

Физиология возбудимых тканей

Введение

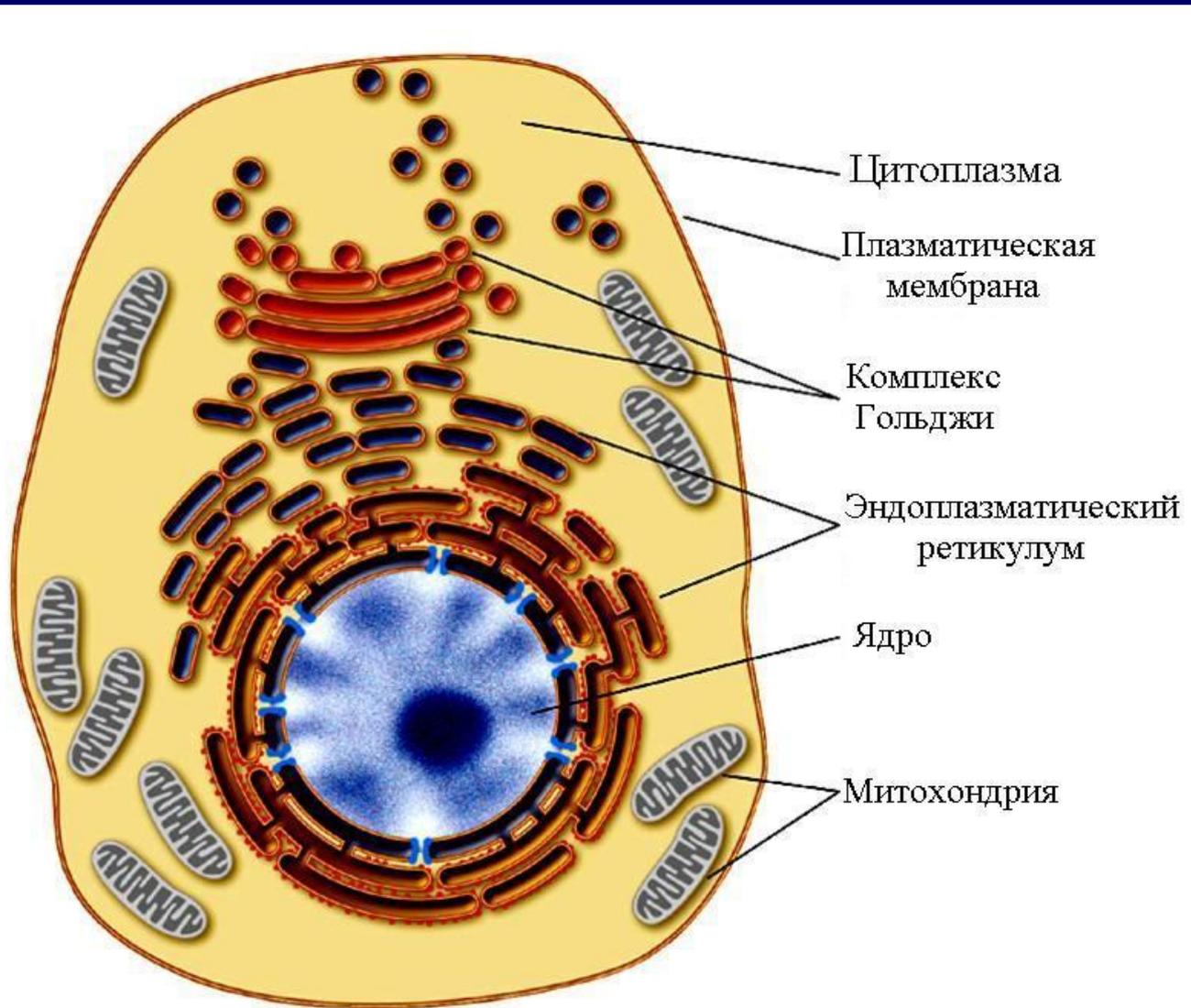
Если рассмотреть электронную микрофотографию ультратонкого среза живой ткани (после его фиксации и соответствующего прокрашивания), то первое, что обращает на себя внимание, - это тонкие двойные линии, которые "вырисовывают" контуры клетки и внутриклеточных органелл.

Это - срезы через биологические мембраны - тончайшие плёнки, состоящие из двойного слоя молекул липидов и встроенных в этот слой белков.

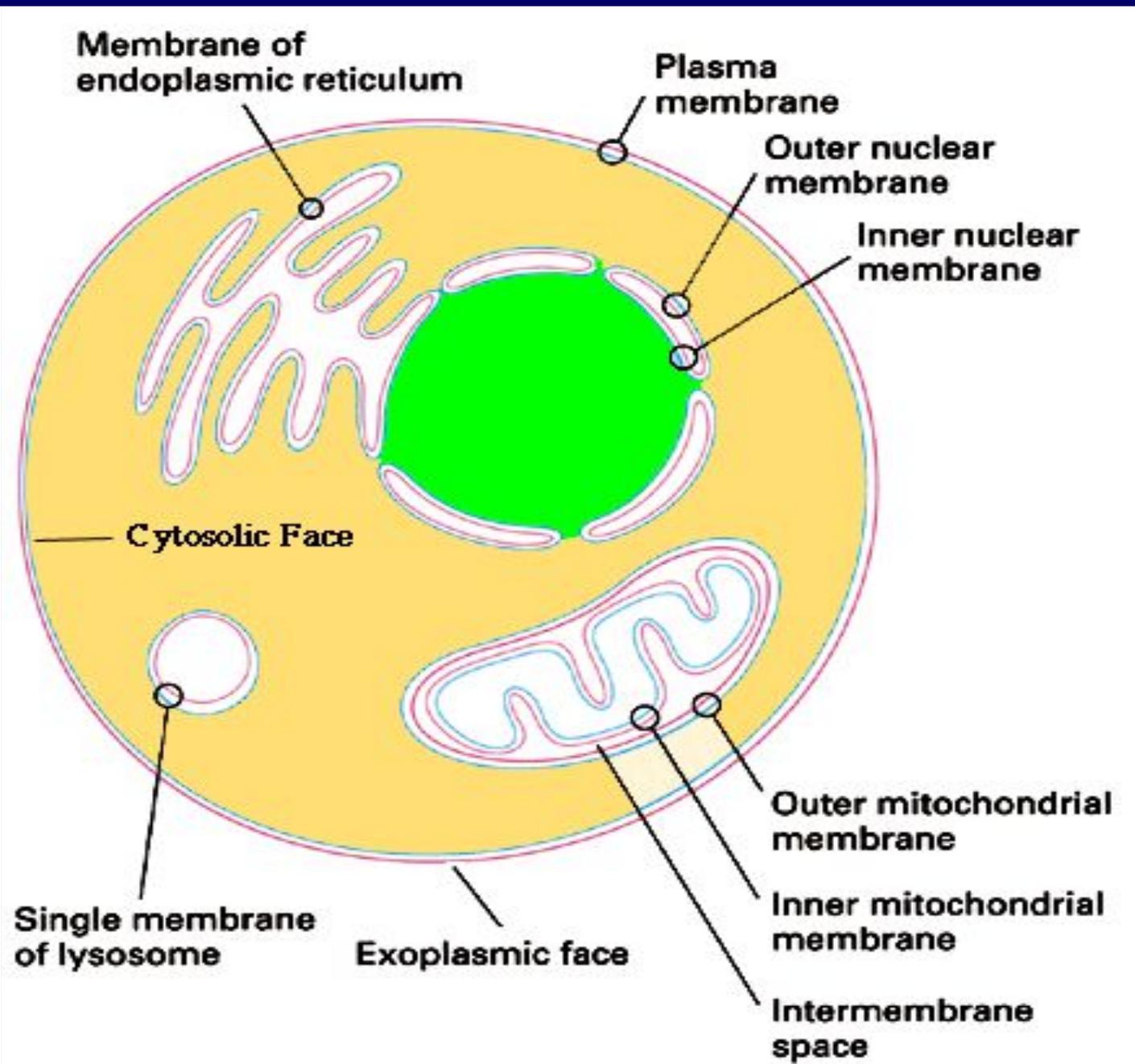
Клеточная или цитоплазматическая мембрана окружает каждую клетку. Ядро окружено двумя ядерными мембранами: наружной и внутренней. Все внутриклеточные структуры: митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, фагосомы, синапсомы и т.п. представляют собой замкнутые мембранные везикулы (пузырьки).







20 μm



История изучения мембран. Модель Даниели - Давсона

В 1935 году Даниели и Давсоном, предложили так называемую “бутербродную” модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течении почти 40 лет. Согласно этой модели, на поверхности фосфолипидного бислоя в мембранах располагаются белки.



- Последующие исследования, выполненные с помощью электронного микроскопа в 1959 г. Дж. Робертсоном, подтвердили правильность этой модели.
- До исследований Робертсона рассматривали только цитоплазматическую мембрану. Дж. Робертсон показал, что внутри клетки существует много структур, окруженных мембранами, и все эти мембраны одинаковы. Им была выдвинута теория ординарной, или унитарной, мембраны.
- Эта элементарная мембрана состоит из одного бислоя фосфолипидов, покрытого с внутренней стороны (со стороны цитоплазмы) слоем фибриллярного белка, а с наружной — мукополисахаридами или мукопротеидами.

Функции биологических мембран

1. Во всех живых клетках биологические мембраны выполняют **функцию барьера**, отделяющего клетку от окружающей среды, и разделяющего внутренний объем клетки на сравнительно изолированные "отсеки" (compartments).
2. **Функция "монтажной платы" или матрицы**, на которой располагаются в определенном порядке белки и белковые ансамбли, образующие системы переноса электронов, запасания энергии в форме **АТФ**, регуляции внутриклеточных процессов гормонами, поступающими извне и внутриклеточными медиаторами, узнавания других клеток и чужеродных белков, рецепции света и механических воздействий.
3. **Регуляторная функция** - барьерные свойства мембран и работа мембранных насосов лежат в основе процессов **внутриклеточной регуляции** и передачи сигналов в форме электрического импульса между клетками.

Функции биологических мембран

4. Гибкая и эластичная пленка, которой по существу являются все мембраны, выполняет и определенную механическую функцию, сохраняя клетку целой при умеренных механических нагрузках и нарушениях осмотического равновесия между клеткой и окружающей средой.
- Общие для всех мембран функции барьера для ионов и молекул и матрицы для белковых ансамблей обеспечиваются главным образом липидным бислоем, устроенным практически одинаково во всех мембранах.
 - Набор белков индивидуален для каждого типа мембран, что позволяет мембранам участвовать в выполнении самых разных функций в различных клетках и клеточных структурах.

Функции некоторых цитоплазматических и внутриклеточных мембран в организме человека

<u>Клетки</u>	<u>Мембраны</u>	<u>Функция</u>
Все клетки	Клеточные (цитоплазматические)	Активный транспорт ионов K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , поддержание осмотического равновесия
Большинство клеток	Клеточные	Связывание гормонов и включение механизмов внутриклеточной сигнализации
Нервные и мышечные клетки	Клеточные	Генерация потенциалов покоя и действия, распространение потенциала действия
Большинство клеток (кроме эритроцитов)	Внутренняя мембрана митохондрий	Перенос электронов на кислород и синтез АТФ (окислительное фосфорилирование)
Большинство клеток (кроме эритроцитов)	Эндоплазматический ретикулум	Перенос ионов кальция из клеточного сока внутрь везикул
Клетки зрительного эпителия	Мембраны зрительных дисков	Поглощение квантов света и генерация внутриклеточного сигнала

Соотношение белков и липидов в мембранах

Мембраны	Белки	Липиды
Бычий миелин	22%	78%
Эритроциты человека	49%	44%
Плазматические мембраны клеток печени	60%	40%
Наружные митохондриальные мембраны	55%	45%
Внутренние митохондриальные мембраны	78%	22%
Микросомы из печени крыс	62%	32%

(Котьяк А. и Яначек К. "Мембранный транспорт, Москва, "Мир", 1980 г., стр.. 33)

Липиды мембран

- В состав липидов мембран входят в основном фосфолипиды, сфингомиелины и холестерин.
- Основные фосфолипиды мембран - это фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозит и кардиолипин.
- Кардиолипин содержится в больших количествах в митохондриях.
- Гликолипиды содержатся только в плазматических мембранах.

Липидный состав мембран эритроцитов

Фосфолипиды	36,3%
Сфингомиелины	29,6%
Холестерин	22,2%
Гликолипиды	11,9%

(Котык А. и Яначек К. "Мембранный транспорт, Москва, "Мир", 1980 г., стр. 45).

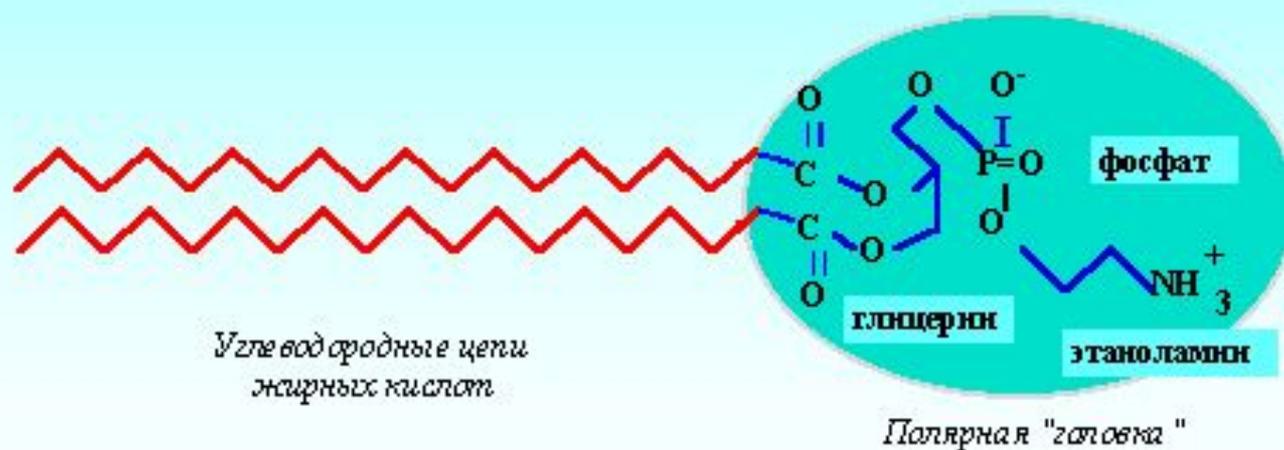
Фосфолипидный состав тканей мозга и почек человека

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

(Котык А. и Яначек К. "Мембранный транспорт, Москва, "Мир", 1980 г., стр. 44).

Амфифильные молекулы

Липидные бислои образуются *амфифильными* молекулами фосфолипидов и сфингомиелина в водной фазе. 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*, и “хвоста” образуемого неполярными углеводородными цепями жирных кислот; эта часть молекулы обладает низким сродством к воде, т. е. *гидрофобна*.



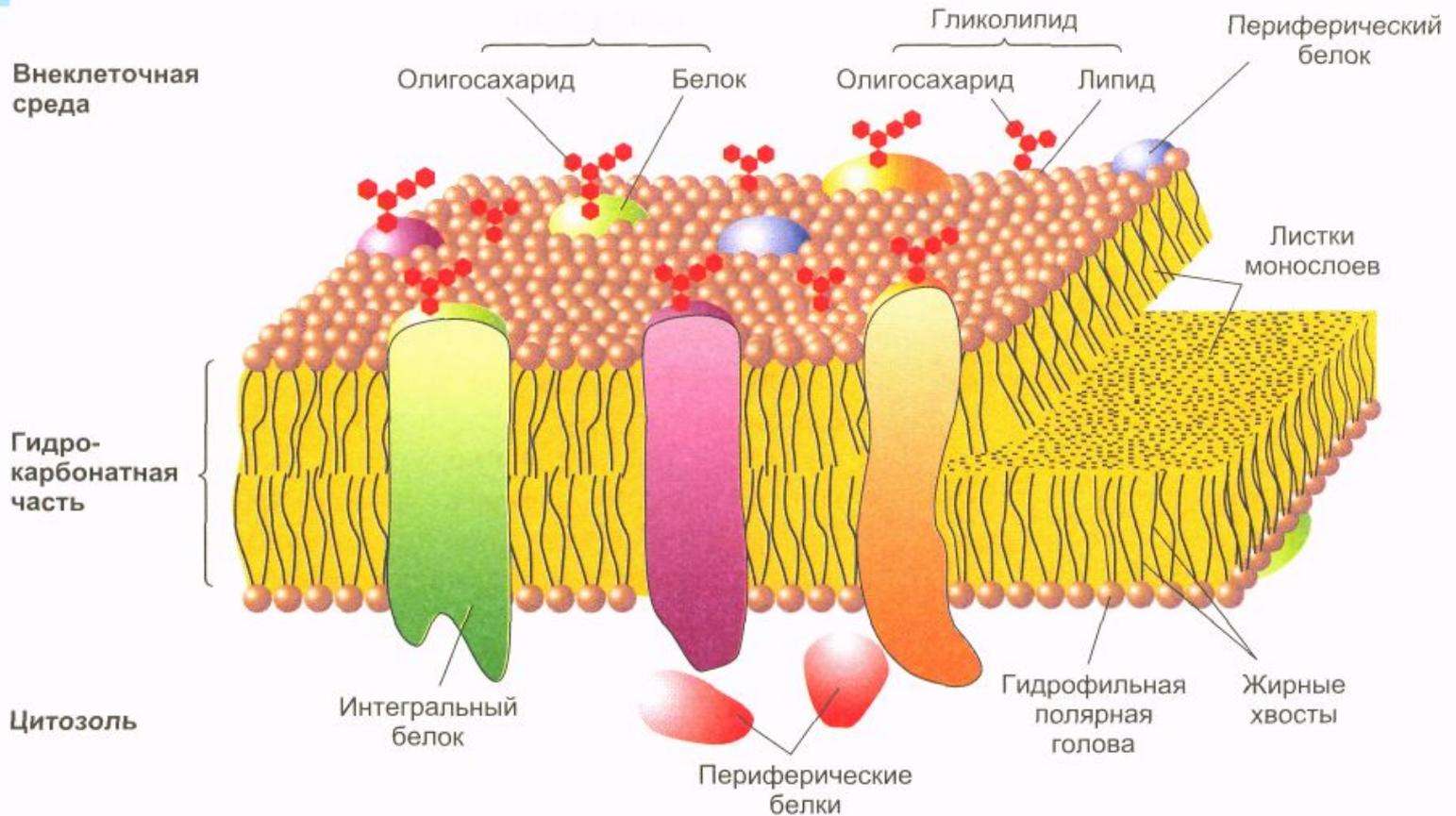
- Полярные группы молекул глобулярных белков направлены наружу, в сторону водной фазы, а неполярные — в сторону липидов. К полярным группам относятся аминная, карбоксильная, фосфатная, гидроксильная, карбонильная и некоторые другие.
- Гидрофобные концы молекул фосфолипидов не содержат полярных групп и не взаимодействуют с молекулами воды. Обычно они представлены насыщенными углеводородными цепями органических кислот.

- В физиологических условиях мембраны обладают динамическими свойствами. Липидный бислой по существу является вязкой жидкостью и характеризуется текучестью.
- Текучесть представляет собой макроскопическую характеристику всего липидного бислоя; ее величина обратна вязкости. Поскольку липидный бислой обладает текучестью, он, следовательно, имеет низкую вязкость.
- В зависимости от температуры и химического состава мембраны текучесть может быть высокой или низкой.

БЕЛКИ, СВЯЗАННЫЕ С БИСЛОЕМ ЛИПИДОВ

- Все мембраны, помимо фосфолипидов, содержат белки, которые делят на две группы.
- Первая группа — это периферические, или внешние, белки.
- Вторая группа — это интегральные, или трансмембранные, белки.

Схематическое изображение структуры цитоплазматической мембраны



Интегральные белки выступают в роли:

- гидролитических ферментов,
- рецепторов клеточной поверхности,
- окислительно-восстановительных компонентов транспортной системы электронов,
- в качестве специфических белков-переносчиков.

Главные компоненты клеточных оболочек высших организмов представлены:

- углеводными компонентами гликолипидов, в частности цереброзидов и ганглиозидов;
- гликопротеидами;
- кислыми мукополисахаридами.

РАЗДРАЖИМОСТЬ И РАЗДРАЖИТЕЛИ

- Живые организмы и все их клетки обладают свойством, называемым «раздражимостью», т.е. способностью отвечать на воздействия внешней среды изменением структуры и функций организма и его клеток.
- Этот ответ на различные воздействия называют физиологическими реакциями, а воздействия, их вызывающие, раздражителями, или стимулами.
- Понятие «физиологическая реакция» чрезвычайно широко. Оно включает все виды ответной деятельности организма, его органов и клеток на различные воздействия.

Все бесконечное разнообразие возможных раздражителей клеток и тканей можно классифицировать по трем категориям — по адекватности, природе и силе.

- По адекватности раздражители можно разделить на адекватные и неадекватные.
- Адекватные раздражители действуют на данный биологический объект в естественных условиях, т. е. их восприятию биологический объект генетически приспособлен.
- Для восприятия неадекватных раздражителей данная клетка или орган генетически не приспособлена.

По природе раздражители можно разделить на множество групп.

Это физические, физико-химические и химические.

- К числу физических раздражителей принадлежат температурные, механические, электрические, световые, звуковые.
- К физико-химическим раздражителям относятся изменения осмотического давления, активной реакции среды, электролитного состава, коллоидного состояния.
- К числу химических раздражителей относится множество веществ с различными составами и свойствами. Вызвать раздражение способны лекарственные препараты, яды, а также многие химические соединения, образующиеся в организме.

По силе раздражители можно разделить на подпороговые, пороговые и сверхпороговые.

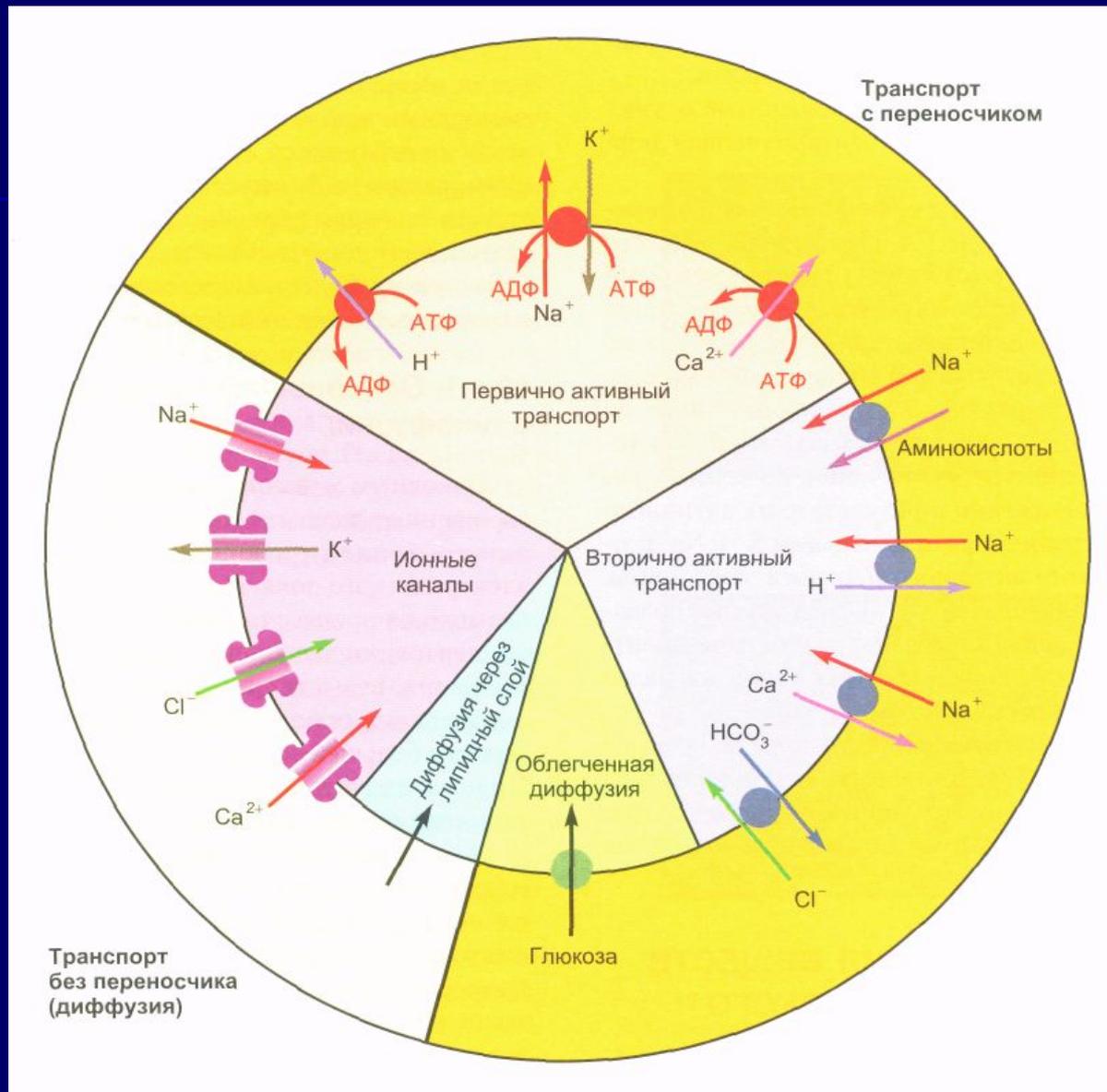
- Применение подпороговых раздражителей не приводит к типичной реакции клетки или ткани. Так, очень слабый световой поток будет недостаточен для формирования типичной реакции палочек и колбочек сетчатки глаз.
- Пороговые раздражители вызывают специфическую реакцию клетки или ткани. Для палочек и колбочек сетчатки глаз лучи видимой части солнечного спектра будут пороговыми раздражителями.
- Сверхпороговые раздражители вызывают нестандартную реакцию клетки или ткани. Например, ослепление наступит в результате световой вспышки во время взрыва водородной бомбы.

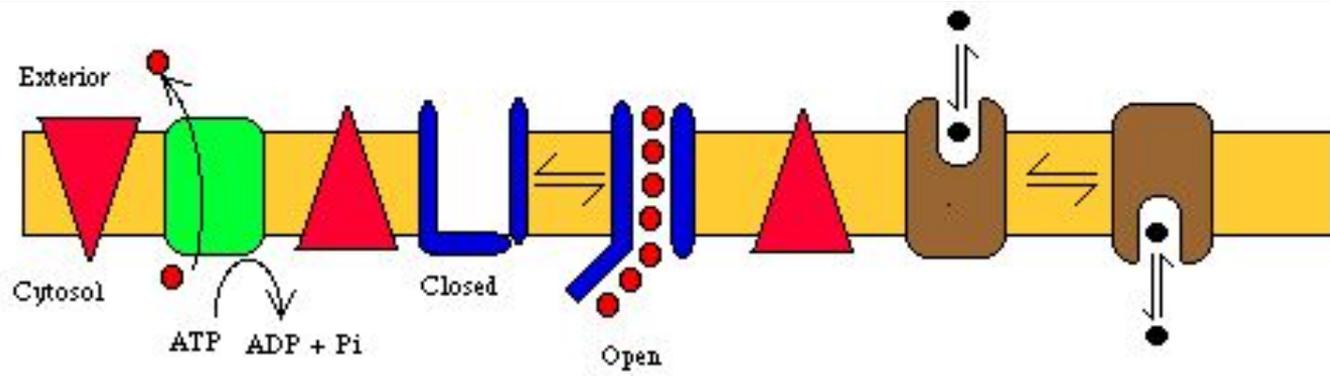
- **Возбудимость** — это свойство клеточных мембран отвечать на действие адекватных раздражителей специфическими изменениями ионной проницаемости и мембранного потенциала.
- **Возбуждение** — электрохимический процесс, идущий исключительно на мембране клетки. Его обязательным признаком является изменение электрического состояния цитоплазматической мембраны. Оно, в конечном счете, запускает специфическую для каждой ткани функцию.

Транспорт веществ через мембрану

- При всем многообразии строения и физико-химических свойств молекул проникающих веществ можно выделить два механизма перемещения веществ через мембрану — посредством простой диффузии, т.е. без помощи специфического переносчика и при помощи специфических переносчиков.
- В первом случае выделяют диффузию соединений непосредственно через липидный бислой мембраны, ионов через ионные каналы и молекул воды (или осмос).
- Во втором случае выделяют так называемую облегченную диффузию, первично активный транспорт и, наконец, вторично активный транспорт

Транспорт веществ через мембрану

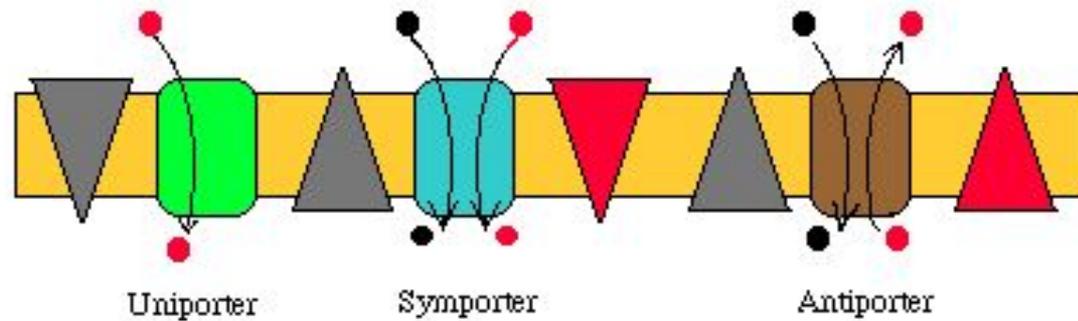




ATP-powered pump
($1-10^3$ ions/s)

Ion Channel
($10^7 - 10^8$ ions/s)

Transporter
($10^2 - 10^4$ molecules/s)



Посредством простой диффузии без помощи специального переносчика,

- **Во-первых,** осуществляется транспорт соединений непосредственно через липидный бислой. В этом случае проникновение веществ в клетку идет путем их растворения в липидах клеточной мембраны. Поэтому этот способ присущ водонерастворимым органическим соединениям и газам (например, кислороду и углекислому газу).
- **Во-вторых,** вещества перемещаются через ионные каналы клеточной мембраны, соединяющие цитоплазму клеток с внешней средой. Клетки используют этот путь для транспорта преимущественно ионов Na^+ , Ca^{2+} , K^+ . Это пассивный ионный транспорт, который идет по градиенту концентрации.
- **В-третьих,** это движение молекул воды через мембрану, осмос, выделенное в отдельный тип из-за его значимости для клеток организма.

ТРАНСПОРТНЫЕ СИСТЕМЫ

- Определенные молекулы, а также ионы могут проходить через мембрану не путем диффузии, а посредством механизмов, связанных с работой трансмембранных интегральных белков, называемых переносчиками.
- К этому виду транспорта относятся облегченная диффузия и активный транспорт.

Процесс
облегченной диффузии
подразумевает
перемещение переносчиком
вещества через
мембрану по градиенту
концентрации

Активный транспорт опосредован
переносчиком, потребляющим
энергию,
чтобы переместить вещество
против
электрохимического градиента

Облегченная диффузия

- Термин «облегченная диффузия» возник потому, что конечный результат диффузии и облегченной диффузии одинаков.
- В обоих процессах поток незаряженных молекул через мембрану всегда идет от высокого уровня концентрации к низкому и продолжается, пока концентрации на двух сторонах мембраны не станут равными.
- Однако в переносе веществ с помощью облегченной диффузии участвует переносчик.
- Ни диффузия, ни облегченная диффузия не требуют энергетических затрат, и, таким образом, эти процессы не способны к перемещению вещества через мембрану от более низкого к более высокому уровню концентрации.

Активный транспорт

Для активного транспорта известно два варианта использования переносчиками энергии:

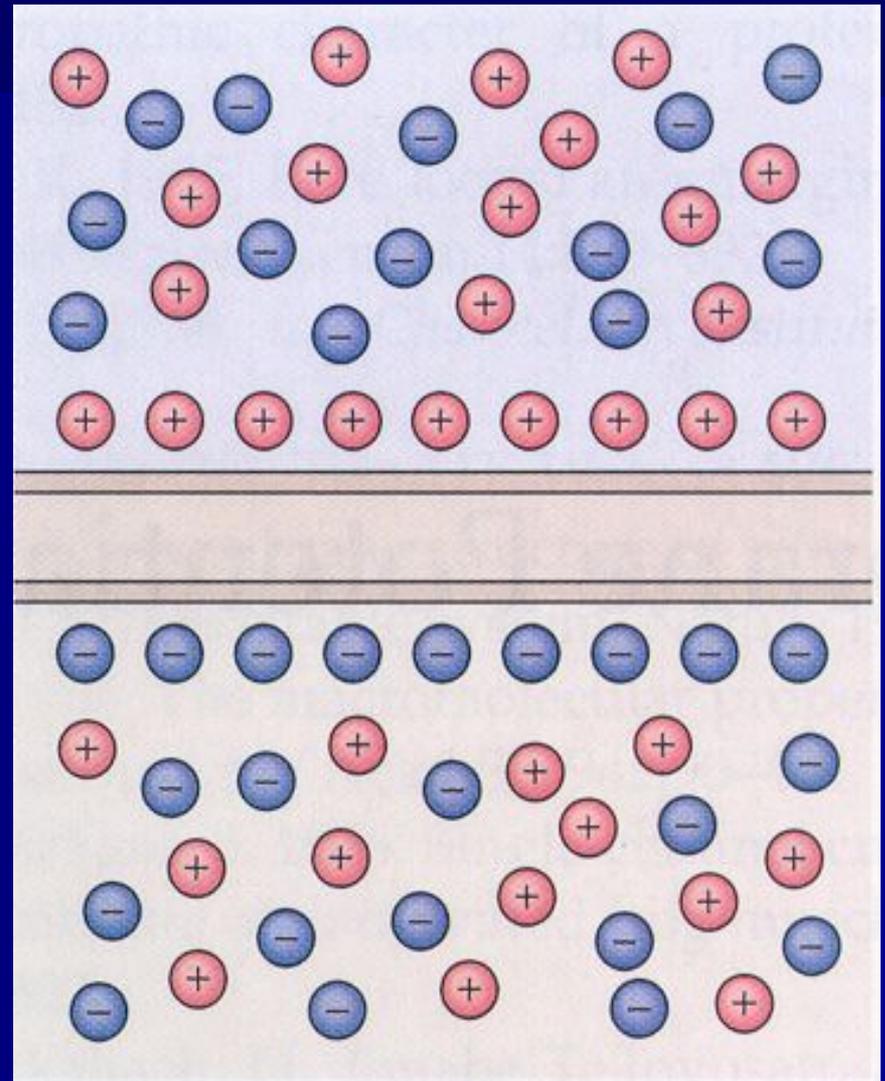


прямое
потребление АТФ в
**первично активном
транспорте**

Использование градиента
концентрации ионов
относительно мембраны,
созданного
первично активным транспортом,
для управления процессом
**вторично активного
транспорта**

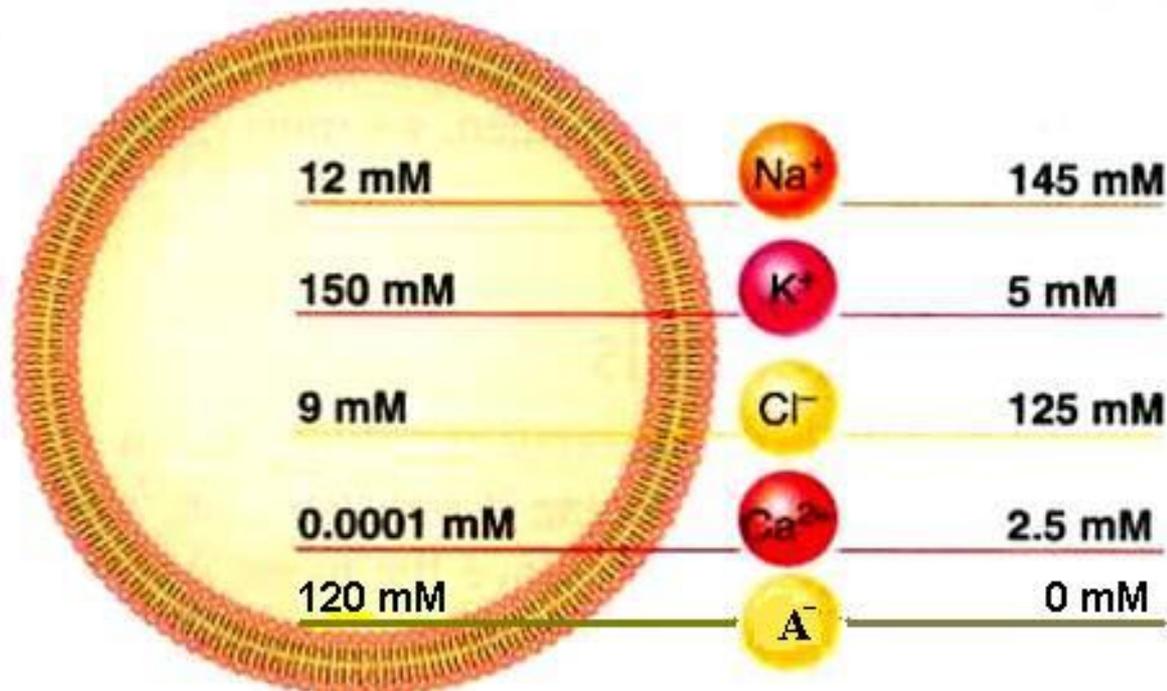
Мембранный потенциал покоя является результатом разделения зарядов относительно клеточной мембраны

- В покое снаружи мембраны преобладают положительные заряды, а внутри – отрицательные. Такое разделение зарядов сохраняется благодаря тому, что билипидный слой мембраны препятствует диффузии ионов. Разделение зарядов приводит к возникновению разности электрических потенциалов или напряжению на мембране. Мембранный потенциал покоя (МПП) можно определить как **$V_m = V_{in} - V_{out}$** ,
- где **V_{in}** - потенциал внутри клетки, **V_{out}** - - снаружи. Поскольку потенциал снаружи клетки можно принять за ноль, то МПП равен **V_{in}** .



Внутриклеточная
концентрация

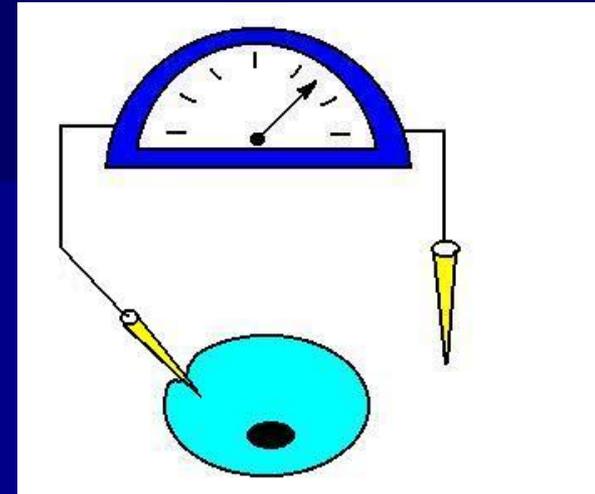
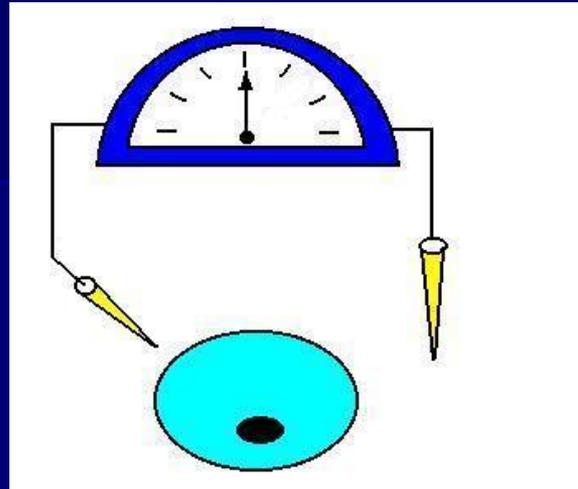
Внеклеточная
концентрация



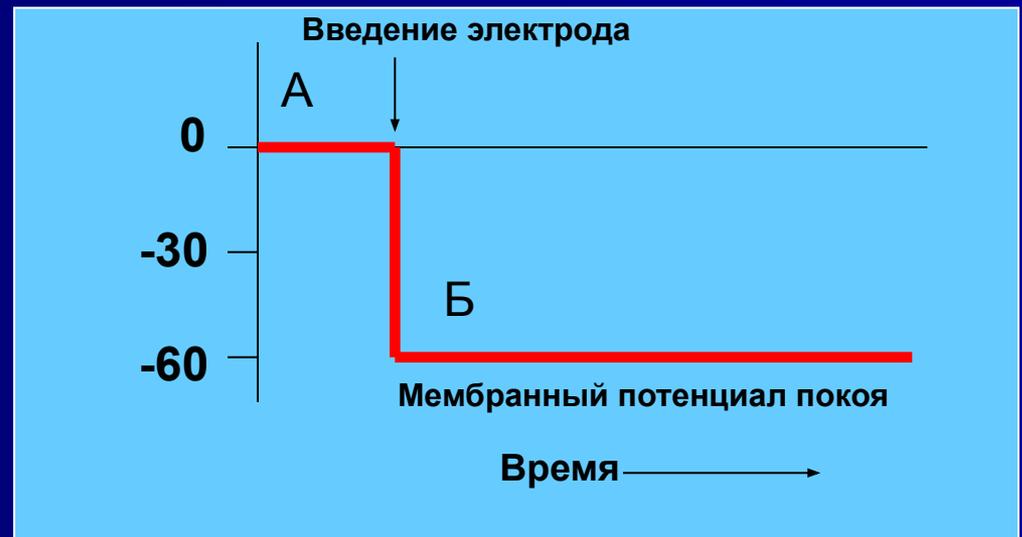
A⁻ - органические анионы

Регистрация мембранного потенциала покоя

- Внутриклеточная микроэлектродная регистрация



- Величина МПП в возбудимых клетках – от -60 до -90мВ



- В состоянии физиологического покоя мембрана нервных волокон в 25 раз более проницаема для ионов калия, чем для ионов натрия. Поэтому потенциал покоя в первом приближении определяется трансмембранным градиентом концентрации К.
- Поток наружу ионов калия прекращается, когда действие электрического поля компенсирует диффузионное давление вследствие разности концентраций. Однако ионы продолжают проходить через мембрану, но в равных количествах в обоих направлениях.
- Поэтому для данной разности концентраций ионов на мембране существует равновесный калиевый потенциал, который легко может быть определен с помощью уравнения Нернста.

Расчет равновесного потенциала

Равновесный потенциал для какого-либо иона X можно рассчитать из уравнения, полученного в 1888 году немецким физическим химиком Walter Nernst на основании принципов термодинамики.

$$E_R = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_o}{[X]_i}$$

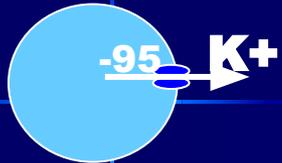
- Где R – газовая постоянная, T – температура (по Кельвину), z – валентность иона, F – константа Фарадея, $[X]_o$ и $[X]_{in}$ – концентрации ионов внутри и снаружи клетки.
- Уравнение Нернста можно использовать для расчета равновесного потенциала любого иона по обе стороны мембраны, проницаемой для данного иона.

- Мембранный потенциал покоя (-70 мВ) близок к его E_k (-75 мВ), но не точно равен ему, так как МПП здесь формируется не только утечкой ионов K^+ , но и утечкой ионов Na^+ и Cl^- . При этом поступление Cl^- в аксон ($E_{Cl} = -70$ мВ) повышает, а Na^+ — понижает МПП ($E_{Na} = +55$ мВ).
- Итоговая величина E , создаваемого утечкой ионов K^+ , Na^+ и Cl^- , может быть достаточно точно рассчитана по формуле Гольдмана:

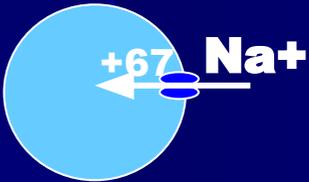
$$V_m = -\frac{RT}{F} \ln \frac{P_K C_{i,K} + P_{Na} C_{i,Na} + P_{Cl} C_{o,Cl}}{P_K C_{o,K} + P_{Na} C_{o,Na} + P_{Cl} C_{i,Cl}}$$

Равновесные потенциалы (E)

К-каналы



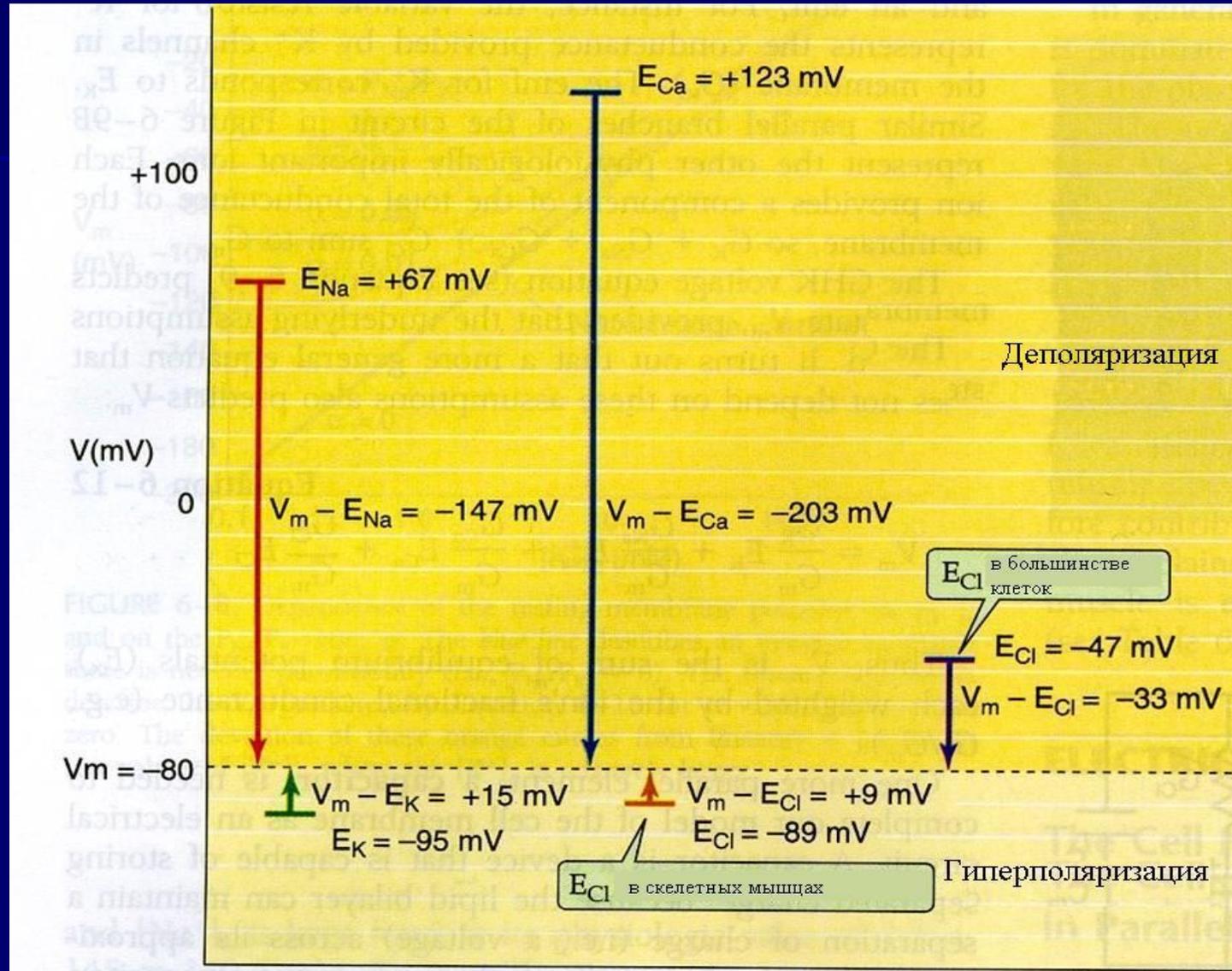
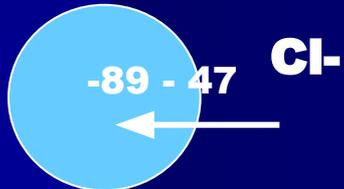
Na-каналы



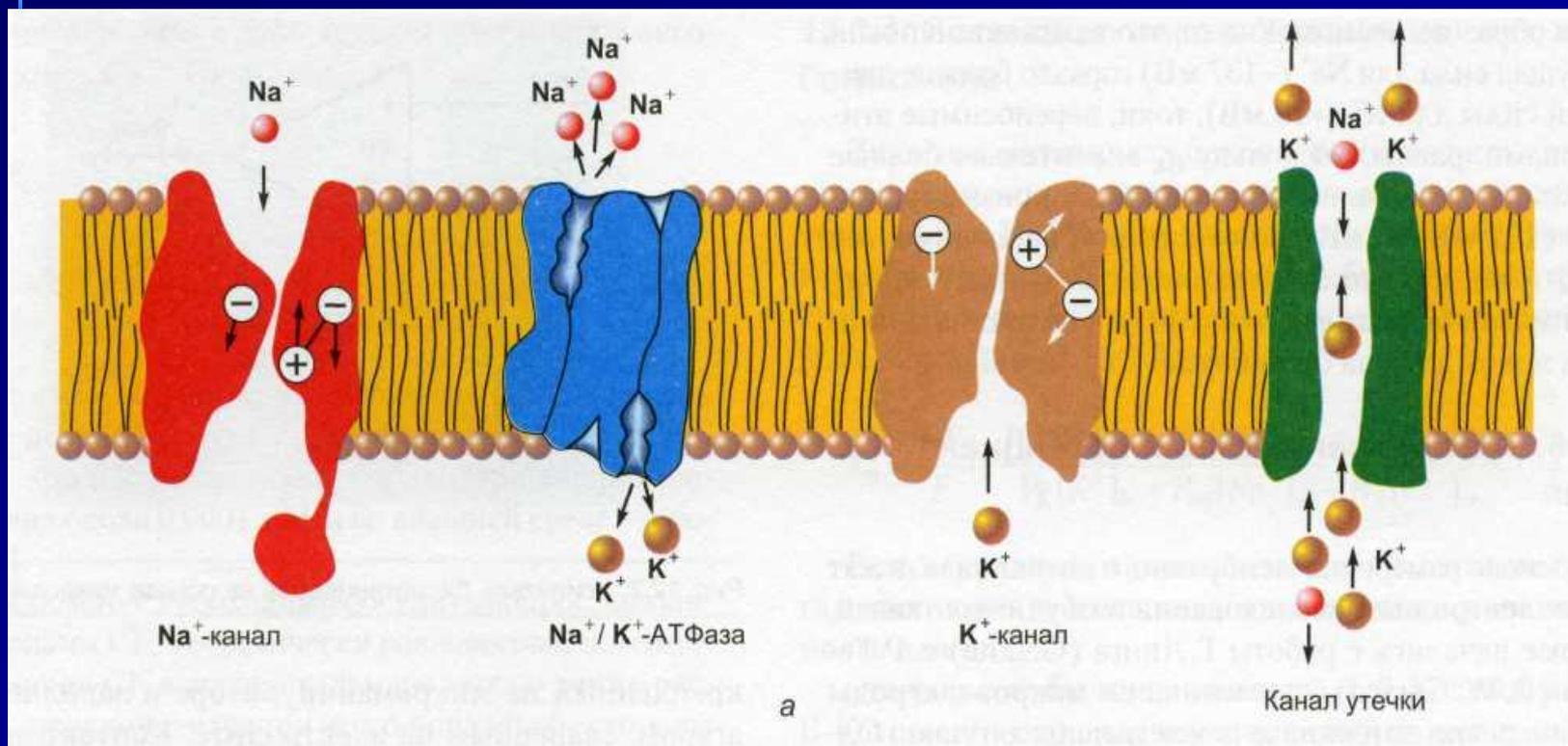
Ca-каналы



Cl-каналы



Структуры мембраны, формирующие потенциал покоя

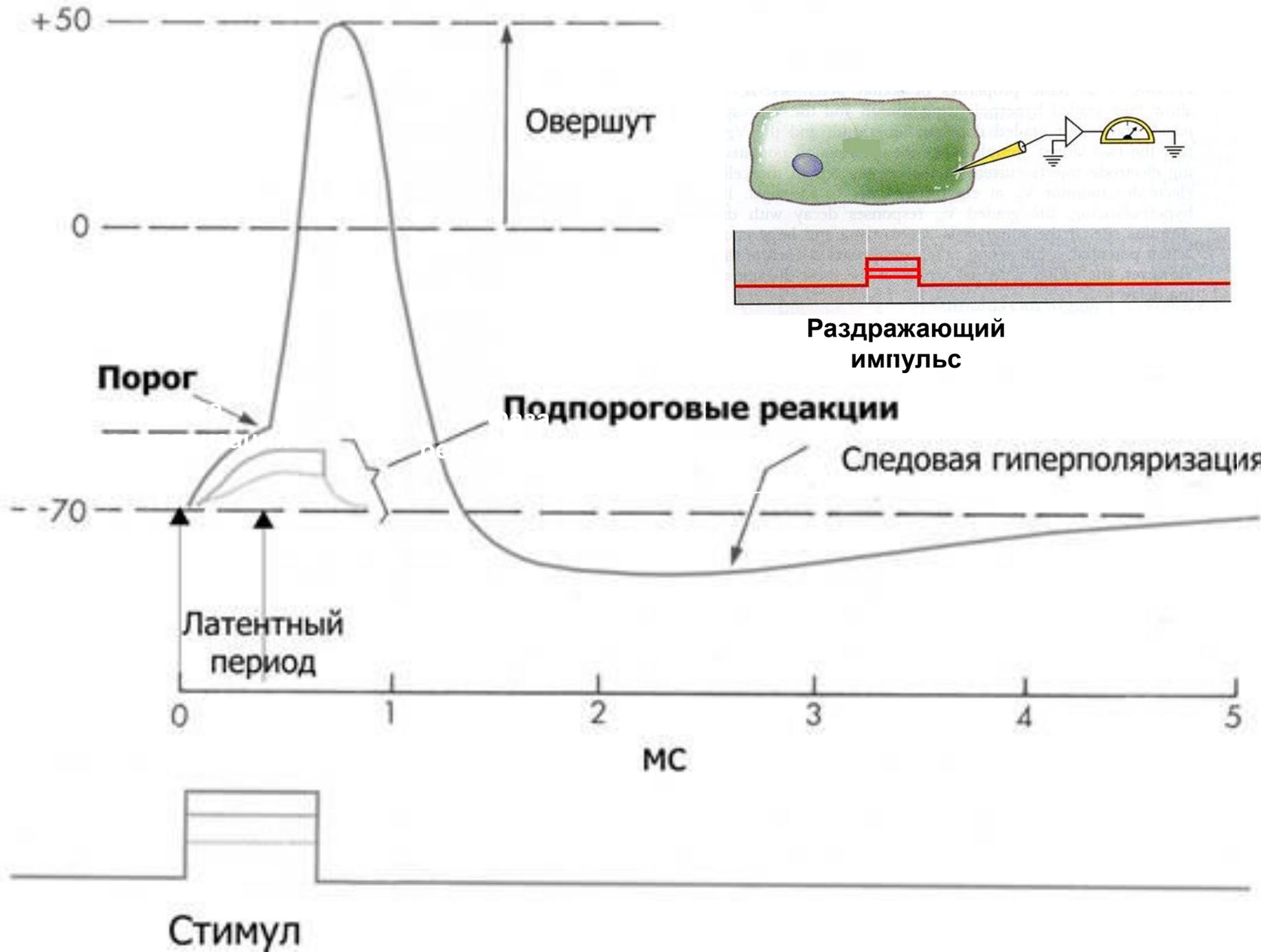


ПОТЕНЦИАЛ

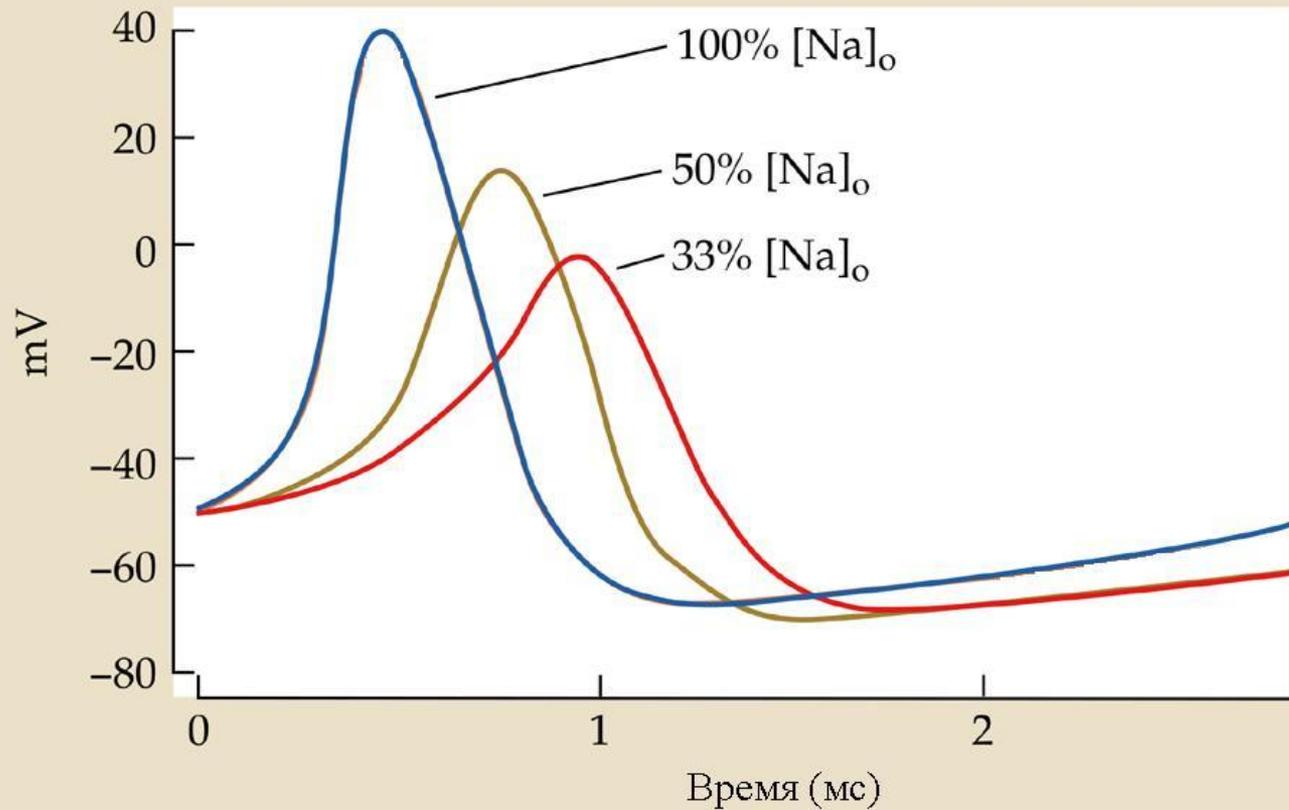
ДЕЙСТВИЯ

- быстрое колебание мембранного потенциала клетки в ответ на раздражение, сопровождающееся изменением знака заряда на мембране, возникающее в результате открытия потенциал-управляемых ионных каналов и появления трансмембранных ионных токов

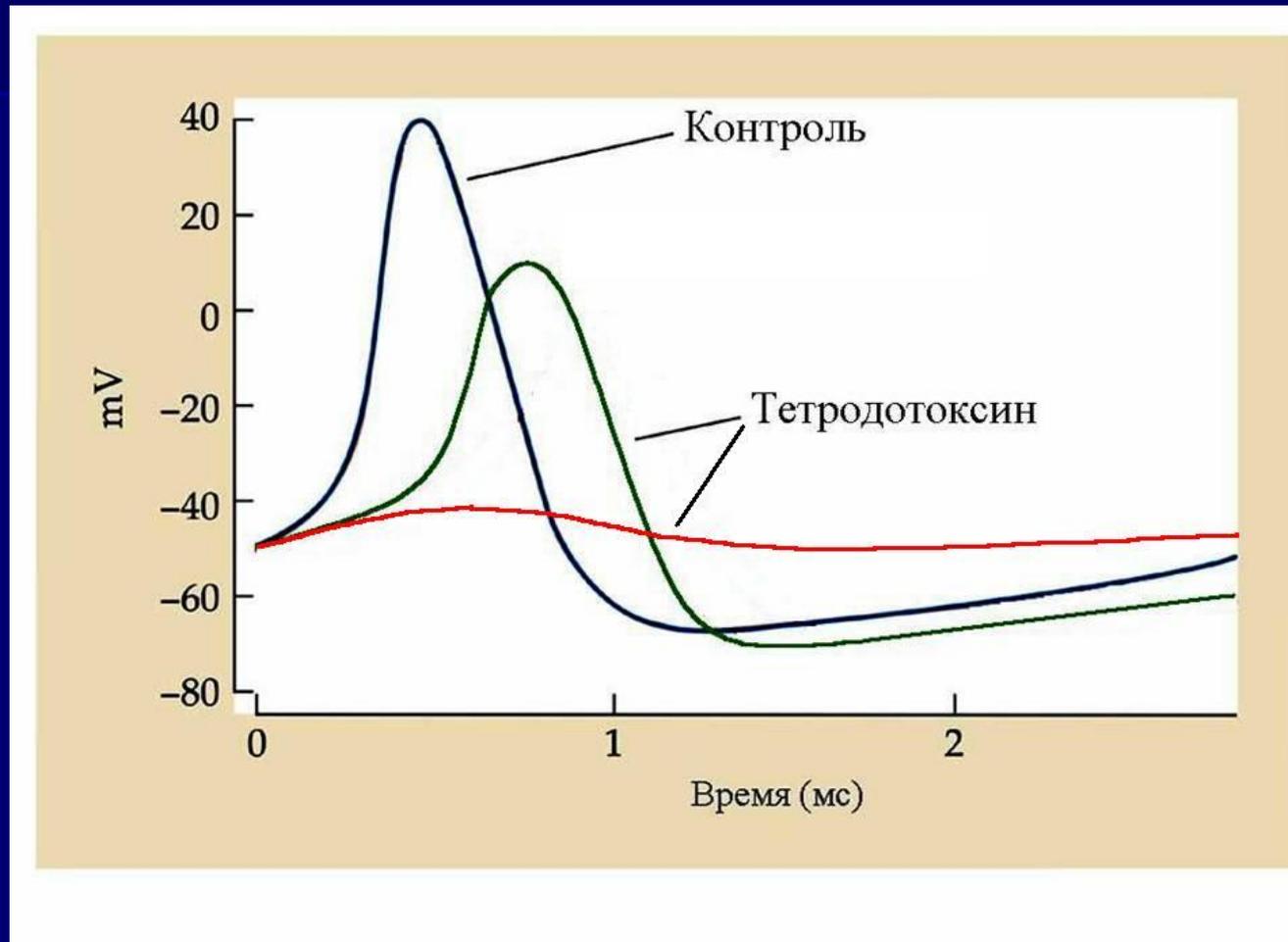
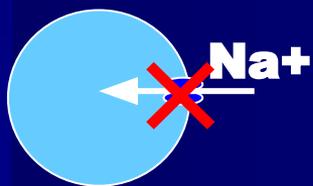
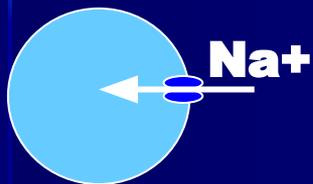
Мембранный потенциал (мВ)



Потенциал действия зависит от внеклеточного Na



Блокирование потенциал-управляемых натриевых каналов нарушает генерацию потенциала действия

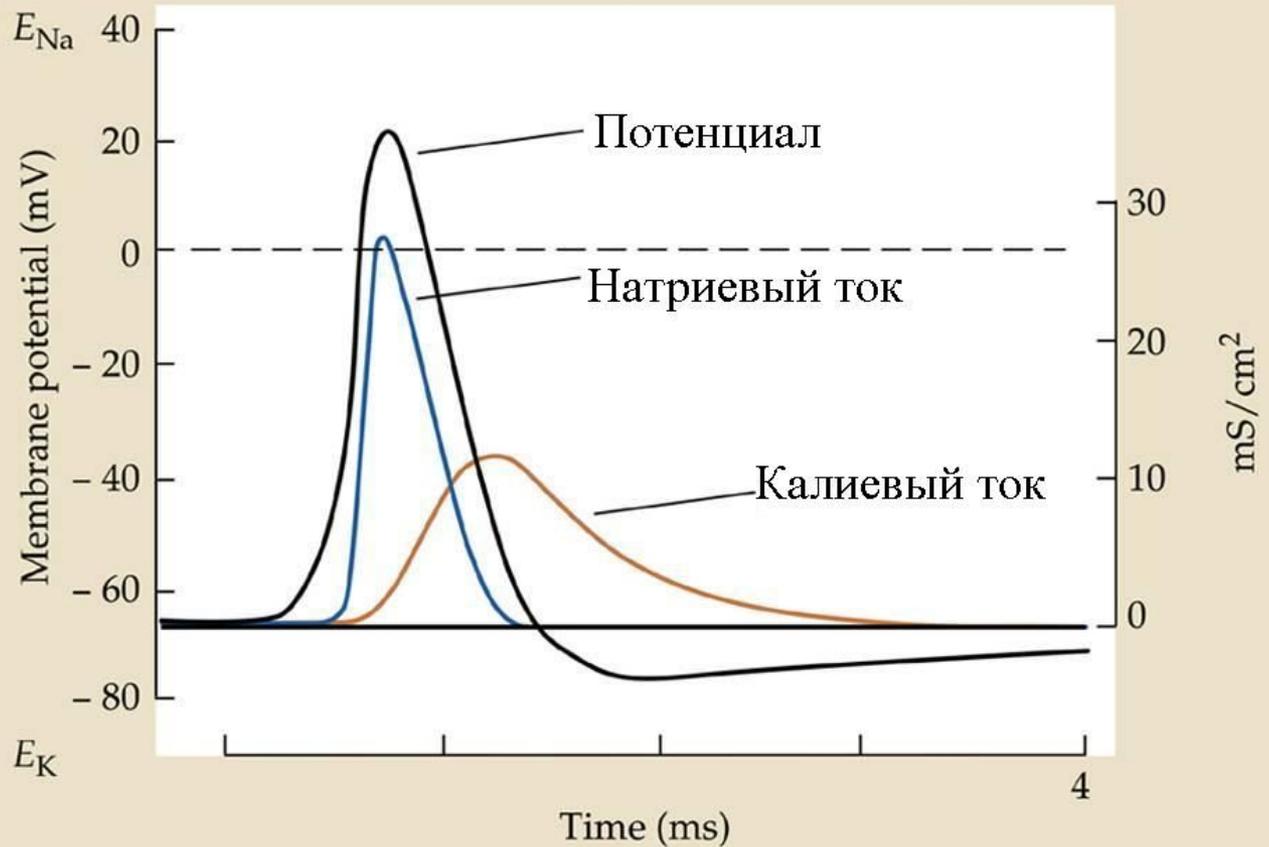


Тетродотоксин – специфический блокатор натриевых каналов

Связь работы ионных каналов с фазами потенциала действия

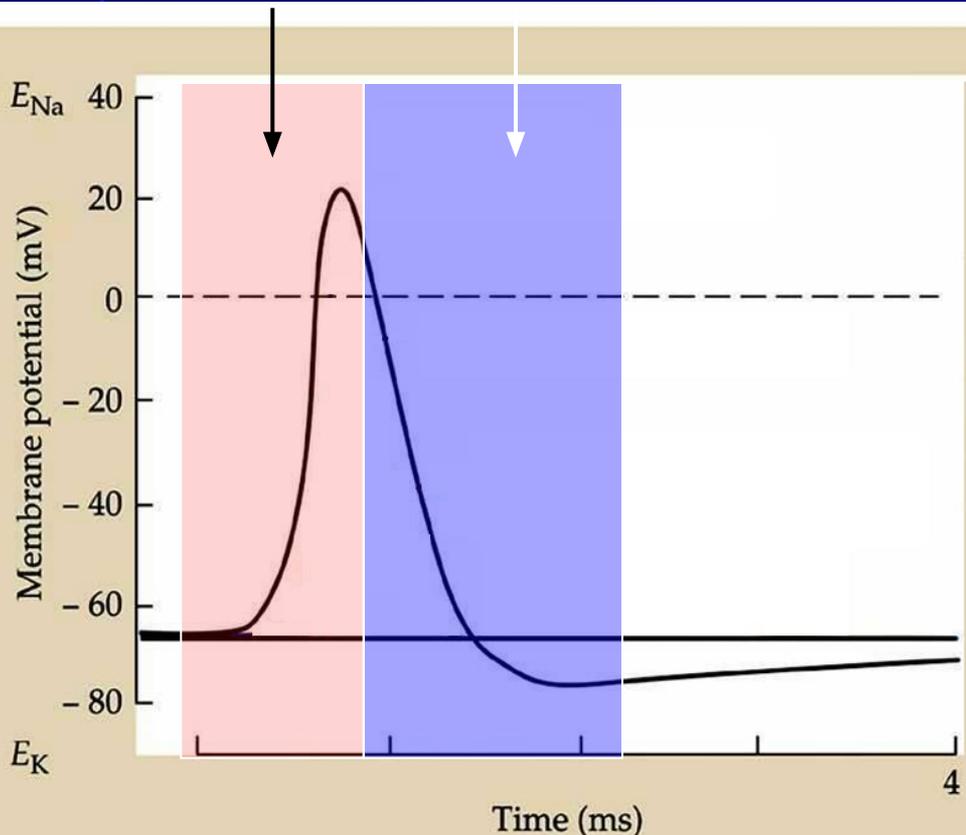


Временной ход ионных токов во время потенциала действия



Рефрактерность - снижение способности клетки отвечать на раздражение в результате временной инактивации натриевых каналов

Абсолютная рефрактерность
Относительная рефрактерность



Абсолютная рефрактерность

Генерация ПД невозможна

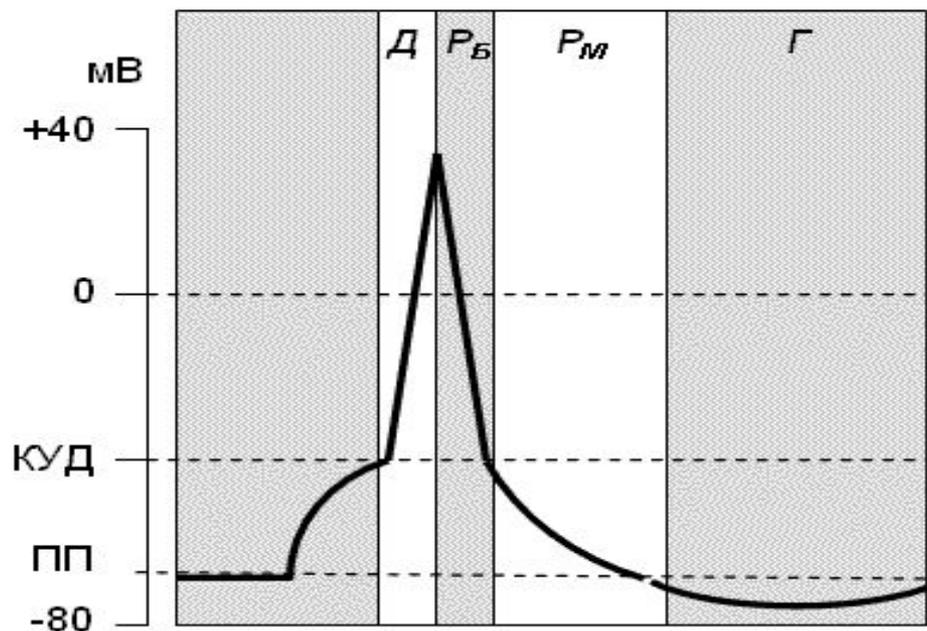
Вызвана инактивацией большинства Na каналов

Относительная рефрактерность

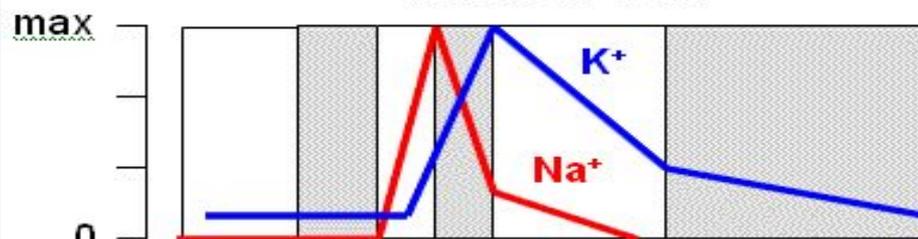
Генерация ПД возможна при увеличении интенсивности раздражителя

Связана с тем, что некоторая часть Na каналов все еще инактивированы

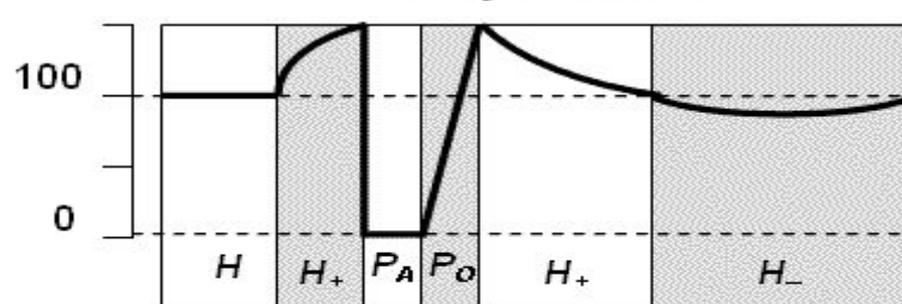
Мембранный потенциал



Ионные токи

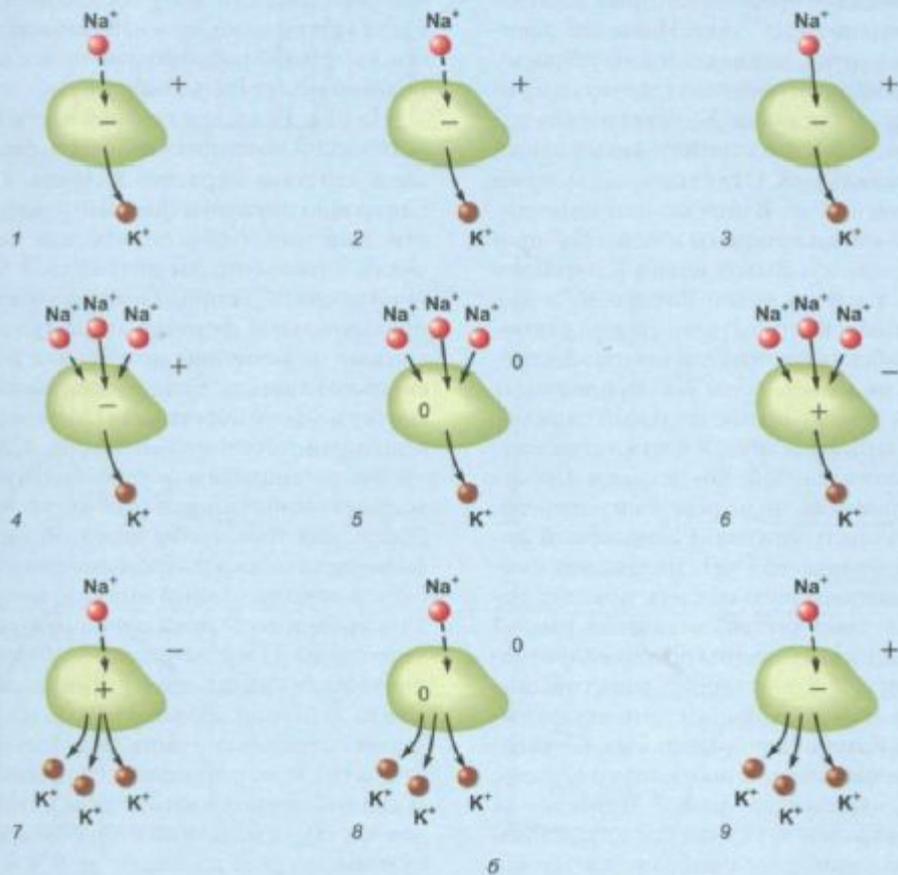
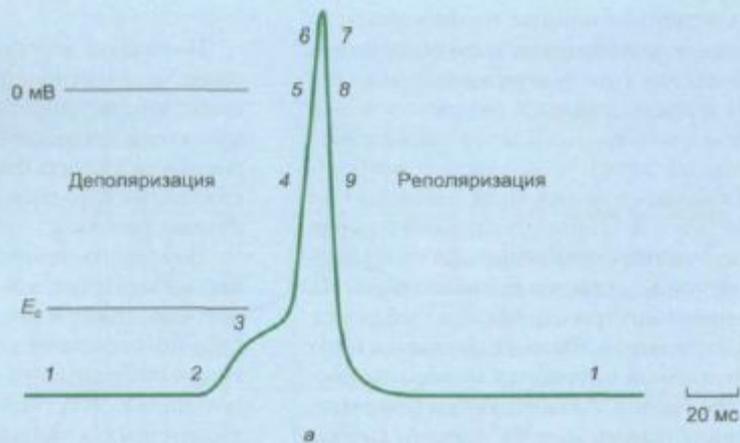


Возбудимость



Изменение мембранного потенциала, интенсивности трансмембранных токов и возбудимости клетки в разные фазы потенциала действия.

Д – фаза деполяризации,
РБ – фаза быстрой реполяризации,
Рм – фаза медленной реполяризации,
Г – фаза гиперполяризации;
Н – период нормальной возбудимости,
Ра – период абсолютной рефрактерности,
Ро – период относительной рефрактерности,
Н+ – период супернормальной возбудимости,
Н- – период субнормальной возбудимости



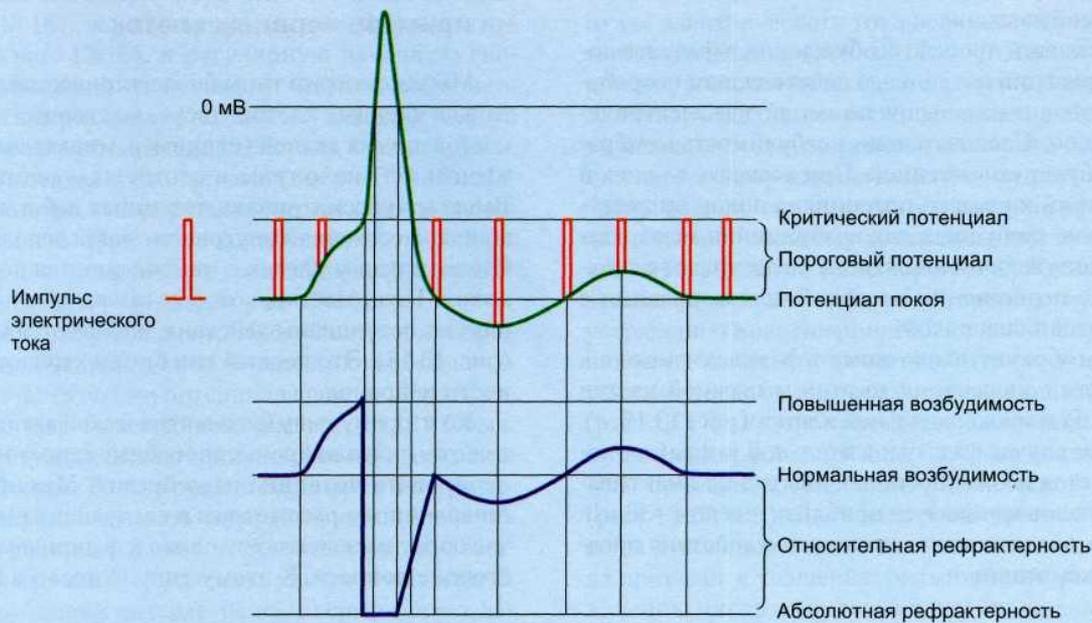
Связь потенциала действия с ионными механизмами на качественном уровне, (а) Форма потенциала действия и его основные фазы (деполяризация и реполяризация). (б) Ионный механизм потенциала действия (1 — потенциал покоя; 2 — фаза пассивного электротонического потенциала; 3 — фаза локального ответа; 4,5,6 — деполаризация; 7, 8, 9 — реполаризация)

ПД различных клеток:

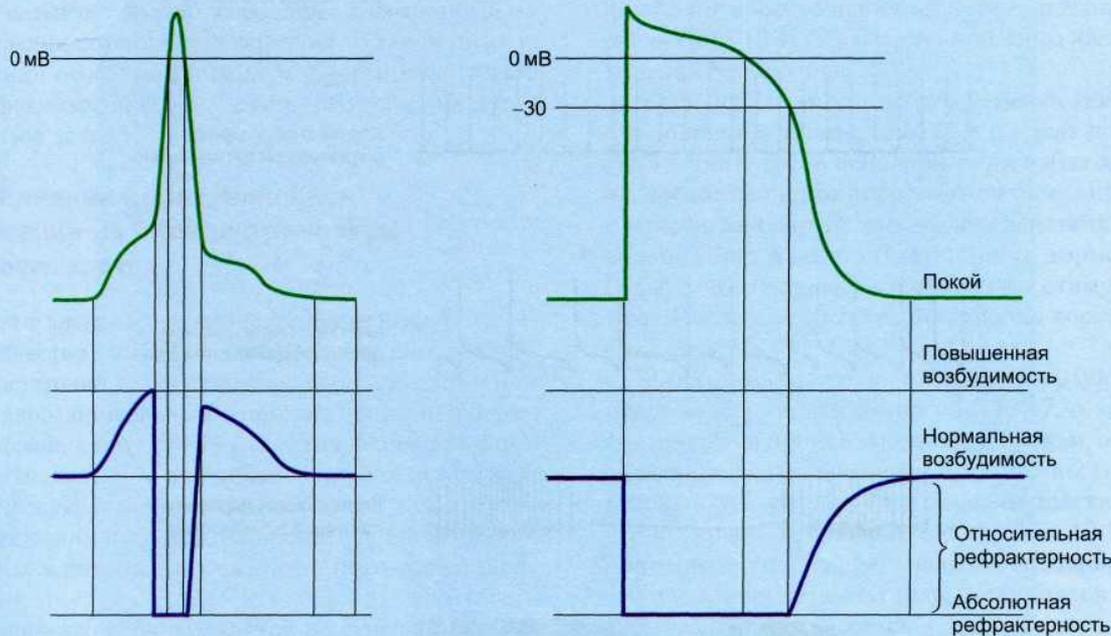
а. **Нервной**
клетки

б. **Мышечной**
клетки

с. **Рабочего**
кардиомиоцита



а



б

в

Законы электрического раздражения возбудимых тканей

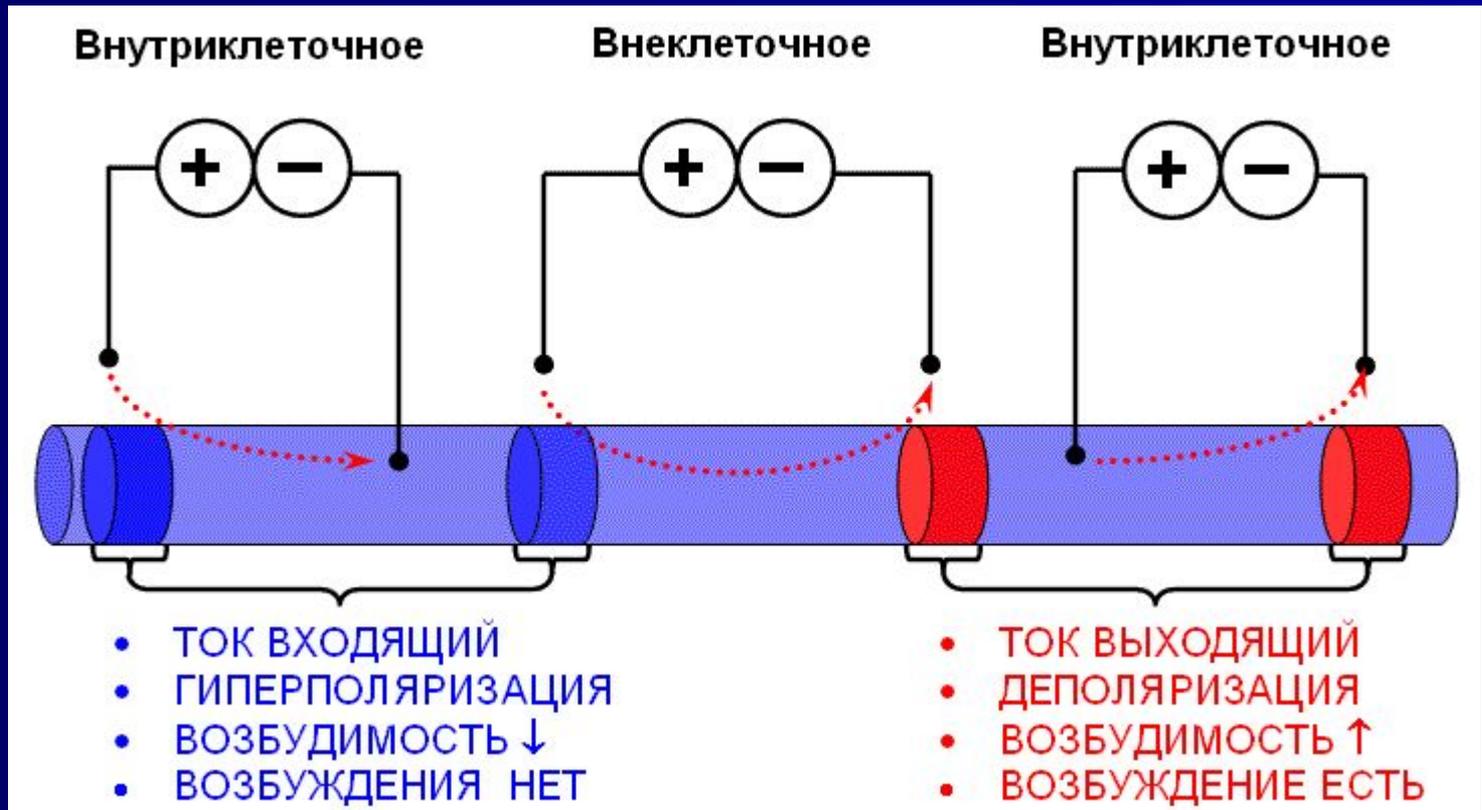
Закон полярного действия тока

В случае приложения к объекту двух внешних раздражающих электродов при включении тока раздражение возникает в области катода.

Закон «все или ничего»

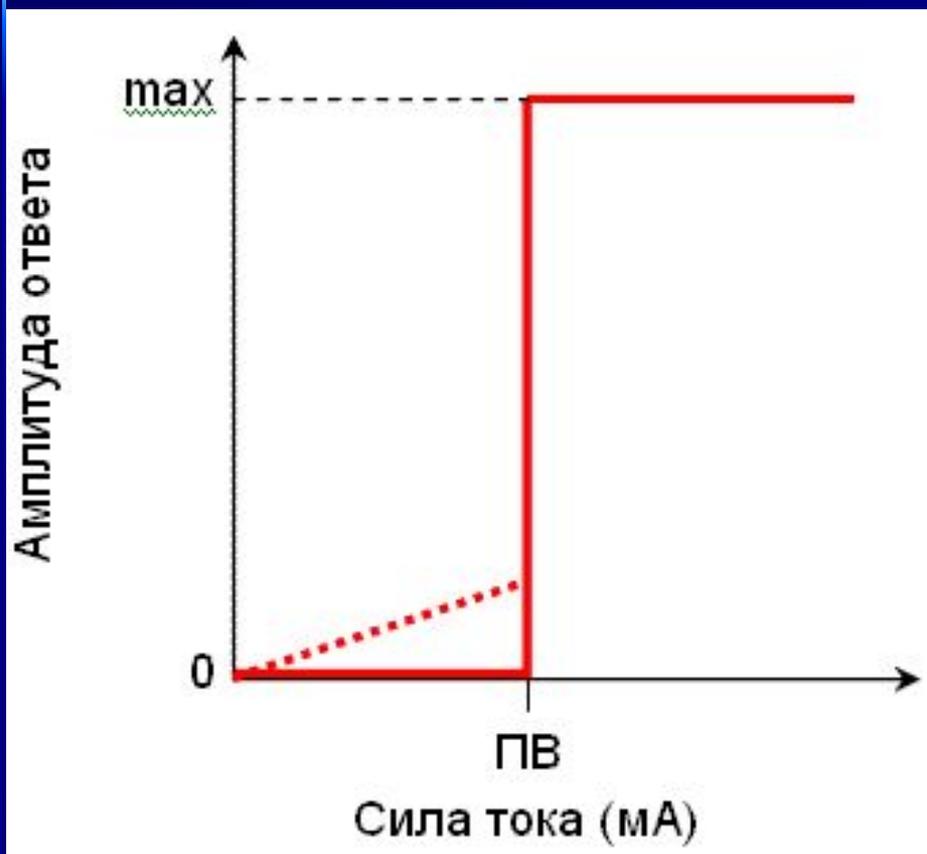
Для получения ответа в форме ПД необходимо, чтобы сила раздражающего тока имела пороговое значение

Закон полярного действия тока



Изменения, наступающие в нервном волокне при внутриклеточном или внеклеточном раздражении

Зависимость силы реакции простой возбудимой системы (клетки) от силы раздражителя



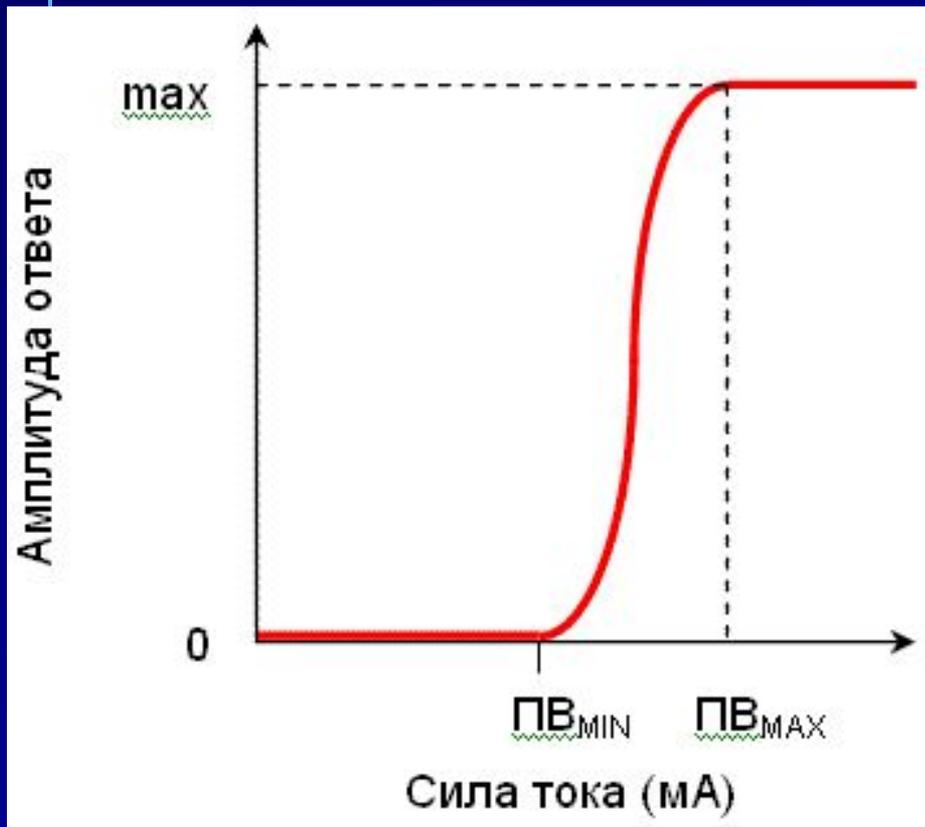
ПВ – порог возбуждения

Закон силы

**Чем больше сила
раздражителя, тем
больше
величина ответной
реакции**

- **Амплитуда сокращений скелетной мышцы от минимальных (пороговых) величин постепенно увеличивается с увеличением силы раздражителя.**
- **Скелетная мышца состоит из множества мышечных волокон, имеющих различную возбудимость. Поэтому на пороговые раздражители отвечают только те мышечные волокна, которые имеют самую высокую возбудимость, амплитуда мышечного сокращения при этом минимальна.**
- **С увеличением силы раздражителя в реакцию вовлекается все большее и большее количество мышечных волокон и амплитуда сокращения мышцы все время увеличивается.**

Зависимость силы реакции сложной возбудимой системы (нерв, мышца) от силы раздражителя



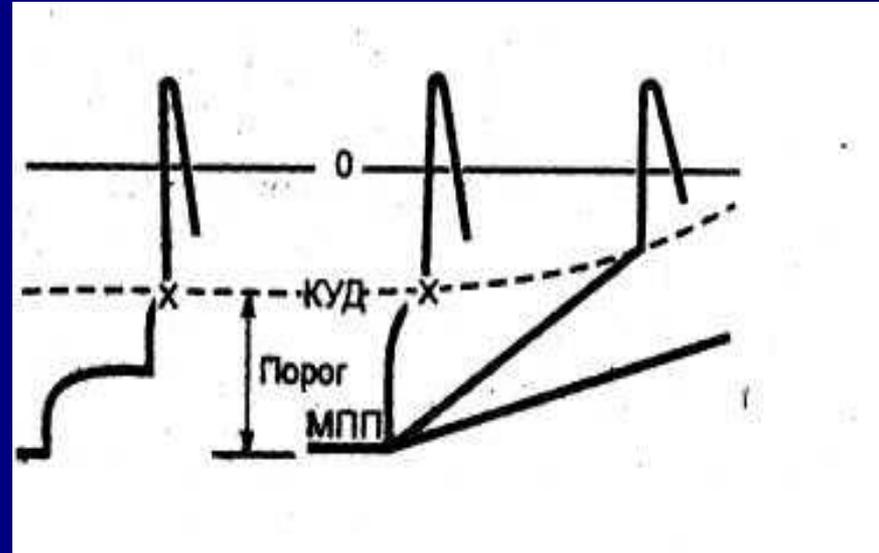
ПВ min – порог возбуждения самого легковозбудимого элемента,

ПВ max – порог возбуждения самого трудновозбудимого элемента

Законы электрического раздражения возбудимых тканей

Закон крутизны раздражения

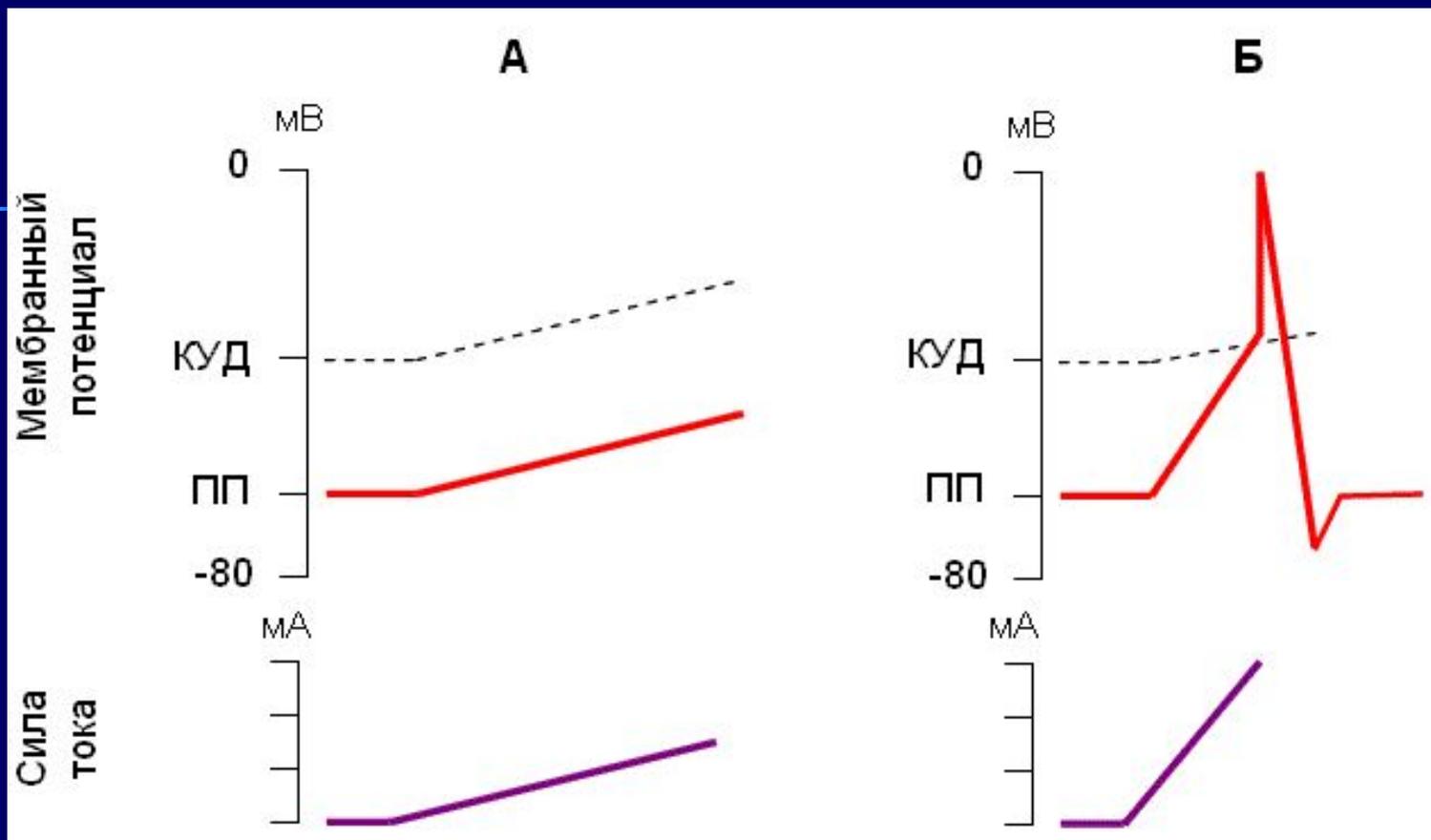
Для раздражения
деполярирующий ток
должен нарастать
достаточно круто.



В условиях, когда деполярирующий ток дается не прямоугольным толчком, а усиливается от нуля постепенно, ПД может вообще не возникнуть, если при этом КУД (порог) смещается в позитивную сторону и изменяющийся в том же направлении МП его не «догоняет».

Аккомодация - позитивное смещение КУД при длительной деполяризации

- Объясняется частичной инактивацией натриевых каналов и активацией калиевых.
- Не все нервные (и мышечные) элементы обладают одинаковой способностью к аккомодации:
- Чувствительные нервные (и некоторые мышечные) волокна имеют низкую аккомодационную способность.
- Относительно высокая аккомодационная способность моторных нервных волокон определяется главным образом мощной медленной активацией части их калиевых каналов, порождаемой длительной деполяризацией мембраны.

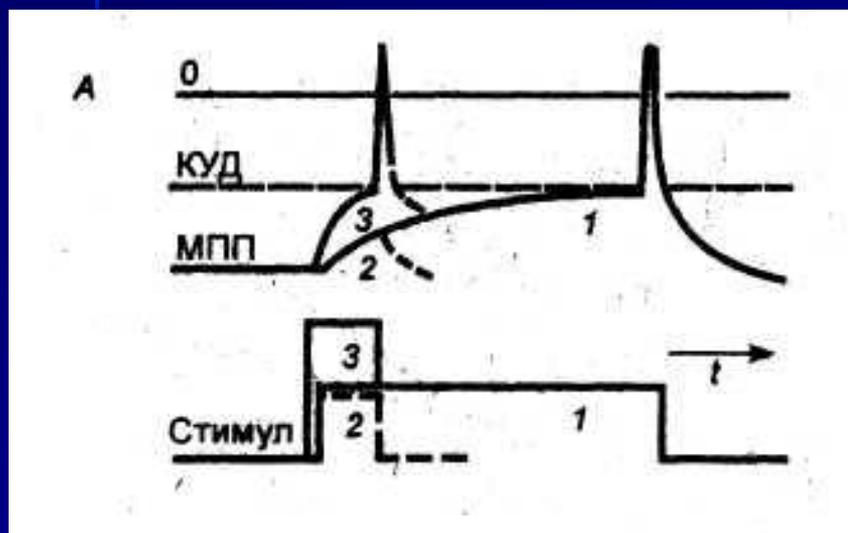


Изменение мембранного потенциала и критического уровня деполяризации при медленном (А) и быстром (Б) нарастании силы раздражающего тока

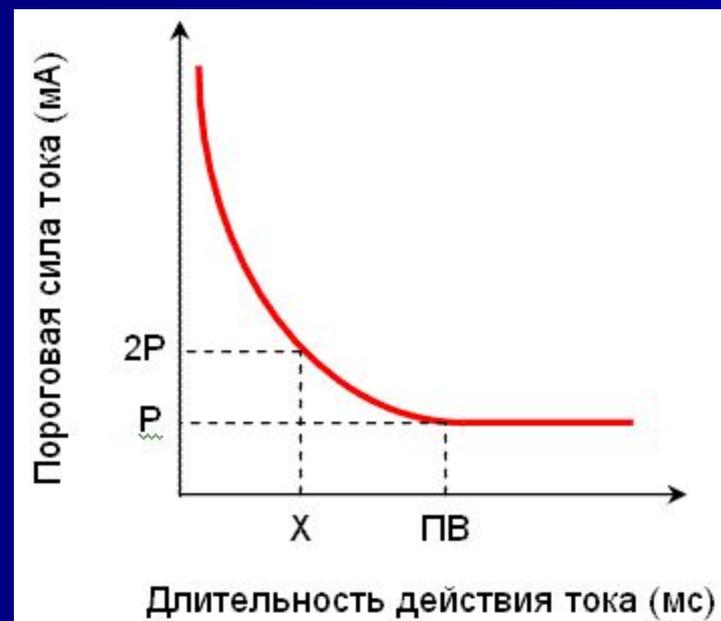
Закон силы-длительности

- раздражающее действие постоянного тока зависит не только от его величины, но и от времени, в течение которого он действует.
- Чем больше ток, тем меньше времени он должен действовать для возникновения возбуждения.

Пороговая сила деполяризирующего тока в известной мере зависит от *длительности действия раздражающего тока*. Эта зависимость выражается кривой силы-длительности порогового раздражения.



Значение длительности стимула для его раздражающего действия



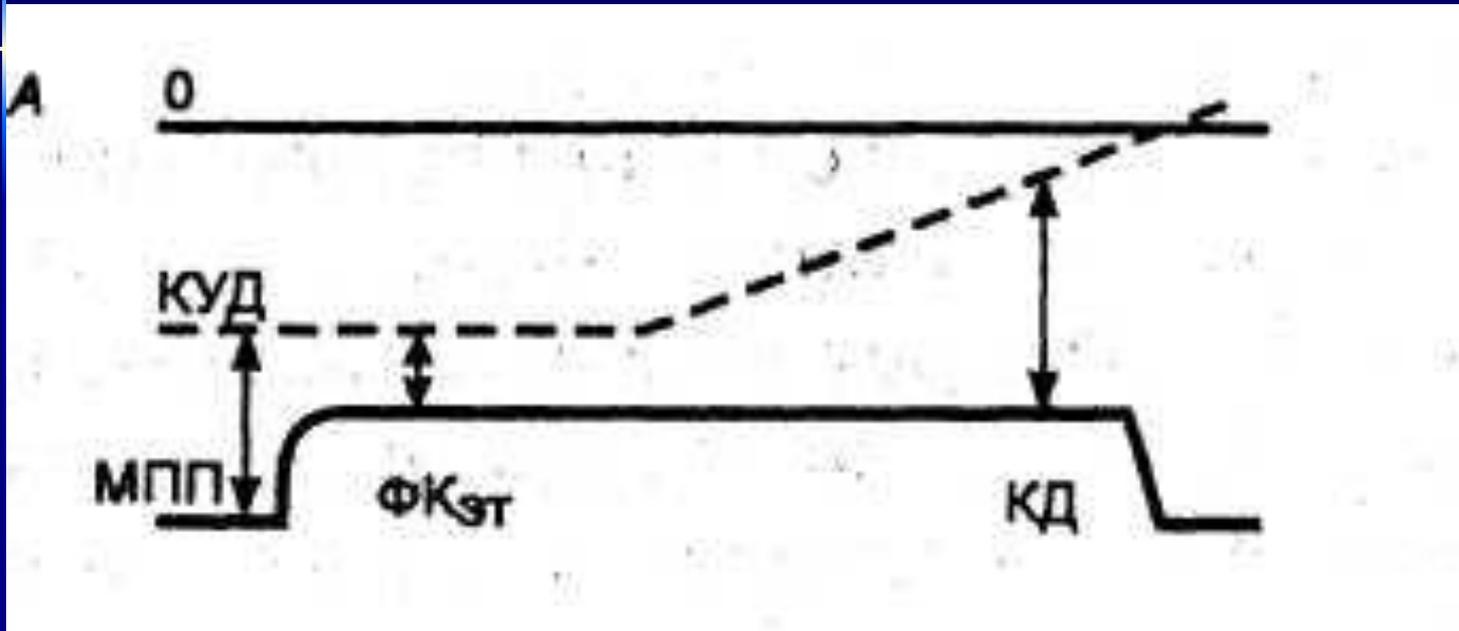
Кривая зависимости порогового значения тока от его длительности и ее параметры

P – реобазы, ПВ – полезное время, X – хронаксия

- Минимальная величина тока, способная вызвать возбуждение при неограниченно длительном его действии, называется реобазой.
- Время, в течение которого действует ток, равный реобазе, и вызывает возбуждение, называется полезным временем.
- Помимо реобазы важным параметром кривой силы-длительности является хронаксия — минимальная длительность раздражающего тока в две реобазы.

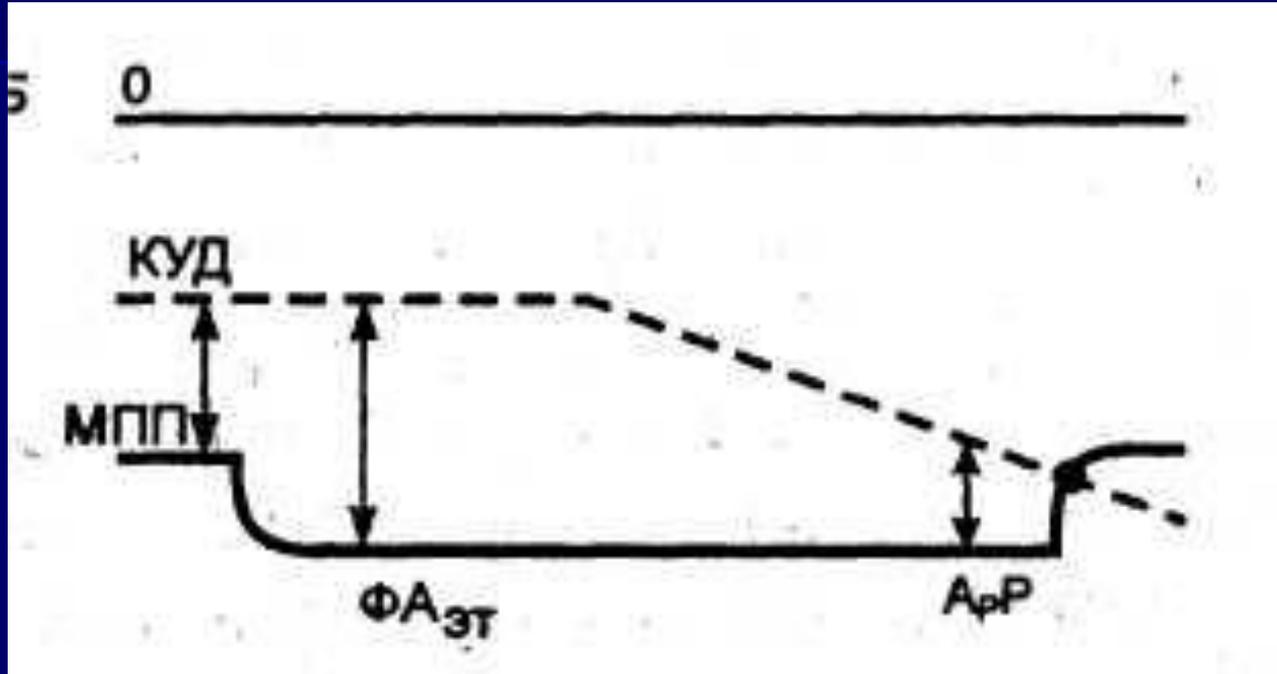
- Ток ниже некоторой минимальной величины не вызывает возбуждение, как бы длительно он не действовал, и чем короче импульсы тока, тем меньшую раздражающую способность они имеют.
- Причиной такой зависимости является мембранная емкость. Очень "короткие" токи просто не успевают разрядить эту емкость до критического уровня деполяризации.

Катэлектротон

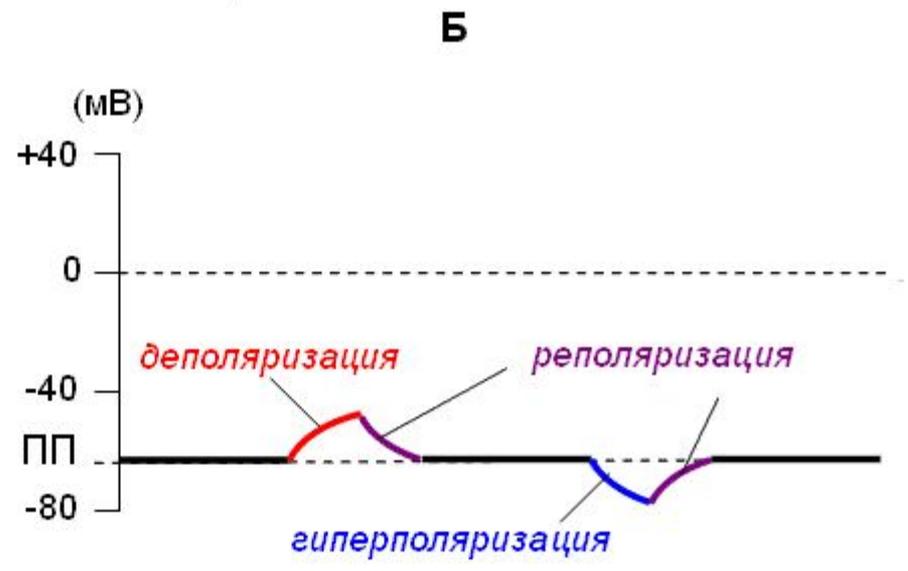
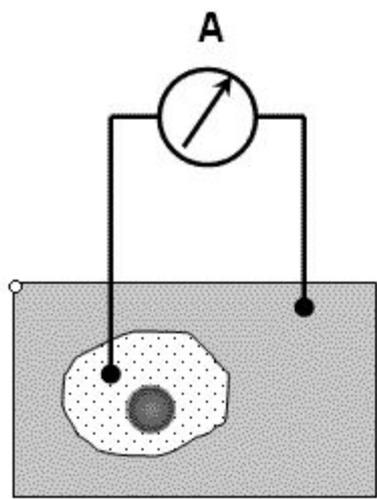


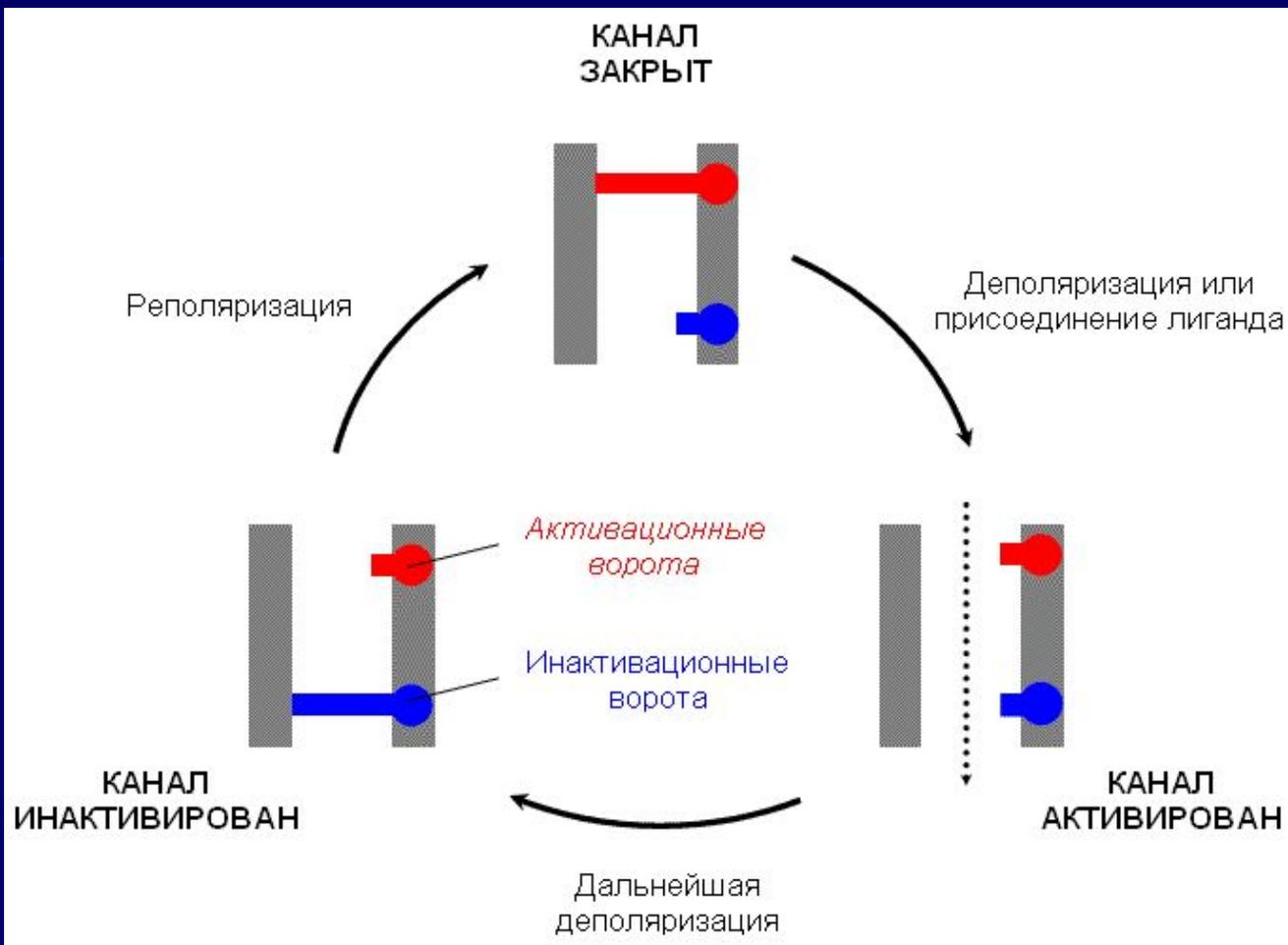
Изменение МП и КУД при действии длительного тока выходящего (деполяризующего) тока,
ФКЭт – физиологический катэлектротон,
КД – катодическая депрессия

Анэлектротон



Изменение МП и КУД при действии длительного тока входящего (гиперполяризующего) тока, ФАэт – физиологический анэлектротон, АрР – анодразмыкательное возбуждение





**Состояния селективного ионного канала
и условия перехода между ними.**