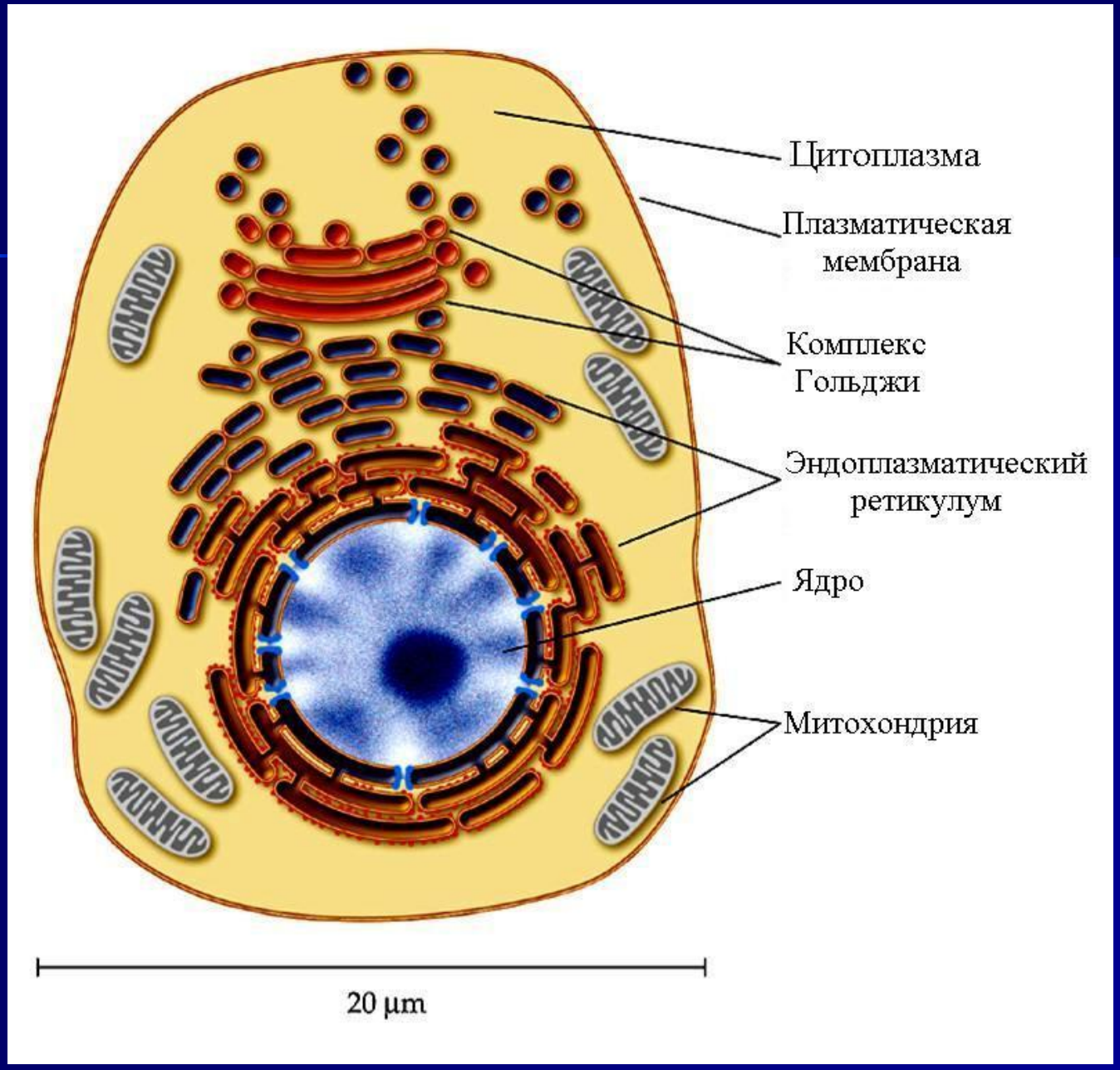
Физиология возбудимых тканей

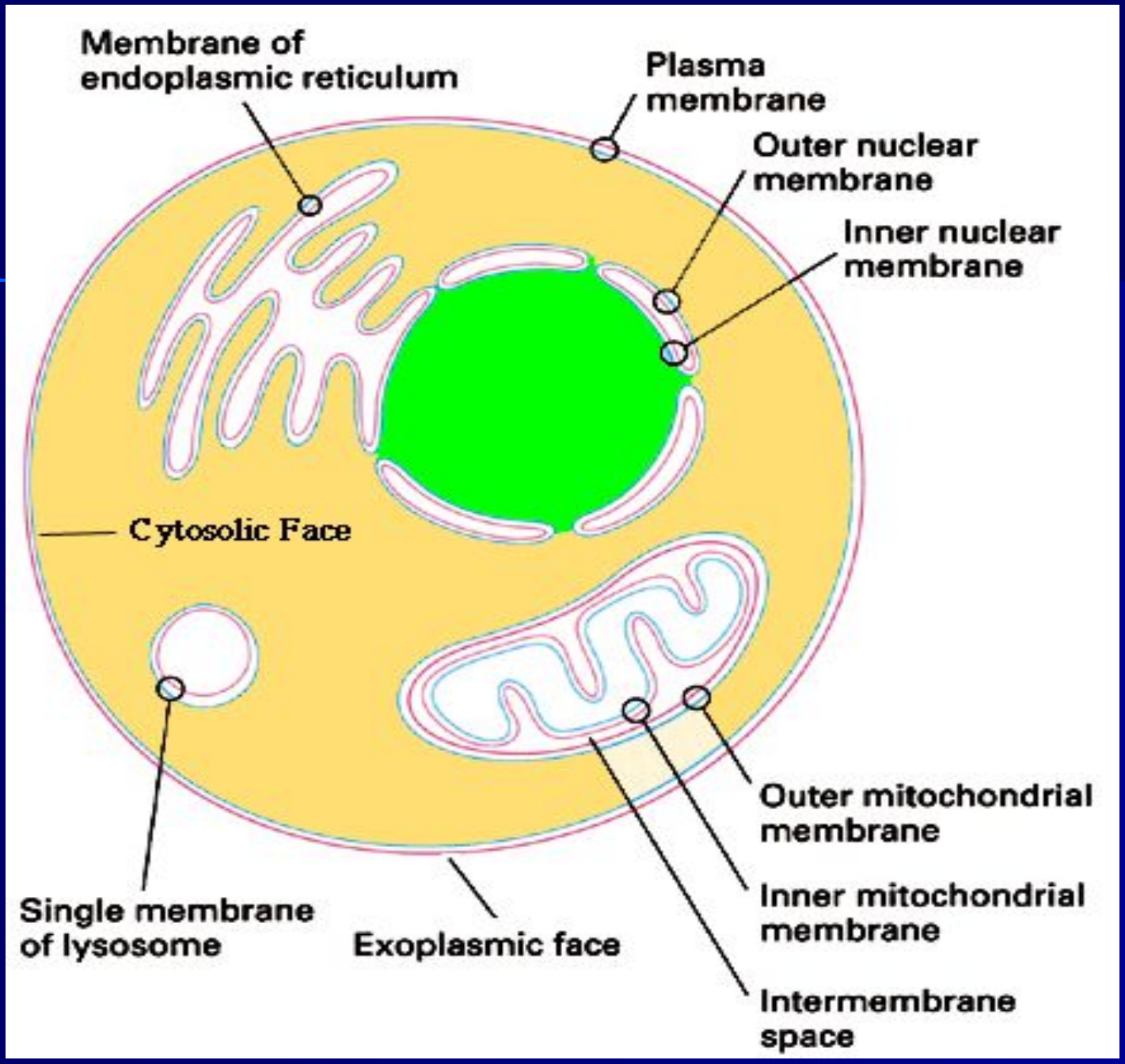
Введение

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, синаптосомы и т представляют собой замкнутые мембранные везикулы (пузырьки).


Цитоплазма
Плазматическая мембрана
Комплекс Гольджи
Эндоплазматический ретикулум
Ядро
Митохондрия
20 µm


Membrane of endoplasmic reticulum
Plasma membrane
Outer nuclear membrane
Inner nuclear membrane
Cytosolic Face
Outer mitochondrial membrane
Inner mitochondrial membrane
Intermembrane space
Single membrane of lysosome
Exoplasmic face

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

Клетки	Мембраны	Функция
Все клетки	Клеточные (цитоплазматические)	Активный транспорт ионов K^+, Na^+, Ca^{2+}, подержание 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%

(Котык 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).

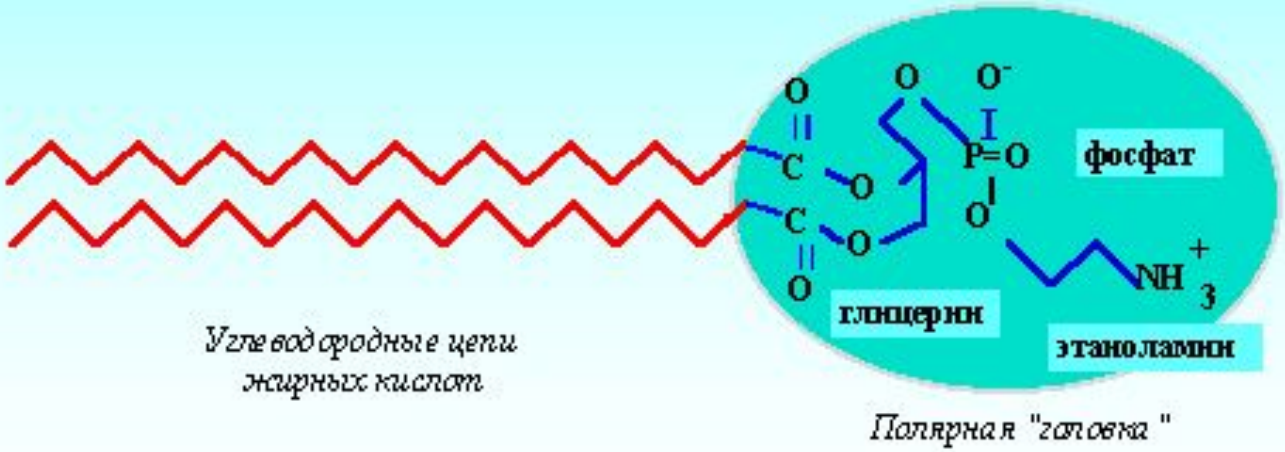
Фосфолипидный состав тканей мозга и почек человека

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*.



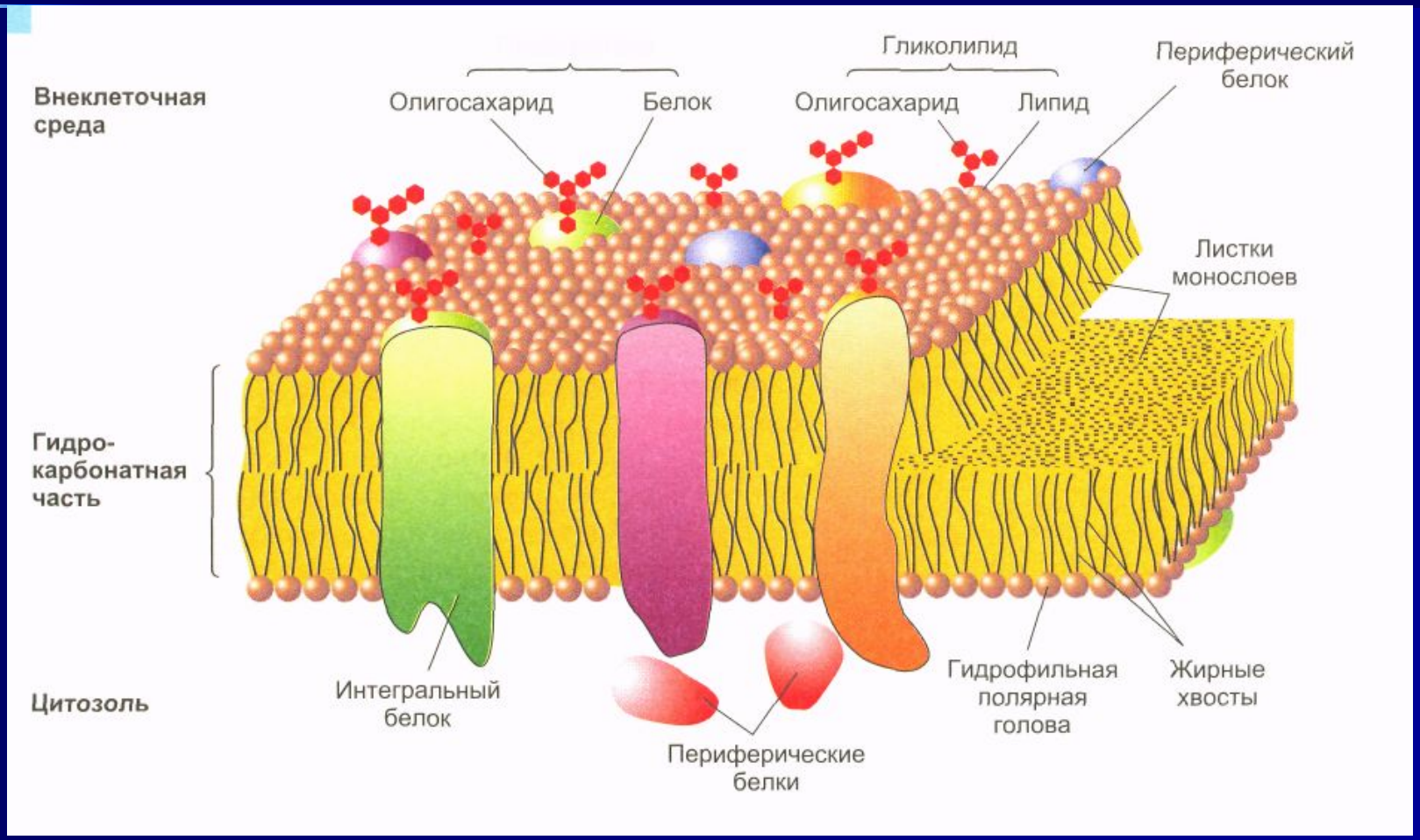
- Полярные группы молекул глобулярных белков направлены наружу, в сторону водной фазы, а неполярные — в сторону липидов. К полярным группам относятся аминная, карбоксильная, фосфатная, гидроксильная, карбонильная и некоторые другие.
- Гидрофобные концы молекул фосфолипидов не содержат полярных групп 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.

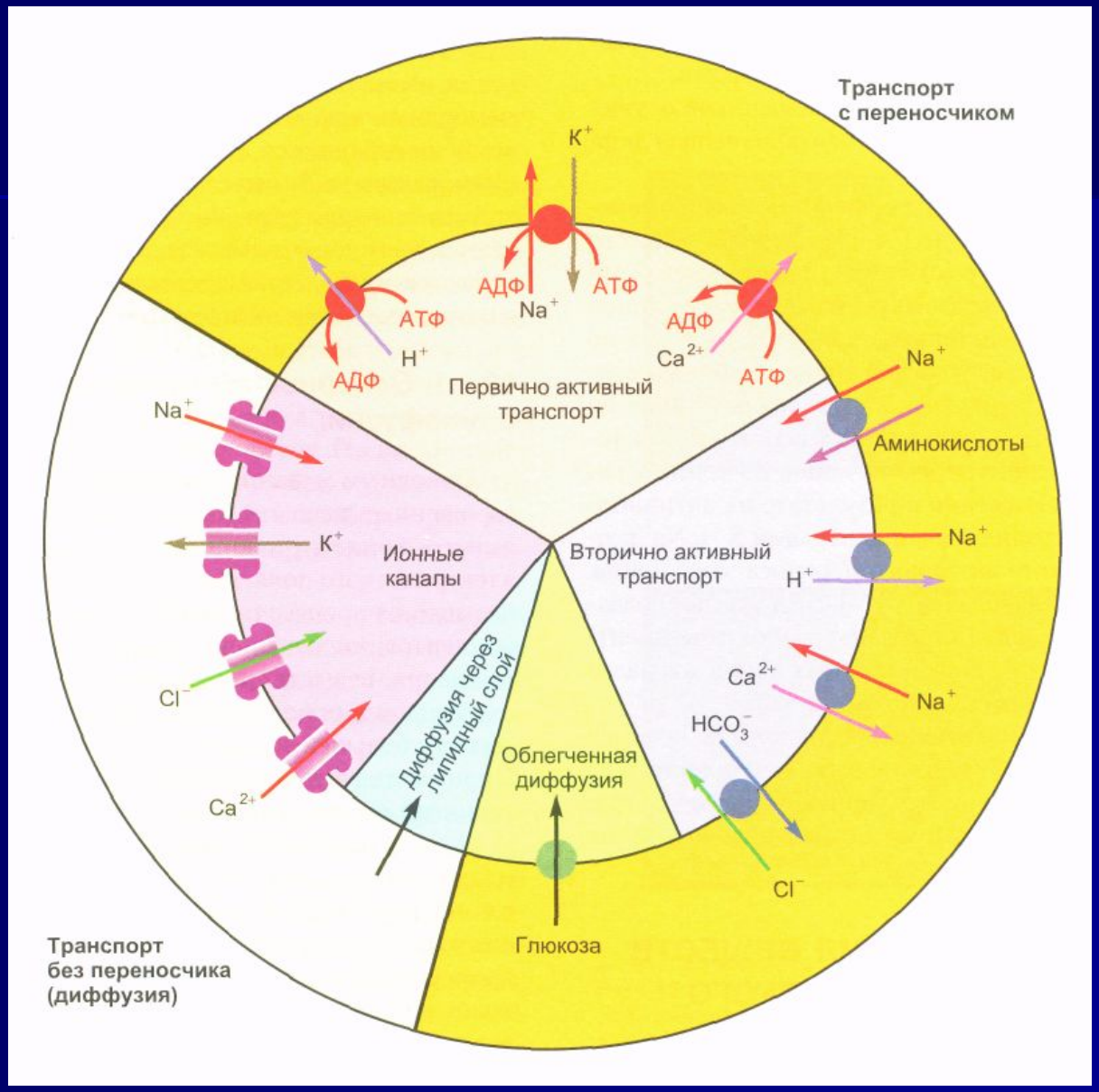
- **Возбудимость — это свойство клеточных мембран отвечать на действие адекватных раздражителей специфическими изменениями ионной проницаемости и мембранного потенциала.**

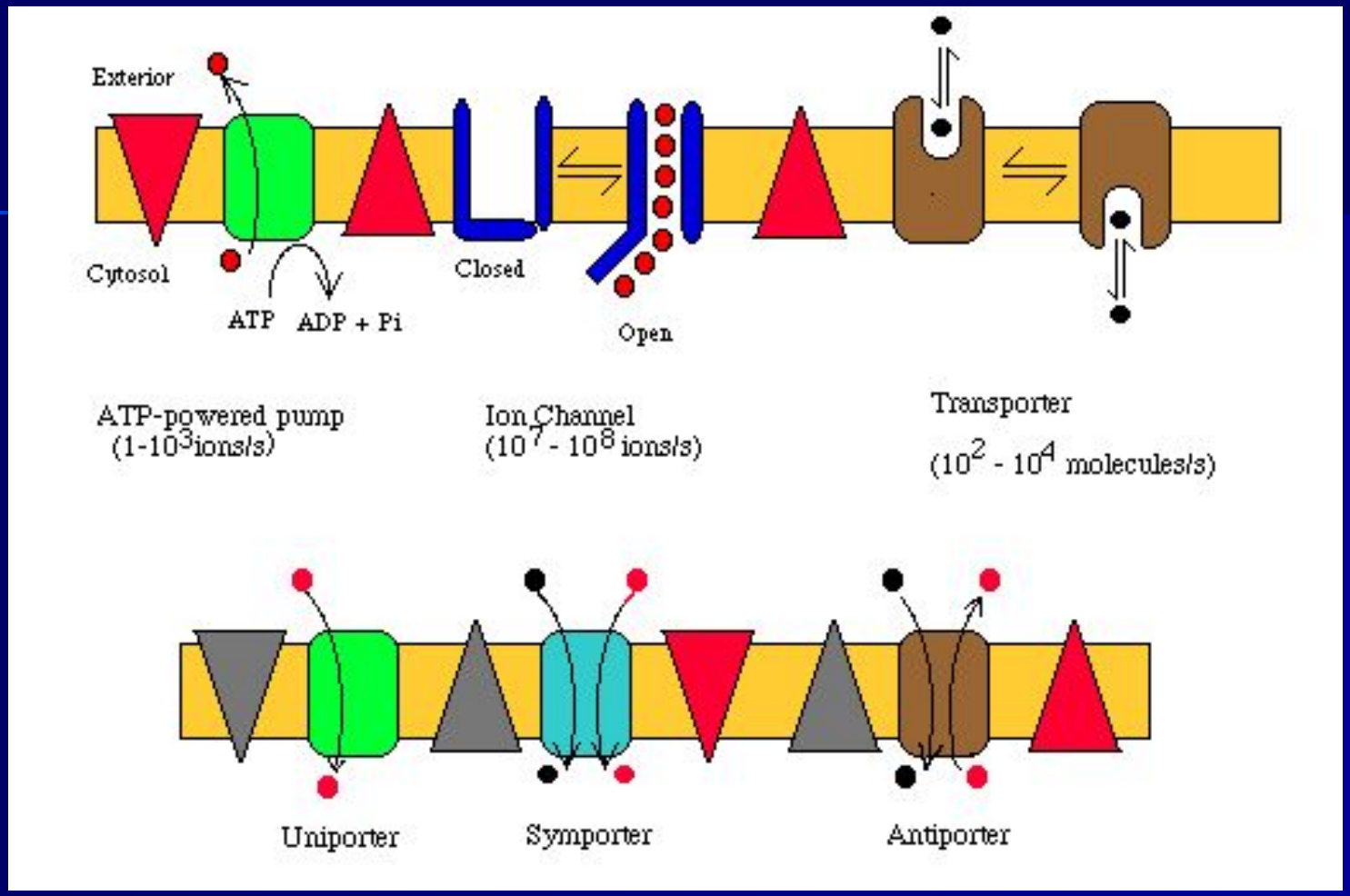
- Возбуждение — электрохимический процесс, идущий исключительно на мембране клетки. Его обязательным признаком является изменение электрического состояния цитоплазматической мембраны. Оно, в конечном счете, запускает специфическую для каждой ткани функцию.

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




Exterior
Cytosol
ATP
ADP + Pi
Closed
Open
ATP-powered pump
(1-10^3 ions/s)
Ion Channel
(10^7 - 10^8 ions/s)
Transporter
(10^2 - 10^4 molecules/s)
Uniporter
Symporter
Antiporter

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

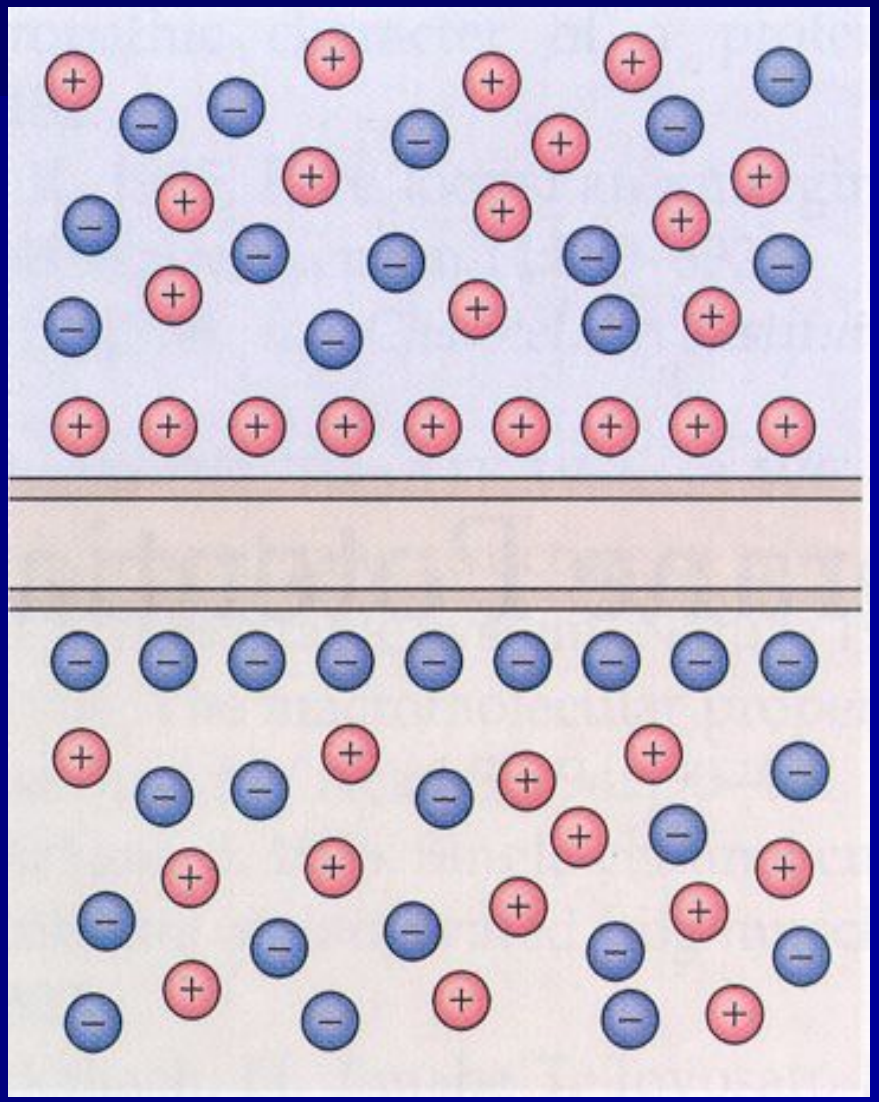
Для активного транспорта известно два варианта использования переносчиками энергии:

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

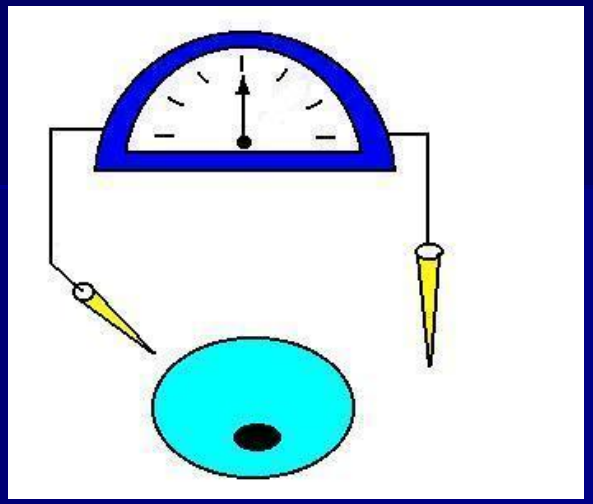
- В покое снаружи мембраны преобладают положительные заряды, а внутри – отрицательные. Такое разделение зарядов сохраняется благодаря тому, что билипидный слой мембраны препятствует диффузии ионов. Разделение зарядов приводит к возникновению разности электрических потенциалов или напряжению на мембране.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

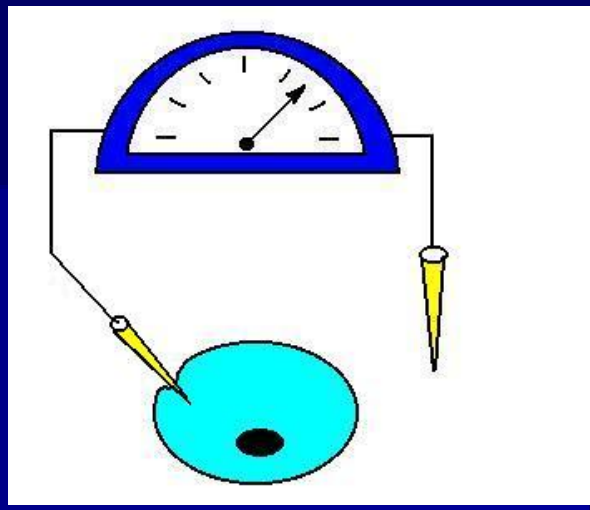


А- - органические анионы

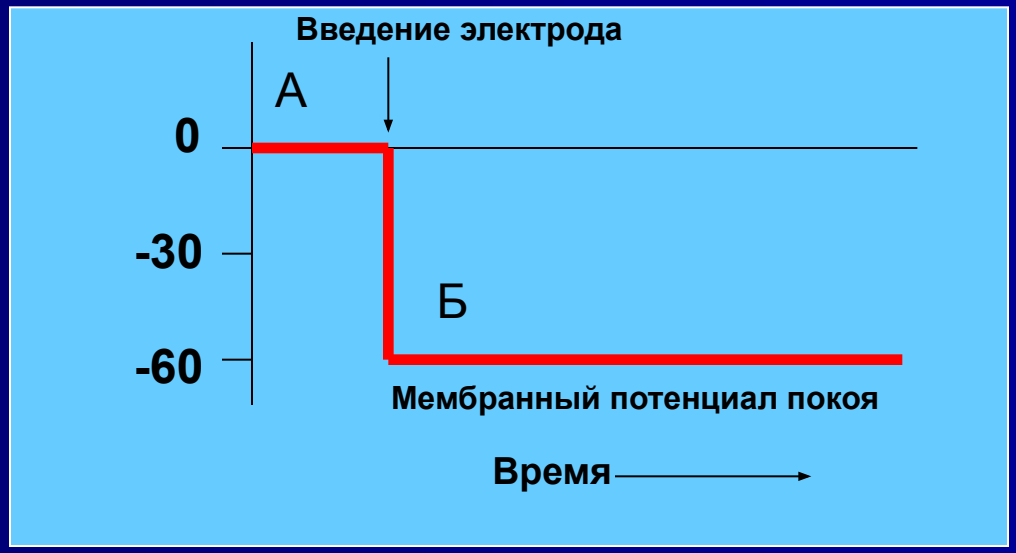
Регистрация мембранного потенциала покоя

- **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 Келвину), z – валентность иона, F – константа Фарадея, $[X]_o$ и $[X]_{in}$ – концентрации ионов внутри и снаружи клетки.

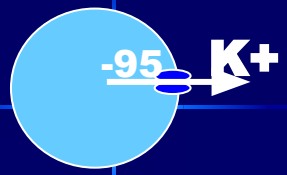
- Уравнение Нернста можно использовать для расчета равновесного потенциала любого иона по обе стороны мембраны, проницаемой для данного иона.

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

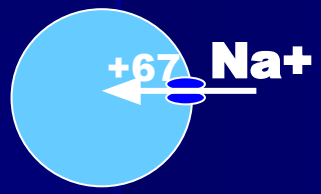
$$V_m = -\frac{RT}{F}\ln\frac{P_K c_{i,K} + P_{Na} c_{i,Na} + P_{Cl} c_{o,Cl}}{P_K c_{o,K} + P_{Na} c_{o,Na} + P_{Cl} c_{i,Cl}}$$

Равновесные потенциалы(Е)

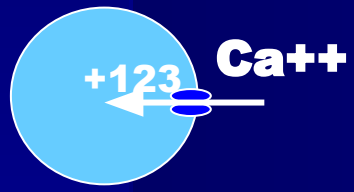
K-каналы



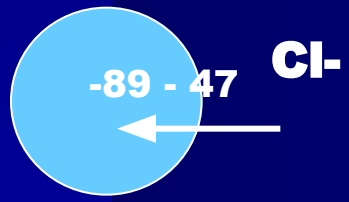
Na-каналы



Ca-каналы



Cl-каналы



E_{Ca} = +123 mV

+100

E_{Na} = +67 mV

Деполяризация

V(mV)

0

$V_m - E_{Na}$ = –147 mV

$V_m - E_{Ca}$ = –203 mV

E_{Cl} в большинстве клеток

E_{Cl} = –47 mV

$V_m - E_{Cl}$ = –33 mV

Vm = –80

$V_m - E_K$ = +15 mV

E_K = –95 mV

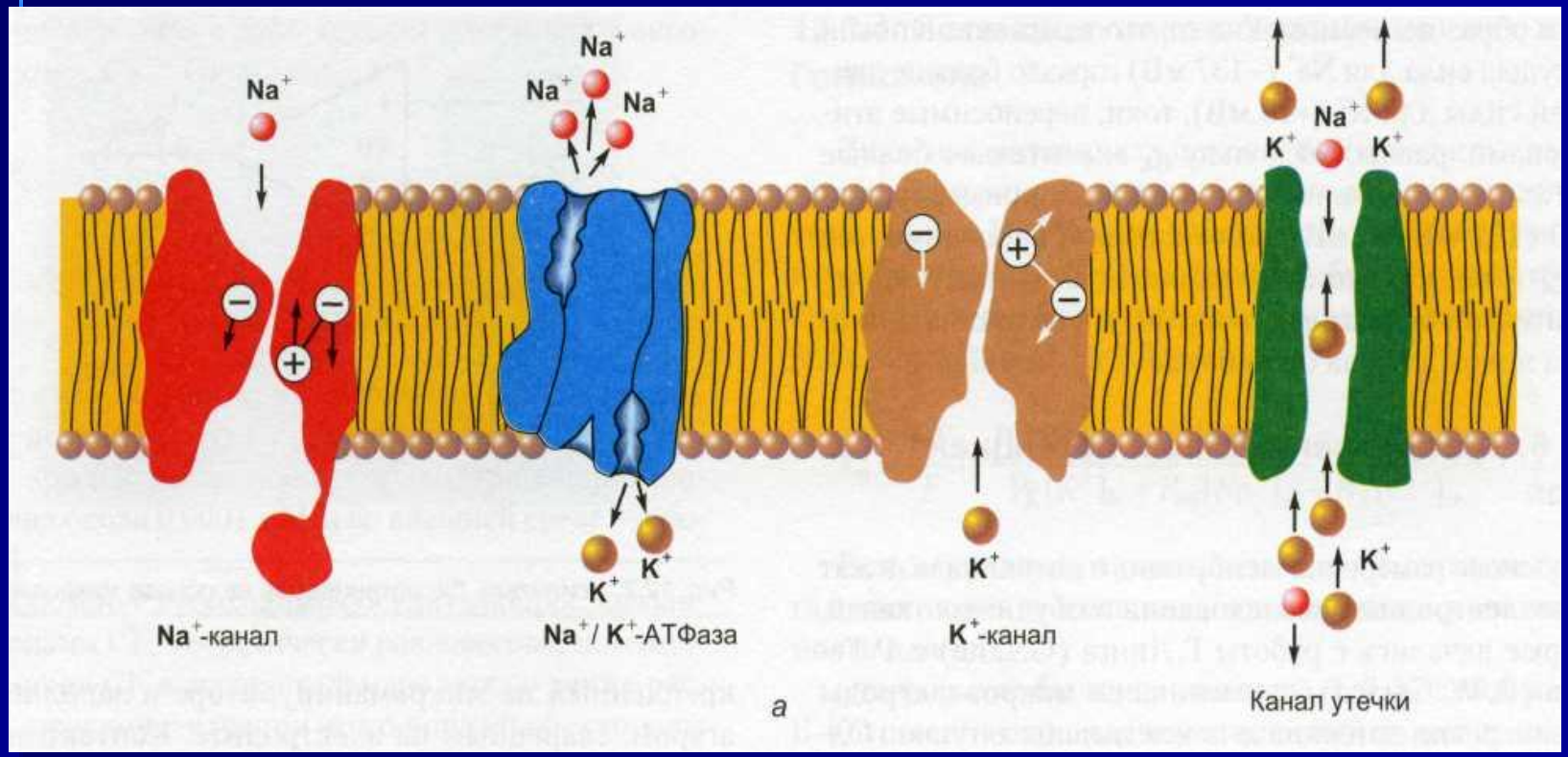
$V_m - E_{Cl}$ = +9 mV

E_{Cl} = –89 mV

E_{Cl} в скелетных мышцах

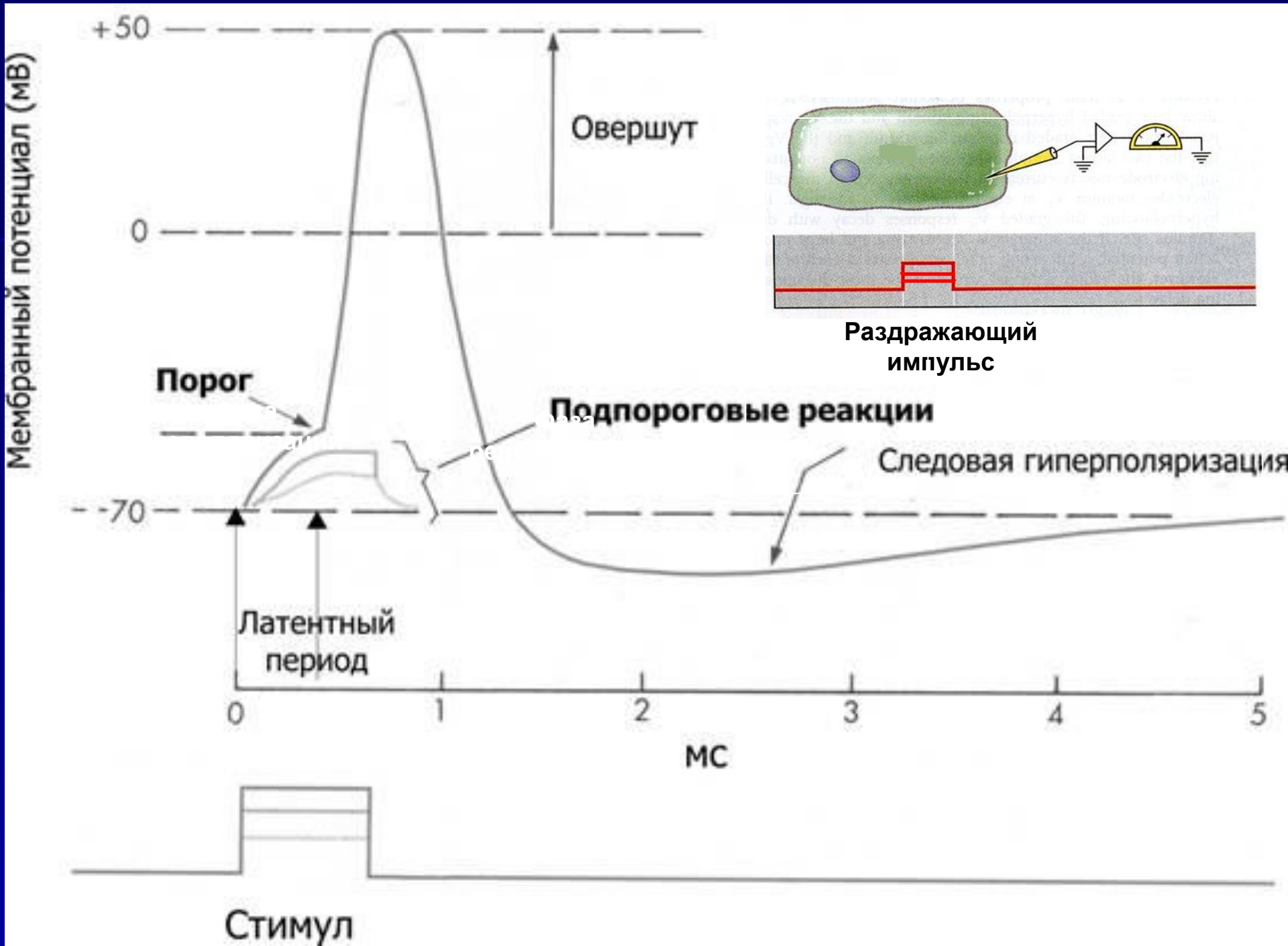
Гиперполяризация

Структуры мембраны, формирующие потенциал покоя

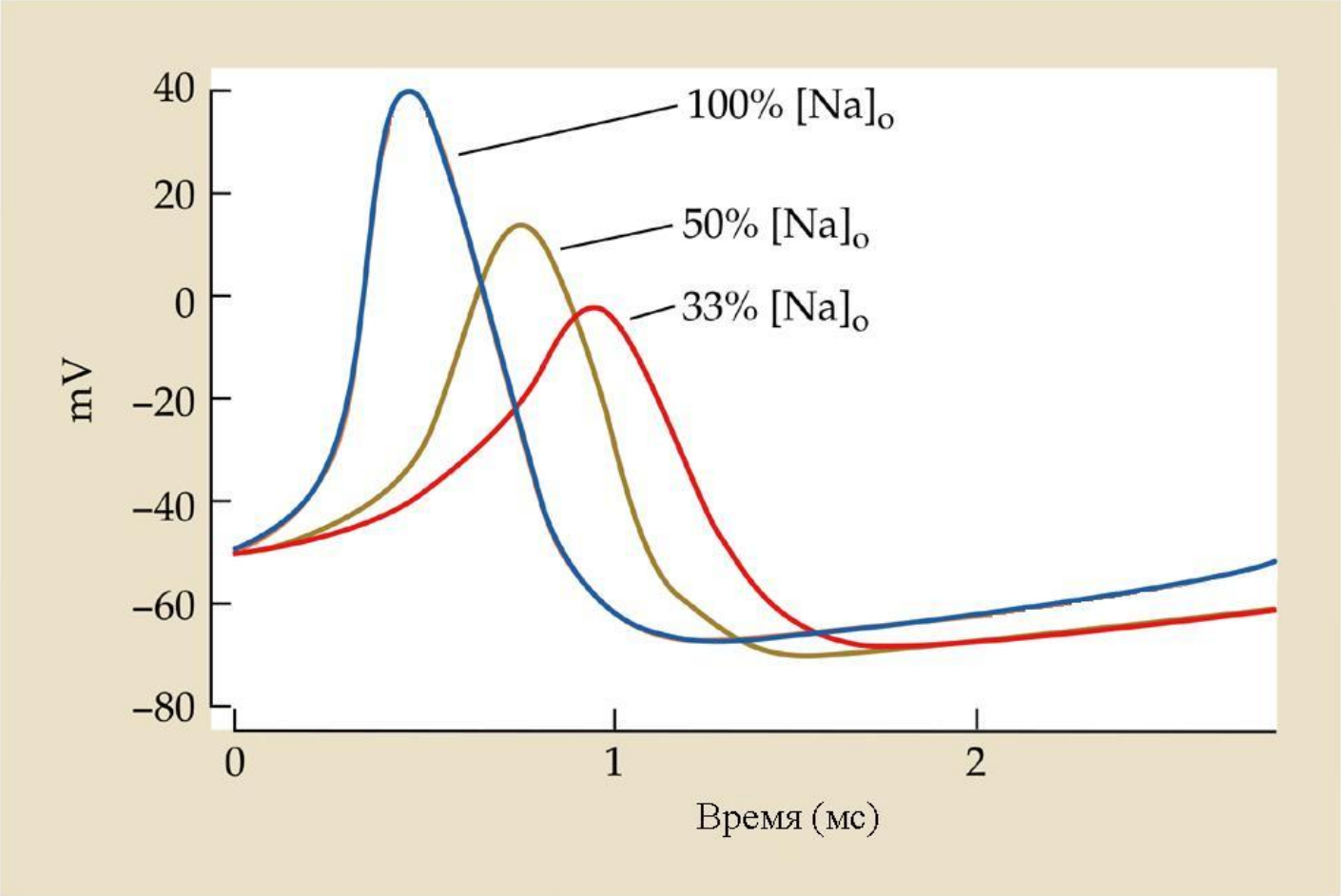


потенциал действия

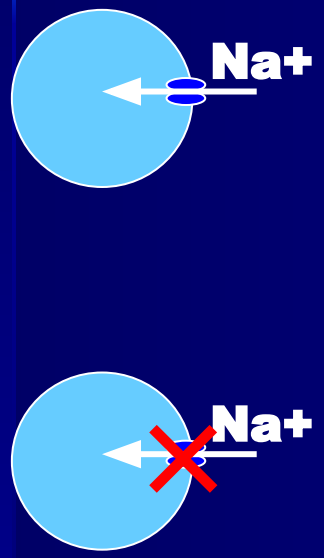
- Быстрое колебание мембранного потенциала клетки в ответ на раздражение, сопровождающееся изменением знака заряда на мембране, возникающее в результате открытия потенциал-управляемых ионных каналов и появления трансмембранных ионных токов

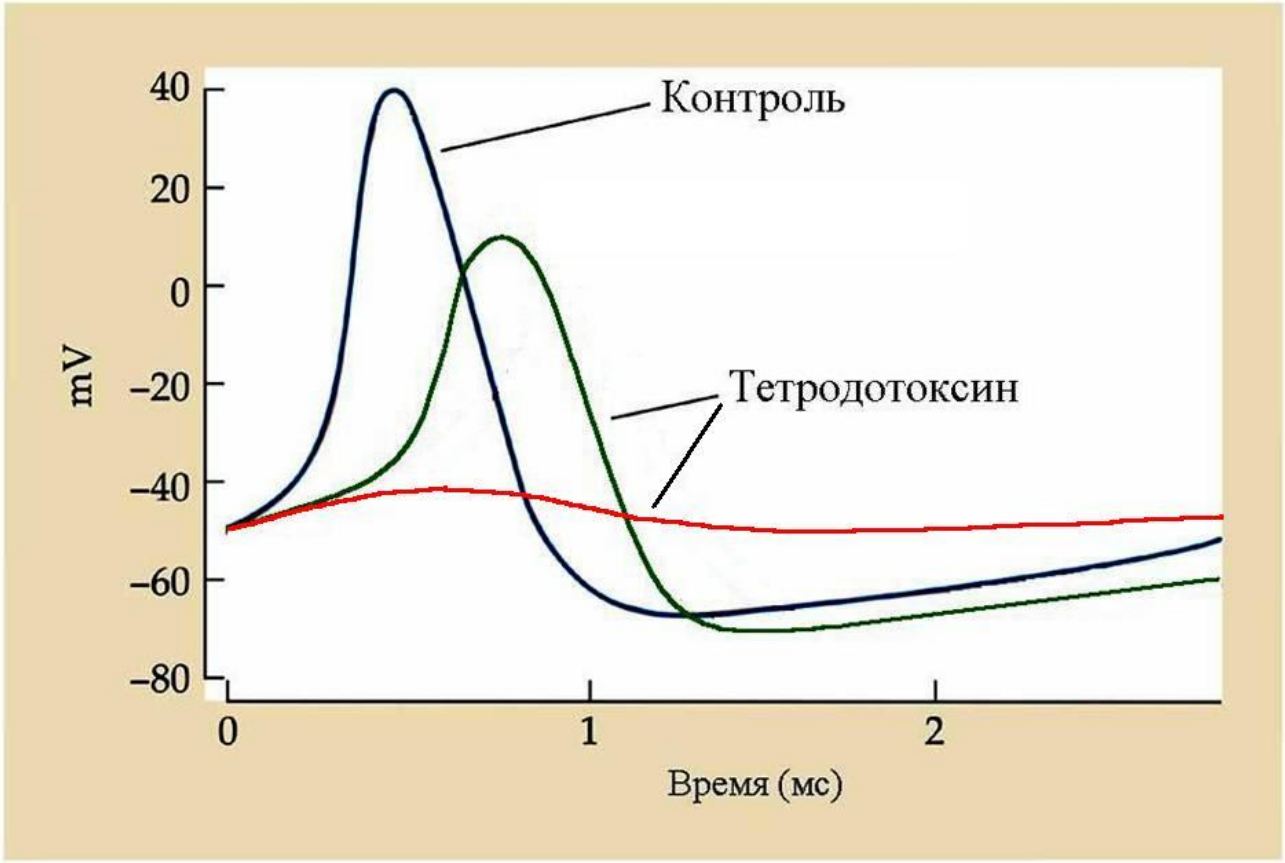

Мембранный потенциал (мВ)
+50
0
-70
Овершут
Раздражающий импульс
Порог
Подпороговые реакции
Следовая гиперполяризация
Латентный период
0
1
2
3
4
5
мс
Стимул

Потенциал действия зависит от внеклеточного Na



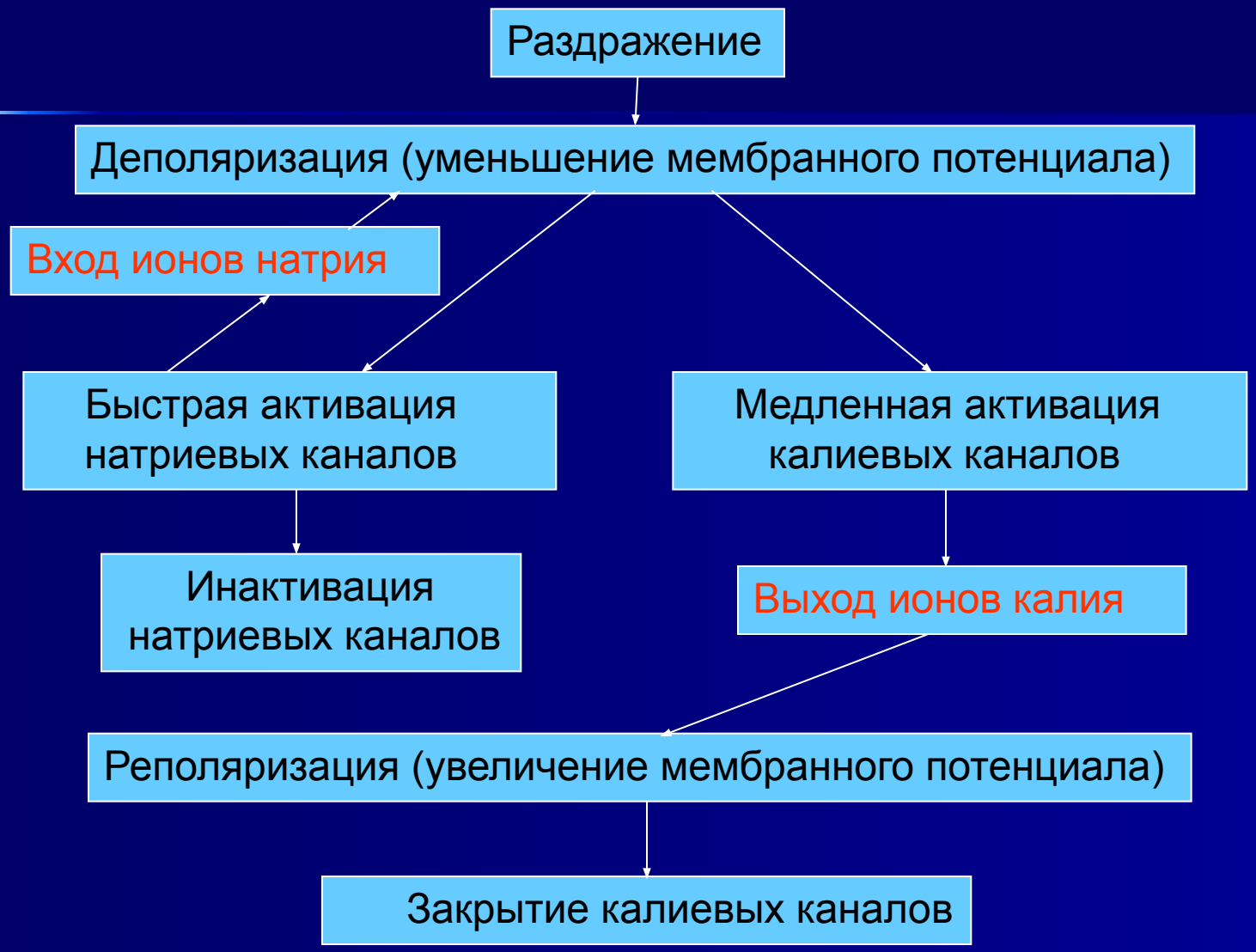
Блокирование потенциал-управляемых натриевых каналов нарушает генерацию потенциала действия



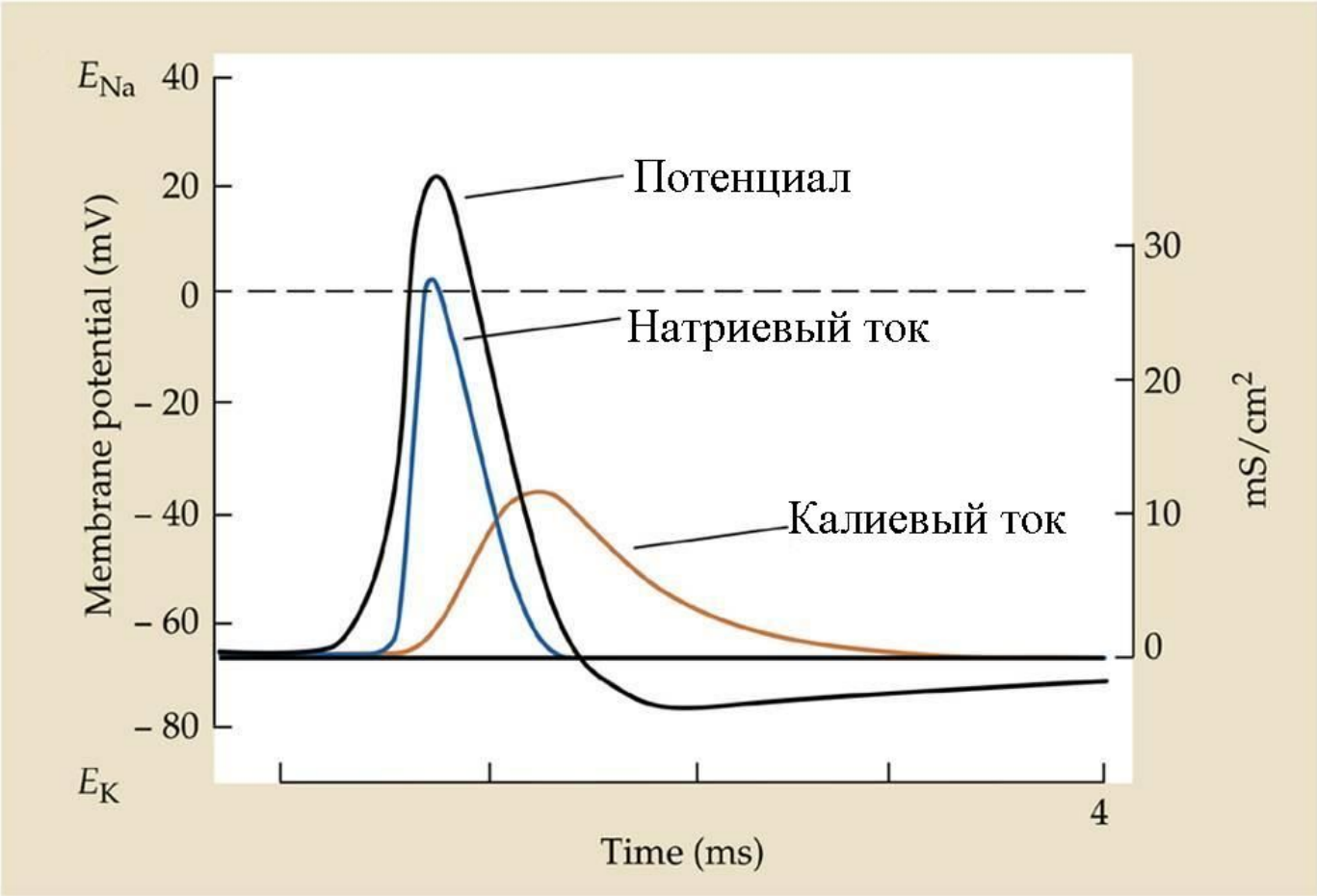


Тетродотоксин – специфический блокатор натриевых каналов

Связь работы ионных каналов с фазами потенциала действия



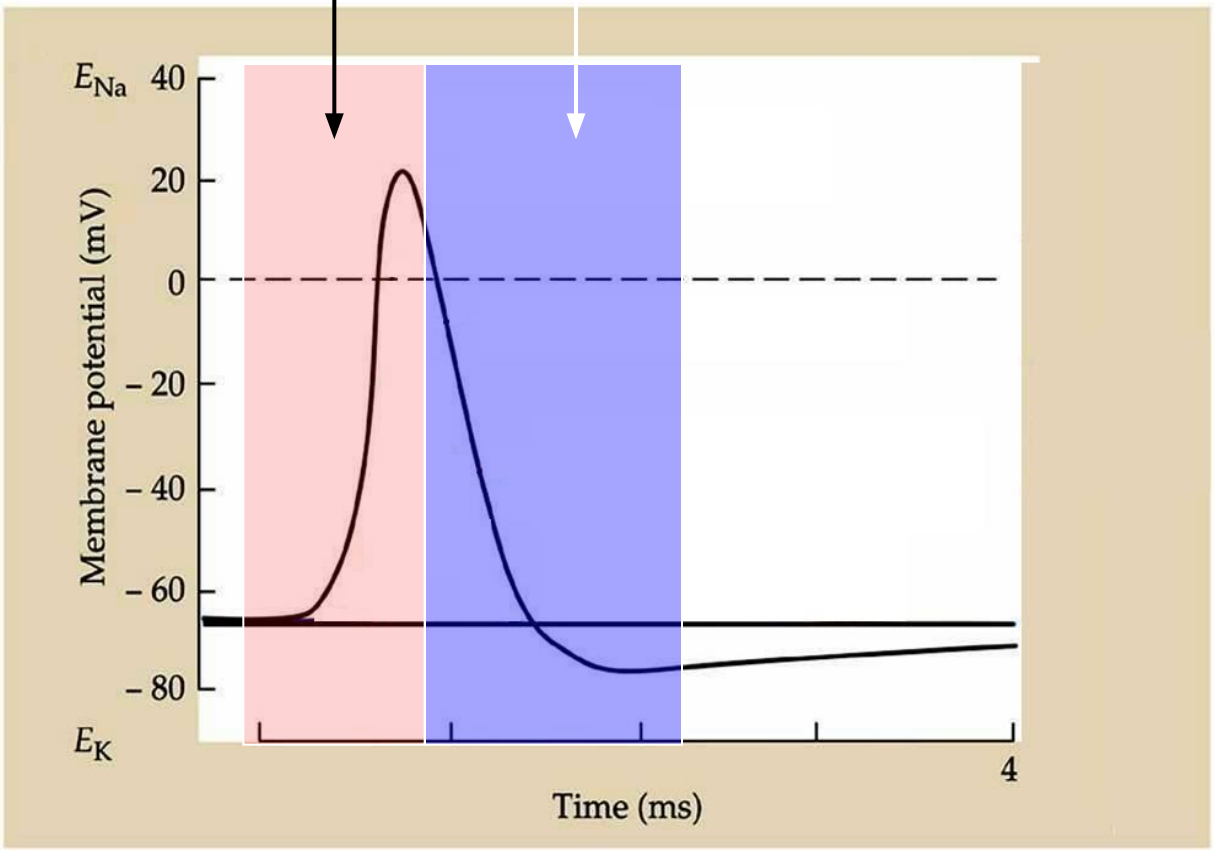
Временной ход ионных токов во время потенциала действия



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

Абсолютная рефрактерность

Относительная рефрактерность



Абсолютная рефрактерность

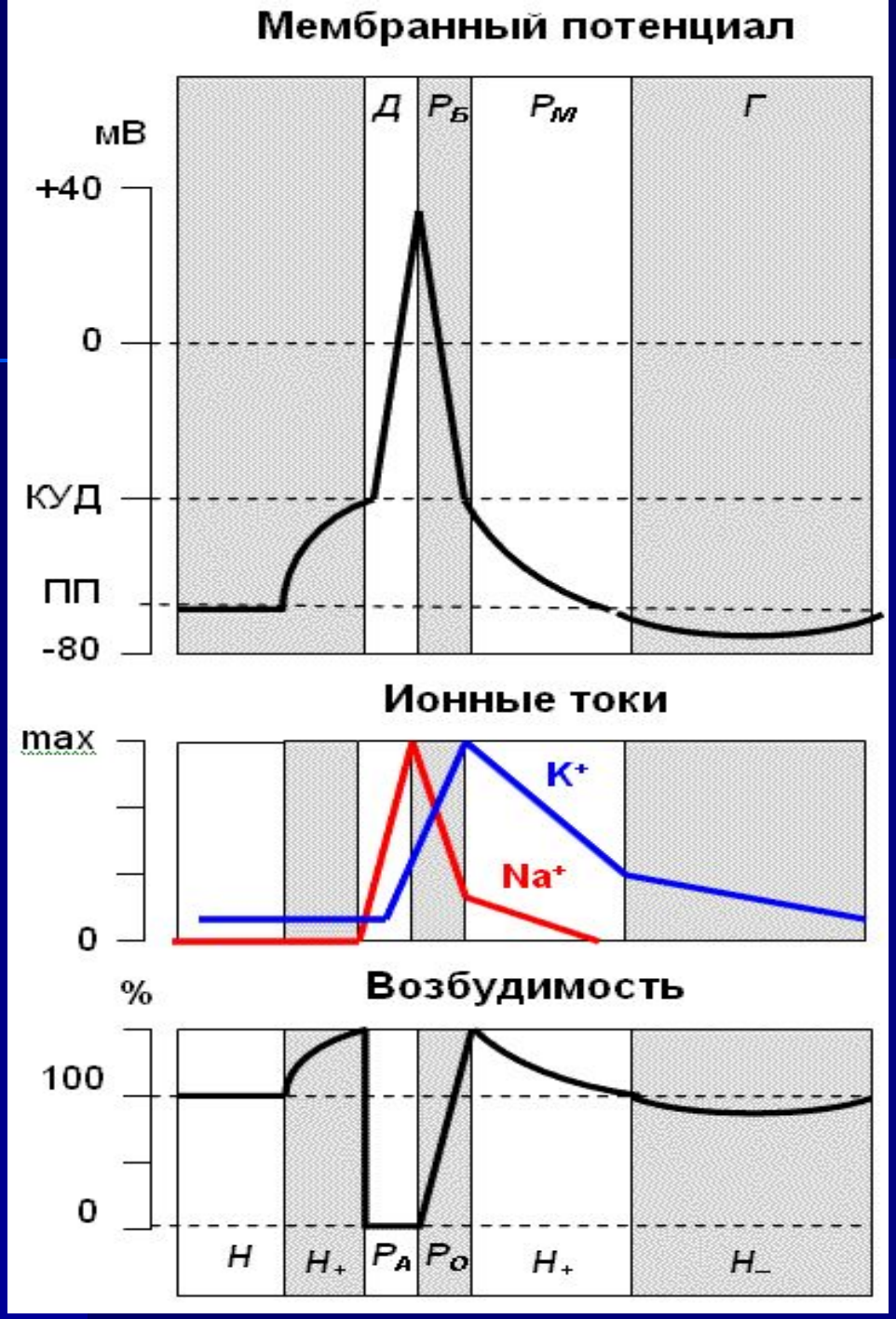
Генерация ПД невозможна

Вызвана инактивацией большинства Na каналов

Относительная рефрактерность

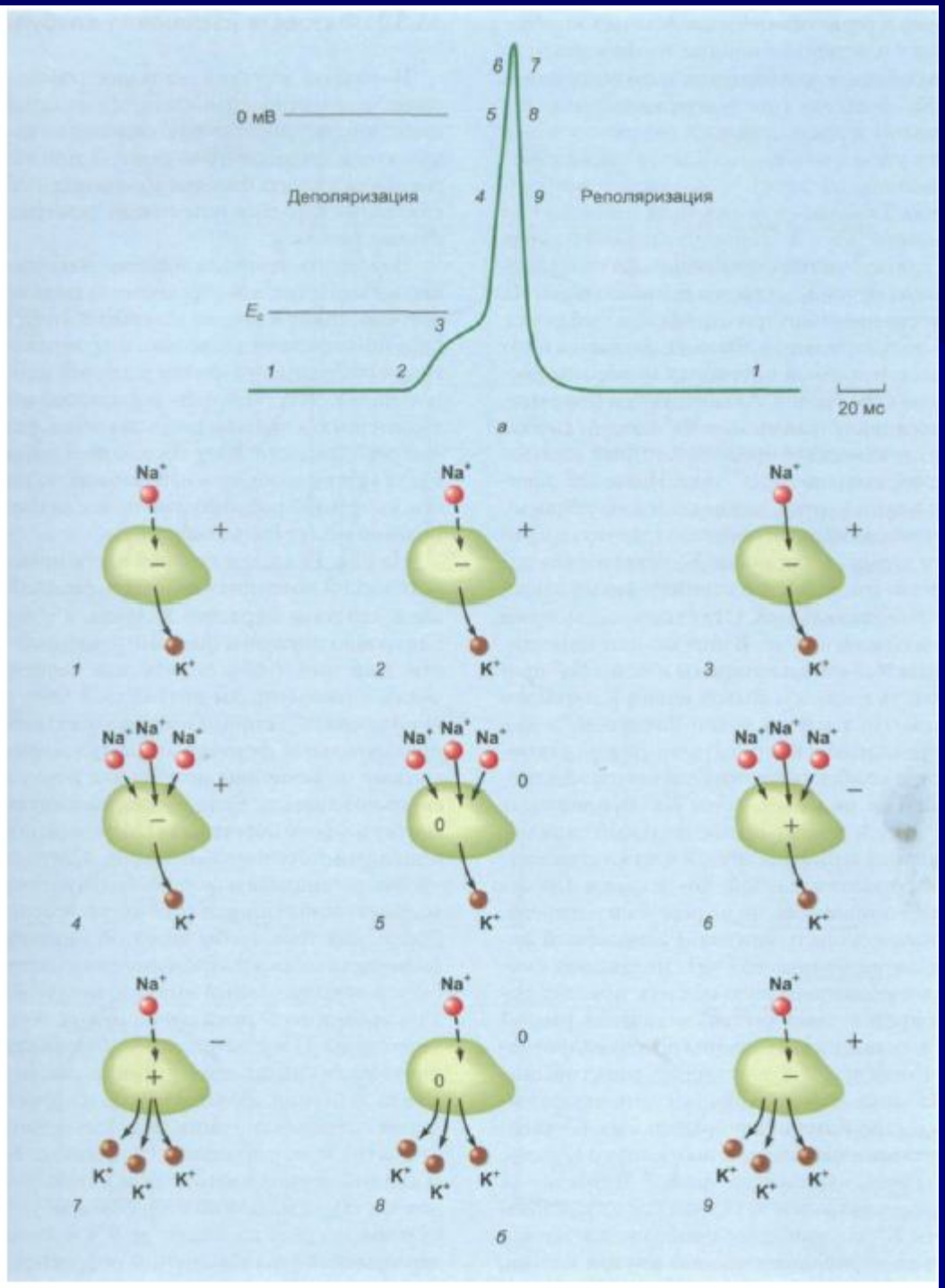
Генерация ПД возможна при увеличении интенсивности раздражителя

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

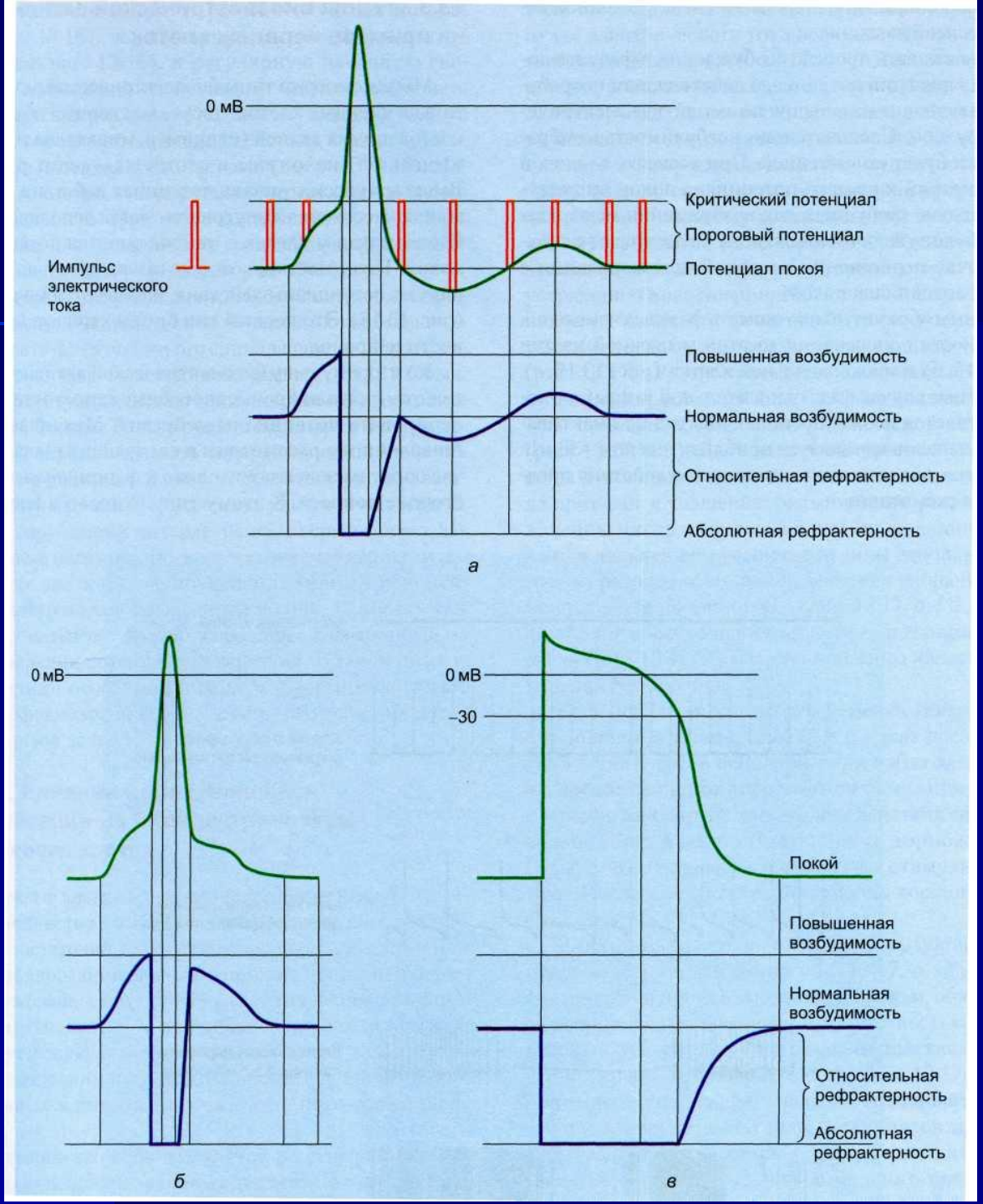


Изменение мембранного потенциала, интенсивности трансмембранных токов и возбудимости клетки в разные фазы потенциала действия.

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* — деполяризация; *7, 8, 9* — реполяризация)



ПД различных клеток:

a. **Нервной клетки**
b. **Мышечной клетки**
c. **Рабочего кардиомиоцита**

Законы электрического раздражения возбудимых тканей

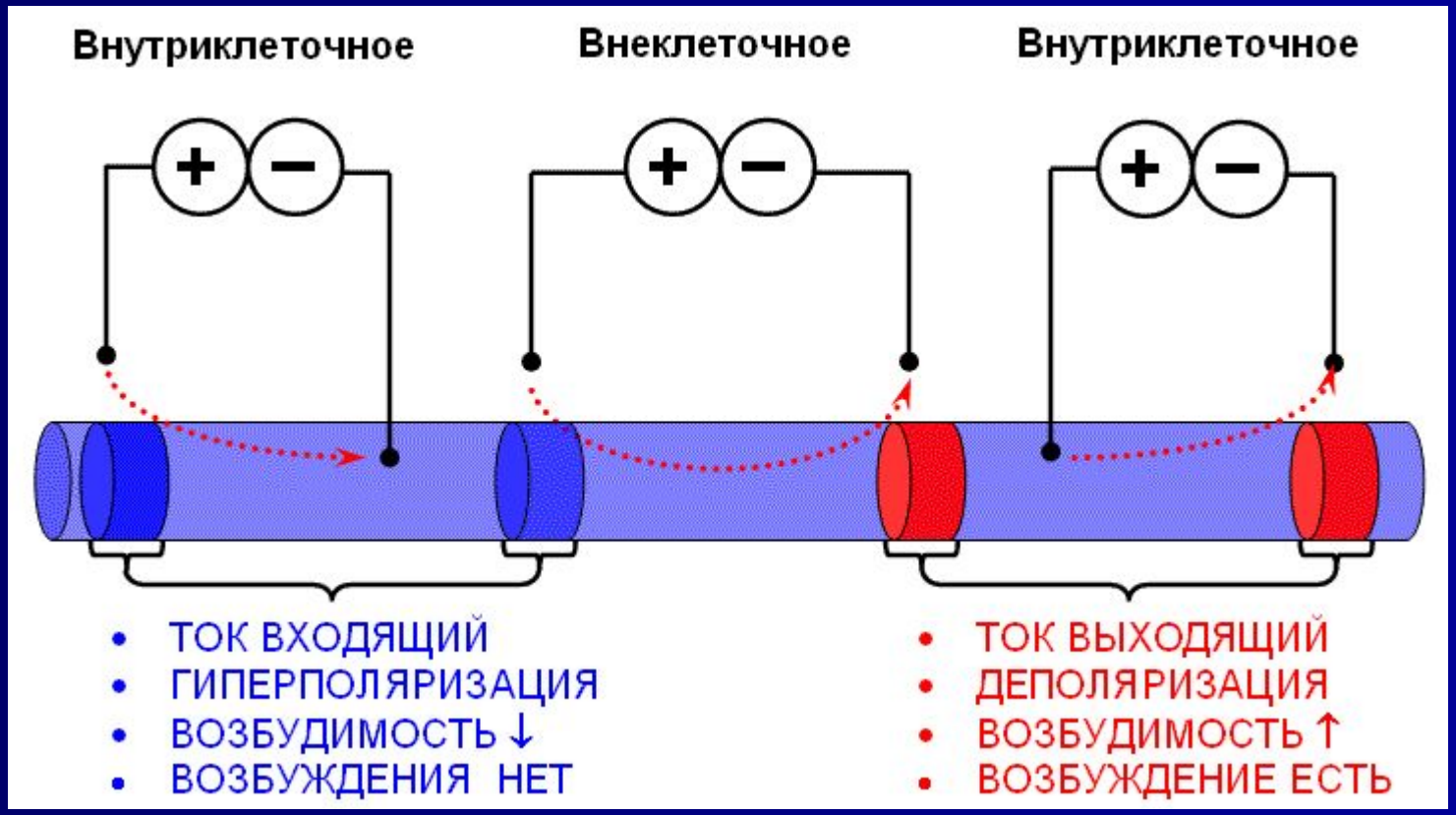
Закон полярного действия тока

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

Закон «все или ничего»

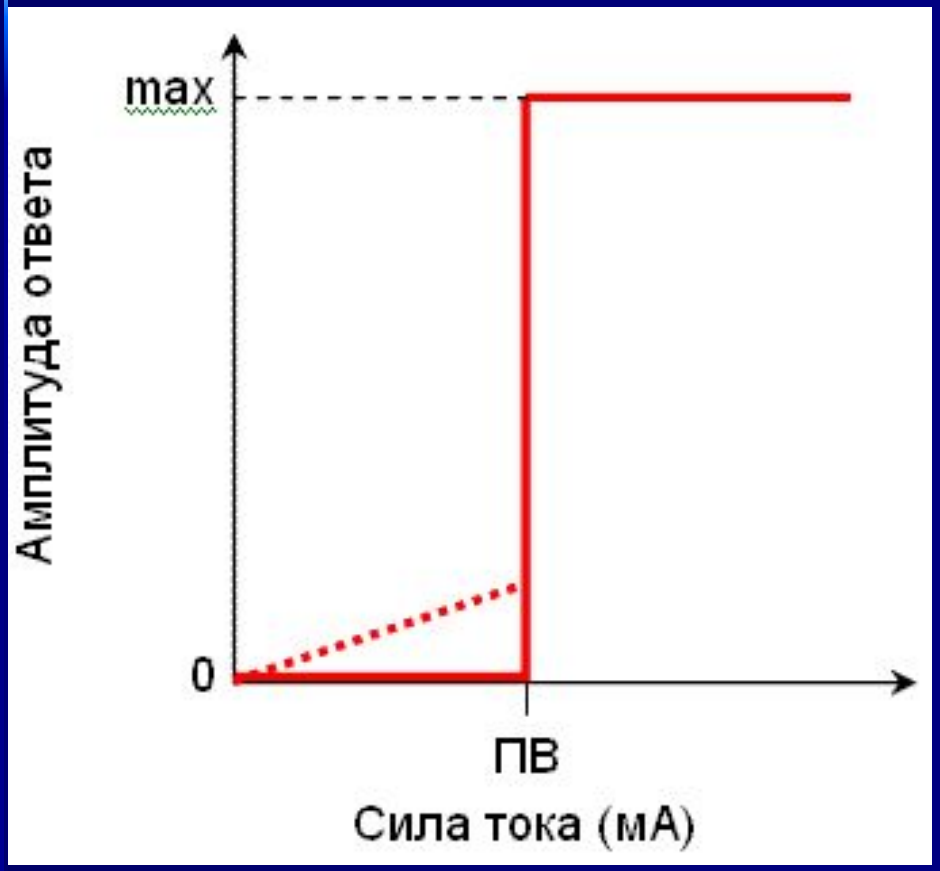
Для получения ответа в форме ПД необходимо, чтобы сила раздражающего тока имела пороговое значение

Закон полярного действия тока



Изменения, наступающие в нервном волокне при внутриклеточном или внеклеточном раздражении

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

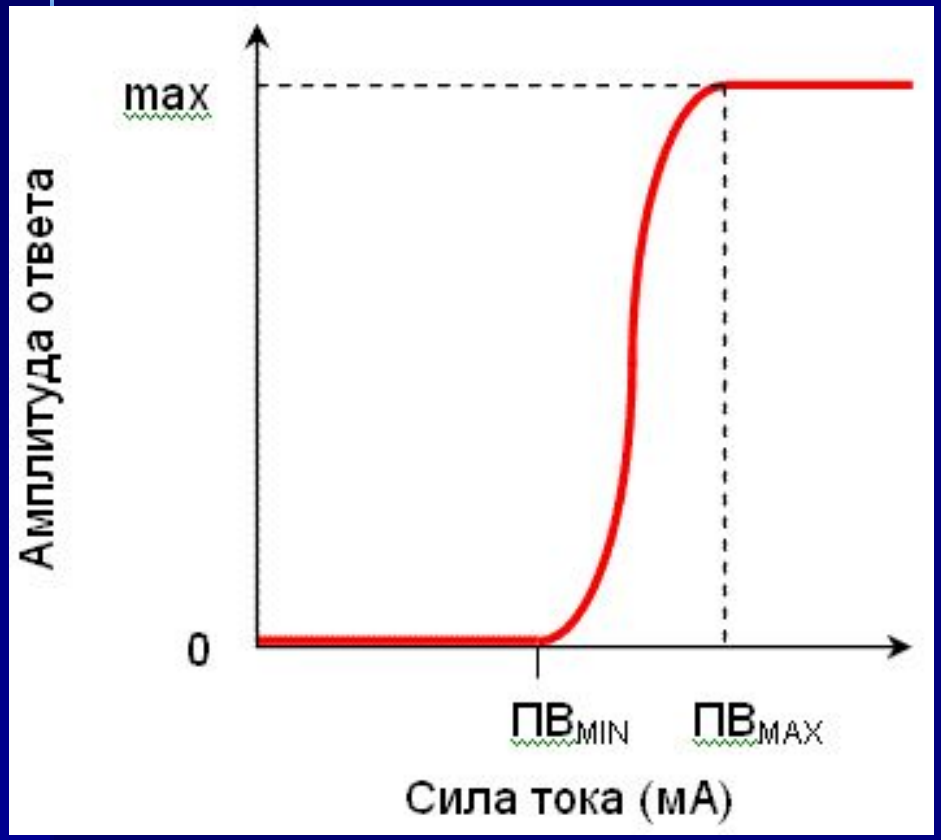


ПВ – порог возбуждения

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



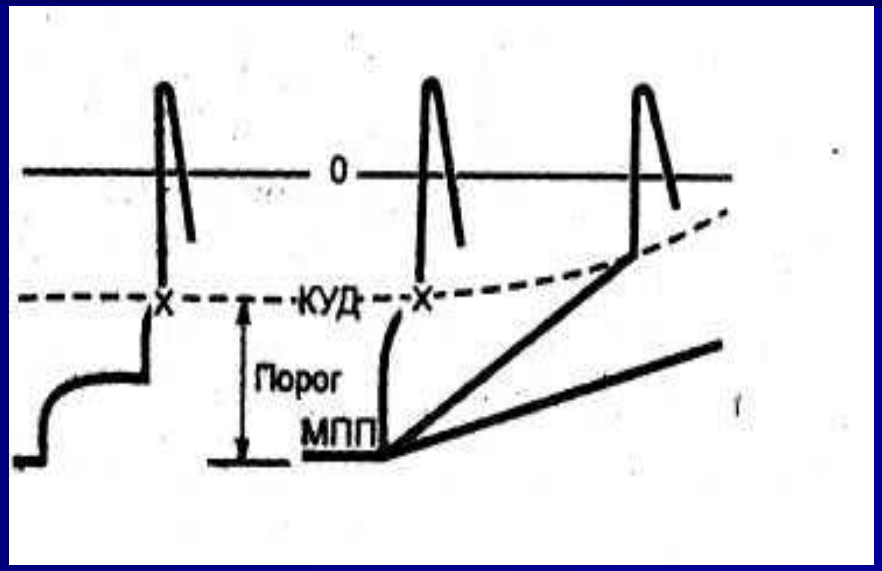
ПВ min – порог возбуждения самого легковозбудимого элемента,

ПВ max – порог возбуждения самого трудновозбудимого элемента

Законы электрического раздражения возбудимых тканей

Закон крутизны раздражения

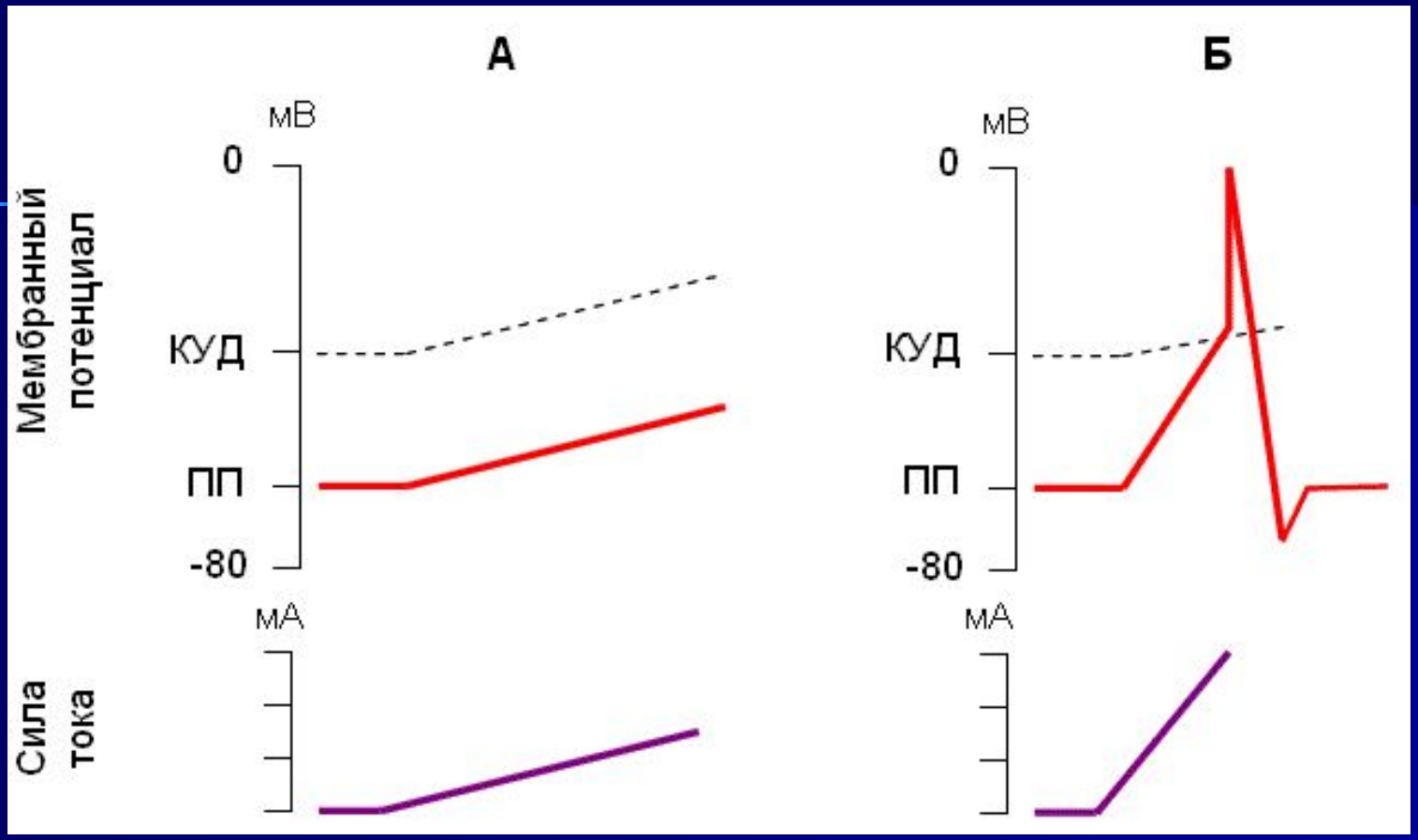
Для раздражения деполяризующий ток должен нарастать достаточно круто.



В условиях, когда деполяризующий 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.

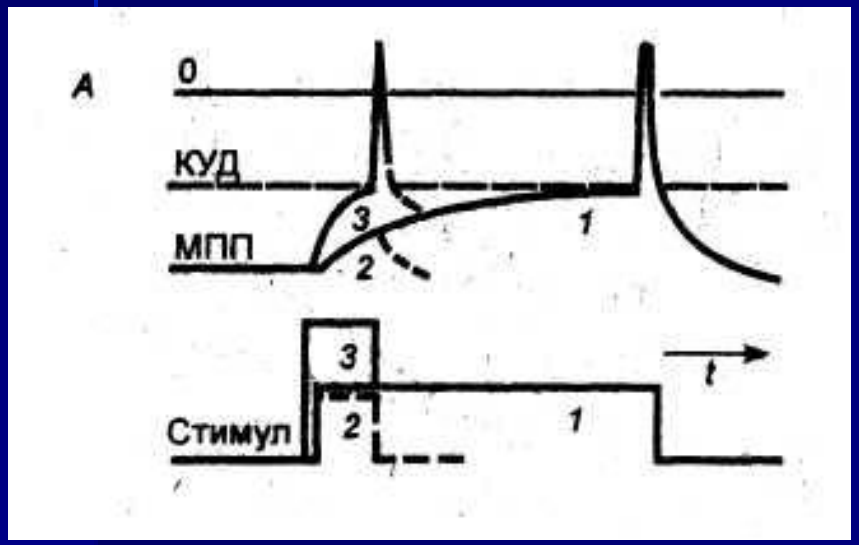


Изменение мембранного потенциала и критического уровня деполяризации при медленном (А) и быстром (Б) нарастании силы раздражающего тока

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 деполяризующего 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

Р – реобаза, **ПВ** – полезное время, **Х** – хронаксия

- **Минимальная величина тока, способная вызвать возбуждение при неограниченно длительном его действии, называется *реобазой*.**

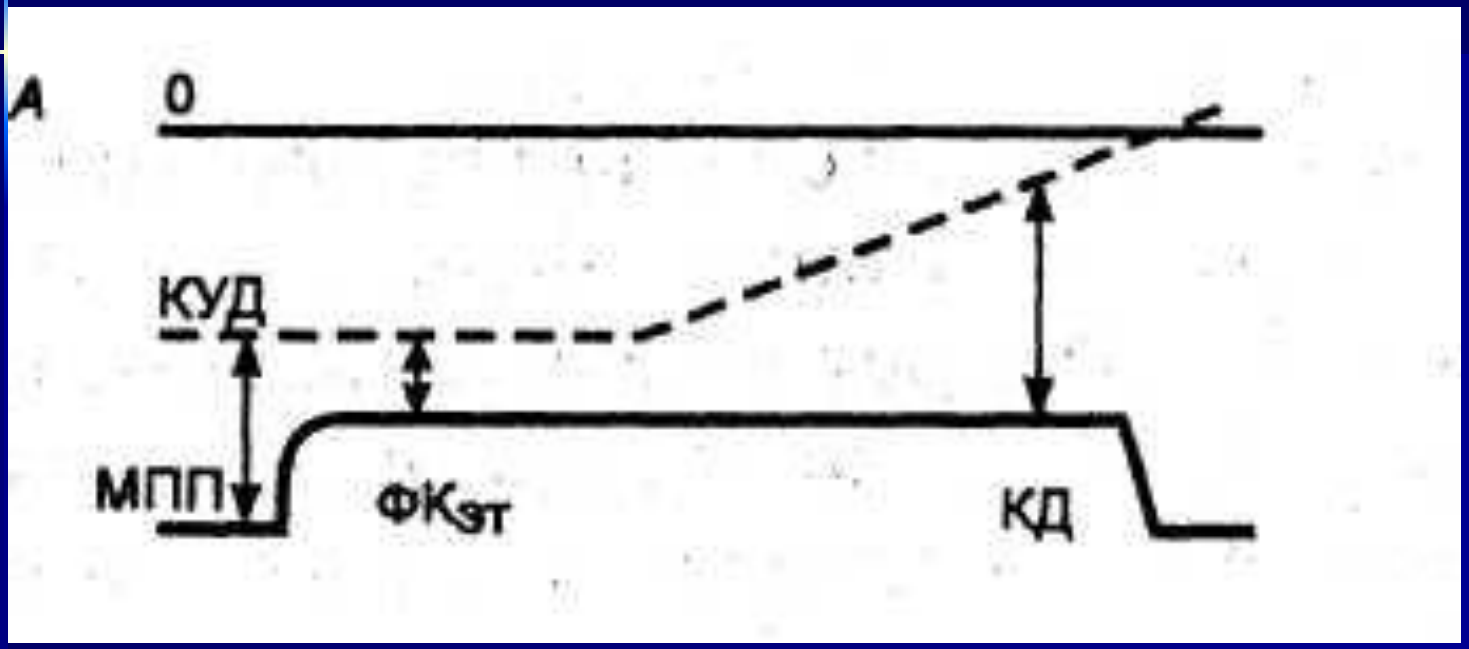
- **Время, в течение которого действует ток, равный реобазе, и вызывает возбуждение, называется *полезным временем.***

- **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.

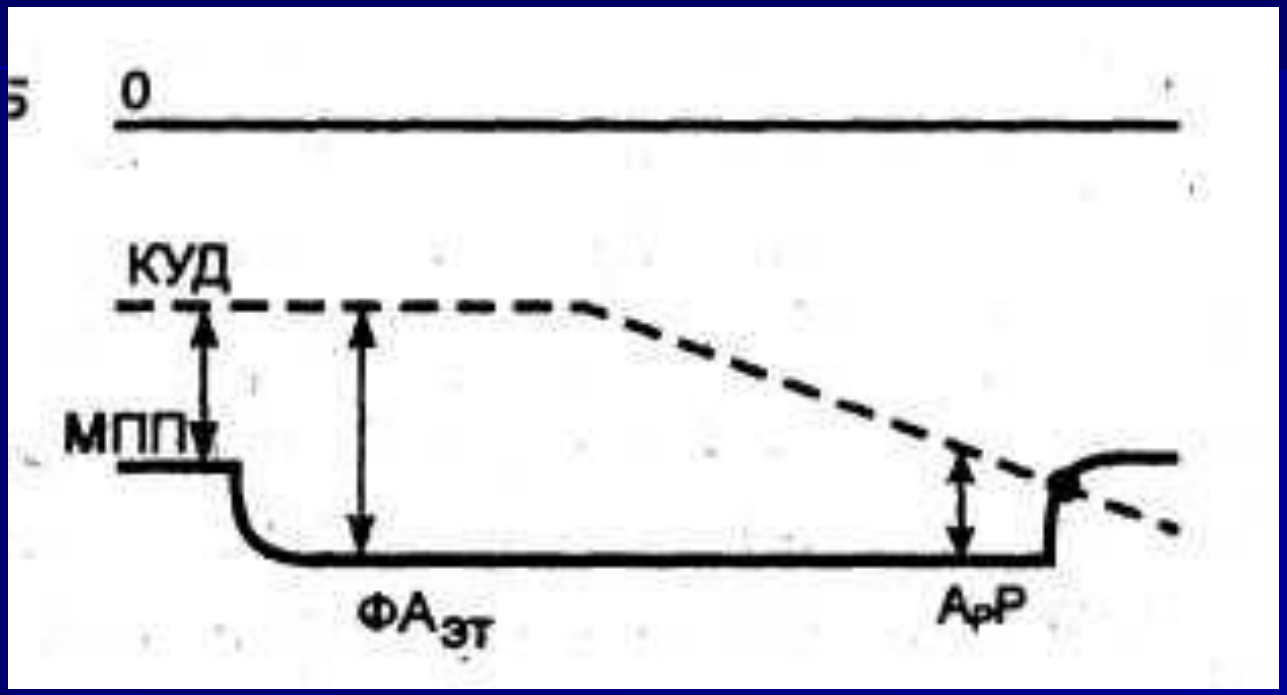
- Причиной такой зависимости является мембранная емкость. Очень "короткие" токи просто не успевают разрядить эту емкость до критического уровня деполяризации.

Катэлектротон

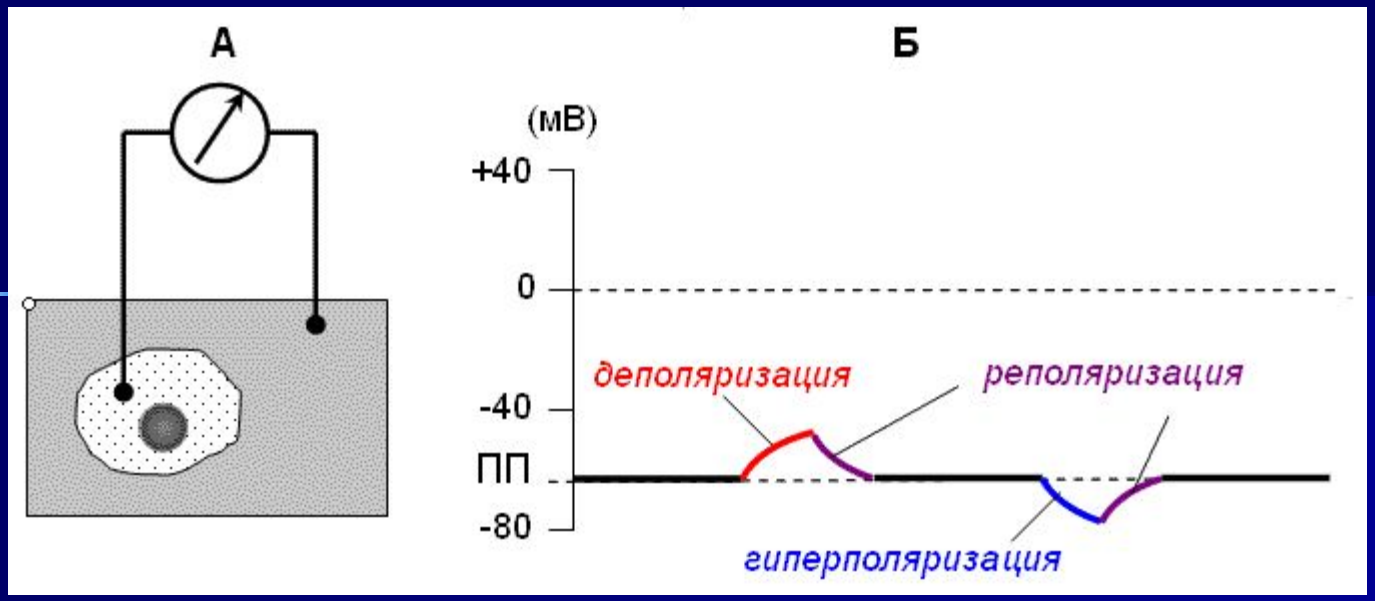


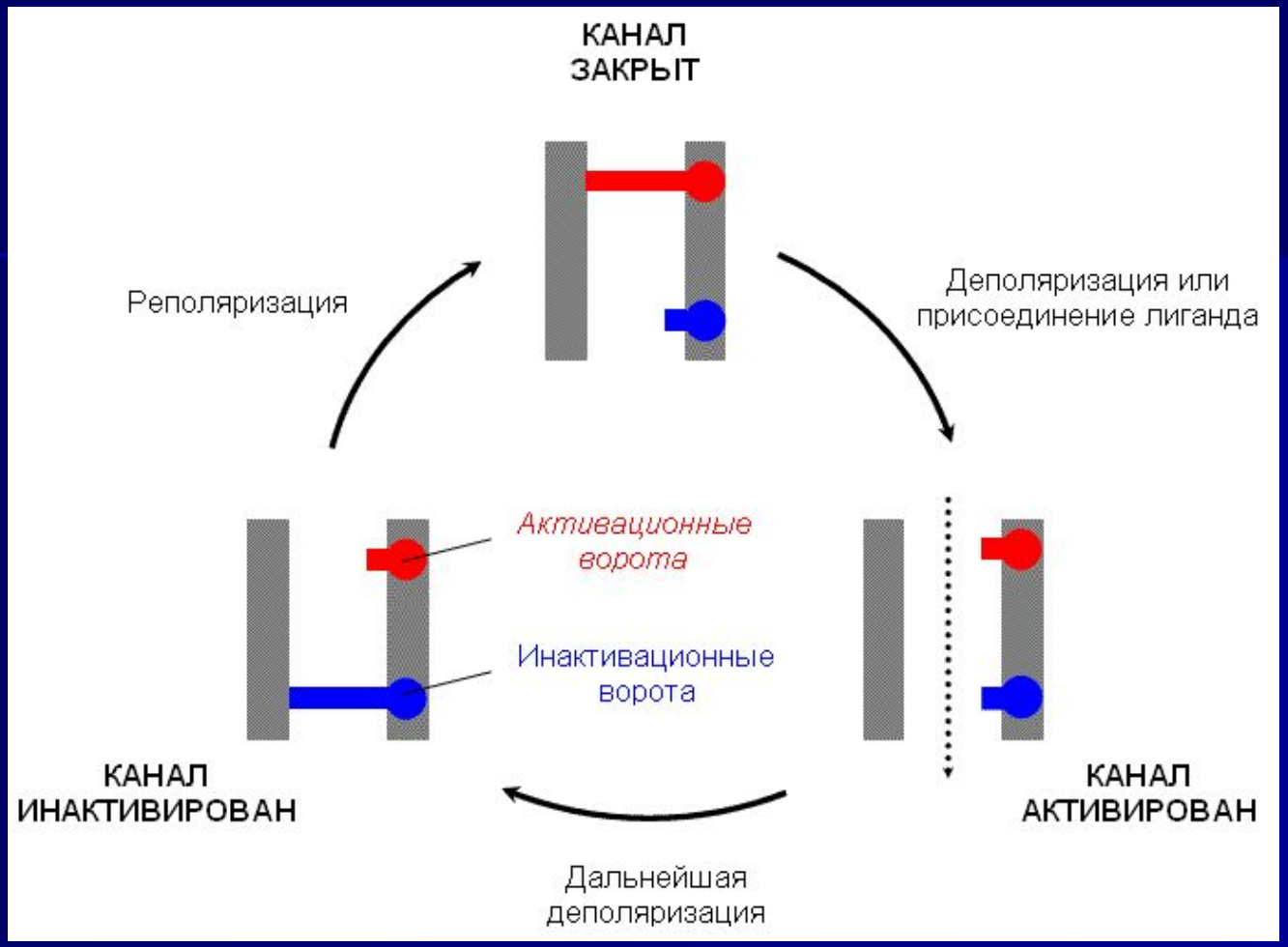
Изменение МП и КУД при действии длительного тока выходящего (деполяризующего) тока, ФКэт – физиологический катэлектротон, КД – катодическая депрессия

Анэлектротон



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


А
Б
(мВ)
+40
0
-40
ПП
-80
деполяризация
реполяризация
гиперполяризация



Состояния селективного ионного канала и условия перехода между ними.