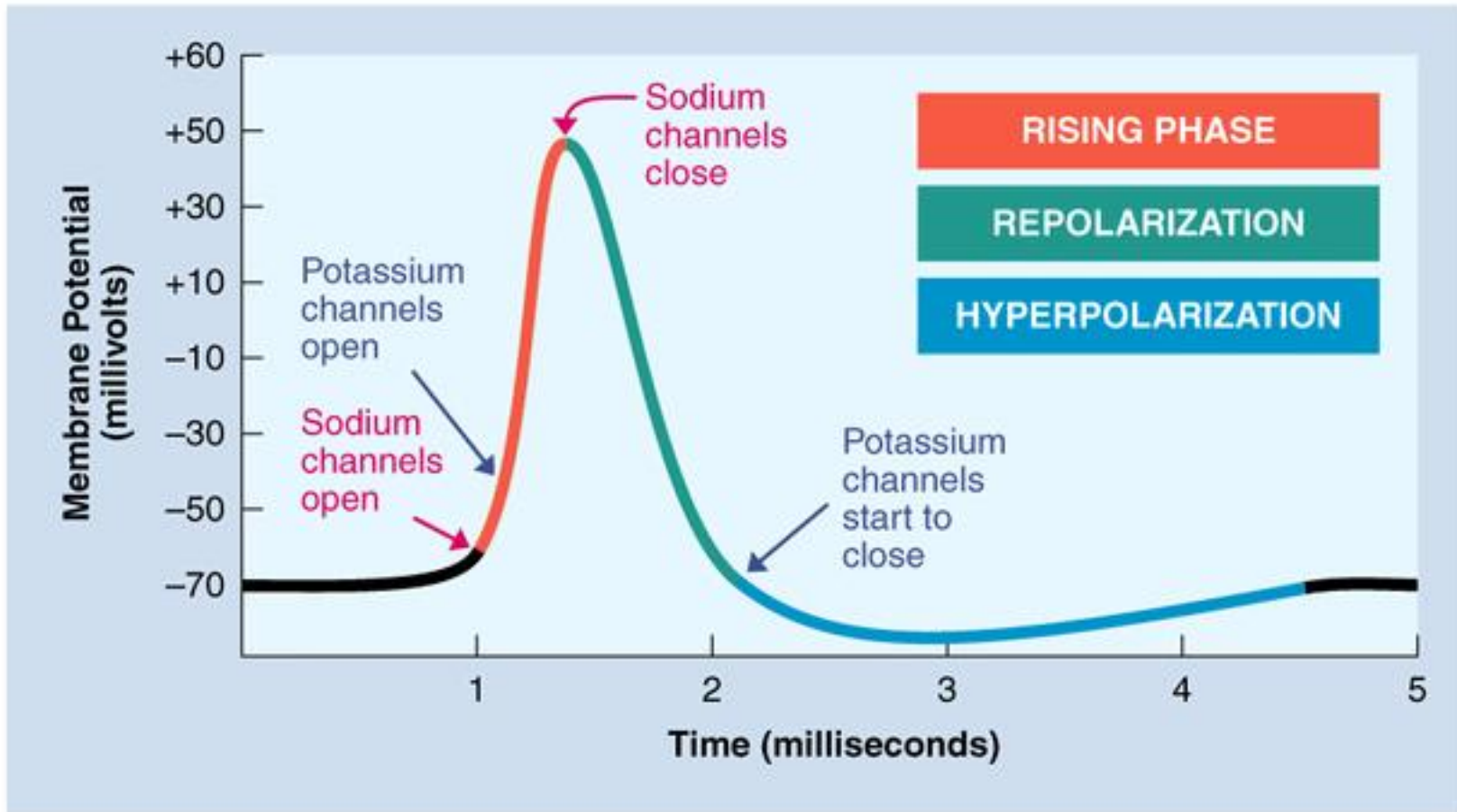


Потенциал действия – результат суммирования разнонаправленных (**натриевый ток внутрь, калиевый ток наружу**) и сдвинутых по временной шкале ионных токов через соответствующие потенциалзависимые натриевые и калиевые каналы.



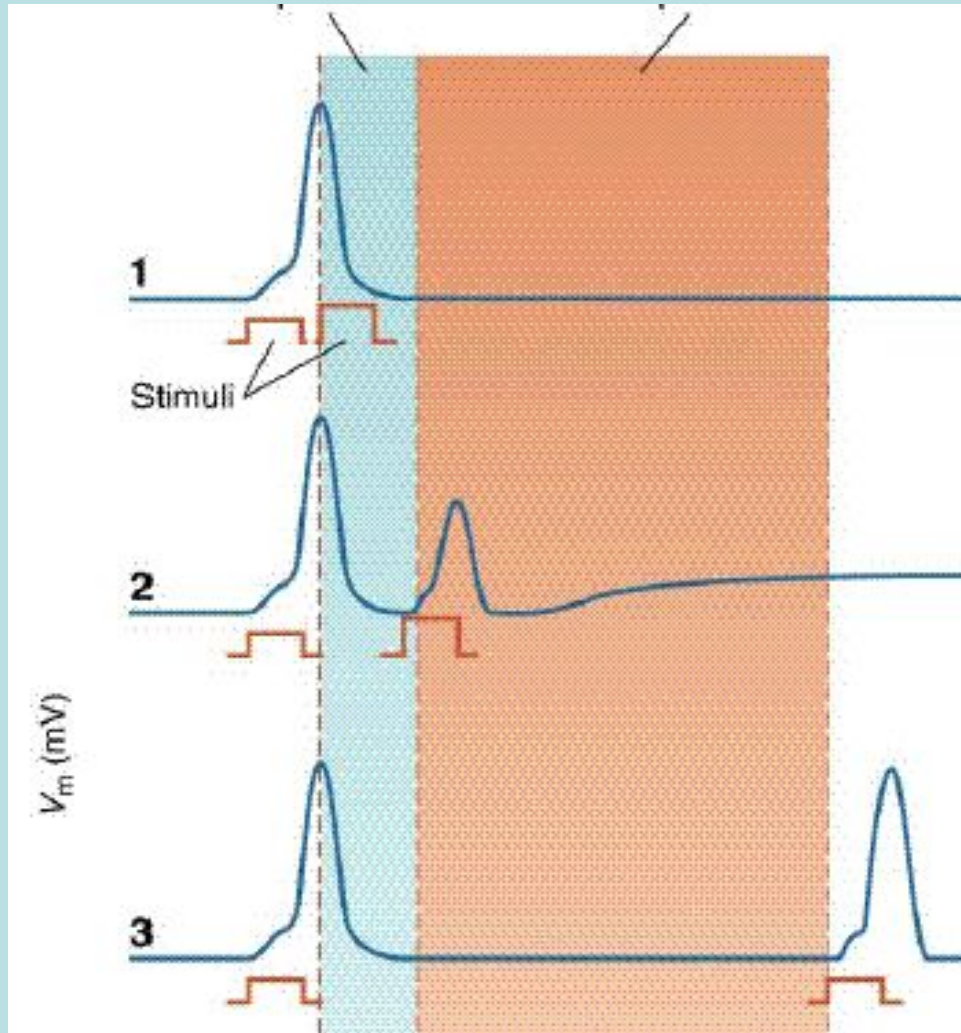
Последовательность открывания-закрывания натриевых и калиевых каналов во время генерации потенциала действия

► Opening and Closing of Voltage-Activated Sodium and Potassium Channels



Различия в кинетике процессов активации и инактивации натриевых и калиевых каналов определяют феномен существования рефрактерных периодов

абсолютный относительный

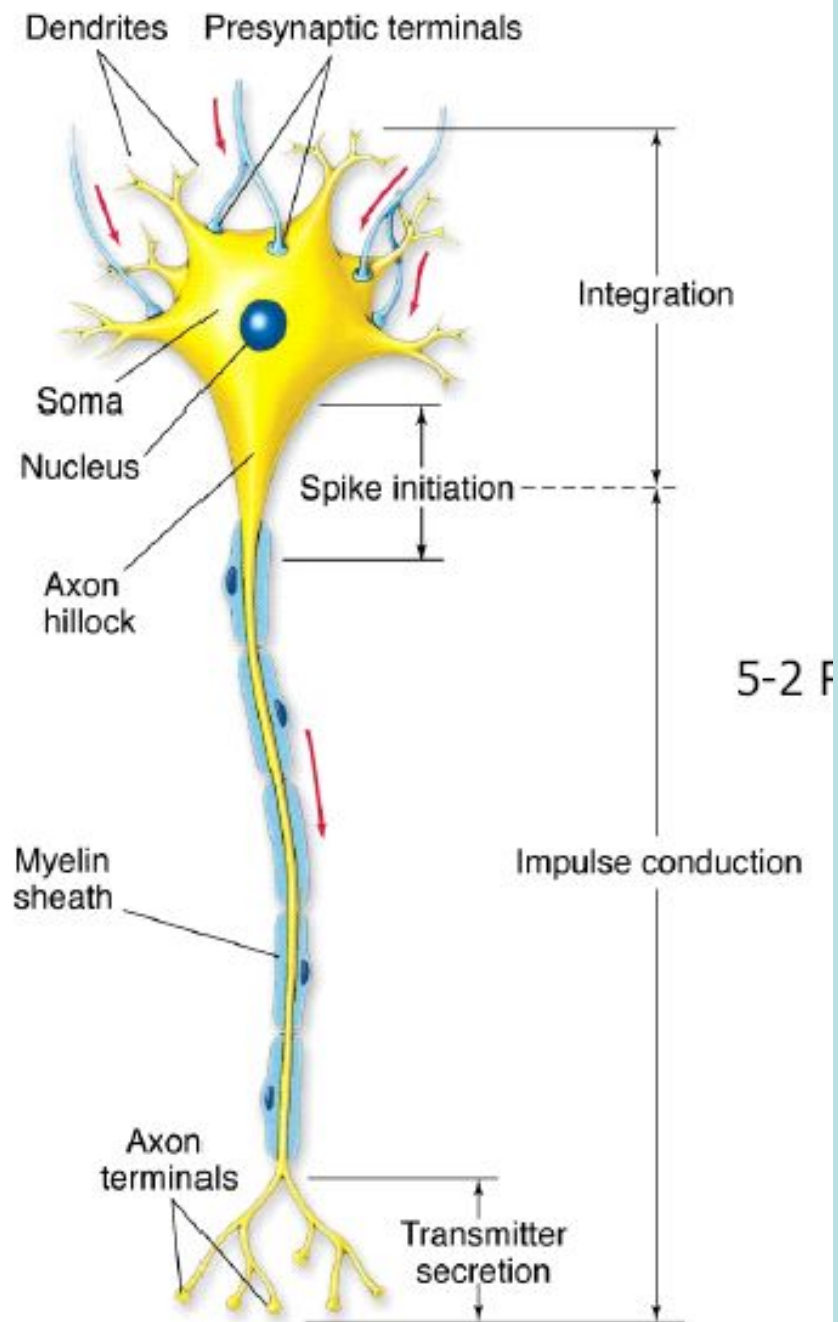


Рефрактерные периоды ограничивают максимальную частоту следования потенциалов действия

Перерыв

3. Проведение нервного импульса по аксонам нейрона

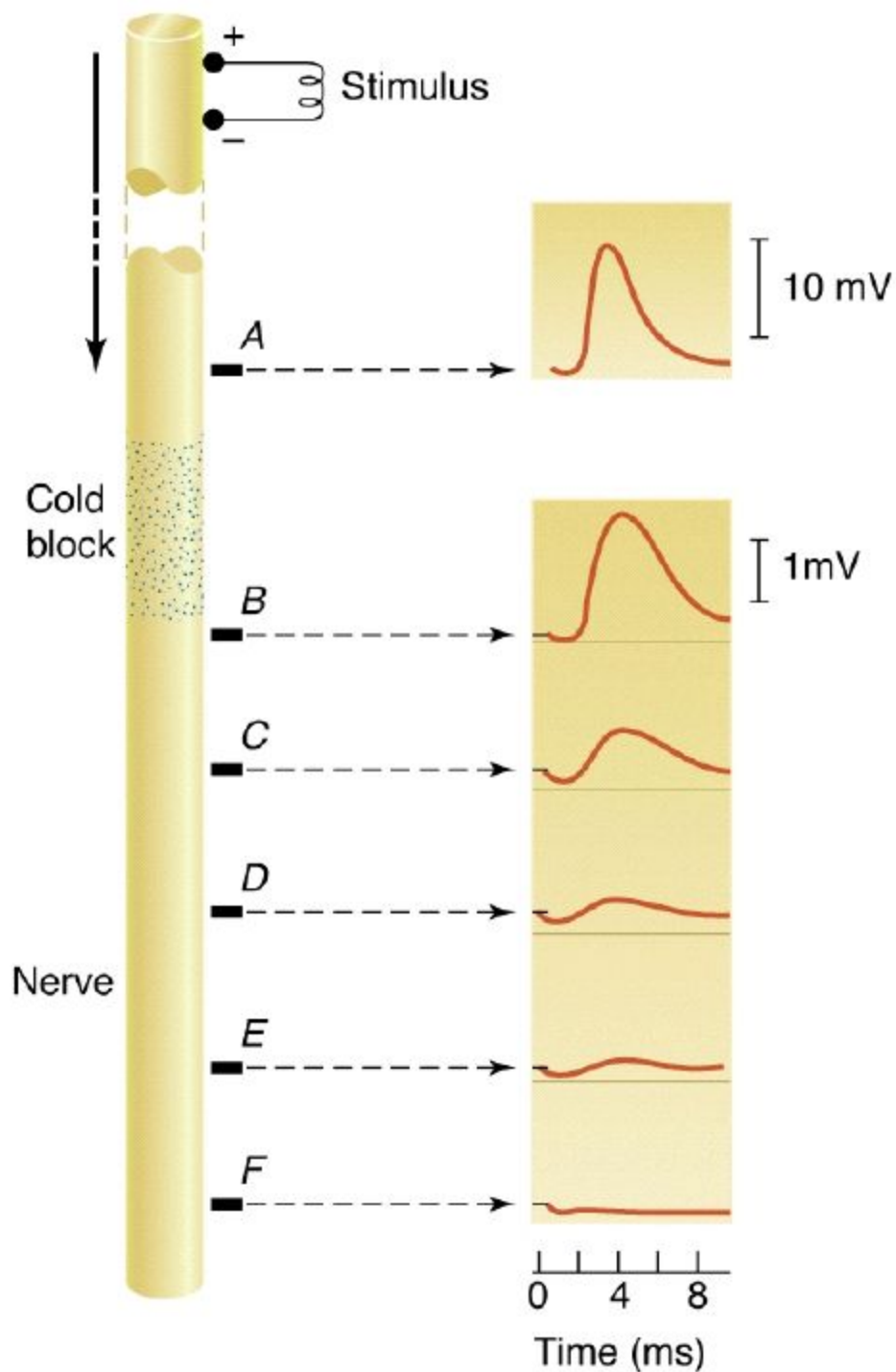
Структура нейрона



Блокирование распространения потенциала действия охлаждением участка нерва

До этого охлажденного места доходит постоянный по амплитуде потенциал действия

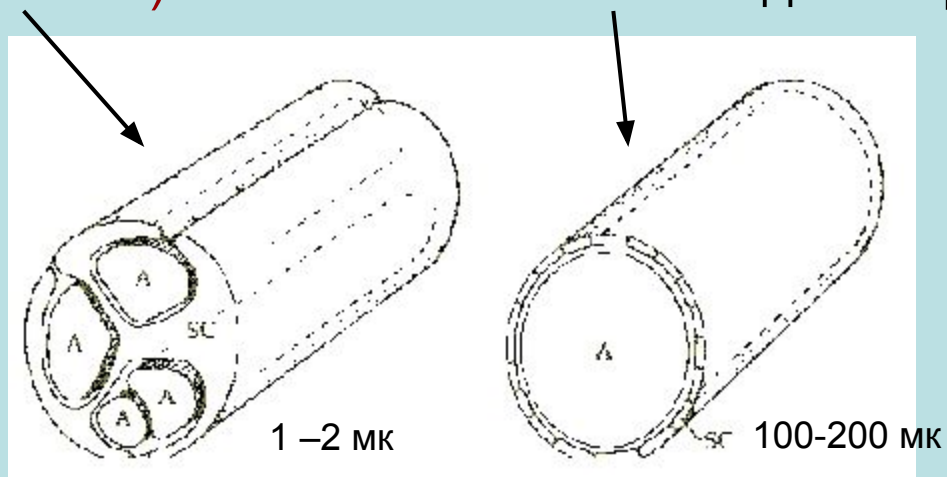
А дальше он преформируется в локальный потенциал (с декрементом!)



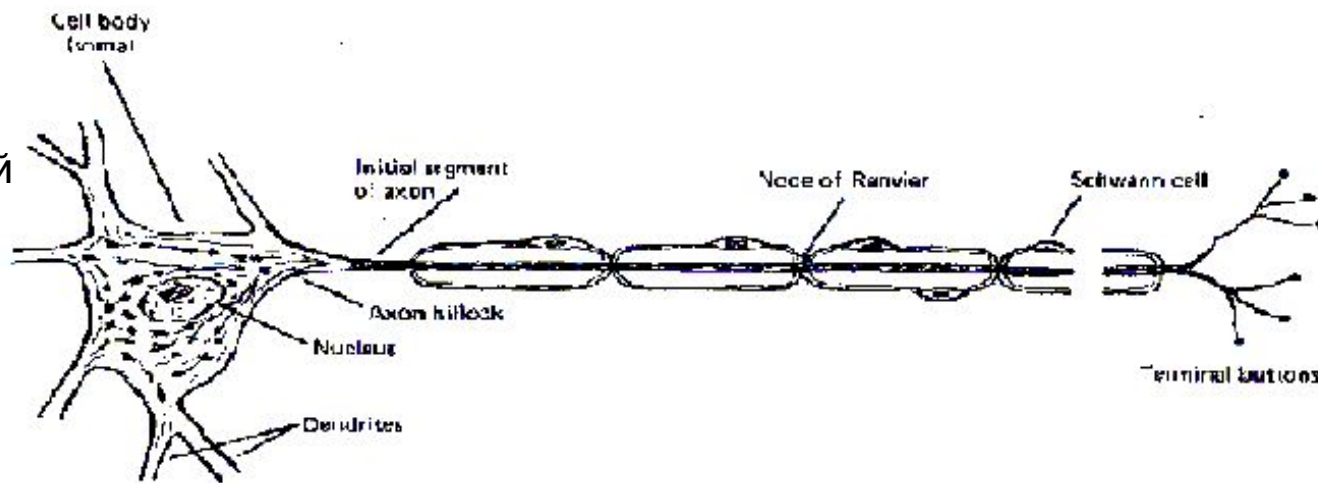
Потенциал действия будет распространяться по нерву быстро и без потерь на значительные расстояния, если

Нерв окутан изоляцией
(оболочкой из миелина)

Нерв имеет достаточно
большой диаметр

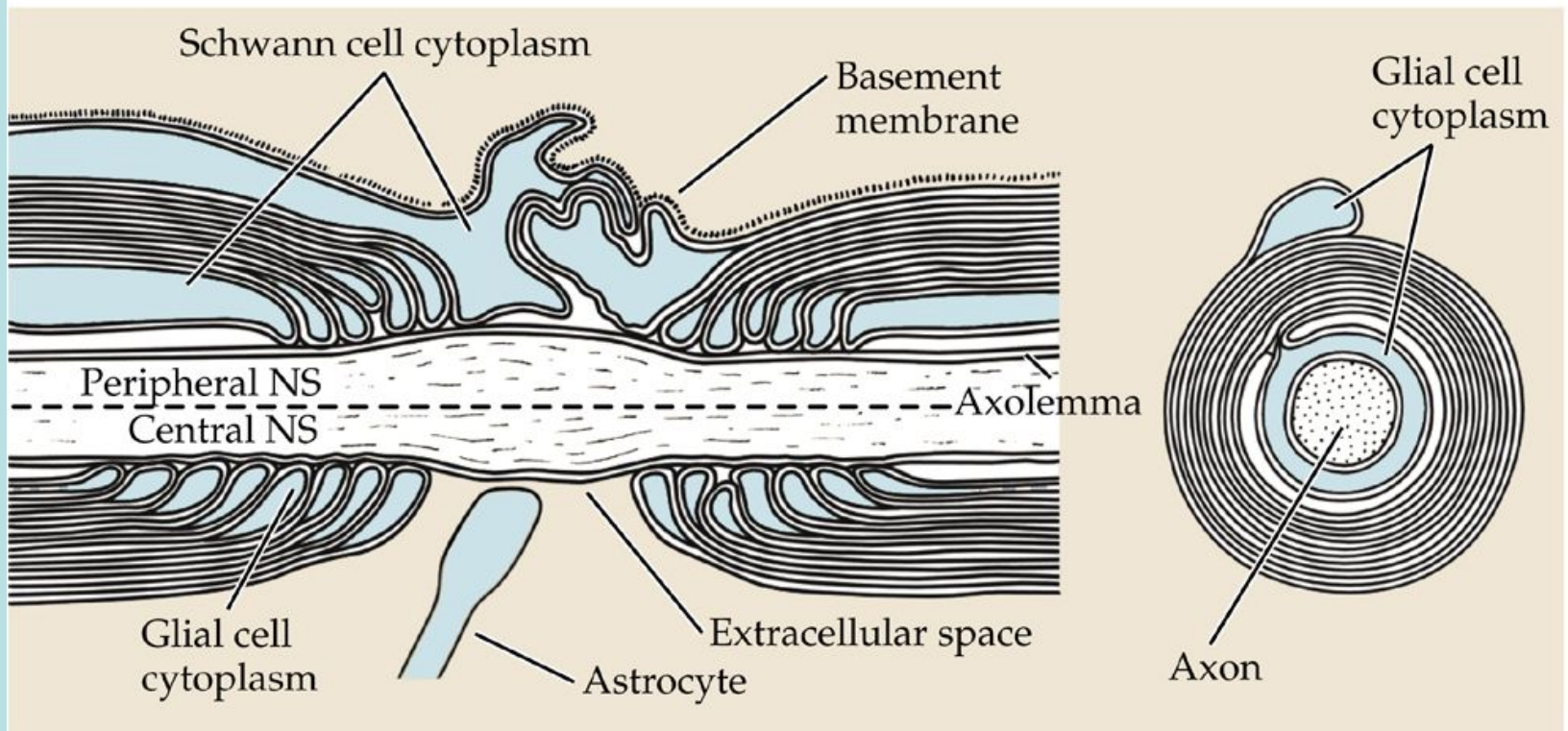


Миелинизированный
двигательный нерв
позвоночных

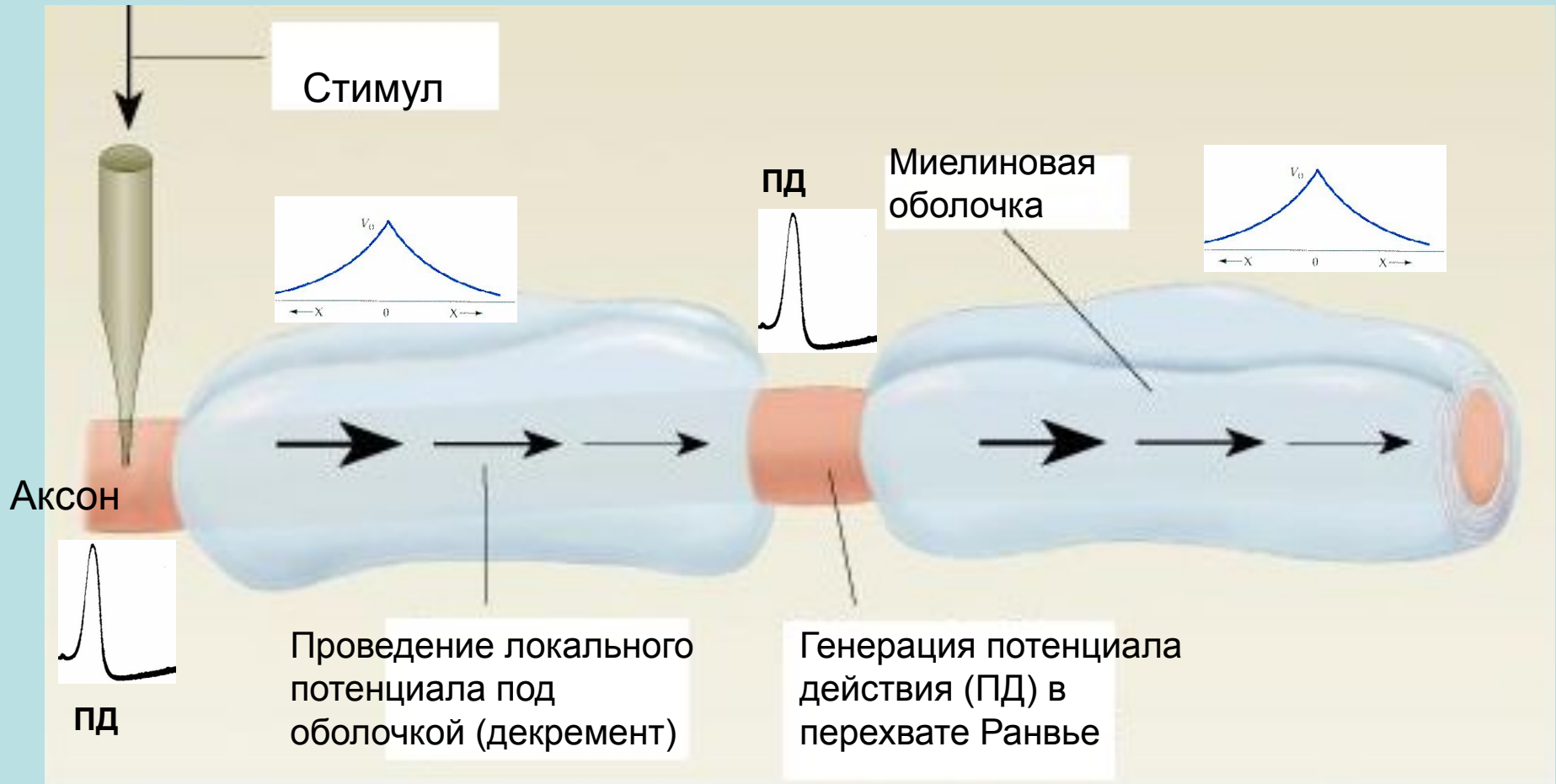


Миелинизированный (мякотный) нерв

(A) Schematic diagram of arrangement of myelin

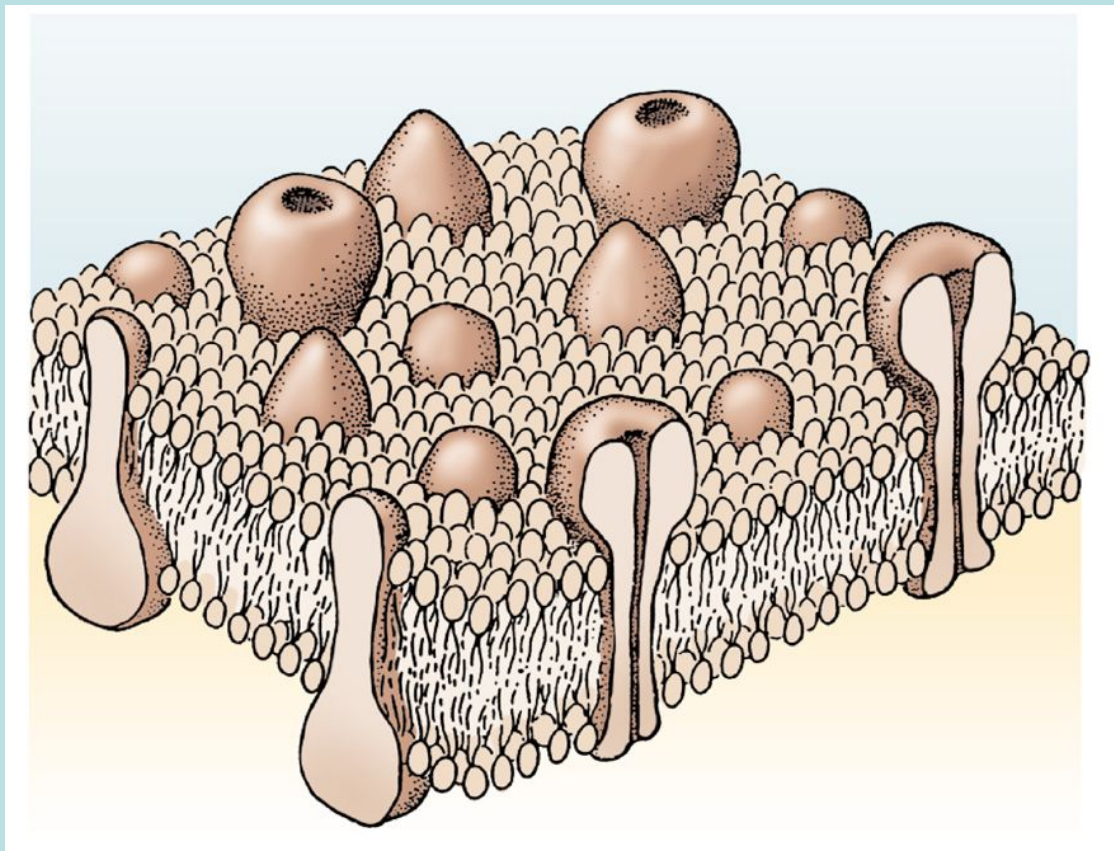


Сальтаторное проведение по нерву

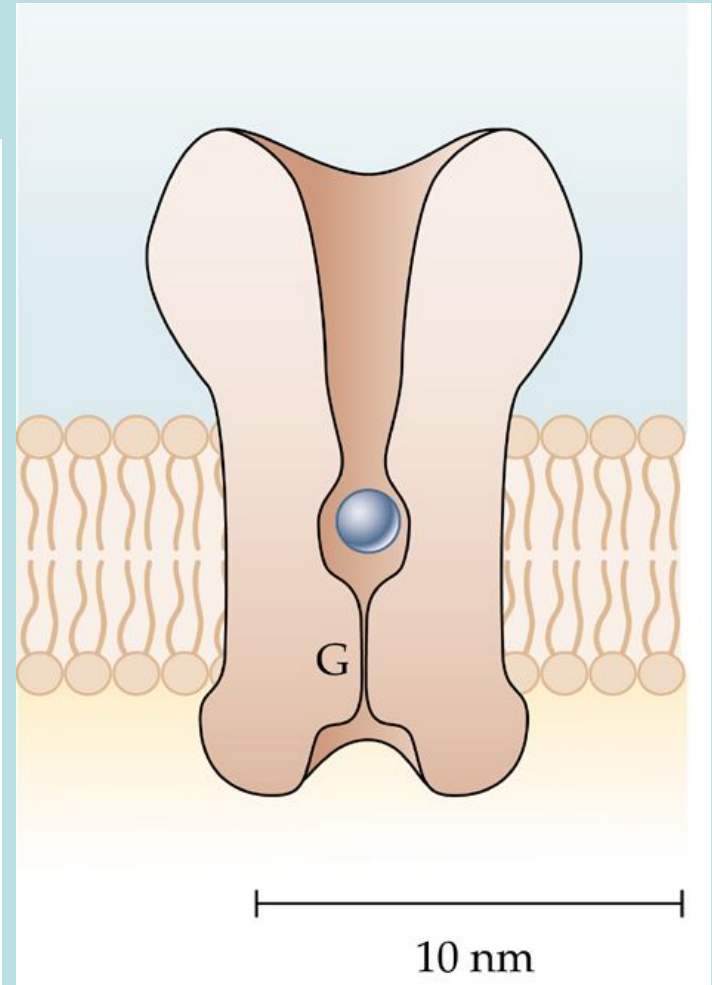


4. Ионные каналы - молекулярная основа генерации клеточных сигналов

Ионные каналы и другие интегральные белки в фосфолипидной мембране

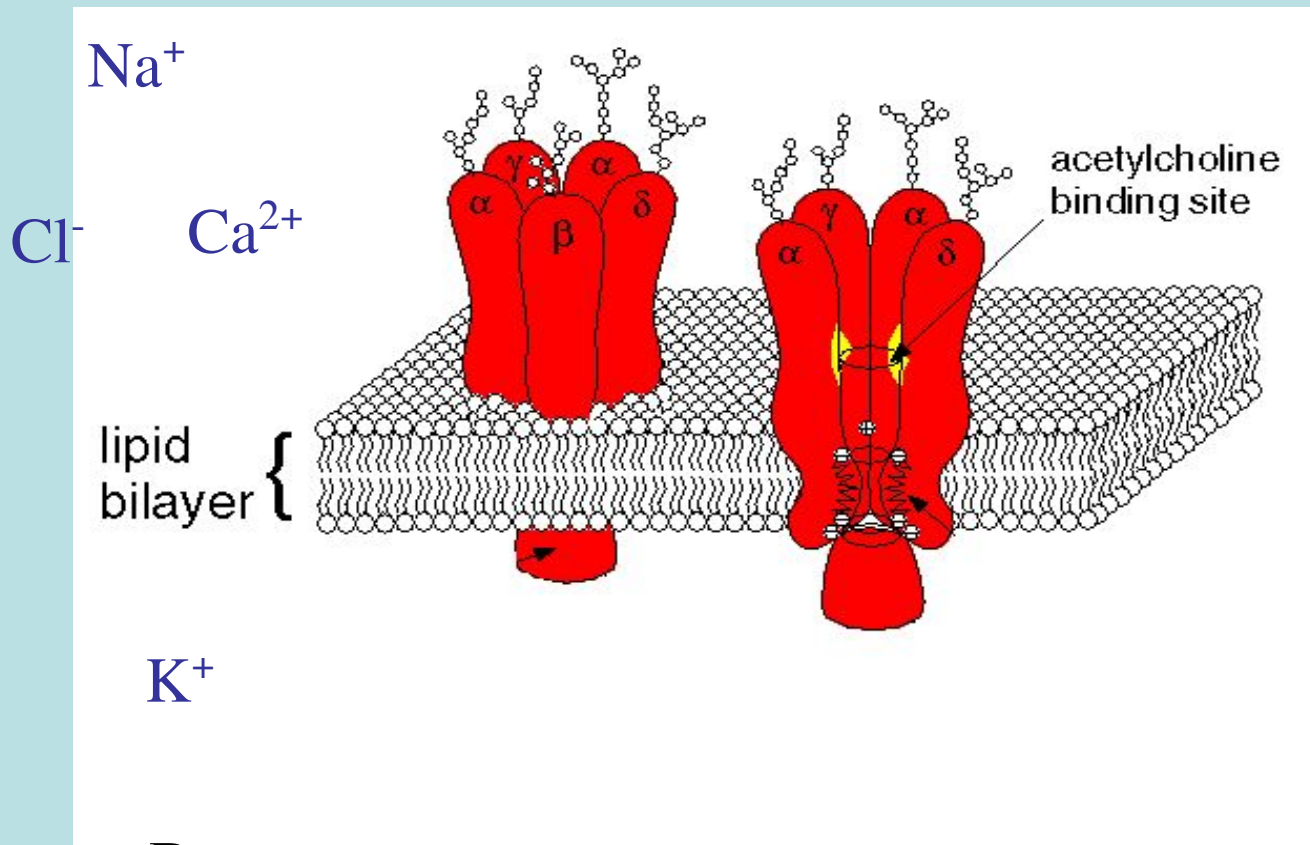


Общая схема строения ионного канала



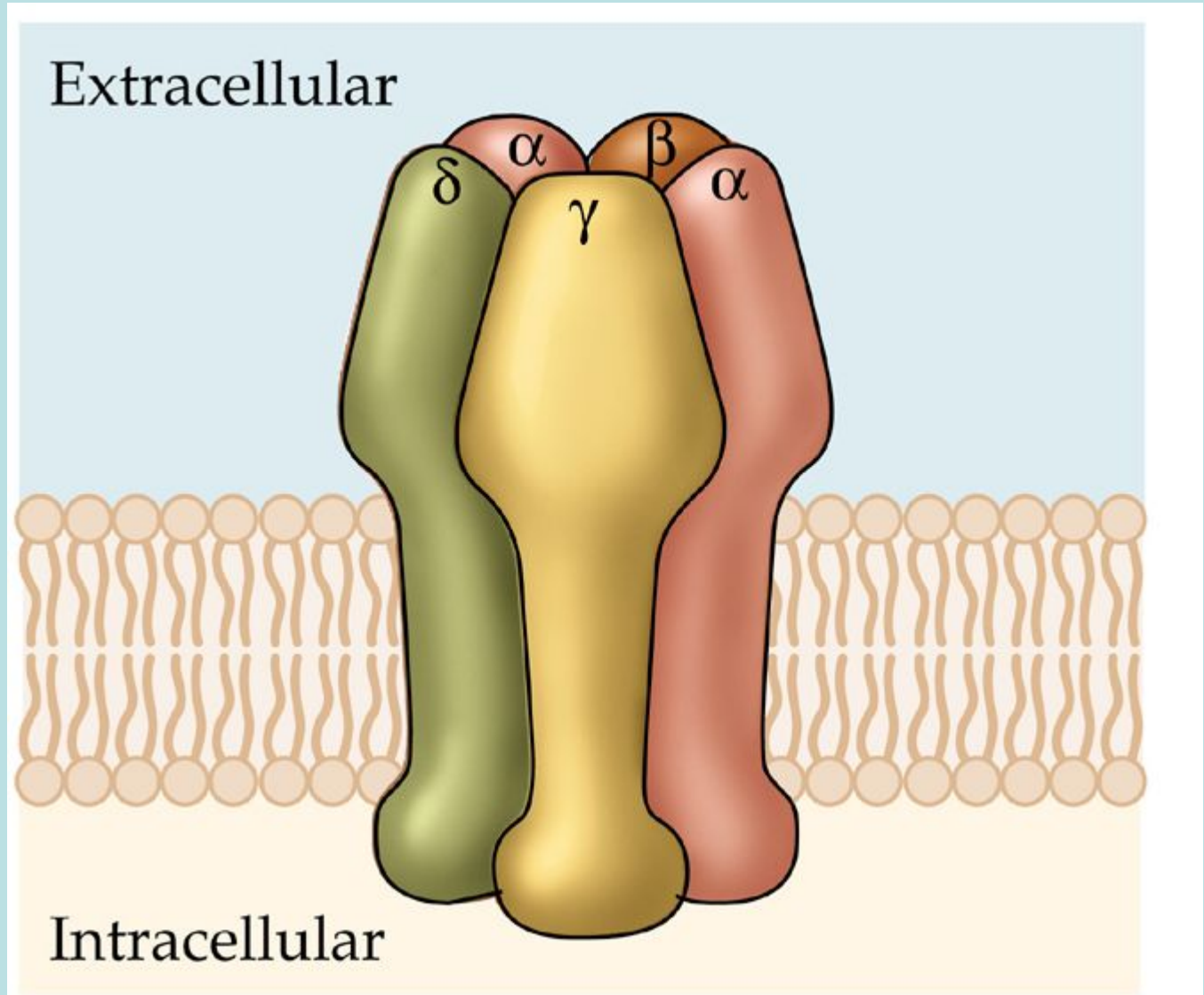
Ацетилхолиновый рецептор в липидном бислое мембраны

Снаружи клетки



Внутри клетки

Субъединичное строение ацетилхолинового рецептора



ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ИОННЫХ КАНАЛОВ

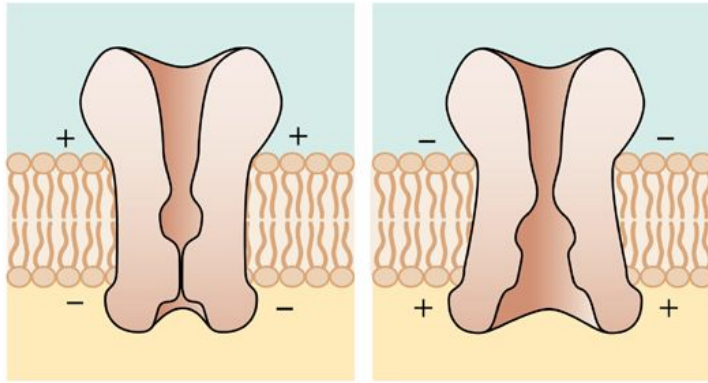
Потенциалозависимые

Закрытый

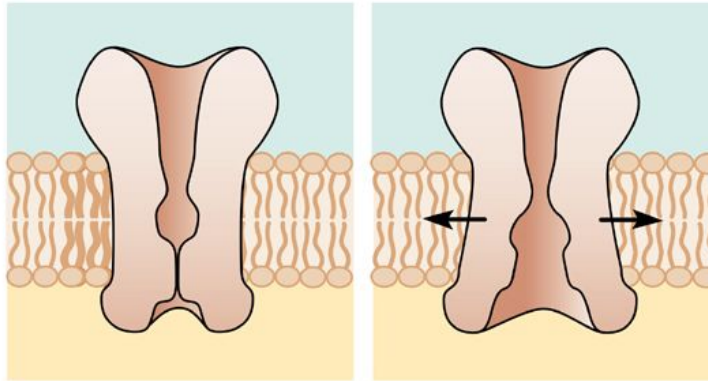
Открытый

Лигандуправляемые

(A) Channels activated by physical changes in the cell membrane

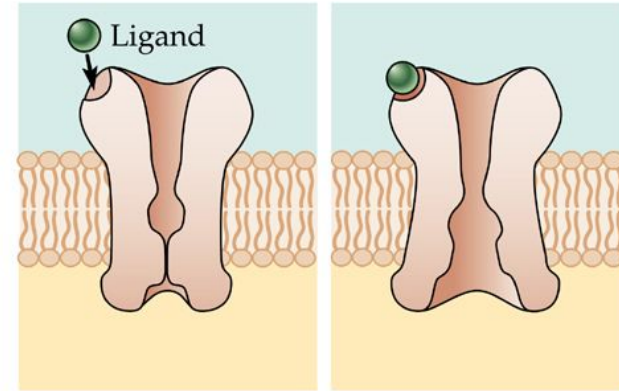


Voltage-activated

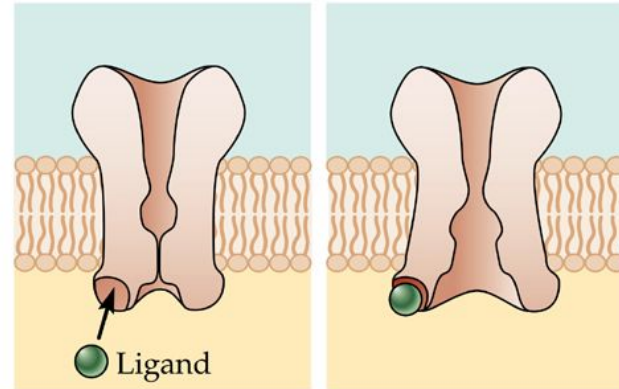


Stretch-activated

(B) Channels activated by ligands



Extracellular activation



Intracellular activation

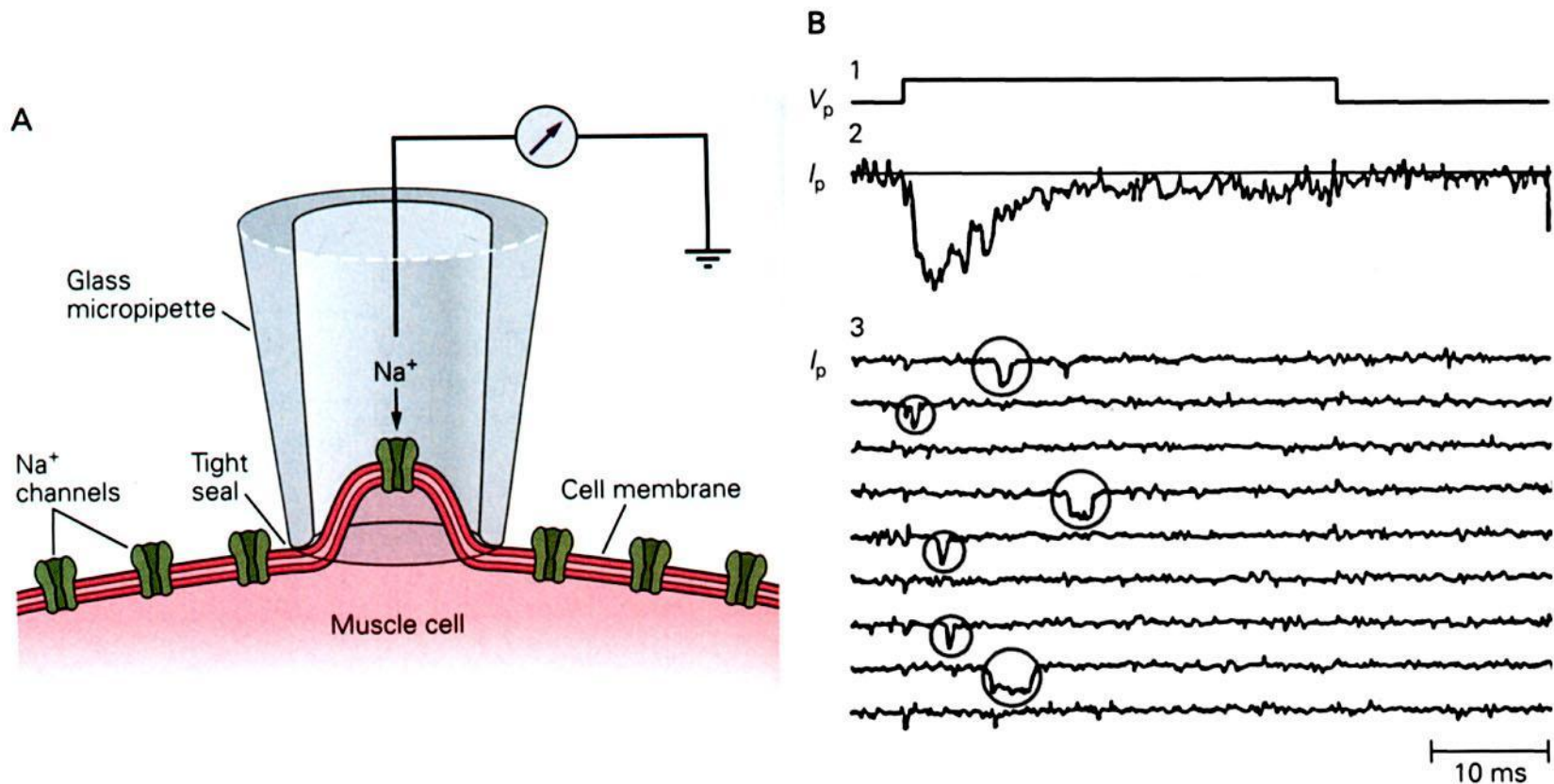
Снаружи

Изнутри

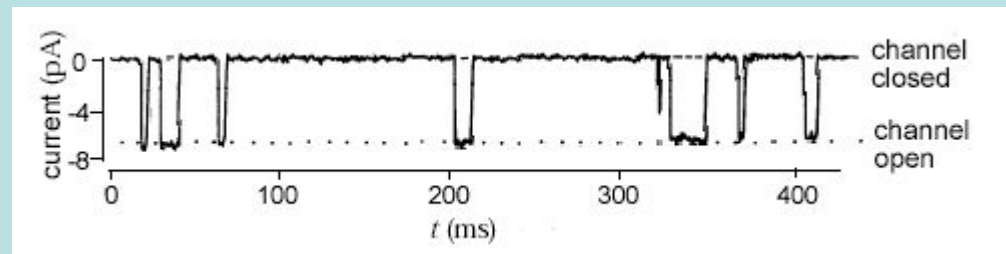
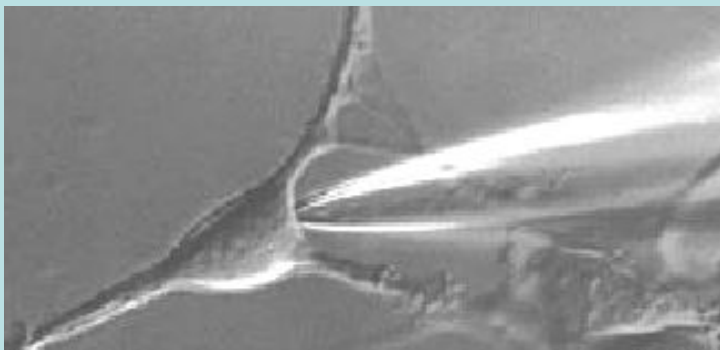
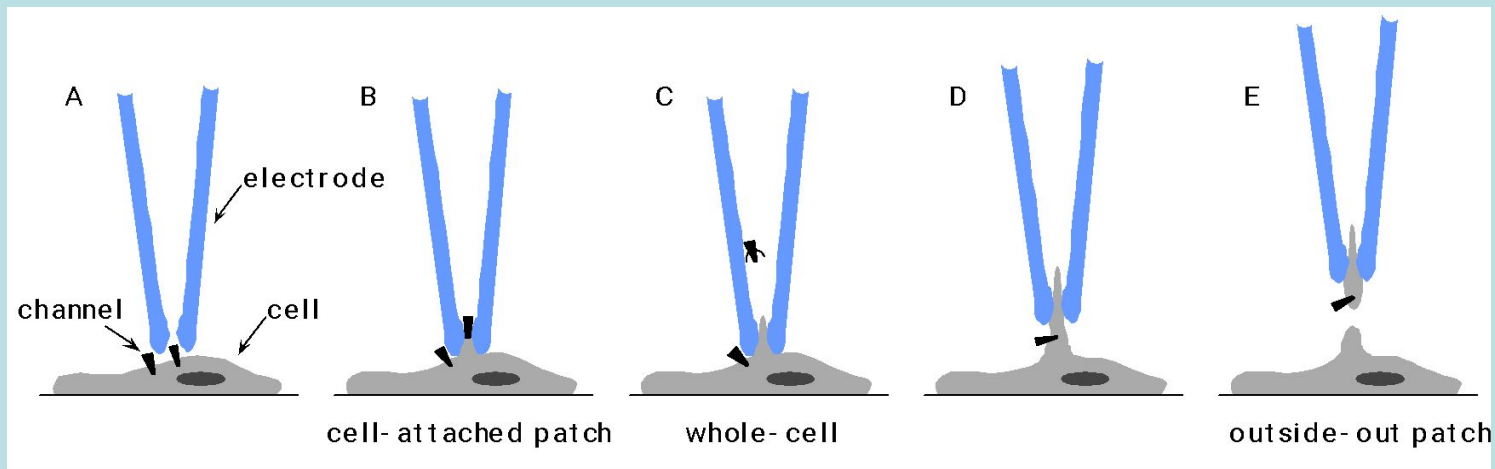
Механочувствительные

Регистрация одиночных ионных каналов (patch clamp)

Fig. 15

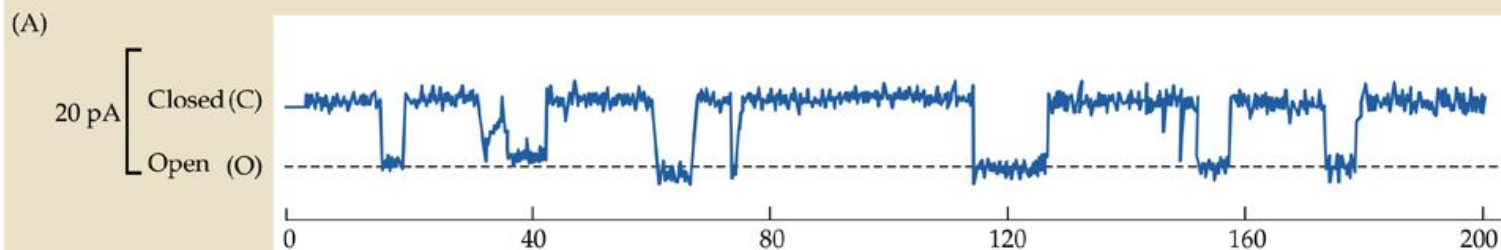


Регистрация одиночных ионных каналов (patch clamp)

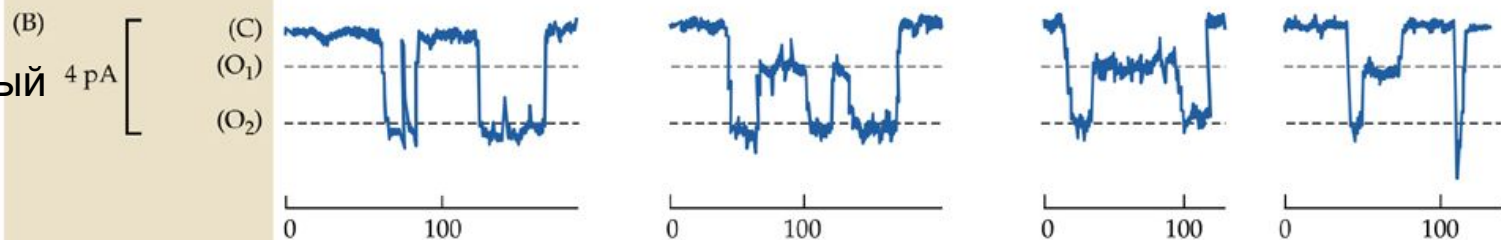


Примеры одиночных ионных каналов, зарегистрированных методом пЭТЧ-клемп

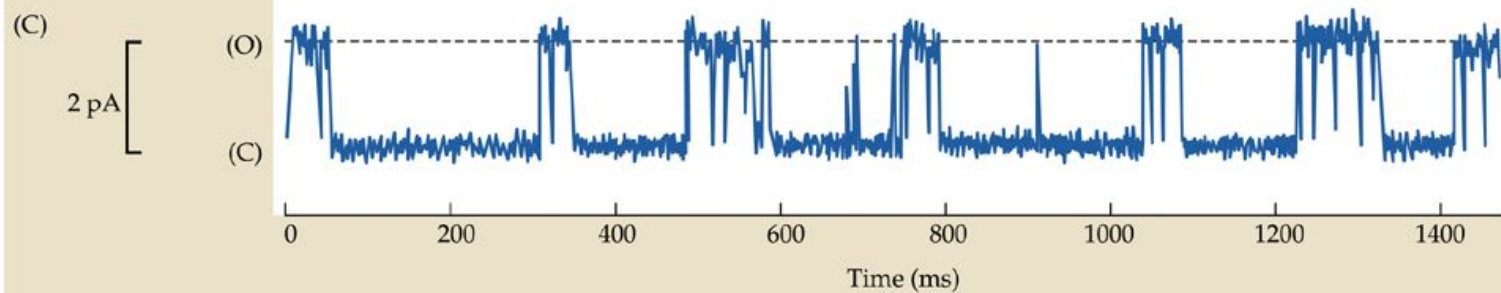
Глутаматный рецептор



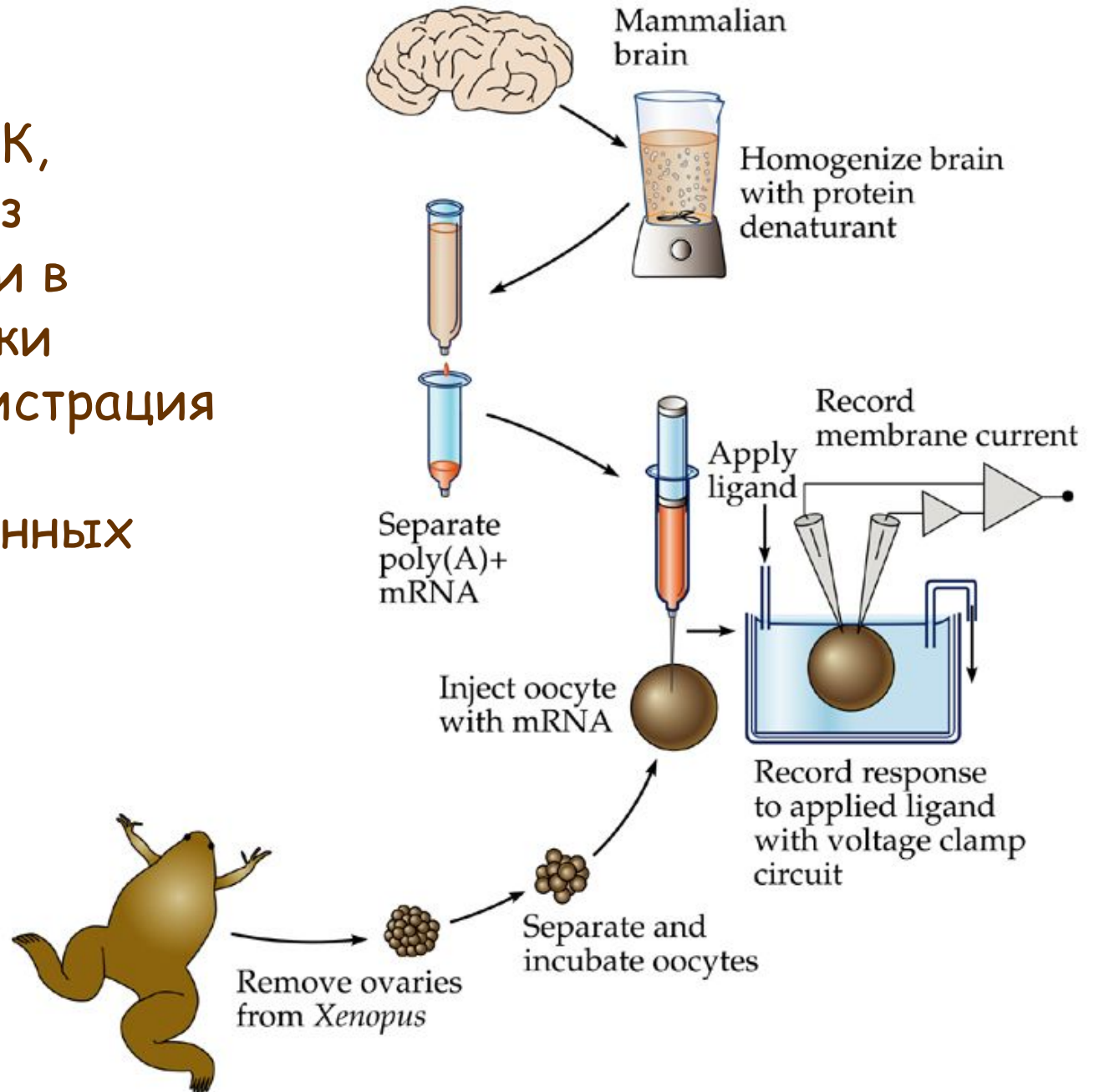
Ацетилхолиновый рецептор



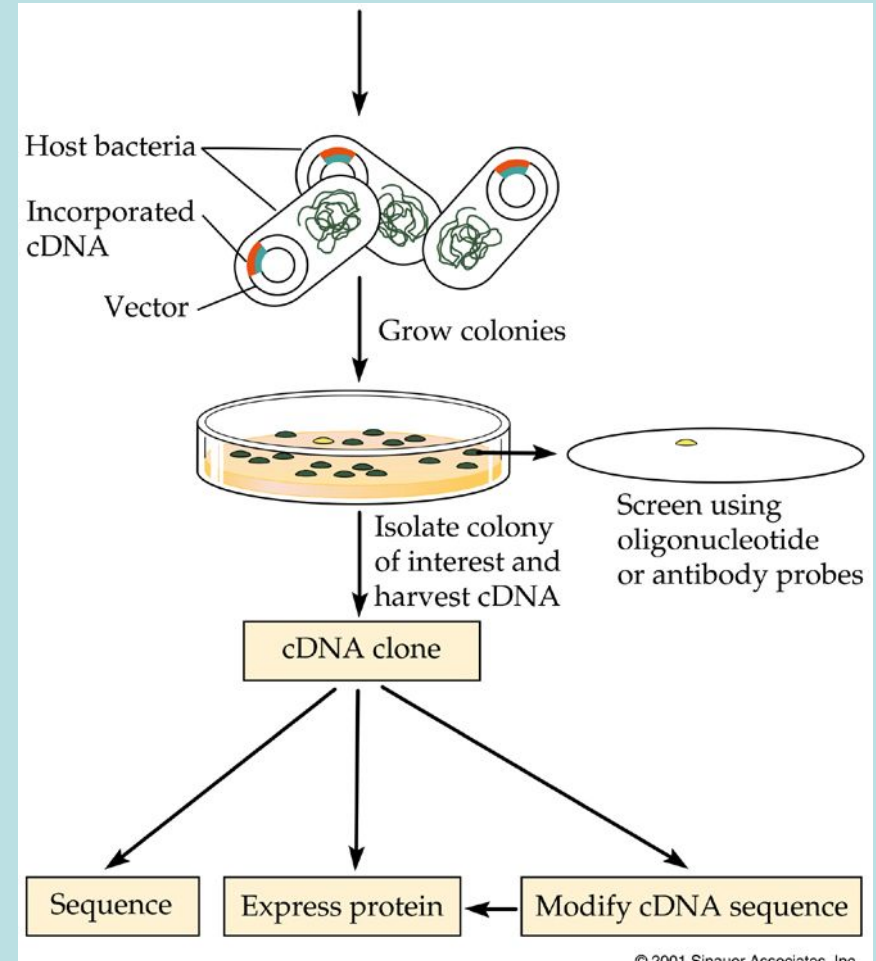
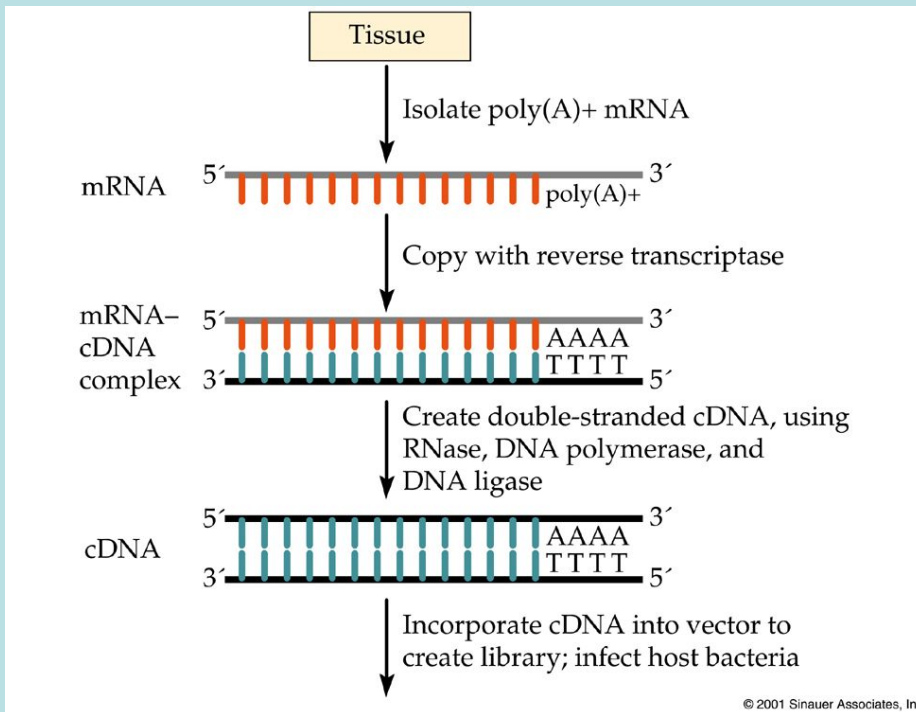
Глициновый рецептор



Инъекция мРНК,
выделяемой из
мозговой ткани в
ооциты лягушки
Xenopus и регистрация
ответов
экспрессированных
рецепторов

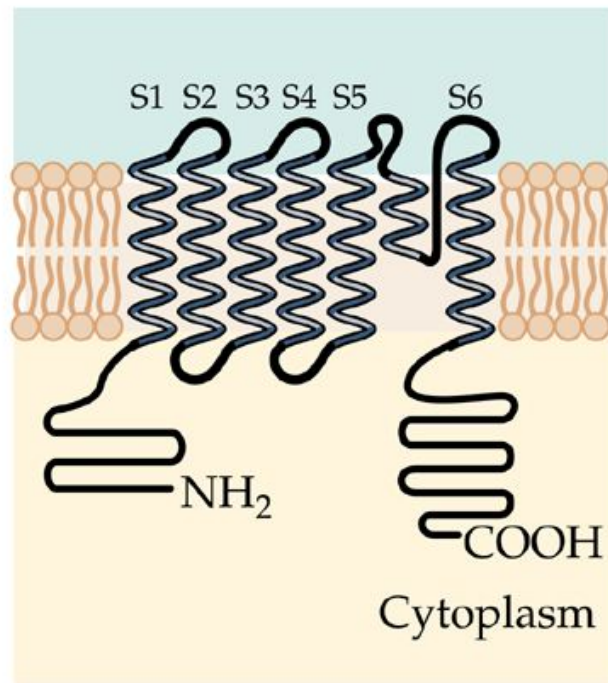


Клонирование генов определенных каналов и рецепторов, создание библиотек генов и последующее их использование



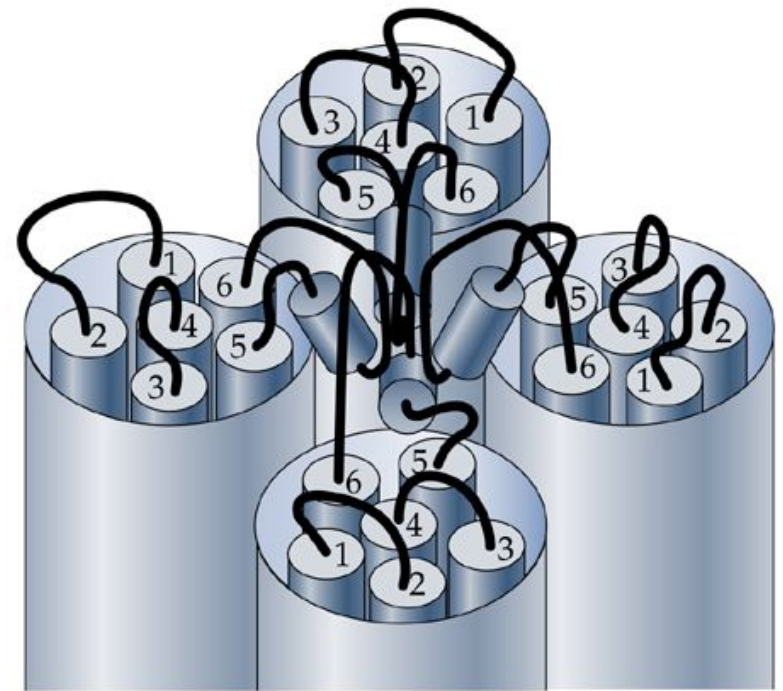
Структура потенциалзависимого калиевого канала

(C) Potassium channel



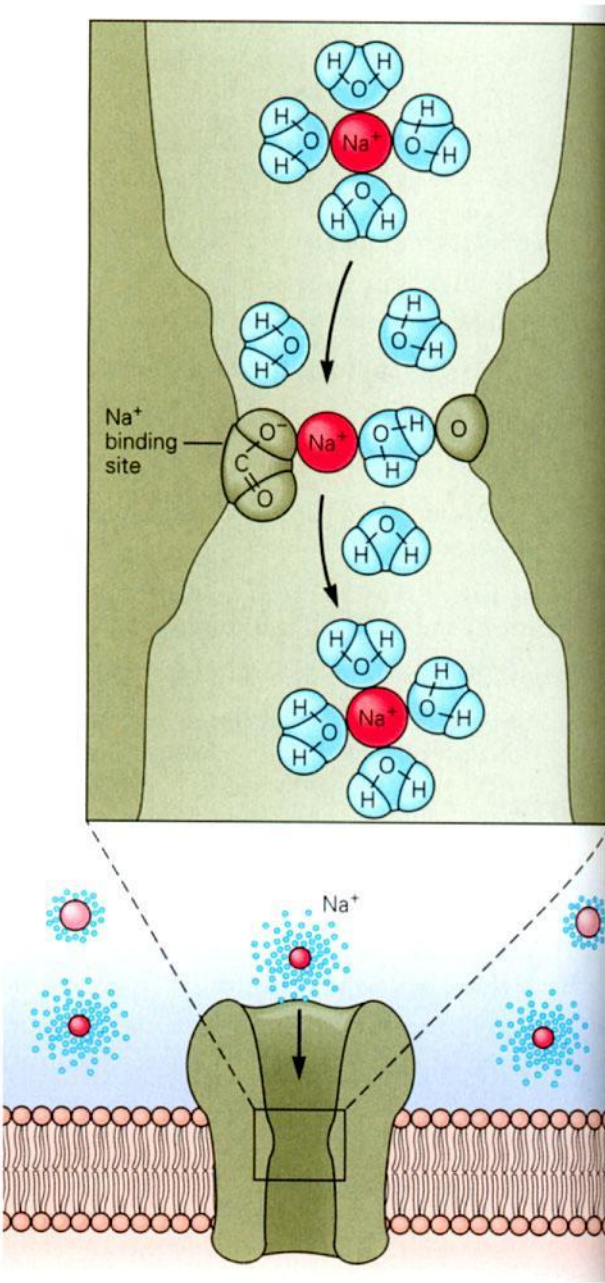
Субъединица калиевого канала похожа на домен натриевого канала

(D)



Трехмерная структура калиевого канала

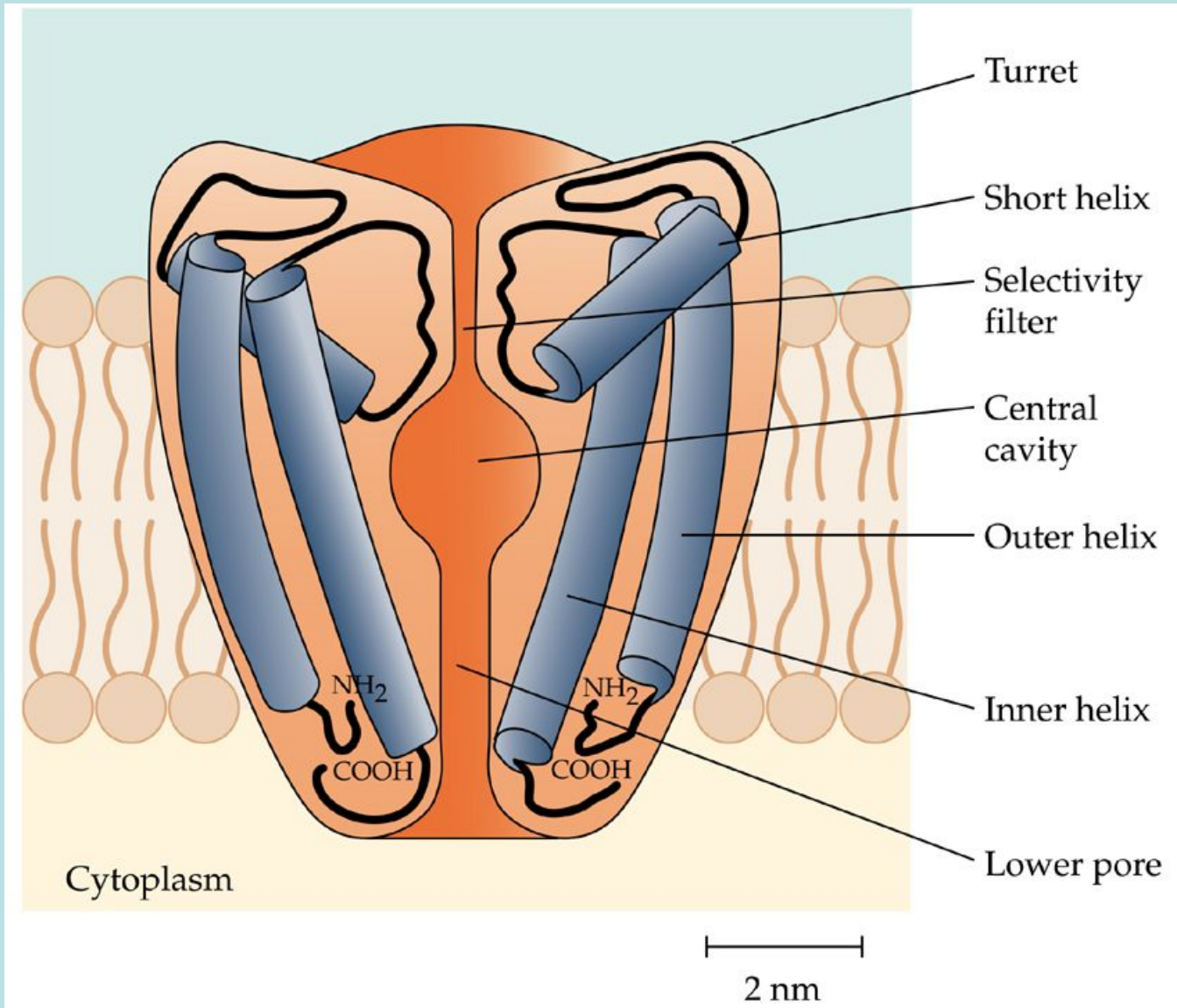
Fig. 14



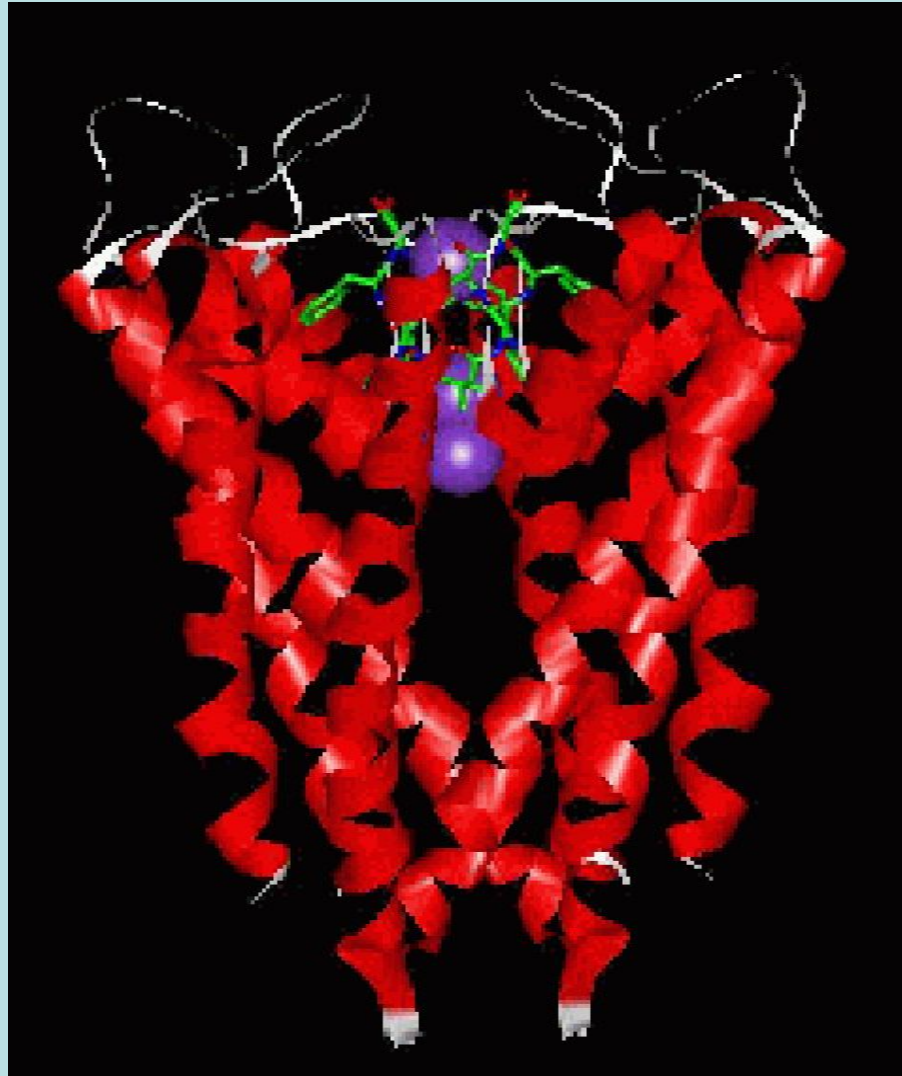
Селективный фильтр Na⁺ канала

Узкий участок водной поры канала, определяющий тип иона, способного пройти через канал, когда он открыт. Здесь же ион натрия теряет свою водную «шубу».

Поперечный срез трехмерной структуры калиевого канала

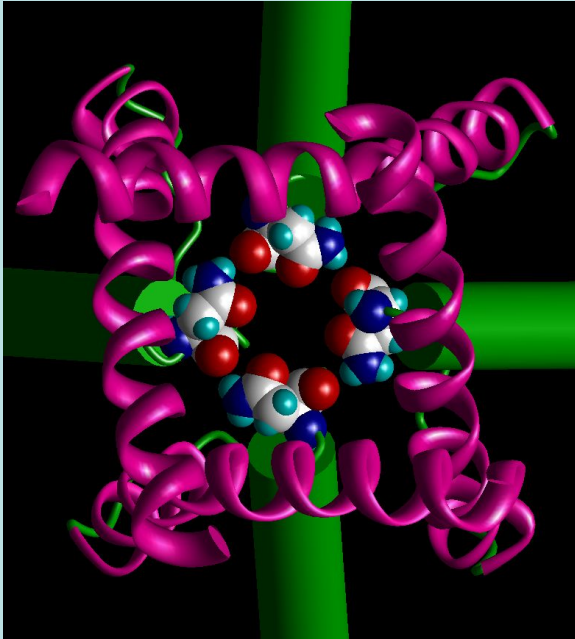


K^+ канал в мембране бактерии (структура по данным кристаллографии)

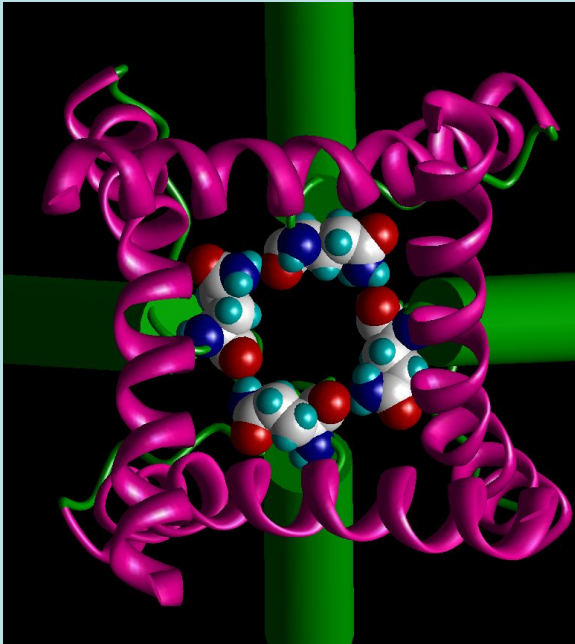


Doyle et al, 1998

Молекулярные модели
селективных фильтров открытых
каналов глутаматных рецепторов
NMDA и **AMPA** типов

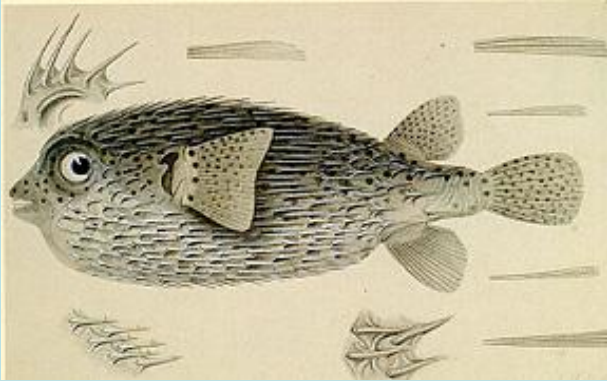


NMDA рецептор

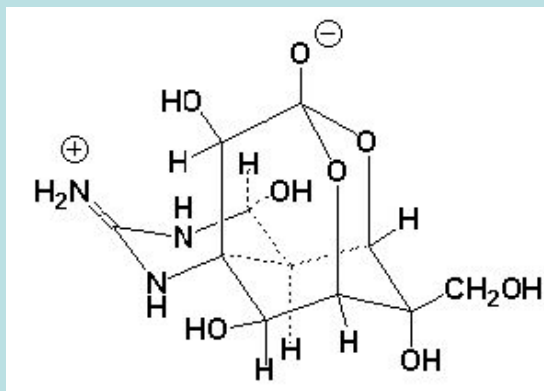


AMPA рецептор

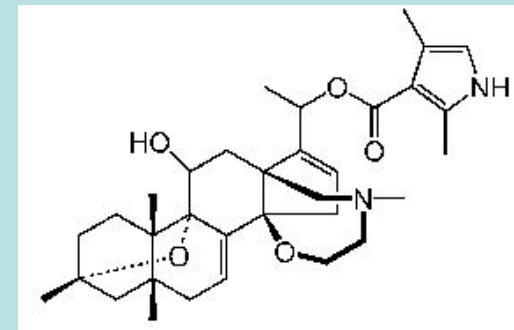
Токсины, действующие на Na^+ канал



Рыба кузовок содержит **tetrodotoxin**, сильнейший яд.

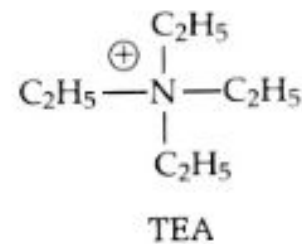
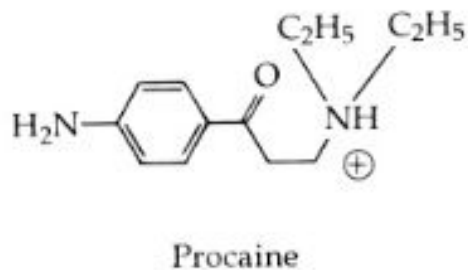
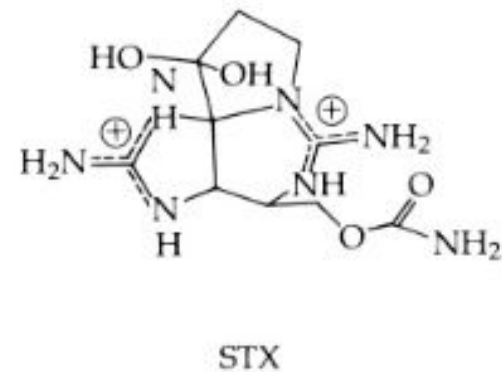
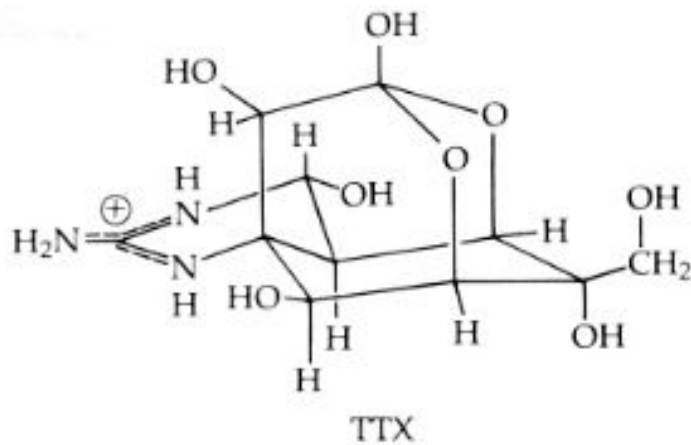


Batrachotoxin содержится в коже колумбийских лягушек. Яд в 250 раз сильнее стрихнина.



Химические структуры веществ, блокирующих натриевые (TTX, procaine) и калиевые (TEA) каналы возбудимой мембраны.

С их помощью удастся разделить натриевые и калиевые токи, порождающие потенциал действия



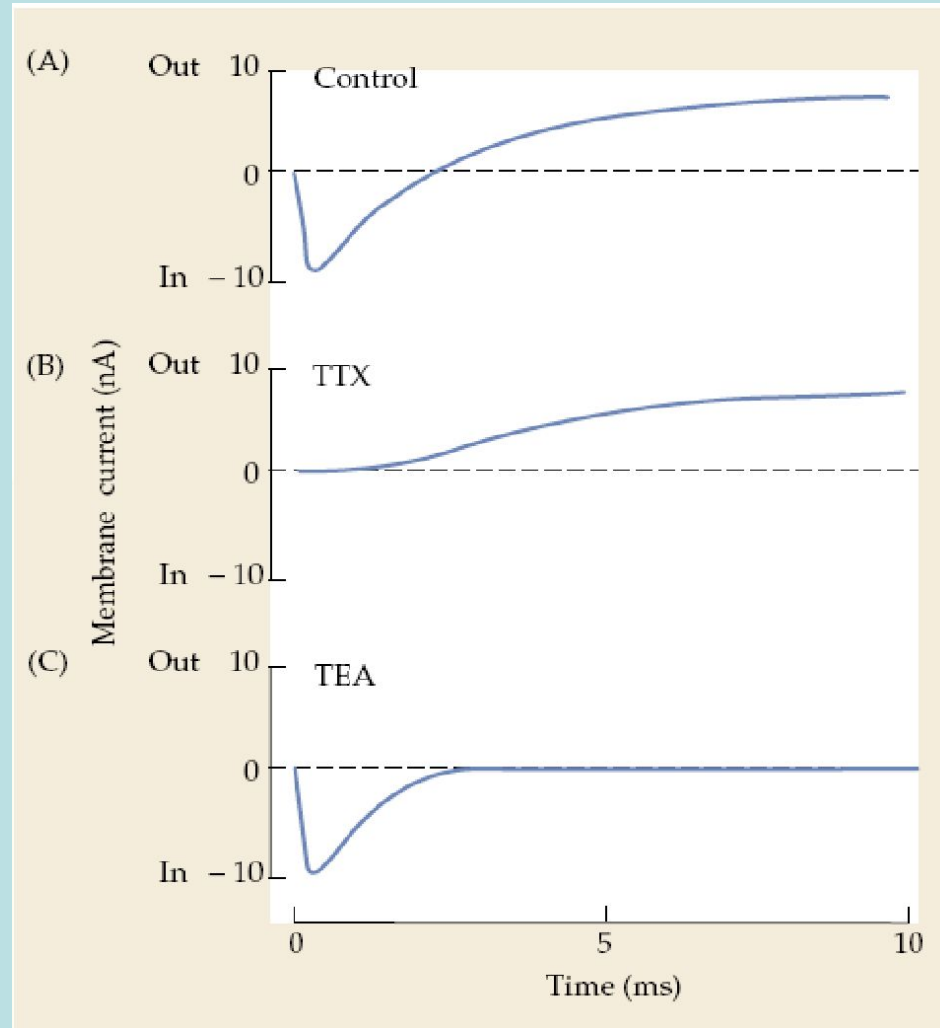
1 CHEMICAL STRUCTURES OF CHANNEL BLOCKERS

Разделение **натриевых** и **калиевых** токов, лежащих в основе потенциала действия

Суммарный ток

Натриевые каналы заблокированы, регистрируется медленный, выходящий **калиевый ток**

Калиевые каналы заблокированы, регистрируется быстрый входящий **натриевый ток**



Сравнение локального потенциала и потенциала действия

| | Локальный потенциал | Потенциал действия |
|---------------------------------------|--|---|
| Тип сигнала | Местный, при распространении быстро затухает | Распространяющийся регенеративный сигнал |
| Где возникает ? | Обычно дендриты и тело нейрона | Триггерная зона нейрона и по ходу аксона |
| Типы каналов, участвующих в генерации | Механо-, хемочувствительные | Обычно потенциалозависимые натриевые и калиевые |
| Ионы, переносящие токи | Обычно Na, Cl, Ca | Na, K, (Ca) |
| Тип сигнала | Деполаризующий (вход Na) или гиперполяризующий (вход Cl) | Деполаризующий |
| Амплитуда сигнала | Зависит от амплитуды стимула, может суммироваться | Относительно постоянная по принципу «все или ничего», не суммируется |
| Что инициирует сигнал? | Вход ионов через открываемые стимулом каналы | Локальный потенциал, амплитуда которого достигла порога |
| Особые отличия | Не требуется достижения минимального уровня, два близких по времени стимула дают суммарный ответ | Существует рефрактерный период, близкие по времени стимулы не суммируются |

Вопросы?

Ионные каналы клонированы, изучены аминокислотные последовательности их полипептидных цепей и топография в мембране

Fig. 11

