

А.Л. Зефиров, М.А. Мухамедьяров

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ ВОЗБУДИМЫХ КЛЕТОК



КАЗАНЬ, 2008

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И
СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ**

Рекомендуется учебно-методическим
объединением по медицинскому и
фармацевтическому образованию вузов
России в качестве пособия для студентов
медицинских вузов

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ ВОЗБУДИМЫХ КЛЕТОК

А.Л. Зефирова, М.А. Мухамедьяров

Казань, 2008

БК 28.707.3

УДК 612 (049.5)

АВТОРЫ:

Заслуженный деятель науки РФ и РТ, член-корр. РАМН, заведующий кафедрой нормальной физиологии Казанского государственного медицинского

университета, профессор, д.м.н., *Зефилов Андрей Львович*

Ассистент кафедры нормальной физиологии

Казанского государственного медицинского университета, к.м.н.,

Мухамедьяров Марат Александрович

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Член-корр. РАМН, заведующий кафедрой нормальной физиологии Санкт-Петербургской военно-медицинской академии, д.м.н., профессор

Самойлов В.О.

Заведующая кафедрой нормальной физиологии

Ижевской государственной медицинской академии, д.м.н., профессор

Исакова Л.С.

Электрические сигналы возбудимых клеток: учебно-методическое пособие для студентов медицинских вузов / А.Л. Зефилов, М.А. Мухамедьяров. – Казань, Арт-Кафе, 2008 – 112 с.

В данном пособии представлены современные данные о ионных и клеточно-молекулярных механизмах возникновения и распространения, а также физиологической роли различных электрических сигналов возбудимых клеток организма человека и животных: потенциалов действия, постсинаптических и рецепторных потенциалов. Данное пособие предназначено для широкого круга читателей: студентов медицинских вузов и биологических факультетов университетов, врачей-клиницистов, физиологов и биологов.

© А.Л. Зефилов, М.А. Мухамедьяров, 2008.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Принципы передачи информации в возбудимых тканях	5
II. История вопроса. Животное электричество.....	7
III. Основные понятия. Мембрана возбудимой клетки	9
IV. Ионный транспорт через клеточную мембрану	11
1. <i>Ионные насосы. Активный транспорт ионов.....</i>	<i>11</i>
А. Виды активного транспорта	12
Б. Виды ионных насосов, молекулярная структура	13
2. <i>Ионные каналы. Пассивный транспорт ионов</i>	<i>19</i>
А. Виды ионных каналов	21
Б. Принципы работы ионных каналов.....	23
В. Измерение токов одиночного канала	26
Г. Движение ионов через открытый канал.....	29
Д. Строение ионных каналов.....	32
Е. Прикладные медицинские аспекты.	34
V. Мембранный потенциал покоя	35
1. <i>Регистрация мембранного потенциала</i>	<i>37</i>
2. <i>Ионные механизмы мембранного потенциала покоя</i>	<i>40</i>
VI. Потенциал действия	45
1. <i>Фазы потенциала действия</i>	<i>45</i>
2. <i>Ионные механизмы потенциала действия</i>	<i>48</i>
3. <i>Молекулярные механизмы активации и инактивации ионных каналов</i>	<i>57</i>
4. <i>Распространение потенциала действия</i>	<i>59</i>
5. <i>Другие виды потенциала действия.....</i>	<i>63</i>

VII. Градуальные потенциалы	66
<i>1. Постсинаптические потенциалы</i>	<i>66</i>
А. Современные представления о синаптической передаче	66
Б. Постсинаптические потенциалы в нервно-мышечном синапсе ..	71
В. Постсинаптические потенциалы в межнейрональных синапсах	76
I. Глутаматергические потенциалы	77
II. ГАМК-ергические потенциалы	82
III. Глицинергические потенциалы	84
IV. АТФ-ергические потенциалы	85
Г. Взаимодействие постсинаптических потенциалов и генерация потенциалов действия	85
<i>2. Рецепторные потенциалы. Характеристика и свойства</i>	<i>90</i>
А. Фоторецепция в сетчатке глаза	93
Б. Механорецепция во внутреннем ухе	98
В. Обонятельная рецепция	100
Г. Вкусовая рецепция	101
Д. Механорецепция в мышечных веретенах	105
Е. Соматосенсорная система	105
Используемая литература	112

I. Принципы передачи информации в возбудимых тканях

Бурное развитие физиологии в XX-ом веке позволило нам в значительной степени приблизиться к пониманию закономерностей функционирования возбудимых тканей – нервной и мышечной. Мозг представляет собой непрерывно работающий конгломерат нервных клеток - нейронов, которые получают и анализируют информацию, принимают решения и управляют всеми системами организма. Скелетные и гладкие мышцы, получая информацию от мозга, обеспечивают движения организма и его внутренних органов. В связи с этим одной из главных проблем современной биологии является вскрытие принципов и механизмов передачи информации в возбудимых тканях. Для передачи информации по мембране клетки, с клетки на клетку и внутри клетки нервные и мышечные клетки используют электрические и химические сигналы.

Электрические сигналы могут быть двух типов (таблица 1). Первый тип - это локальные (не распространяющиеся на большое расстояние), градуальные (зависящие от силы раздражения), достаточно длительные, низкоамплитудные сигналы. К ним относятся **рецепторные и постсинаптические потенциалы**. Второй тип - высокоамплитудные, короткие, неградуальные, распространяющиеся на большие расстояния сигналы, так называемые **потенциалы действия**. Они неизменны по амплитуде и длительности.

Таблица 1. Сравнение локальных сигналов и потенциалов действия

Свойства	Вид сигнала		
	Локальные сигналы		Потенциалы действия
	Рецепторные потенциалы	Постсинаптические потенциалы	
<i>Амплитуда (мВ)</i>	Малая (0.1-10 мВ)	Малая (0.1-10 мВ)	Большая (70-130 мВ)
<i>Длительность</i>	Малая (5-100 мс)	Варьирует (от 5 мс до 20 мин)	Малая (от 1-3мс в нейронах до 50-300 мс в кардиомиоцитах)
<i>Суммация</i>	есть	есть	Нет
<i>Эффект сигнала</i>	Деполаризация или гиперполяризация	Деполаризация или гиперполяризация	Деполаризация
<i>Тип проведения</i>	Пассивный	Пассивный	Активный

1. Сигналы чувствительного нейрона 2. Сигналы двигательного нейрона 3. Сигналы мышцы

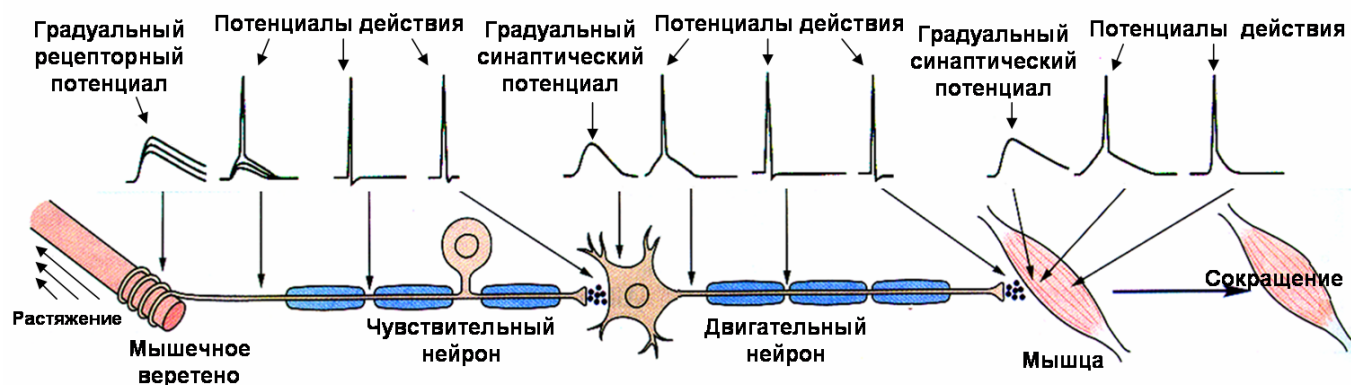


Рис.1. Последовательность сигналов при осуществлении двигательного сухожильного рефлекса. В рефлексе участвуют два нейрона (чувствительный и двигательный), а также группа мышечных волокон скелетной мышцы

1. Растяжение мышцы вызывает раздражение рецептора, образованного чувствительным нейроном, и возникновение градуального рецепторного потенциала. Амплитуда рецепторного потенциала пропорциональна интенсивности растяжения. Если рецепторный потенциал достаточно большой, в дендрите чувствительного нейрона возникает потенциал действия, который без изменений распространяется вдоль него до синапса (место контакта аксона чувствительного нейрона и мембраны двигательного нейрона спинного мозга). В нервных окончаниях аксона потенциал действия вызывает выделение специального химического вещества (нейромедиатора), которое, диффундируя через синаптическую щель, взаимодействует с рецепторными молекулами мембраны двигательного нейрона.

2. Воздействие нейромедиатора инициирует постсинаптический потенциал в двигательной нервной клетке. Постсинаптический потенциал является градуальным, поскольку его амплитуда зависит от количества выделяемого нейромедиатора. Постсинаптический потенциал вызывает возникновение потенциала действия, который по аксону распространяется до нервно-мышечного синапса (место контакта нервного окончания аксона двигательного нейрона с мышечным волокном скелетной мышцы). Там он стимулирует выброс нейромедиатора.

3. Присоединение молекул нейромедиатора к рецепторам мышечного волокна инициирует постсинаптический потенциал на мембране мышечного волокна. Этот сигнал вызывает распространяющийся потенциал действия на мембране мышечного волокна, что приводит к сокращению мышцы.

Для примера покажем сигналы, обеспечивающие возникновение классического сухожильного рефлекса, который выражается в сокращении скелетной мышцы при ее растяжении (рис.1).

Все электрические сигналы являются результатом временного изменения электрических токов, текущих в клетку и из клетки. Эти токи изменяют электрический потенциал на клеточной мембране, существующий в состоянии покоя. Электрические токи, возникающие в клетке, обеспечиваются движением заряженных ионов через мембрану. Этим электрические токи в живых тканях отличаются от электрических токов в радиоприемниках, видеоманитфонах и лампочках. В таких приборах электрические токи обеспечиваются движением электронов, в то время как в живых объектах все электрические сигналы обеспечиваются движением ионов через мембрану.

II. История вопроса. Животное электричество

Прежде всего, необходимо остановиться на истории рассматриваемого нами вопроса (рис. 2). Первым человеком, который предположил и всю жизнь доказывал, что в живых тканях могут возникать электрические токи, был известный итальянский анатом Луиджи Гальвани. В конце XVIII-го века он оборудовал у себя дома лабораторию по исследованию электрических процессов в живых тканях, а его жена поставляла ему объекты для исследований. Дело в том, что в Италии продавались лягушачьи лапки, которые использовались в пищу. На них Гальвани и проводил свои эксперименты, которые стали классическими и известны, как опыты Гальвани. На рис. 2 представлены гравюры с изображениями лаборатории Гальвани и его приборов. Для раздражения мышц лягушачьих лапок он использовал громоотводы, которые улавливали природное электричество во время грозы, а также изобретенные к тому времени электростатическую машину и лейденскую банку. Но самый интересный его эксперимент - это так называемый «балконный опыт». Первоначально этот опыт был направлен на изучение природного электричества (электрических разрядов во время грозы) на живые

ткани. Гальвани подвесил лягушачьи лапки за остатки позвоночника при помощи медных крючков на железные перила балкона и стал ждать грозы. Но оказалось, что мышцы лягушки начинают сокращаться даже при порывах ветра. Наблюдаемое явление Гальвани объяснил следующим образом: - в спинном мозге лягушки зарождаются электрические токи, которые передаются на крючки, затем на перила балкона, потом замыкаются на мышцах, и они сокращаются. Так возникло предположение о наличии **«животного электричества»**, которое существует в живых организмах. С этими предположениями был не согласен очень известный итальянский физик Алессандро Вольта, который говорил, что никакого животного электричества нет. По его мнению, сокращения мышц лягушки возникают из-за раздражения электрическим током, возникающим при контакте разнородных металлов

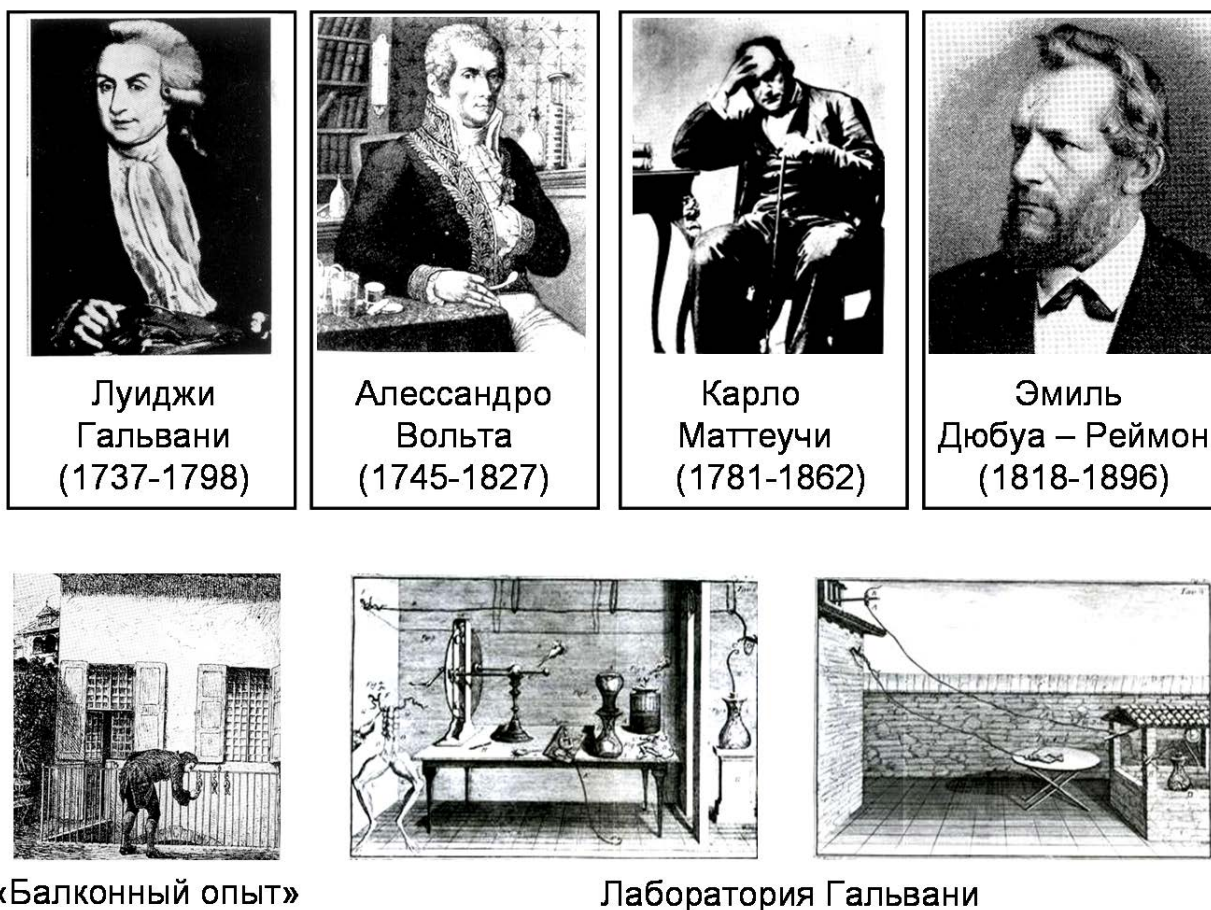


Рис.2. Ученые, внесшие значительный вклад в развитие представлений об электрических процессах в живых клетках

Внизу представлены старинные гравюры, изображающие «балконный опыт» и лабораторию Гальвани.

(железа и меди). Эти два исследователя постоянно спорили, их спор закончился со смертью Гальвани. Однако, в результате научного спора, во-первых, возникло представление Гальвани о том, что в живых тканях возникают электрические токи, а во-вторых - Вольта изобрел аккумулятор, и дал единицу измерения потенциала - «вольт», которую мы сейчас постоянно используем. Уникальным исследователем, который очень много сделал для нейрофизиологии, был Карло Маттеучи. Он вслед за Гальвани доказал наличие электричества в живых тканях. С использованием изобретенного к тому времени гальванометра Маттеучи впервые зарегистрировал ток покоя (ток, текущий между поврежденной и неповрежденной частью мышцы) и уменьшение этого тока при тетанусе мышцы во время действия стрихнина. Следовательно, именно он, хотя и косвенно, показал наличие разности потенциала между вне- и внутриклеточной средой - мембранного потенциала покоя, и наличие электрических сигналов в мышечных волокнах (потенциалов действия), о которых мы будем подробно говорить в дальнейшем. Конечно, в то время еще не существовало понятий мембранного потенциала и потенциала действия, а все объяснялось какой-то нервной энергией. Понятия «возбуждение» и «возбудимые ткани» ввел в физиологию Эмиль Дюбуа-Рэймон, известнейший ученый, швейцарец с французской фамилией, который всю жизнь проработал в Берлине. Именно он создал институт по исследованию электрических потенциалов и электрических сигналов в живых организмах, и именно он стал объяснять эти явления с позиций физики и химии.

III. Основные понятия. Мембрана возбудимой клетки

Клетки и ткани организма постоянно подвергаются действию факторов внешней или внутренней среды – **раздражителей**. Способность клеток тем или иным образом отвечать на действие раздражителя называется **раздражимостью**. Ответная реакция может быть различной – изменение метаболизма, движение, и т.д.

Нервные и мышечные клетки обладают **возбудимостью** - способностью в ответ на раздражитель генерировать потенциал действия. Соответственно, эти клетки и ткани, состоящие из них, называются **возбудимыми**, а сам процесс генерации потенциала действия – **возбуждением**.

Раздражитель вызывает возбуждение только тогда, когда его сила равна или превышает определенную величину – **порог раздражения**. Поэтому возбудимость обратно пропорциональна величине порога раздражения.

Где возникают электрические сигналы в клетке? Все электрические процессы клетки разворачиваются на **плазматической мембране**. Она состоит в основном из липидов и белков (рис. 3). Молекулы липидов организованы в двухслойную мембрану (бислой) толщиной около 6 нм. Полярные гидрофильные головки липидов обращены наружу, гидрофобные хвосты – внутрь бислоя. Липиды очень плотно упакованы в мембране, поэтому мембрана плохо пропускает воду и практически непроницаема для ионов, не говоря уже о крупных молекулах. Мембранные белки могут быть **периферическими** - частично погруженными в слой липидов с внеклеточной или цитоплазматической стороны, или **трансмембранными** - насквозь пронизывающими мембрану. Именно трансмембранные белки образуют структуры, обеспечивающие движение ионов через мембрану - **ионные насосы** и **ионные каналы**.

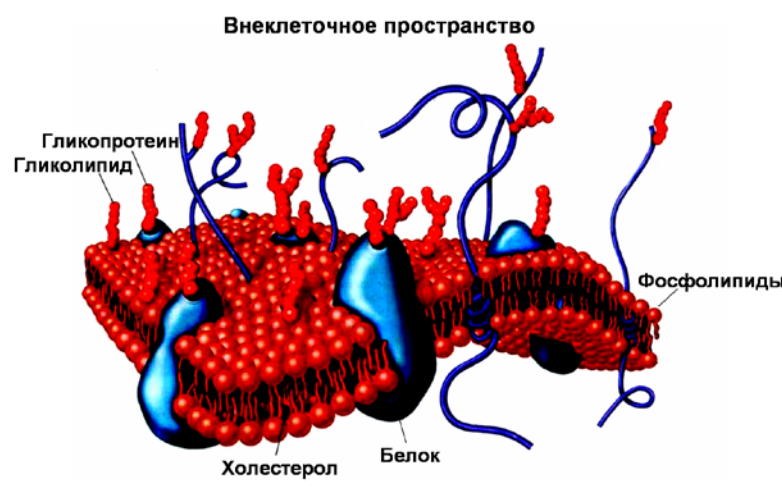


Рис. 3. Строение клеточной мембраны

IV. Ионный транспорт через клеточную мембрану

Итак, мы сказали, что электрические токи, возникающие в клетке, обеспечиваются движением ионов через мембрану. Силой, движущей ионы через мембрану, может быть как разность концентраций ионов снаружи и внутри клетки (**концентрационный**, или **химический градиент**), так и разность зарядов между внутренней и внешней стороной мембраны (**электрический градиент**). Совокупность этих двух сил называется **электрохимическим градиентом**. Если такой градиент есть, то при появлении возможности движения (открытии каналов) ионы начнут двигаться через мембрану. Такой вид движения ионов называется **пассивным**, поскольку он протекает без затрат энергии. Кроме того, существует и **активный транспорт** ионов, который осуществляется против электрохимического градиента с затратами энергии аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ).

1. Ионные насосы. Активный транспорт ионов

Вне- и внутриклеточные среды значительно различаются по своему ионному составу (рис. 4). Ионов натрия снаружи примерно в 10-20 раз больше, чем внутри; ионов калия примерно в 30 раз больше внутри, ионов хлора примерно в 15 раз больше снаружи. Кальций - рекордсмен по разности концентрации, снаружи ионов кальция примерно в 20000 раз больше, чем внутри клетки. Органические анионы, представленные заряженными белками и аминокислотами, присутствуют только внутри клетки. Разность концентраций ионов по обе стороны клеточной мембраны создается специальными мембранными белковыми молекулами — **ионными насосами**, осуществляющими **активный транспорт** ионов через мембрану. Направления движений ионов при работе этих транспортных систем представлены на рис. 4. Ионы натрия выкачиваются из клетки, а ионы калия закачиваются в клетку, ионы кальция выводятся из цитоплазмы клетки в межклеточную среду или поступают в специальные внутриклеточные структуры. Анионы хлора могут как выкачиваться, так и закачиваться в клетку, в зависимости от вида клеток.

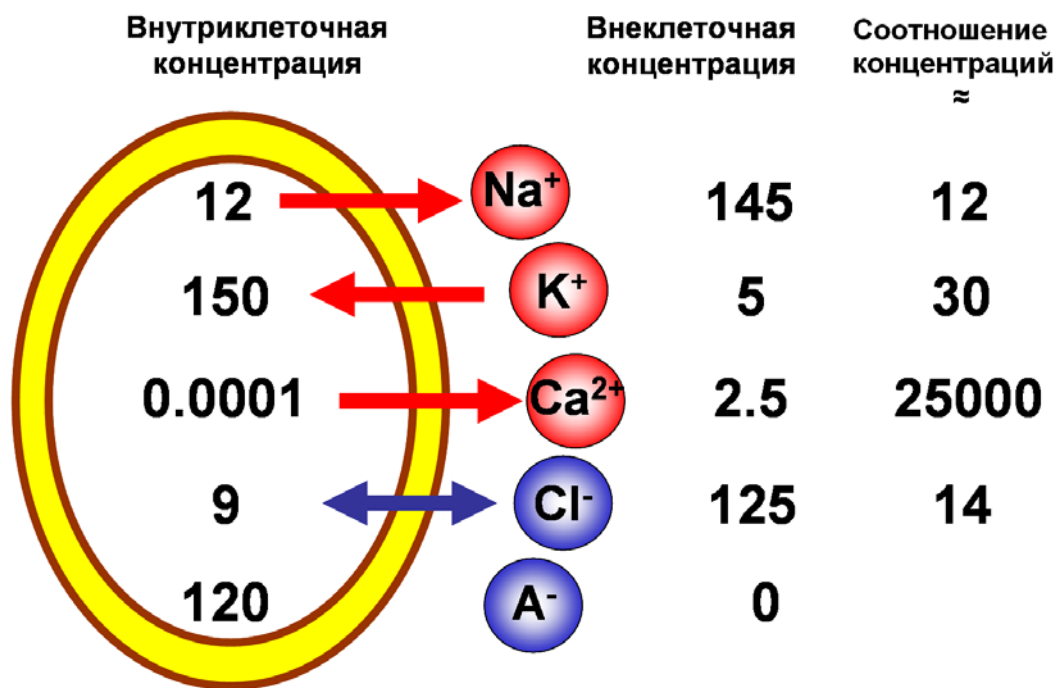


Рис. 4. Распределение ионов между вне- и внутриклеточной средой в двигательных нейронах спинного мозга

На рисунке указаны вне- и внутриклеточные концентрации основных ионов, а также отношение этих значений. Ионные концентрации выражены в миллимолях на литр. Стрелками указаны направления передвижения ионов через мембрану за счет работы мембранных транспортных систем.

А.Виды активного транспорта

Все варианты транспорта ионов через мембрану клетки, участвующие в создании концентрационного градиента, можно разделить на два типа – первичный активный транспорт и вторичный активный транспорт. **Первичный активный транспорт** ионов обеспечивается специальными ионными насосами, осуществляется за счет гидролиза АТФ и является энергозависимым процессом. **Вторичный активный транспорт** для переноса ионов через мембрану использует энергию потока ионов по градиенту концентрации. Но для того, чтобы первоначально создать этот градиент концентрации, нужна энергия АТФ, отсюда он и называется - вторичный активный транспорт. В

рамках вторичного активного транспорта различают **ко-транспорт**, когда ионы двигаются через мембрану в одном направлении, и **ионообмен** - движение ионов в противоположных направлениях. В настоящее время описаны десятки различных транспортных систем в мембране живой клетки. Мы остановимся только на тех транспортных системах, которые обеспечивают создание концентрационного градиента для ионов натрия, калия, кальция и хлора, поскольку они при пассивном транспорте по ионным каналам принимают участие в генерации электрических сигналов возбудимых клеток.

Б. Виды ионных насосов, молекулярная структура

Для непрерывного переноса ионов натрия и ионов калия через мембрану клетки существует **натрий-калиевый обменный насос**, который при каждом своем цикле переносит три иона натрия наружу и два иона калия внутрь клетки (рис. 5). Источником энергии для этого процесса является расщепление АТФ, поэтому насос одновременно является ферментом - АТФазой. Специфическими блокаторами натрий-калиевой транспортной системы являются вещества, используемые при лечении сердечной недостаточности - гликозиды, в особенности убаин. Механизм переноса ионов натрий-калиевым обменным насосом можно представить следующим образом. Внутри каналоподобной структуры насоса расположены места связывания калия и натрия, которые поочередно вступают в контакт с внутриклеточной и внеклеточной средами. Циклическое изменение конформации насоса происходит за счет фосфорилирования и дефосфорилирования его белковой молекулы (присоединение и отщепление остатка фосфорной кислоты). Этот процесс сопровождается изменением сродства мест связывания к соответствующим ионам. Места связывания, направленные внутрь клетки, имеют низкое сродство к ионам калия и высокое - к ионам натрия. Связывание трех ионов натрия ведет к изменению конформации белка, последующему связыванию АТФ и фосфорилированию фермента. Фосфорилирование приводит к дальнейшему изменению конформации, в результате которого места связывания ионов

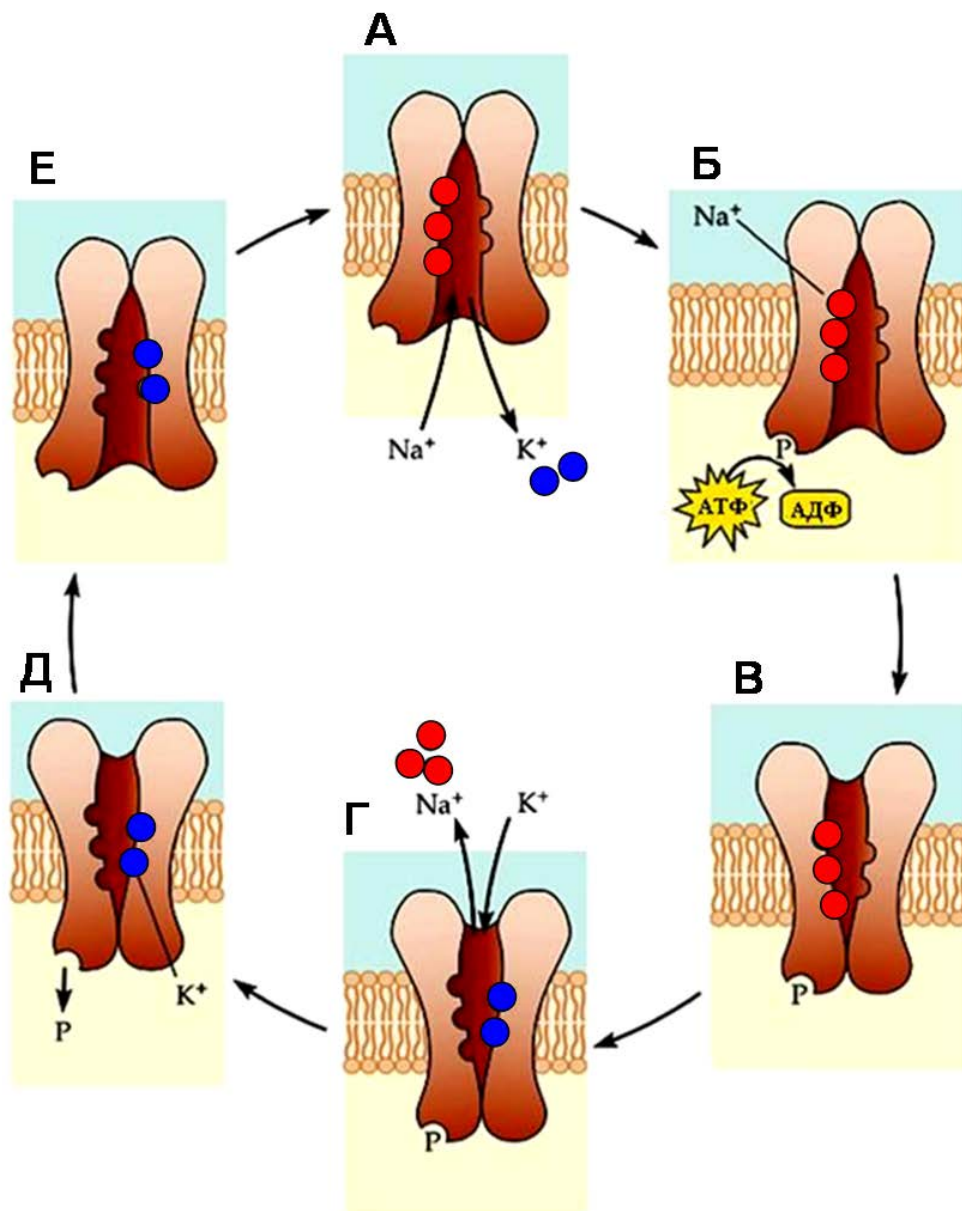


Рис. 5. Перенос ионов натрия и калия через мембрану. Принцип работы натрий- калиевого насоса (натрий- калиевой АТФазы)

(А) Посадочные места, направленные внутрь клетки, обладают высоким сродством к натрию и низким — к калию. Ионы калия, до этого момента связанные с молекулой АТФазы, высвобождаются, в то время как ионы натрия связываются с ней. (Б) Вслед за связыванием натрия происходит связывание молекулы АТФ и фосфорилирование фермента. (В) В результате фосфорилирования в структуре фермента происходят изменения, приводящие к выдвигению посадочных мест во внеклеточную среду. (Г) В таком положении посадочные места обладают низким сродством к натрию и высоким — к калию, поэтому ионы натрия освобождаются во внеклеточную среду, а ионы калия связываются с молекулой АТФазы. (Д) При связывании ионов калия АТФаза дефосфорилируется. (Е) Возврат в первоначальное состояние.

оказываются в контакте с внеклеточной средой. В этом положении места связывания обладают низким сродством к ионам натрия и высоким к ионам калия, поэтому ионы калия замещают ионы натрия. Связывание калия вызывает дефосфорилирование фермента и возвращает насос в первоначальное положение, а ионы калия высвобождаются во внутриклеточное пространство.

Многие функции возбудимых клеток связаны с кратковременным повышением концентрации ионов кальция в цитоплазме, поэтому важной задачей для клетки является поддержание неизменного и очень низкого уровня кальция в покое. В противном случае различные кальций-зависимые механизмы будут активироваться не в ответ на специфическое раздражение, а постоянно. Для поддержания низкой внутриклеточной концентрации ионов кальция наибольшее значение имеют два вида первичного активного транспорта, осуществляемых **кальциевыми насосами** - АТФазами - непрерывный вывод кальция из клетки через плазматическую поверхностную мембрану и кальциевый транспорт через внутриклеточные мембраны в эндоплазматический ретикулум нейронов (в мышечных волокнах - в саркоплазматический ретикулум) (рис. 6А). Уровень кальция в эндоплазматическом ретикулуме может достигать 400 мкмоль/л, а в саркоплазматическом - 10 ммоль/л. Кальциевый транспортный цикл АТФаз плазматической мембраны в принципе аналогичен циклу работы натрий-калиевого обменного насоса. Он начинается с присоединения иона кальция к месту связывания, расположенному в цитоплазме. Затем происходит фосфорилирование фермента и изменение его конформации, в результате чего ион переносится во внеклеточную среду. После освобождения кальция молекула АТФазы дефосфорилируется и возвращается в свое первоначальное состояние. Концентрация АТФаз в плазматической мембране нейронов и мышечных клеток довольно низка, поэтому эффективность этой транспортной системы не слишком высока. Кальциевые АТФазы эндоплазматического и

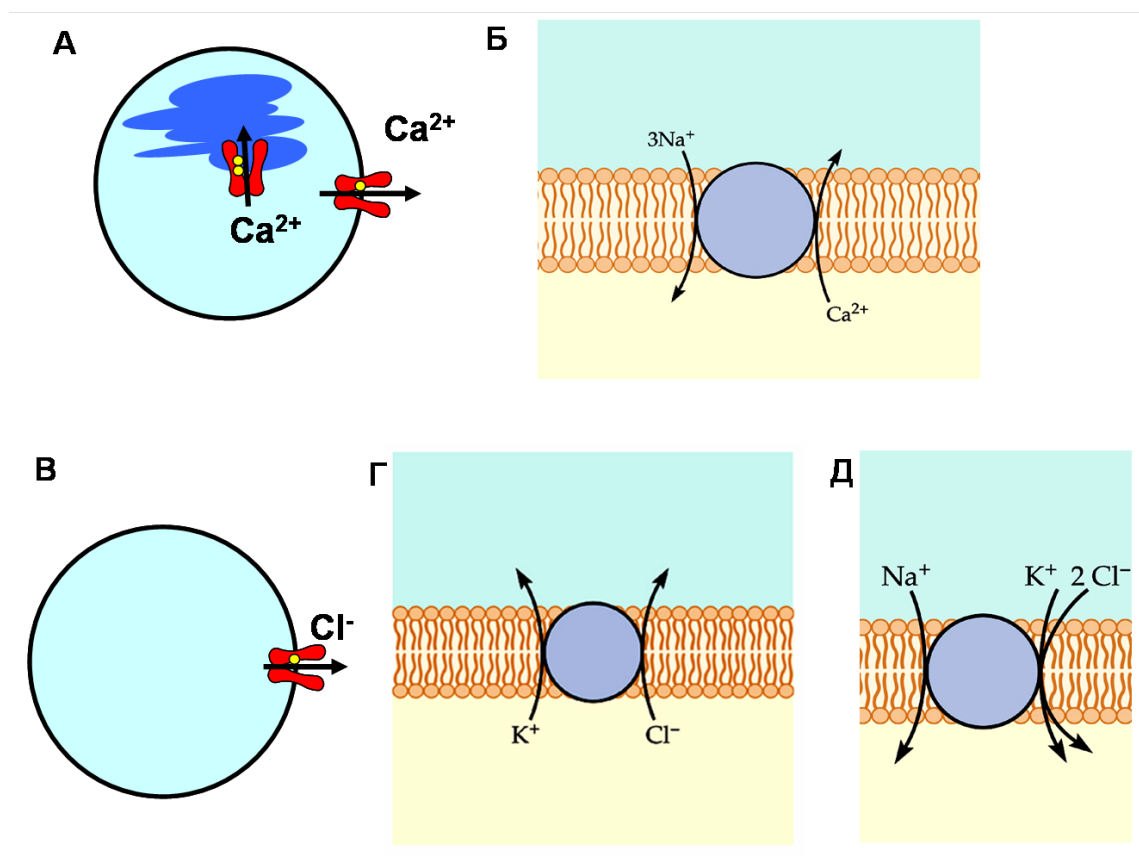


Рис. 6. Транспорт ионов кальция и хлора через мембрану

(А) Внутриклеточная концентрация ионов кальция поддерживается на очень низком уровне, за счет первичного активного транспорта ионов кальция из цитоплазмы в окружающую среду или в эндоплазматический ретикулум (в мышце - саркоплазматический ретикулум). Эффективность второго вида транспорта более значительна, поскольку переносчик за один цикл переносит 2 иона кальция. (Б) Натрий-кальциевый обменник. Выброс одного иона кальция из клетки энергетически сопряжен с входом трех ионов натрия.

Ионы хлора могут как закачиваться в клетку, так и выкачиваться из нее. (В) в некоторых нейронах существует первичный активный транспорт хлора наружу. (Г) Калий-хлорный ко-транспорт осуществляет вывод ионов хлора из клетки за счет энергии выходящего тока калия. (Д) В некоторых нейронах и мышечных волокнах транспорт хлора внутрь клетки производится натрий-калий-хлорным ко-транспортером.

саркоплазматического ретикулумов, за исключением некоторых деталей, не отличаются от кальциевых АТФаз плазматической мембраны. Но поскольку при каждом цикле эта АТФаза переносит два иона кальция, ее мощность значительно больше.

Другой транспортной системой, обеспечивающей низкую концентрацию ионов кальция в цитоплазме, является **натрий-кальциевый ионообменник** (рис. 6Б). Вместо энергии расщепленной молекулы АТФ он использует энергию перемещения ионов натрия в направлении их концентрационного градиента, то есть внутрь клетки. В результате работы этого ионообменного транспортного механизма внутрь клетки попадает значительное количество натрия. Существуют, по крайней мере, два варианта натрий-кальциевого обмена. Наиболее часто встречаются обменники типа NCX ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger); при их работе происходит перенос одного иона кальция наружу при переносе трех ионов натрия внутрь клетки. Несмотря на то, что сродство NCX к кальцию ниже, чем у кальциевых АТФаз, общая мощность этого транспортного механизма выше приблизительно в 50 раз, поскольку плотность таких молекул в мембране значительно больше. В мембране палочек сетчатки встречается другой тип натрий-кальциевого обменника. В отличие от NCX, он переносит не три, а четыре иона натрия. В работе этого обменника используется дополнительная энергия движения иона калия, также перемещающегося в направлении своего электрохимического градиента (наружу).

Ионы хлора могут как закачиваться, так и выкачиваться из клетки. Хлорных переносчиков очень много - десятки. Хлорные насосы, выкачивающие ионы хлора из цитоплазмы, обнаружены в нейронах мозга (рис. 6В). Тем не менее, большая часть хлора переносится посредством вторичного активного транспорта. Выход ионов хлора из клетки осуществляется хлор-бикарбонатным и калий-хлорным обменниками (рис. 6Г). В некоторых клетках, например, в волокнах скелетной мышцы, аксоне кальмара, происходит активное накопление ионов хлора. Этот транспорт хлора внутрь клетки зависит от внеклеточных

концентраций калия и натрия и блокируется широко применяемым в медицине мочегонным лекарственным препаратом - фуросемидом (рис. 6Д).

Для анализа молекулярной структуры мембранных ионных транспортных систем были использованы методы биохимии, молекулярной биологии, генетики и клонирования. В настоящее время мы достаточно много узнали об их строении. Оказалось, что они представляют собой очень крупные белки, аминокислотная последовательность которых в определенных участках спирализуется. Такие **спиральные сегменты** встраиваются в мембрану, несколько сегментов объединяются в более крупные конгломераты – так называемые мембранные домены. Из них образуются **субъединицы** белков. При стыковке нескольких субъединиц образуется переносчик.

Большинство переносчиков имеет от 10 до 12 трансмембранных сегментов, которые, как полагают, образует каналоподобные структуры (рис. 7). Перенос веществ через мембрану осуществляется путем попеременного выдвигания посадочных мест во внутриклеточную и внеклеточную среды. Так, натрий-калиевая АТФаза состоит из двух субъединиц: α -субъединица, молекулярная масса которой составляет приблизительно 100 кД, отвечает за ферментативную активность насоса и содержит все места связывания субстрата; меньшая по размеру (35 кД) β -субъединица содержит несколько внеклеточных мест гликозилирования и также необходима для функционирования насоса, однако в чем именно состоит ее роль, неизвестно. Семейство кальциевых насосов плазматической мембраны и эндо- и саркоплазматического ретикулумов представляют собой белковые молекулы с одиночной полипептидной цепочкой молекулярной массы порядка 100 кД, структура которой напоминает α -субъединицу натрий-калиевой АТФазы с увеличенным цитоплазматическим сегментом. В отличие от натрий-калиевой АТФазы, они не нуждаются в β -субъединице для осуществления своей ферментативной активности.

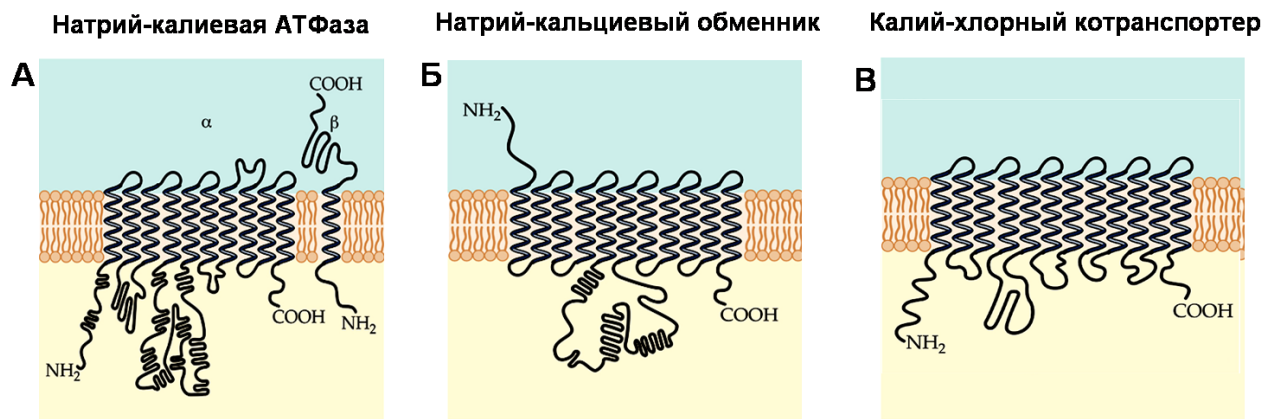


Рис 7. Молекулярная структура транспортных молекул

(А) Натрий-калиевая АТФаза состоит из α -субъединицы, имеющей от 8 до 12 трансмембранных спиральных сегментов, и меньшей по размеру β -субъединицы, пронизывающей мембрану лишь один раз. (Б) Натрий-кальциевые обменники имеют 11 трансмембранных сегментов. (В) Калий-хлорные ко-транспортёры имеют 12 трансмембранных сегментов.

2. Ионные каналы. Пассивный транспорт ионов

Итак, мы с вами уяснили, что на мембране клетки имеется градиент концентрации ионов. Это потенциальная энергия, запасенная в клетке, которая может освободиться, если в мембране появятся отверстия, и тогда возникнут ионные токи через мембрану клетки. Действительно, при помощи специальных трансмембранных белковых структур, в мембране образуются отверстия (поры), сообщающие вне- и внутриклеточную среду. Эти белковые мембранные структуры получили название – **ионные каналы**. Ионные каналы необходимо рассматривать как системы, проводящие электрические ионные токи, а переносчики — как системы обеспечения базовых условий, при которых такое проведение становится возможным.

На рис. 8 показан участок поверхностной мембраны клетки со встроенными в нее ионными каналами. Плотность каналов значительно варьирует в разных

живых клетках. На один квадратный микрометр мембраны приходится от одного до 10 тысяч ионных каналов.

Как выглядит ионный канал? Это крупный белок, образующий центральную водную пору, которая сообщает межклеточное пространство и внутреннюю среду клетки. Канал имеет наружное устье, обращенное в сторону межклеточной среды, и внутреннее, которое обращено в сторону цитоплазмы. Кроме этого, канал имеет ворота - специальный участок, который может конформационно меняться, и перекрывать водную пору. При помощи этого воротного механизма канал может открываться и закрываться.

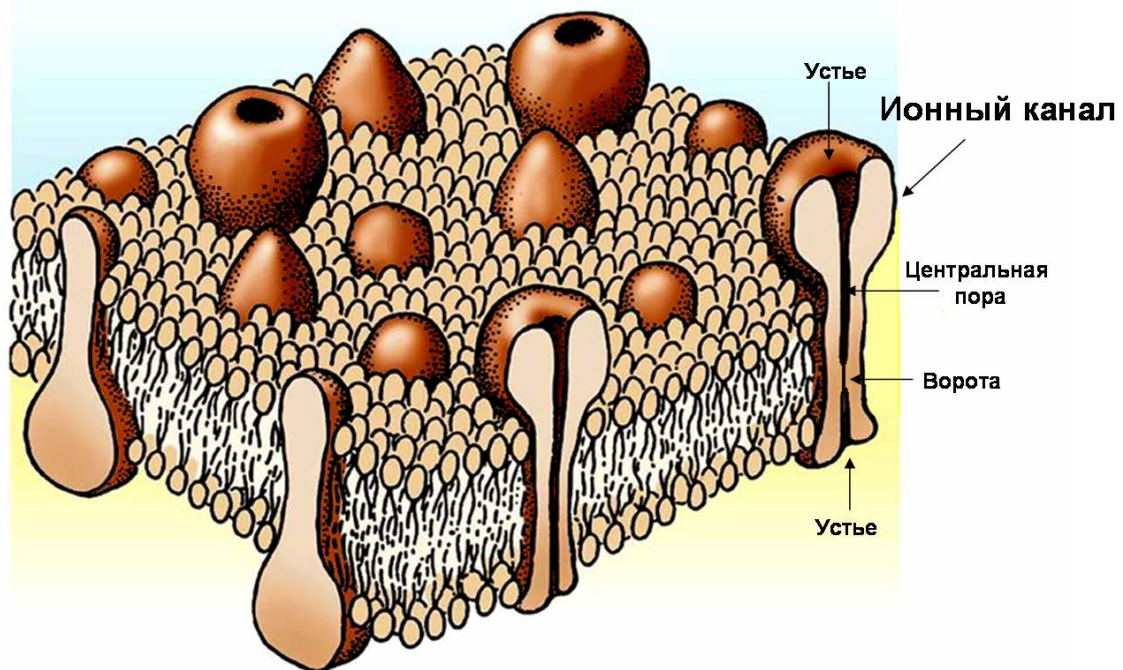


Рис 8. Ионные каналы клеточной мембраны

Некоторые трансмембранные белки образуют ионные каналы. На рисунке схематично представлен ионный канал с центральной водной порой, устьями и воротным механизмом.

А. Виды ионных каналов

Все каналы, имеющиеся в живых тканях, а сейчас мы знаем несколько сотен разновидностей каналов, можно разделить на два основных типа. Первый тип – это **каналы покоя**, которые спонтанно открываются и закрываются без всяких внешних воздействий. Они важны для генерации мембранного потенциала покоя. Второй тип - это так называемые **gate-каналы**, или **воротные каналы** (от слова «ворота»). В покое эти каналы закрыты и могут открываться под действием тех или иных раздражителей. Некоторые разновидности таких каналов принимают участие в генерации потенциалов действия.

Большинство ионных каналов характеризуются **избирательностью** (селективностью), то есть через определенный вид каналов проходят только определенные ионы. По этому признаку различают натриевые, калиевые, кальциевые, хлорные каналы. Селективность каналов определяется размерами поры, размерами иона и его гидратной оболочки, зарядом иона, а также зарядом внутренней поверхности канала. Однако встречаются и неселективные каналы, которые могут пропускать сразу два вида ионов: например, калий и натрий. Есть каналы, через которые могут проходить все ионы и даже более крупные молекулы.

Существует классификация ионных каналов по **способу активации** (рис. 9). Некоторые каналы специфически отвечают на физические изменения в клеточной мембране нейрона. Наиболее яркими представителями этой группы являются **потенциал-активируемые каналы**. Примерами могут служить чувствительные к потенциалу на мембране натриевые, калиевые, кальциевые ионные каналы, которые отвечают за формирование потенциала действия. Эти каналы открываются при определенном потенциале на мембране. Так, натриевые и калиевые каналы открываются при потенциале около -60 мВ (внутренняя поверхность мембраны заряжена отрицательно по сравнению с наружной поверхностью). Кальциевые каналы открываются при потенциале -30 мВ. К группе каналов, активирующихся физическими изменениями, относятся

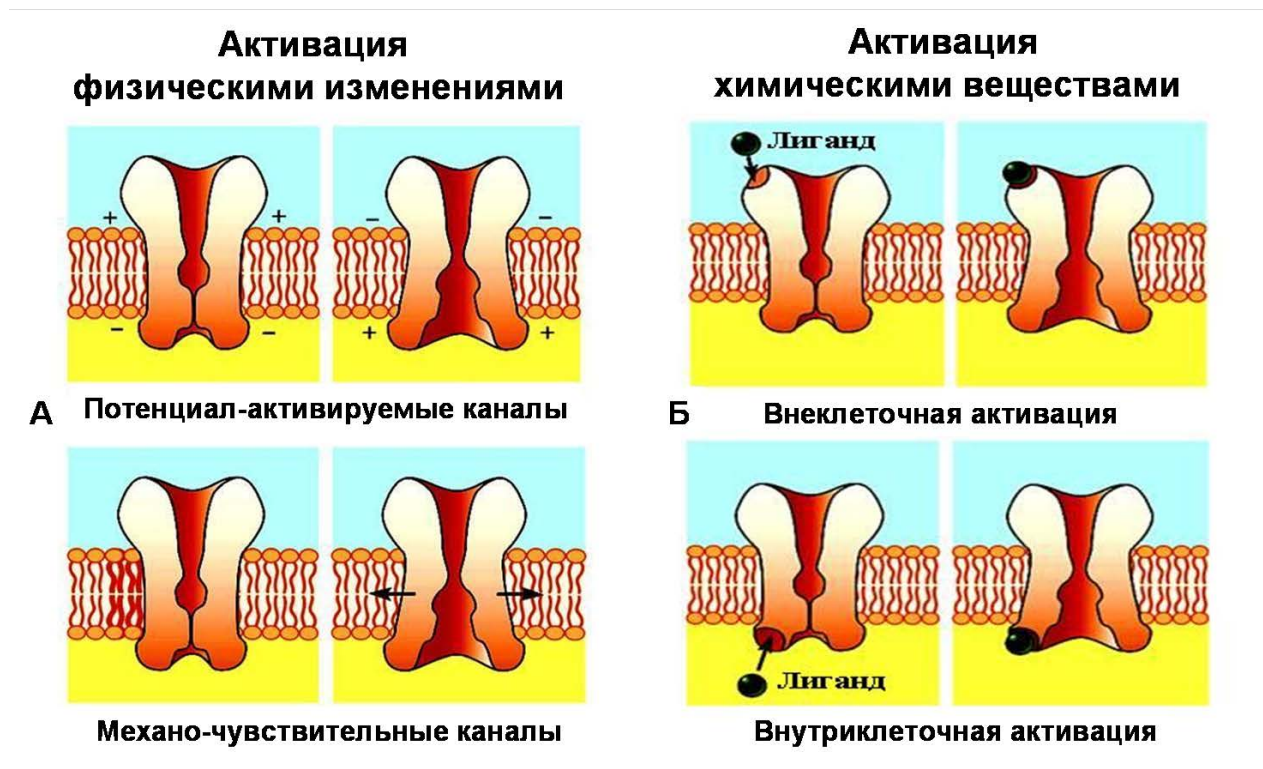


Рис 9. Способы активации ионных каналов

(А) Ионные каналы, активируемые изменением мембранного потенциала или растяжением мембраны. (Б) Ионные каналы, активируемые химическими агентами (лигандами) с внеклеточной, либо с внутриклеточной стороны.

также **механо-чувствительные каналы**, которые отвечают на механические воздействия (растяжение или деформация клеточной мембраны). Ионные каналы другой группы открываются тогда, когда химические вещества активируют специальные рецепторные связывающие центры на молекуле канала. Такие **лиганд-активируемые каналы** подразделяются на две подгруппы, в зависимости от того, являются ли их рецепторные центры внутриклеточными или внеклеточными. Лиганд-активируемые каналы, отвечающие на внеклеточные стимулы, также называют **ионотропными рецепторами**. Такие каналы чувствительны к медиаторам и принимают самое непосредственное участие в передаче информации в синаптических структурах. К лиганд-активируемым каналам, активирующимся с цитоплазматической стороны, относятся каналы, чувствительные к изменениям концентрации

специфических ионов. Например, кальций-активируемые калиевые каналы активируются локальным повышением концентрации внутриклеточного кальция. Такие каналы играют важную роль в реполяризации клеточной мембраны во время завершения потенциала действия. Помимо ионов кальция, типичными представителями внутриклеточных лигандов являются циклические нуклеотиды. Циклический ГМФ, например, отвечает за активацию натриевых каналов в палочках сетчатки. Такой тип канала играет принципиальную роль в работе зрительного анализатора. Отдельным видом модуляции работы канала путем связывания внутриклеточного лиганда является фосфорилирование/дефосфорилирование определенных участков его белковой молекулы под действием внутриклеточных ферментов – протеинкиназ и протеинфосфатаз.

Представленная классификация каналов по способу активации в значительной степени условна. Некоторые ионные каналы могут активироваться только при нескольких воздействиях. Например, кальций-активируемые калиевые каналы чувствительны также к изменению потенциала, а некоторые потенциал-активируемые ионные каналы чувствительны к внутриклеточным лигандам.

Б. Принципы работы ионных каналов

Ионный канал характеризуется двумя состояниями: - **открытым** и **закрытым**, причем переход из закрытого состояния в открытое и обратно происходит практически мгновенно. Особенностью работы канала является то, что он открывается только на определенное время. Время открытого состояния канала меняется случайным образом при каждом открытии, но **среднее время открытого состояния** - характерная величина для данного вида каналов, а все вариации происходят вокруг этого среднего показателя. Обычно ионный канал открывается на 1 миллисекунду.

Как уже было сказано, некоторые ионные каналы открываются достаточно часто даже в покое. Иными словами, вероятность нахождения таких каналов в

открытом состоянии в неактивированной клетке относительно высока. Остальные (воротные) ионные каналы при этом закрыты, то есть вероятность нахождения их в открытом состоянии очень низка. **Активация** таких каналов адекватным стимулом резко увеличивает вероятность открытия. Иногда адекватный стимул может **деактивировать** ионные каналы, бывшие активными в покое. Важно помнить, что активация или деактивация канала означает возрастание или снижение вероятности открытия канала, но не увеличение или уменьшение времени открытого состояния канала. Помимо активации и деактивации, ионный ток через канал регулируется двумя другими факторами. Первый фактор заключается в том, что ионный канал переходит в новое конформационное состояние, в котором обычный активирующий стимул не способен вызвать открытие канала. Для ионных каналов, активируемых потенциалом, такое состояние называется **инактивацией**. Для каналов, отвечающих на химические стимулы, это состояние известно как **десенситизация**. Прекращение ионного тока через канал может возникнуть при **блоке** открытого канала. Такое случается, когда крупная молекула (например, молекула токсина) связывается с ионным каналом и физически закупоривает пору. Другим примером может служить блокирование некоторых каналов ионами, например, магния или кадмия. Эти катионы сами не проникают через ионный канал, но связываются с каналом в области его устья и тем самым мешают проникновению других катионов.

Каждый канал характеризуется проводимостью и проницаемостью. Мы должны представлять эти понятия и понимать разницу между ними. Дело в том, что, величина тока, проходящего через ионный канал, является прямым отражением того, как быстро заряженные ионы движутся через канал. Ток ионов в значительной степени зависит от трансмембранного потенциала. Если концентрация ионов по обе стороны мембраны одинакова, то ток через открытый канал (i), равен $i = \gamma \cdot V_m$, где V_m – потенциал на мембране. Эта формула представляет собой преобразованный закон Ома. Константа γ называется **проводимостью** канала. При одном и том же потенциале на мембране канал с

высокой проводимостью переносит много тока, канал с низкой проводимостью проводит малый ток. Проводимость измеряется в сименсах (См). В нейронах трансмембранный потенциал обычно выражается в милливольтх ($1 \text{ мВ} = 10^{-3} \text{ В}$), токи одиночных ионных каналов в пикоамперах ($1 \text{ пА} = 10^{-12} \text{ А}$), проводимость в пикосименсах ($1 \text{ пСм} = 10^{-12} \text{ См}$).

Проводимость ионного канала зависит от двух факторов. Во-первых, от той легкости, с которой ионы проходят через открытый канал - это внутреннее свойство канала известно как **проницаемость**. Во-вторых, проводимость зависит от концентрации ионов около устьев канала. Ясно, что если ионы отсутствуют как внутри, так и снаружи клетки, то не может быть и тока. При этом становится не важно, какова проницаемость канала и какова разность потенциалов на мембране. Отсюда взаимоотношения между проницаемостью и проводимостью могут быть представлены следующим образом:

Открытый канал — проницаемость. Проницаемость + ионы – проводимость.

Это касается свойств отдельного канала, а если каналов много, то ток через мембрану (I) определяется током через каждый конкретный канал (i), общим количеством каналов (N) и вероятностью того, что данный канал откроется при воздействии (p), $I = i \cdot p \cdot N$.

Проницаемость канала определяется особенностями прохождения ионов через канал. Одним из возможных механизмов движения ионов является диффузия через водную среду, заполняющую пору канала. Представление о диффузии лежало в основе ранних гипотез о процессе ионной проницаемости. Однако для большинства каналов простая диффузия описывает ионную проницаемость недостаточно адекватно. Главная причина в том, что проникающие ионы вступают во взаимодействие с белками ионного канала. Так, в растворе, благодаря наличию заряда, ионы всегда покрыты гидратной оболочкой. Если пора ионного канала достаточно узкая, необходимо некоторое количество энергии, чтобы освободить ион от ассоциированных молекул воды и позволить ему проникнуть через этот участок. Кроме этого, в канале ион

может быть объектом притяжения или отталкивания зарядами стенки канала. Взаимодействие иона со стенками ионного канала может приводить к своеобразным «перескокам» иона с одного центра связывания на другой. Такие взаимодействия иона могут влиять как на ионную избирательность, так и на проницаемость ионных каналов.

В.Измерение токов одиночного канала

Для измерения ионных токов через одиночные каналы был разработан специальный метод, который получил название **пэтч-кламп (patch-clamp)** (рис. 10). Для пэтч-кламп регистрации необходимо, чтобы кончик стеклянной пипетки (микроэлектрода) с внутренним диаметром около 1 мкм плотно контактировал с мембраной исследуемой клетки (рис. 10А). При удачном подведении, благодаря легкому присасыванию, между клеточной мембраной и стеклом пипетки создается сопротивление больше 10^9 Ом (отсюда возник термин «гигаомный контакт»). Когда пипетка соединена с усилителем и осциллографом, можно зарегистрировать небольшие токи, проходящие через участок мембраны, находящийся внутри кончика пипетки. Такая конфигурация пэтч-кламп метода называется «cell attached» (клетка присоединена). Достигнув контакта с клеткой, можно, отводя микропипетку, оттянуть участок мембраны и оторвать его для формирования «inside-out» (внутренняя сторона наружу) конфигурации. В последнем случае цитоплазматическая сторона мембраны будет обращена к раствору, в котором находится клетка. Кроме этого, из конфигурации «cell attached» с помощью небольшого дополнительного присасывания можно прорвать участок мембраны расположенный внутри регистрирующего электрода, обеспечив контакт последнего с цитоплазмой клетки. В этих условиях будут регистрироваться токи в конфигурации «whole-cell» (целая клетка). И, наконец, после получения конфигурации «целая клетка», можно оттянуть электрод от клетки, сформировав из мембраны

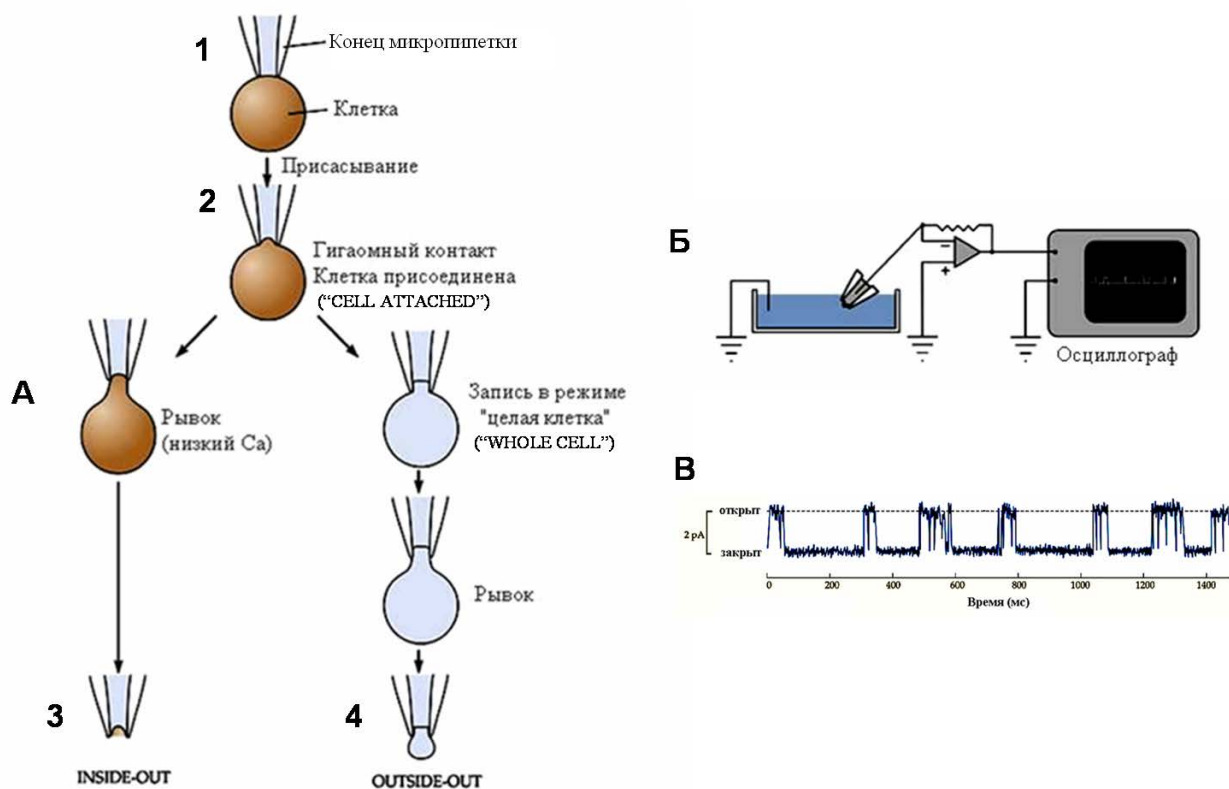


Рис. 10. Регистрация ионных токов через одиночные каналы методом пэтч-кламп

(А) Принцип метода. Тонкая стеклянная пипетка образует плотный контакт с мембраной (1), который благодаря легкому понижению давления превращается в гигаомный контакт (2). Оттягивание мембраны с последующим отрывом ее фрагмента приводит к конфигурации *inside-out* (3). Другой вариант основан на последовательном образовании конфигурации «whole cell» (целая клетка) и затем — «outside-out» (4). (Б) Регистрация токов отдельных ионных каналов. Пипетка с оторванным участком мембраны клетки помещается в раствор. Токи текущие через одиночный канал усиливаются и регистрируются с помощью осциллографа. (В) Пример токов одиночных ионных каналов, зарегистрированных методом пэтч-кламп. Видно, что каналы быстро открываются и закрываются. Время открытого состояния канала колеблется вокруг определенного среднего значения.

сначала тонкую перемычку, а затем, после отделения этого участка, получить конфигурацию «outside-out» (наружная сторона наружу). Каждая из этих конфигураций имеет свои преимущества. Их использование зависит от типа изучаемого ионного канала и той информации, которую мы хотим получить в данном эксперименте. При использовании пэтч-кламп метода регистрируемые события состоят из прямоугольных токовых сигналов, отражающих процессы открытия и закрытия одиночных ионных каналов (рис. 10 Б, В).

Пэтч-кламп метод предоставляет новые уникальные возможности для изучения поведения ионных каналов. Во-первых, изоляция маленького участка мембраны позволяет наблюдать активность всего нескольких ионных каналов, а не тысяч, которые активируются в целой клетке. Во-вторых, высокое сопротивление контакта дает возможность регистрировать даже крайне малые токи. В результате мы имеем возможность точного измерения амплитуд токов одиночных ионных каналов и можем провести анализ кинетики их работы. Метод позволяет как угодно менять потенциалы на мембране, а также ионный состав и растворы как с наружной, так и внутренней стороны мембраны. В 1991 г. за изобретение этого метода и описание работы одиночных ионных каналов известным физиологам Эрвину Нейеру и Берту Сакману была присуждена Нобелевская премия (рис. 11).



Нобелевская премия 1991 года в области физиологии и медицины



Эрвин Нейер



Берт Сакманн

**«За открытия в области работы
одиночных ионных каналов»**

Рис 11. Лауреаты Нобелевской премии 1991 года Э. Нейер и Б. Сакман

Г. Движение ионов через открытый канал

Какие силы обеспечивают движение ионов через открытый ионный канал? Передвижение ионов в канале обеспечивается наличием **химической движущей силы**, которая определяется разностью концентрации снаружи и внутри клетки, и **электрической движущей силы**, зависящей от потенциала на мембране. Проследим это на калиевом канале (рис. 12А). Если калиевый канал открылся, и на мембране существует концентрационный градиент для калия (концентрация ионов калия в цитоплазме намного выше, чем внутри клетки (рис. 4)), то ионы калия начинают двигаться через канал и выходят из клетки. Ионы калия несут положительные заряды, поэтому снаружи мембрана заряжается положительно, а потеря положительных зарядов клеткой ведет к появлению отрицательного заряда на внутренней поверхности мембраны. В результате этого на мембране формируется разность потенциалов (с минусом внутри). Как только это произошло, возникает электрическая движущая сила, которая заставляет ионы калия входить в клетку, поскольку положительный заряд с наружной поверхности мембраны отталкивает, а отрицательный внутри притягивает положительно заряженные ионы калия. В конце концов, химическая сила уравнивается электрической, и движение ионов калия через канал прекращается. Электрический потенциал на мембране, который прекращает движение ионов калия через калиевый канал по градиенту концентрации, носит название **равновесного потенциала** для калия. Учитывая заряд иона и его концентрационный градиент, аналогичные построения можно осуществить для ионов натрия, кальция и хлора, для которых в мембране есть селективные каналы (рис. 12А). Еще раз хочется отметить, что равновесный потенциал зависит только от концентрации ионов по обе стороны мембраны, но не от свойств ионного канала или механизма проникновения ионов через канал. Экспериментальные определения в скелетных мышцах млекопитающих показали (рис 12Б), что равновесный потенциал для ионов калия составляет -95 мВ (знак показывает заряд на внутренней поверхности мембраны), ионов

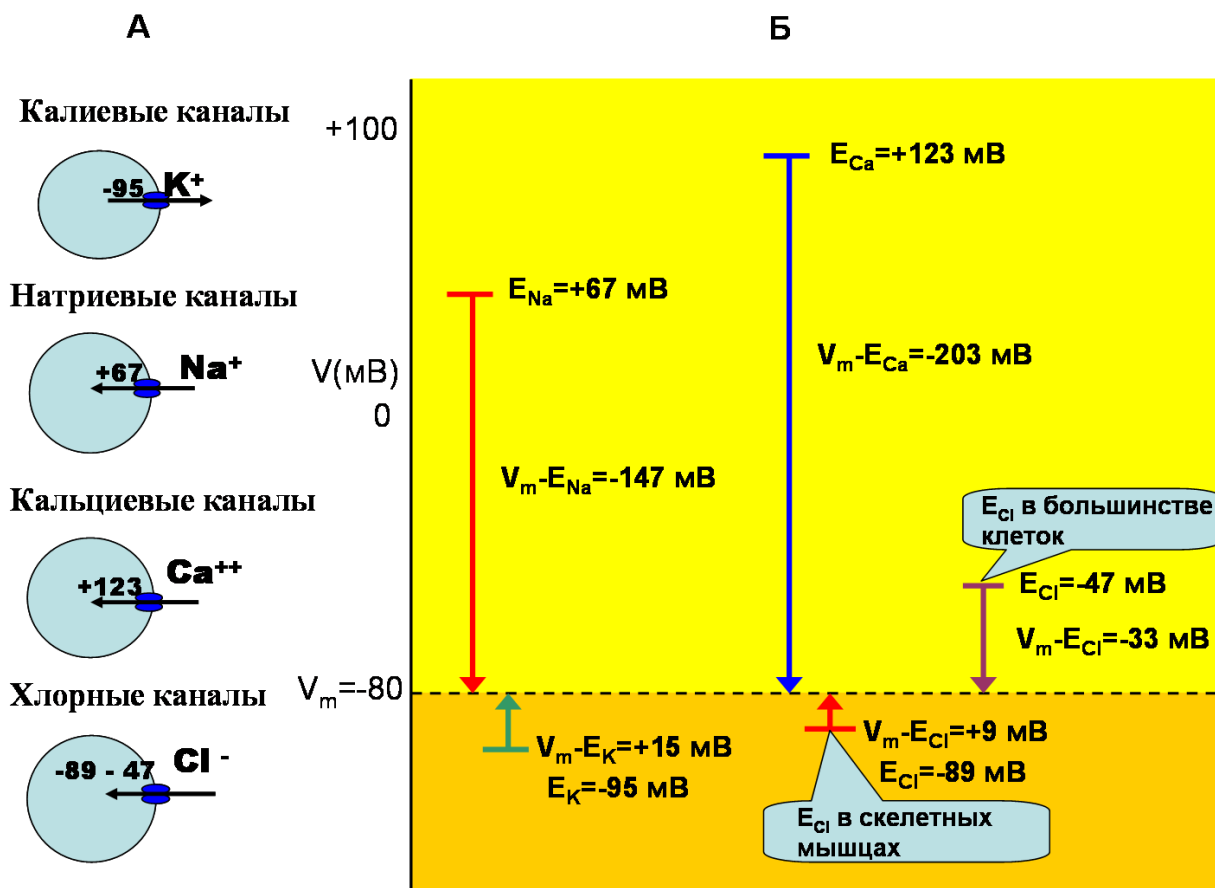


Рис 12. Электрохимические движущие силы для различных ионов

(А) При открытии калиевых, натриевых, кальциевых и хлорных каналов ионы двигаются через мембрану по концентрационному градиенту до тех пор, пока на мембране не возникнет потенциал, прекращающий движение иона (равновесный потенциал). Для каждого иона представлен равновесный потенциал (знак указывает заряд на внутренней поверхности мембраны).

(Б) Значения равновесных потенциалов (короткие горизонтальные линии для различных ионов) Вертикальными стрелками показана результирующая движущая сила для каждого иона при мембранном потенциале -80 мВ (пунктирная линия). Значения рассчитаны для скелетной мышцы млекопитающих. Также дано типичное значение E_{Cl} для не-мышечных клеток. Для ионов натрия и кальция стрелки направлены вниз, что говорит о том, что при таких значениях мембранного потенциала открытие каналов вызовет вход ионов. Для ионов калия стрелка направлена вверх, то есть движущая сила вызывает выход ионов. В скелетно-мышечных клетках движущая сила для ионов хлора направлена наружу, а в других клетках - внутрь.

натрия +67мВ, ионов кальция +123 мВ. Для хлора равновесный потенциал составляет –89мВ. Интересно, что для других возбудимых клеток, в частности нейронов, равновесный хлорный потенциал менее положителен и составляет от -40 до -50 мВ. Равновесный потенциал можно и рассчитать. Немецким физическим химиком Вальтером Нернстом в 1888 году получено уравнение, для определения равновесного потенциала:

$$E_x = \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \cdot \ln \frac{[X]_o}{[X]_i},$$

где $[X]_o$ и $[X]_i$, - концентрации иона снаружи и внутри клетки, F - константа Фарадея, R - газовая постоянная, T - температура по Кельвину, z - валентность иона. Эту формулу можно применить для расчета потенциала равновесия для любого иона.

На основе представлений о равновесном потенциале сразу становится понятным, какая же сила в естественных условиях обеспечивает движение ионов через каналы. Формула $i = \gamma \cdot V$, представленная ранее, указывает на то, что ионный ток, текущий через канал, пропорционален потенциалу на мембране. Однако она верна только без учета градиента концентрации и равновесного потенциала для иона. Действительно, если мы создадим на мембране клетки потенциал –95 мВ, то никакого ионного тока через калиевые каналы не будет, поскольку этот потенциал равен калиевому равновесному потенциалу, не будет тока и через натриевые каналы при потенциале +67мВ и кальциевые каналы при +123мВ. Следовательно, ток через канал пропорционален разнице между значением мембранного потенциала (V_m) и значением равновесного потенциала для иона (E): $i = \gamma \cdot (V_m - E)$. Эта разница ($V_m - E$) и является **итоговой движущей силой** для иона. На рис. 12 Б показаны итоговые движущие силы для определенных ионов при потенциале на мембране -80 мВ: для ионов калия она составляет +15 мВ, ионов натрия -147 мВ, ионов кальция -203 мВ, ионов хлора от +9 до – 47 мВ. Из представленных

данных следует несколько заключений. Во-первых, итоговая движущая сила зависит от потенциала на мембране. Во-вторых, знак указывает направление движения ионов через открытый канал (плюс - выход ионов из клетки, а минус - вход). В-третьих, абсолютное значение итоговой движущей силы пропорционально величине ионного тока через канал.

Д. Строение ионных каналов

На рис. 13 показана молекулярная структура трех основных типов потенциал-активируемых ионных каналов возбудимых клеток, участвующих в формировании электрических сигналов – натриевых, кальциевых и калиевых каналов. Первым был идентифицирован натриевый канал, который был выделен из электрического органа угря. Основная субъединица натриевого канала (α -субъединица) состоит из четырех повторяющихся доменов, каждый домен состоит из шести спиральных сегментов, которые проницают мембрану. Эта большая структура сворачивается с образованием поры канала за счет наружных аминокислотных петель между сегментами 5 и 6. Сенсор потенциала, который чувствителен к потенциалу на мембране и обеспечивает открытие канала, располагается в четвертом сегменте, так что у натриевого канала четыре сенсора потенциала. Кроме этого, в натриевый канал входит несколько других субъединиц (β и γ). Кальциевый канал очень близок по строению к натриевому каналу, но пропускает ионы кальция. В отличие от кальциевых и натриевых каналов, калиевый канал состоит из четырех отдельных белковых молекул (α -субъединиц), каждая из которых аналогична домену кальциевого или натриевого канала. Похожесть в строении каналов даже привела к мысли, что все каналы произошли из одного источника.

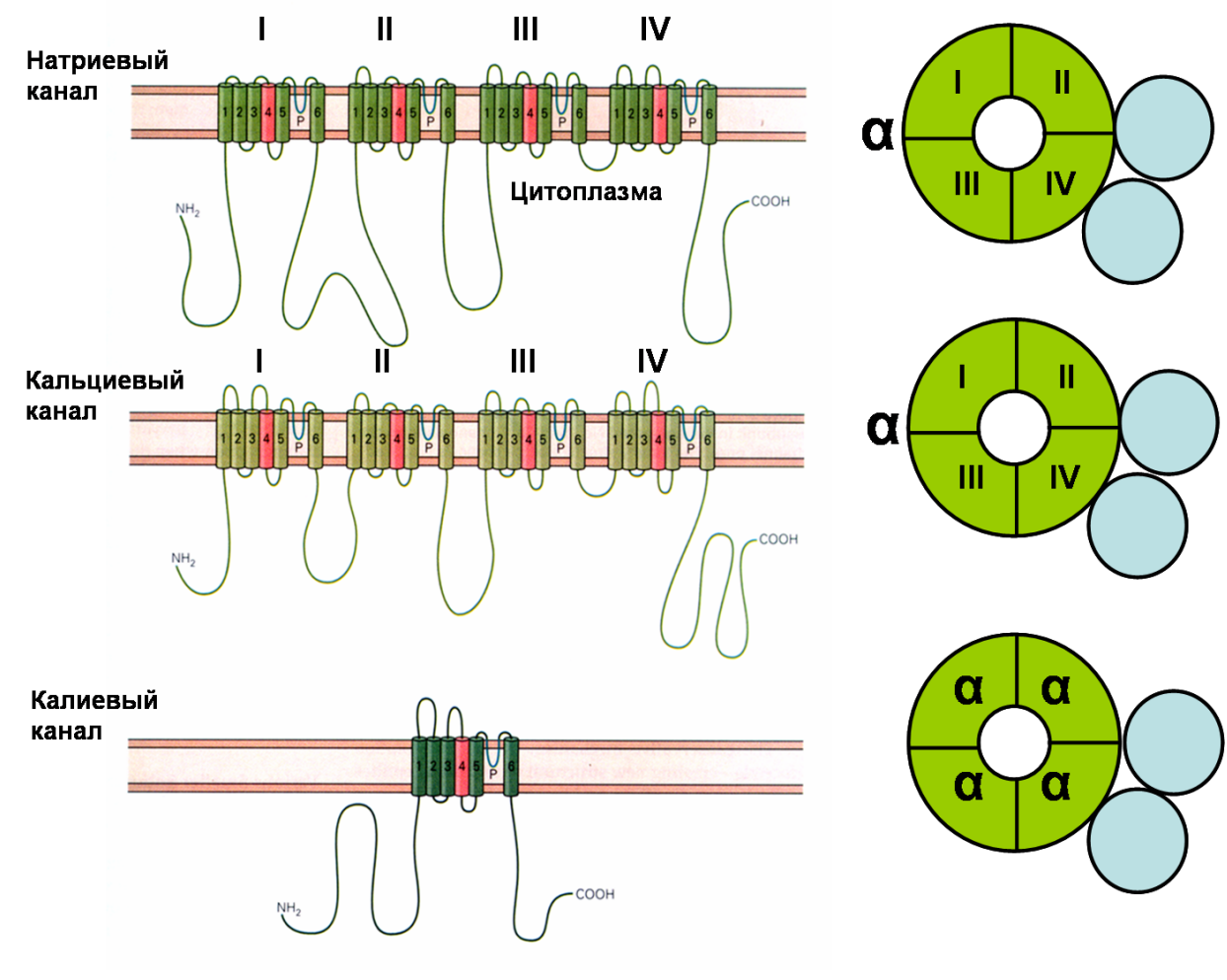


Рис 13. Структура основных потенциал-активируемых ионных каналов

Порообразующая α -субъединица потенциал-активируемых натриевых и кальциевых каналов представляет собой одну белковую молекулу с четырьмя доменами (I-IV), соединенными внутриклеточными аминокислотными петлями. Каждый домен имеет 6 спиральных трансмембранных сегментов. Сворачивание α -субъединицы образует канал. α -субъединица калиевого канала похожа на одиночный домен натриевого или кальциевого канала. В этом случае канал образуется за счет стыковки 4 α -субъединиц. Справа показано схематическое изображение каналов (вид сверху). Указано взаимное расположение порообразующих (α) и вспомогательных (регуляторных) субъединиц (малые кружки).

Е. Прикладные медицинские аспекты.

Наши знания о строении и функции ионных каналов широко используются в современной медицине. В этой связи нельзя не сказать о **блокаторах** потенциал-активируемых ионных каналов. Некоторые блокаторы являются биологическими токсинами. Так, тетродотоксин, специфический блокатор натриевых каналов, представляет собой сильный яд, содержащийся в яичниках и других органах рыбы фугу. Японцы считают эту рыбу деликатесом, но если ее неправильно приготовить, то можно отравиться и погибнуть в результате нарушения генерации возбуждения в нервной системе. Сакситоксин – тоже блокатор натриевых каналов. Он синтезируется морским планктоном и накапливается в питающихся планктоном моллюсках, обитающих у берегов Аляски. По силе действия этот яд сравним с тетродотоксином; употребление в пищу всего одного такого моллюска (сырым или в вареном виде) может привести к смертельному исходу. Блокаторами натриевых каналов является растительный алкалоид кокаин, а также новокаин, лидокаин, тетракаин, прокаин. Для потенциал-активируемых калиевых каналов также было найдено несколько блокирующих их веществ. Так, ибериотоксин, яд скорпиона, является блокатором некоторых видов калиевых каналов. Калиевые токи через каналы также эффективно блокируются тетраэтиламонием, 4-аминопиридином и диаминопиридином. Блокаторами кальциевых каналов являются многие двухвалентные катионы (ионы кобальта, никеля, кадмия и др.), а также химические агенты, производные дигидропиридинов, фенилалкиламинов, бензотиазепинов.

Многие блокаторы ионных каналов применяются как лекарственные средства. В частности, блокаторы кальциевых каналов (верапамил и др.) используются для лечения гипертонии, блокаторы калиевых каналов применяются при лечении заболеваний мышечной и нервной системы. Блокаторы натриевых каналов используются для местной анестезии в хирургии и стоматологии.

Несколько слов о заболеваниях, связанных с генетическими дефектами работы ионных каналов, которые объединяются под названием **каналопатий**. Эти заболевания обусловлены неправильной аминокислотной последовательностью в молекулах канальных субъединиц и нарушением процессов активации, инактивации, потенциал-зависимости и проводимости каналов. Генетические дефекты ионных каналов сопровождаются нарушением процессов возбуждения в мозге и мышечной системе. С каждым годом таких заболеваний диагностируется все больше и больше. Например, с дефектами работы натриевых каналов связаны такие заболевания, как гиперкалемический паралич, миотонии и некоторые формы эпилепсии. Дефекты калиевых каналов вызывают глухоту, атаксию и конвульсии у детей. Калиевые каналопатии вызывают злокачественную гипертермию, периодические параличи, врожденную ночную слепоту и некоторые виды мигрени. С дефектами работы натриевых и калиевых каналов связаны некоторые заболевания сердца, например, синдром длинного интервала Q-T. Этот синдром, сопровождающийся удлинением Q-T интервала на электрокардиограмме, может приводить к внезапной смерти у человека.

V. Мембранный потенциал покоя

Мембранный потенциал покоя является результатом разделения зарядов относительно клеточной мембраны, в котором принимают участие ионы. При этом положительные заряды концентрируются на наружной поверхности мембраны, а отрицательные заряды - на внутренней поверхности (рис. 14А). Мембранно-ионную теорию происхождения мембранного потенциала покоя в начале прошлого века (1902 год) создал Юлиус Бернштейн, ученик Дюбуа-Реймона. Разделение зарядов сохраняется благодаря тому, что билипидный слой мембраны препятствует диффузии ионов. Разделение зарядов приводит к возникновению разности электрических потенциалов на мембране. Мембранный потенциал покоя (V_m) можно определить как $V_m = V_i - V_o$,

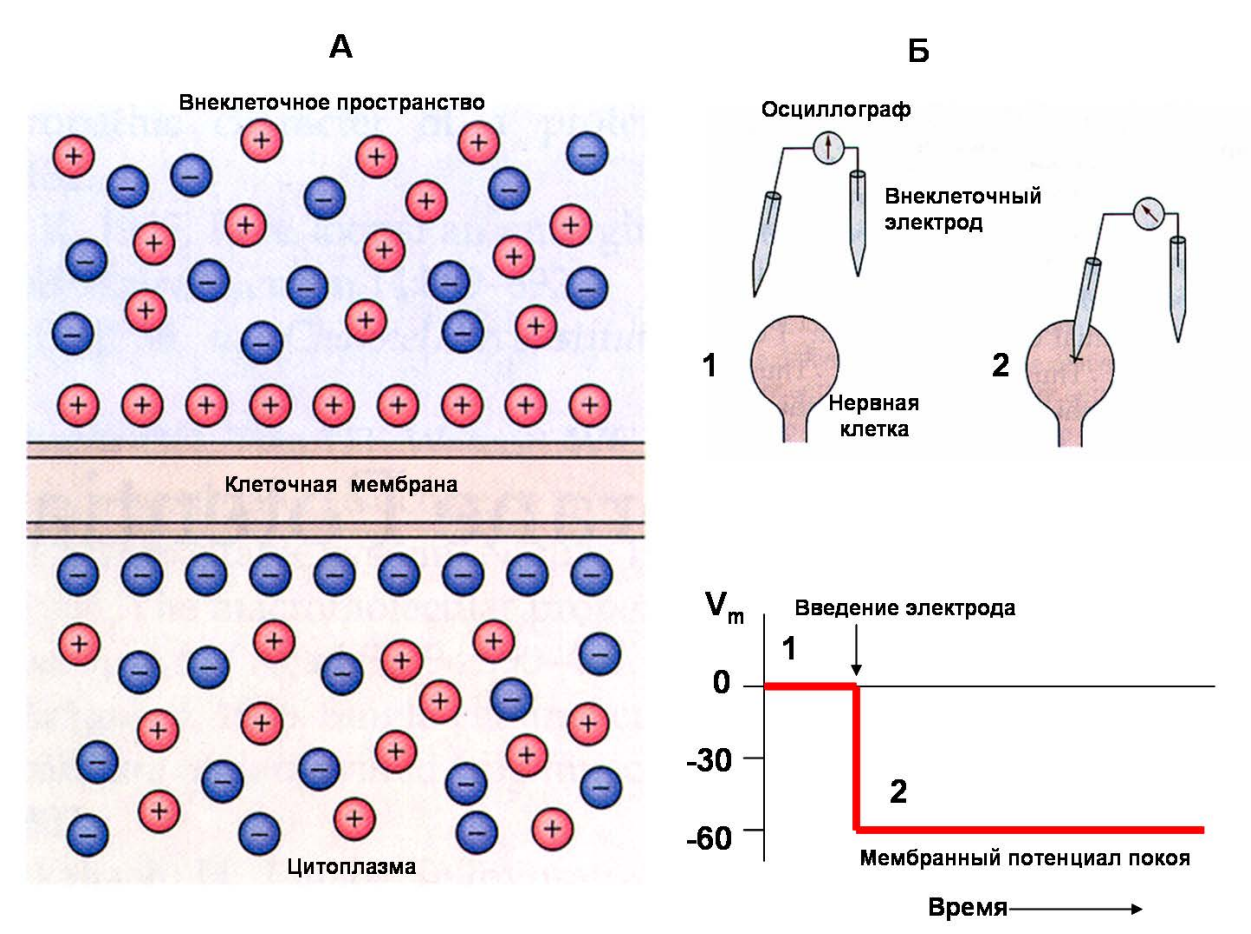


Рис 14. Мембранный потенциал покоя. Регистрация мембранного потенциала

(А) Мембранный потенциал покоя представляет собой перераспределение зарядов относительно клеточной мембраны, причем на наружной поверхности мембраны концентрируются положительно заряженные, а на внутренней – отрицательно заряженные ионы..

(Б) Регистрация мембранного потенциала покоя с использованием стеклянных микроэлектродов. 1- оба электрода находятся во внеклеточном растворе. 2- один электрод вкалывается в клетку. Внизу показано, что введение микроэлектрода в клетку приводит к смещению регистрируемого потенциала в сторону отрицательных значений. Мембранный потенциал покоя равен -60 мВ.

где V_i - потенциал внутри клетки, V_o - снаружи. Поскольку потенциал снаружи клетки можно принять за ноль, то мембранный потенциал покоя равен V_i . Поэтому мембранный потенциал покоя измеряется в отрицательных значениях, указывающих на то, что внутренняя поверхности мембраны заряжена отрицательно по сравнению с наружной.

1.Регистрация мембранного потенциала

В настоящее время наиболее часто для регистрации мембранного потенциала покоя используют стеклянные **микроэлектроды**. Первое их применение Лингом и Джерардом в 1949 году было не менее важным событием, чем введение пэтч-кламп метода три десятилетия спустя. Этот метод, кроме точного измерения мембранного потенциала покоя клетки, обеспечил регистрацию потенциалов действия, а также синаптических сигналов в мышечных волокнах и нейронах.

Метод внутриклеточной микроэлектродной регистрации проиллюстрирован на рис.14 Б. Острый стеклянный микроэлектрод (микропипетка), диаметр кончика которого не превышает 0.5 мкм, заполненный концентрированным солевым раствором (например, KCl), подводится к клетке, второй электрод помещается во внеклеточную жидкость (рис.14 Б1). Оба электрода присоединяются к усилителю и осциллографу для регистрации потенциала. В этом случае осциллограф регистрирует отсутствие какого-либо потенциала, поскольку оба электрода находятся снаружи клетки. В момент прокалывания микроэлектродом клеточной мембраны, приводящего к проникновению его в клеточную цитоплазму, осциллограф регистрирует появление отрицательного потенциала, соответствующего мембранному потенциалу покоя (рис. 14 Б 2). При удачном проникновении в клетку мембрана обхватывает внешнюю поверхность пипетки, благодаря чему цитоплазма остается изолированной от внеклеточной жидкости. Мембранный потенциал покоя широко колеблется в различных клетках (от -5 до -100 мВ). Наибольшие значения мембранного

потенциала покоя зарегистрированы в возбудимых клетках: нервных, мышечных и секреторных, в которых его величина составляет от -60 до -90 мВ.

Мембранный потенциал может быть искусственно изменен при пропускании электрического тока через мембрану. Для иллюстрации возьмем вторую пару аналогичных электродов, подсоединенных к источнику тока, один из которых введем в клетку (рис. 15). При включении источника тока на короткое время через мембрану клетки будет течь электрический ток, несущий определенные заряды. Если ток имеет выходящее направление (внутриклеточный токовый электрод положителен по отношению к внеклеточному), то внутренняя поверхность мембраны становится более позитивной, а наружная - более негативной (рис. 15А). Это приведет к уменьшению зарядов на мембране и снижению мембранного потенциала. Уменьшение мембранного потенциала носит название **деполяризации**. Кратковременная деполяризация, возникающая при слабых толчках тока, называется **электротоническим потенциалом**, величина которого зависит от силы тока. В отличие от толчков тока, которые его вызывают, электротонический потенциал имеет медленное нарастание и медленный спад, что связано наличием в мембране сопротивления и емкости (RC цепочки). Изменение направления пропускаемого тока (внутриклеточный электрод отрицателен по сравнению с внеклеточным) ведет к увеличению отрицательного заряда на внутренней поверхности мембраны, и мембранный потенциал увеличивается (рис. 15 Б). Это увеличение абсолютного значения мембранного потенциала обозначается как **гиперполяризация**. Величина гиперполяризации также зависит от силы пропускаемого тока.

В вышеприведенных экспериментах сдвиг мембранного потенциала происходит из-за перераспределения зарядов на мембране при пропускании электрического тока. В естественных условиях очень часто деполяризация или гиперполяризация мембраны возбудимых клеток возникает при открытии потенциал-активируемых или лиганд-активируемых ионных каналов. Так, открытие натриевых или кальциевых каналов и поступление положительно

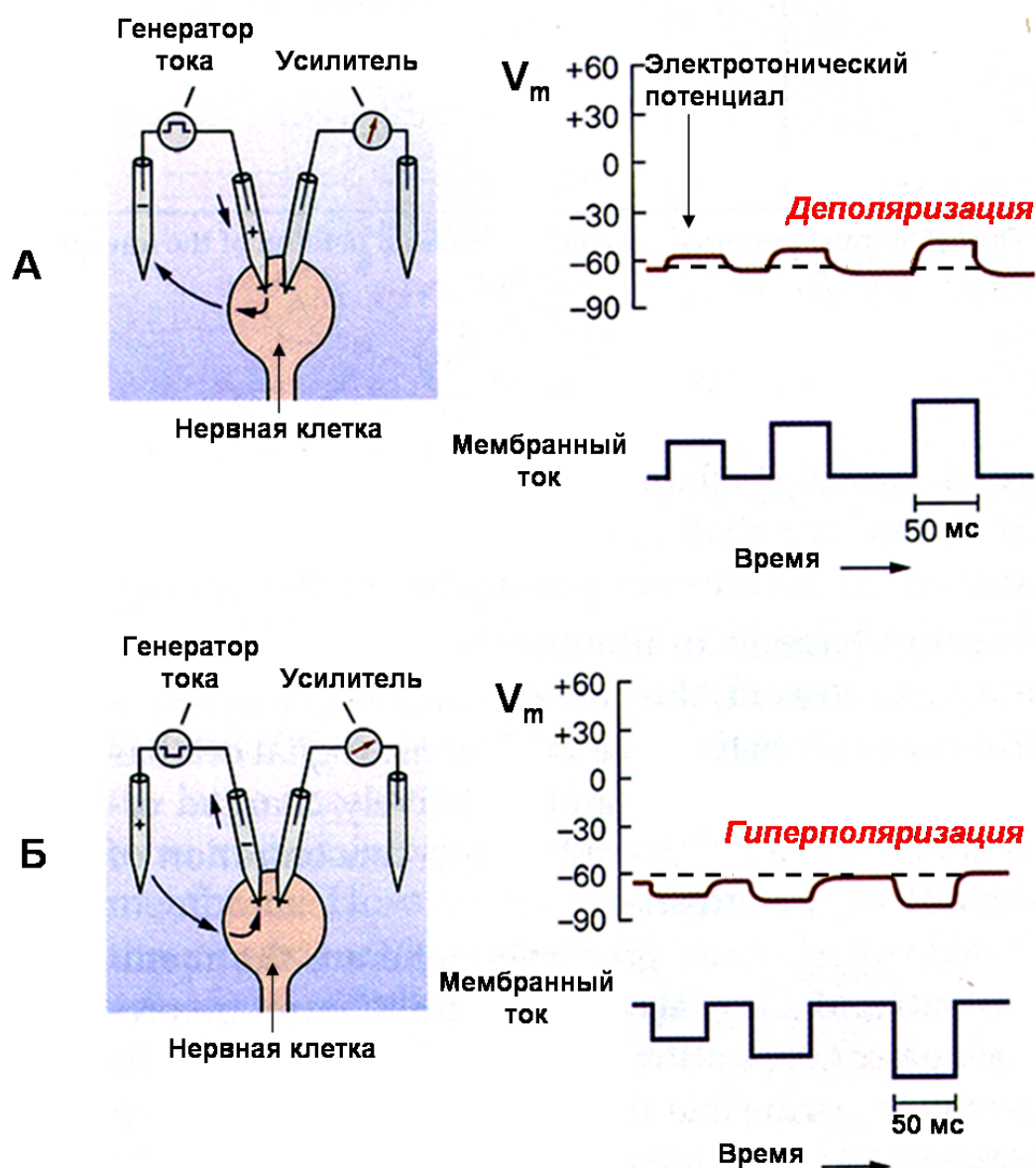


Рис 15. Изменения мембранного потенциала при пропускании электрического тока

(А) Один внутриклеточный микроэлектрод введен в клетку и регистрирует мембранный потенциал покоя, как показано на рис.14Б. Другой внутриклеточный микроэлектрод также введен в клетку и служит для пропускания слабых кратковременных толчков тока от генератора. Если пропускаемый ток имеет выходящее направление, то за счет перераспределения зарядов на мембране мембранный потенциал клетки уменьшается (деполяризация). Величина деполяризации зависит от силы тока.

(Б) Аналогичная схема, но пропускаемый ток имеет входящее направление. В этом случае мембранный потенциал увеличивается (гиперполяризация).

заряженных ионов в клетку будет приводить к деполяризации. Открытие калиевых каналов и выход положительно заряженных ионов калия из клетки вызовет гиперполяризацию. Открытие хлорных каналов нервных клеток обычно сопровождается поступлением отрицательно заряженных ионов хлора в цитоплазму и вызывает гиперполяризацию мембраны.

2.Ионные механизмы мембранного потенциала покоя

Ранее было сказано, что концентрации ионов снаружи и внутри живой клетки значительно отличаются. Далее мы узнали, что движение ионов через мембрану по градиенту концентрации возможно только через специализированные белковые структуры - каналы, которые при открытии способны пропускать определенных ионы. Оказалось, что именно передвижения заряженных ионов по концентрационному градиенту через ионные каналы мембраны и создает разделение зарядов на мембране, обеспечивая формирование мембранного потенциала покоя. При этом движение ионов происходит через определенный тип каналов, открывающихся в покое, без каких-либо воздействий. Следовательно, возникновение мембранного потенциала является пассивным процессом, который не требует затрат энергии. Однако, энергия нужна на этапе создания градиента концентрации для ионов при работе ионных транспортных систем.

В различных живых клетках мембранный потенциал покоя формируется по-разному. В глиальных клетках в его формировании принимают участие только ионы калия, которые двигаются через калиевые каналы. В большинстве нервных клеток мембранный потенциал возникает при движении ионов калия и натрия через соответствующие каналы. Очень редко в формировании мембранного потенциала покоя принимают участие и ионы хлора. Давайте последовательно разберем эти варианты.

Итак, в глиальных клетках в состоянии покоя открыты **только калиевые каналы** (рис. 16А). В этом случае ионы калия начинают двигаться благодаря химической движущей силе по концентрационному градиенту из цитоплазмы в

окружающую среду. Они концентрируются около наружной поверхности мембраны и формируют положительный заряд. Внутри отрицательный заряд формируется за счет органических анионов и в некоторых клетках за счет приближения анионов хлора к внутренней поверхности мембраны. Как только сформировался заряд на мембране, появляется электрическая движущая сила, заставляющая ионы калия входить внутрь клетки. В конце концов, устанавливается равновесие этих сил, и ток ионов калия через каналы прекращается. Калиевый ионный ток через мембрану можно представить следующим образом: $I_K = g_K(V_m - E_K)$, где V_m – мембранный потенциал, g_K – проводимость мембраны для ионов калия (сумма проводимостей всех открытых калиевых каналов), E_K – равновесный потенциал для иона калия. Поскольку в условиях равновесия калиевый ток равен нулю, то $V_m = E_K$.

Что же происходит в нервных клетках, где в состоянии покоя открыты **два вида каналов: натриевые и калиевые**? Построим систему, состоящую из трех калиевых каналов (рис.16Б). При их открытии, как и в случае глиальных клеток, формируется мембранный потенциал (около -90 мВ), равный калиевому равновесному потенциалу. Теперь в систему включим один открытый натриевый канал. Поскольку на мембране имеется значительный концентрационный градиент для ионов натрия, и уже существует разность потенциалов, возникают химическая и электрическая движущие силы направленные внутрь, заставляющие ионы натрия входить в клетку, то есть появляется входящий натриевый ионный ток через открытые натриевые каналы. Поскольку ионы натрия несут положительный заряд, то количество отрицательных зарядов на внутренней поверхности мембраны будет уменьшаться, а мембранный потенциал снижаться. Уменьшение потенциала приведет к уменьшению электрической движущей силы, которая заставляет ионы калия входить в клетку, и преобладанию химической силы, заставляющей их выходить из клетки. В этом случае через мембрану начинают течь два разнонаправленных тока – входящий, деполяризующий натриевый $I_{Na} = g_{Na}(V_m - E_{Na})$ и выходящий, гиперполяризующий калиевый $I_K = g_K(V_m - E_K)$;

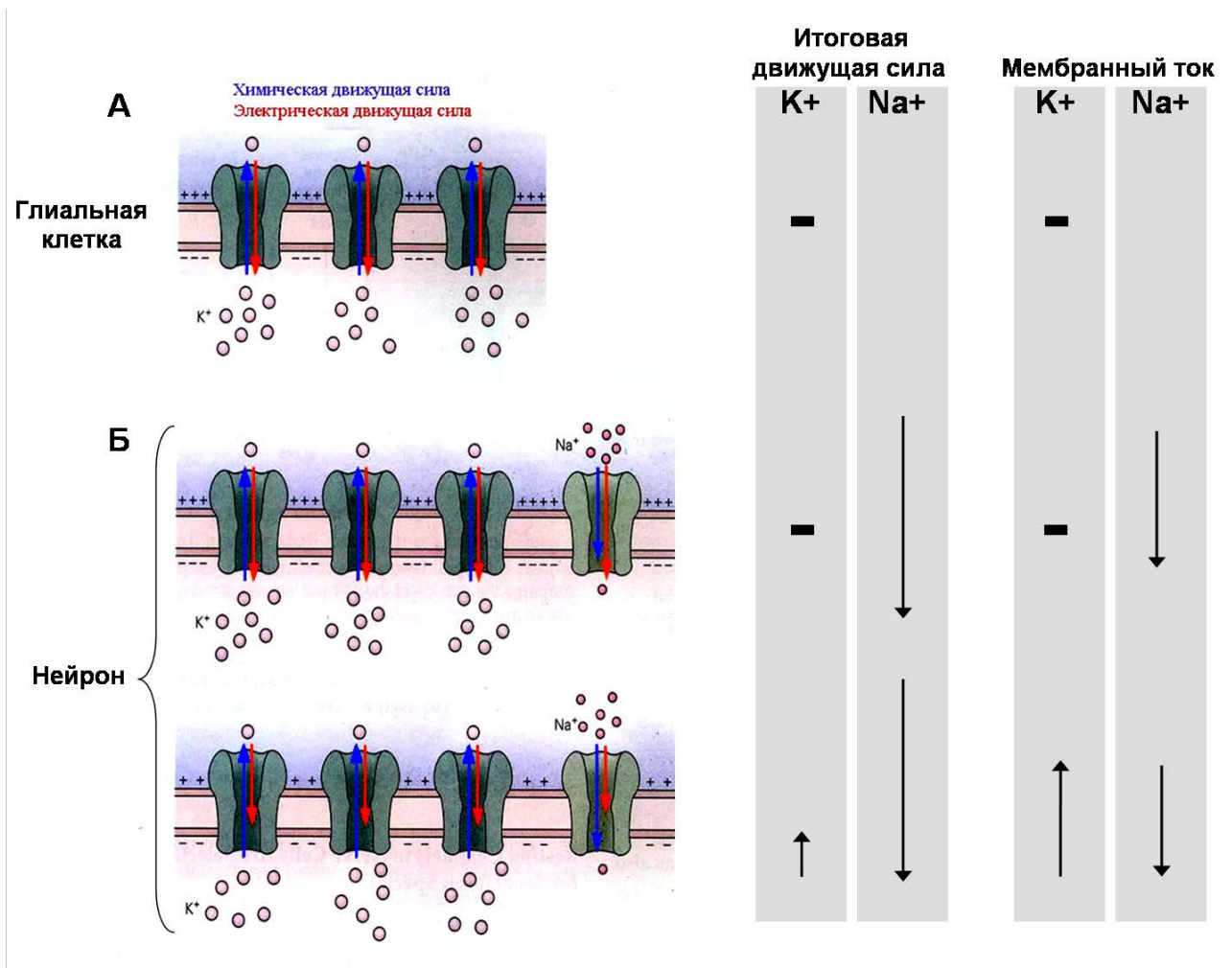


Рис 16. Ионные механизмы возникновения мембранного потенциала покоя

В левой части рисунка схематически показаны калиевые и натриевые каналы покоя клеточной мембраны. Синими стрелками показаны химические движущие силы, красными – электрические. Длина стрелки отражает относительную величину движущей силы. В правой части рисунка показаны итоговые движущие силы и мембранные токи для ионов калия и натрия. Проиллюстрированы две ситуации:

(А) Глиальные клетки. В покое открыты только калиевые каналы. Химическая и электрическая силы уравновешены, калиевый ток через каналы отсутствует, мембранный потенциал равен равновесному потенциалу для ионов калия, $V_m = E_K$.

(Б) Нейроны. В покое наряду с калиевыми каналами открыто небольшое количество натриевых каналов. На фоне сформированного калиевыми каналами мембранного потенциала возникают электрическая и химическая движущие силы для ионов натрия, через натриевый канал и появляется входящий натриевый ток, который деполяризует клетку (верхняя схема). Деполяризация вызывает появление движущей силы для ионов калия наружу и возникновение выходящего калиевого тока. Постепенно мембранный потенциал перемещается на новый уровень, при котором $I_{Na} = I_K$ (нижняя схема). Поскольку суммарная проводимость калиевых каналов гораздо больше, чем натриевых, сравнительно небольшая итоговая движущая сила для калия обеспечивает ток такой же величины и противоположный по направлению, что большая итоговая движущая сила для натрия. В этом состоянии ни ионы натрия, ни ионы калия не находятся в равновесии, однако итоговый поток зарядов через мембрану равняется нулю.

g_K , g_{Na} – проводимости мембраны для ионов калия и натрия, E_K , E_{Na} – равновесные потенциалы для ионов калия и натрия. В конечном итоге возникнет равновесие, когда эти два тока становятся равны и противоположны по направлению: $I_K = -I_{Na}$. При этом установится новое значение мембранного потенциала покоя (V_m) на более низком уровне:

$$V_m = \frac{g_K \cdot E_K + g_{Na} \cdot E_{Na}}{g_K + g_{Na}}$$

Отсюда в нервных клетках, по сравнению с глиальными, мембранный потенциал покоя несколько ниже (примерно -60 мВ), меньше калиевого равновесного потенциала. Но никогда в нервных клетках мембранный потенциал покоя не достигнет натриевого равновесного потенциала (+67 мВ), поскольку количество открытых калиевых и натриевых каналов неодинаково. На каждые 1000 калиевых каналов приходится всего 20-30 натриевых. В некоторых клетках количество открытых натриевых каналов больше, поэтому мембранный потенциал покоя в них еще ниже (около -40 мВ).

Что касается роли ионов хлора в формировании мембранного потенциала покоя, то она неоднозначна в различных клетках. Во многих клетках ионы хлора пассивно распределяются по обе стороны мембраны, токи через хлорные каналы в покое практически отсутствуют, а имеющийся мембранный потенциал равен потенциалу равновесия для хлора. Если же ионы хлора не распределяются пассивно, а активно транспортируются из клетки, то появление хлорного тока делает мембранный потенциал покоя более негативным:

$$V_m = \frac{g_K \cdot E_K + g_{Na} \cdot E_{Na} + g_{Cl} \cdot E_{Cl}}{g_K + g_{Na} + g_{Cl}}$$

Кроме этого, в величину мембранного потенциала покоя вносит свой вклад натрий-калиевый насос. Дело в том, что насос ассиметричен - при каждом цикле работы насоса три иона натрия выводятся из клетки и два иона калия поступают в клетку. Отсюда при каждом цикле работы насоса клетка теряет один положительный заряд. Именно поэтому насос называется **электрогенным**. Поскольку насос непрерывно работает, то клетка постоянно теряет положительные заряды и разность потенциалов на мембране

увеличивается на 6-12 мВ. Если заблокировать насос, то мембранный потенциал покоя становится меньше на эту величину.

Часто мембранные процессы формирования мембранного потенциала покоя представляют в виде электрической схемы (рис. 17). Модель мембраны представляется следующим образом. Совокупность натриевых и калиевых каналов, открытых в покое представлены проводимостями, равновесные потенциалы для каждого конкретного иона - источниками потенциала. Схема дополняется эквивалентом электрогенного натрий-калиевого насоса и емкостью мембраны, обусловленной липидами мембраны. На этой электрической схеме можно довольно легко с учетом проводимостей рассчитать мембранный потенциал покоя и его изменения при различных воздействиях.

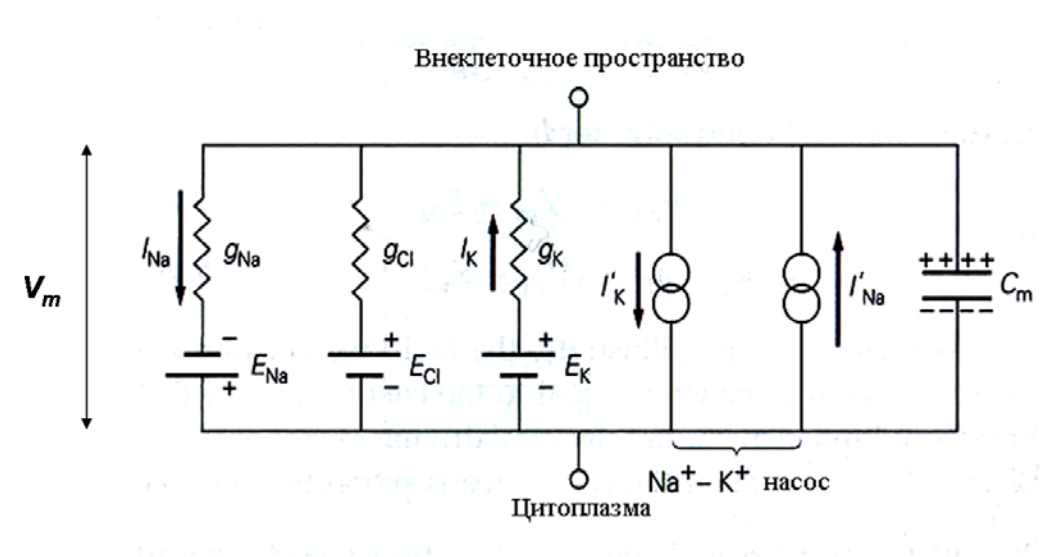


Рис 17. Электрическая схема мембраны

Каждая популяция каналов представлена батареей с потенциалом равновесия для конкретного иона (E) и проводимостью (g). Проводимость - произведение количества открытых каналов на проводимость отдельного канала. Натрий калиевый насос представлен двумя разнонаправленными генераторами тока. Текущие через мембрану токи показаны стрелками. В состоянии покоя пассивный натриевый и калиевый токи (I_{Na} , I_K) компенсируются активным транспортом натрия и калия (I'_{Na} , I'_K), обеспечиваемым натрий-калиевой АТФазой. Липидный бислой создает емкость мембраны (C_m). Видно, что ток через хлорные каналы отсутствует, поскольку ионы хлора пассивно распределяются по обе стороны мембраны и имеющийся мембранный потенциал равен потенциалу равновесия для хлора.

Итак, мембранный потенциал покоя представляет собой разность потенциалов между наружной и внутренней поверхностью мембраны клетки. Он является результатом разделения зарядов относительно клеточной мембраны, которое возникает за счет движения заряженных ионов (натрия и калия) по концентрационным градиентам через ионные каналы, открывающиеся в покое. Наличие потенциала покоя на мембране возбудимой клетки лежит в основе механизмов возникновения в ней электрических сигналов – потенциалов действия, постсинаптических и рецепторных потенциалов.

VI. Потенциал действия

Потенциал действия (синонимы – нервный импульс, возбуждение) - это универсальный высокоамплитудный, активно распространяющийся по мембране нервной клетки сигнал, обеспечивающий передачу информации в центральной и периферической нервной системе (от рецептора к телу нейрона, от нейрона к нейрону или от нейрона к мышечной или секреторной клетке). Потенциалы действия возникают также в мышечных (гладкомышечные клетки, кардиомиоциты, скелетные мышечные волокна) и некоторых других клетках.

Что же представляет собой потенциал действия? Это быстрое колебание мембранного потенциала клетки, возникающее в ответ на раздражение, сопровождающееся изменением знака заряда на мембране, и связанное с открытием потенциал-активируемых ионных каналов и протеканием трансмембранных ионных токов.

1. Фазы потенциала действия

Для того, чтобы зарегистрировать и проанализировать потенциал действия, вернемся к экспериментальной схеме, представленной на рис. 15А. Введем в нервную клетку два микроэлектрода, один из которых используется для регистрации мембранного потенциала, другой, раздражающий - для пропускания тока через мембрану. Будем раздражать клетку кратковременными толчками тока выходящего направления (рис. 18). Мы уже знаем, что при

малых толчках тока возникают пассивные деполяризационные изменения мембранного потенциала - электротонические потенциалы, амплитуда которых зависит от силы раздражения. Однако, когда сила раздражения достигнет определенной величины (порога раздражения), в клетке возникнет быстрое, кратковременное и значительное по величине колебание мембранного потенциала, которое и является потенциалом действия. Рассмотрим подробно зарегистрированное колебание мембранного потенциала (рис. 18). Вначале мембранный потенциал клетки уменьшается до нуля, затем заряд на мембране меняется на противоположный, то есть внутренняя поверхность мембраны заряжается положительно, а наружная - отрицательно. Эта кратковременная перезарядка мембраны носит название – **овершут**. При этом мембранный потенциал достигает значений около +50мВ (напоминаем, что + указывает заряд внутренней поверхности мембраны). Через несколько долей миллисекунды начинается процесс возвращения мембранного потенциала к исходному уровню, который заканчивается через 1-2 миллисекунды. Возрастание мембранного потенциала до нуля и далее до положительных значений носит название **фазы деполяризации** потенциала действия, а возвращение мембранного потенциала к исходному состоянию - **фазы реполяризации**. Иногда в конце потенциала действия наблюдаются **следовые потенциалы**. Они могут быть деполяризационными и гиперполяризационными. Первые выражаются в замедлении возвращения мембранного потенциала к первоначальному уровню, а вторые - во временном увеличении абсолютного значения мембранного потенциала в сравнении с исходным значением.

Из рис. 18 видно, что потенциал действия возникает только тогда, когда мембранный потенциал уменьшается до определенной величины. Это значение мембранного потенциала носит название **критического уровня деполяризации**. Возбудимость клетки (способность возбуждаться) зависит от того, на сколько необходимо сместить мембранный потенциал клетки, чтобы в ней возник потенциал действия, то есть от разницы значений исходного

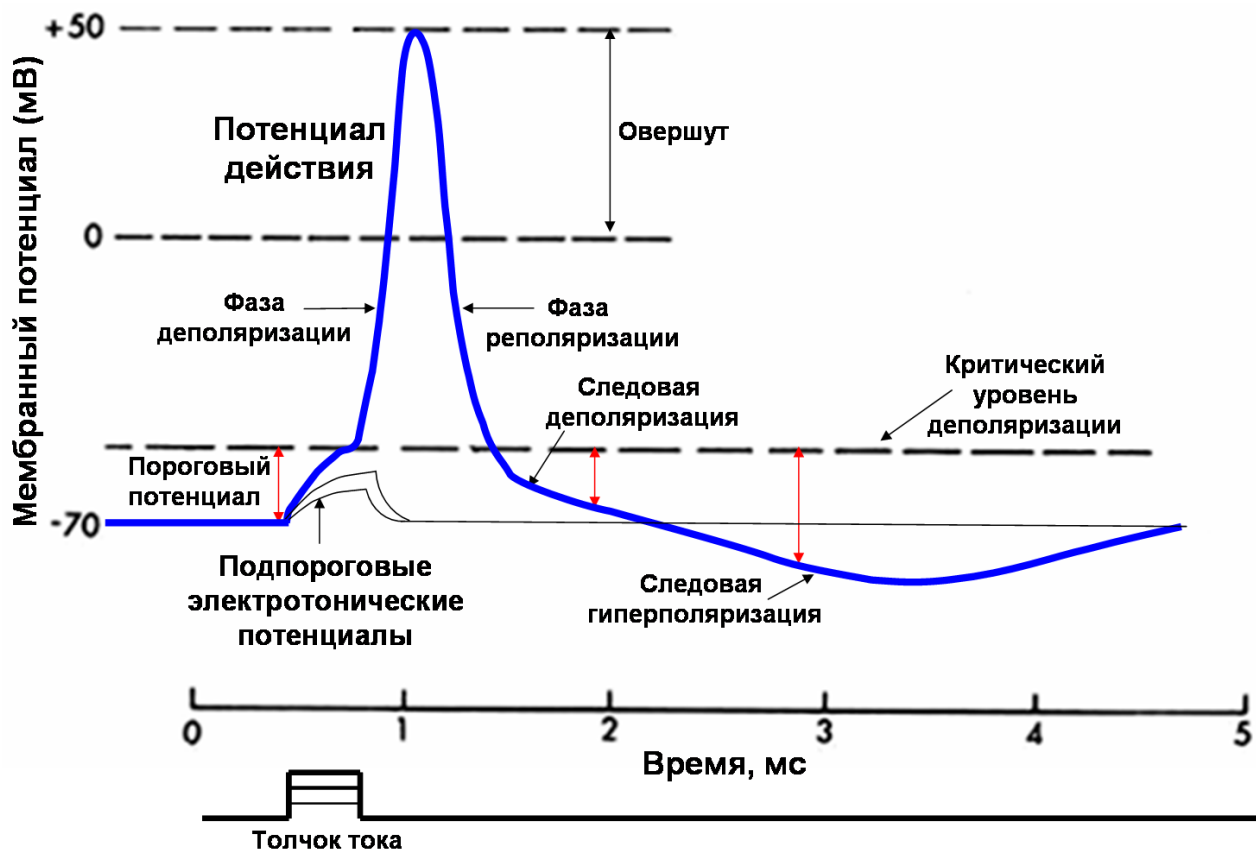


Рис. 18. Потенциал действия

Экспериментальная схема, что и на рис 15А. Внутриклеточный отводящий микроэлектрод регистрирует мембранный потенциал покоя -70 мВ. Другой внутриклеточный микроэлектрод служит для раздражения, постепенно нарастающими по силе толчками тока (показаны внизу). При слабых толчках раздражающего тока (тонкие линии) регистрируются небольшие деполяризационные электротонические потенциалы. Если амплитуда электротонического потенциала достигает определенной величины (порогового потенциала), а значение мембранного потенциала - критического уровня деполяризации, то в клетке возникает быстрое колебание мембранного потенциала (потенциал действия- толстая линия). Подробнее в тексте. Вертикальными двухсторонними стрелками показаны исходные значения порогового потенциала и его изменения во время следовой деполяризации и гиперполяризации.

мембранного потенциала и критического уровня деполяризации. Эта разница называется **пороговым потенциалом**. В нашем примере (рис. 18) мембранный потенциал покоя равен -70 мВ, а критический уровень деполяризации -50 мВ. Для того, чтобы в этих условиях возник потенциал действия, необходимо сместить мембранный потенциал на 20 мВ, то есть пороговый потенциал равен 20 мВ. Понятно, что увеличение абсолютного значения исходного мембранного потенциала покоя приведет к увеличению порогового потенциала. При этом возбудимость клетки будет меньше, и необходима большая сила раздражителя для достижения критического уровня деполяризации и возникновения потенциала действия. Уменьшение мембранного потенциала покоя по модулю, наоборот, ведет к уменьшению порогового потенциала и увеличению возбудимости. Следовательно, чем больше мембранный потенциал, тем больше пороговый потенциал и тем меньше возбудимость клетки. Мы уже говорили, что в конце потенциала действия наблюдаются медленные колебания мембранного потенциала (следовые деполяризационные и гиперполяризационные потенциалы). В течение этих потенциалов пороговый потенциал сначала уменьшается (возбудимость увеличивается), а затем возрастает (возбудимость снижается) (рис. 18).

2. Ионные механизмы потенциала действия

За счет чего же возникает потенциал действия, какие механизмы лежат в его основе? Приоритет в ответах на эти вопросы принадлежит двум выдающимся ученым - А. Ходжкину и Э. Хаксли, проводившим исследования в 30-40-х годах прошлого века. Их достижения в детальном объяснении столь сложных биофизических молекулярных процессов трудно переоценить. Все последующие исследования по регистрации одиночных каналов возбудимых тканей лишь дополнили сформированные ими представления о молекулярных механизмах возбуждения.

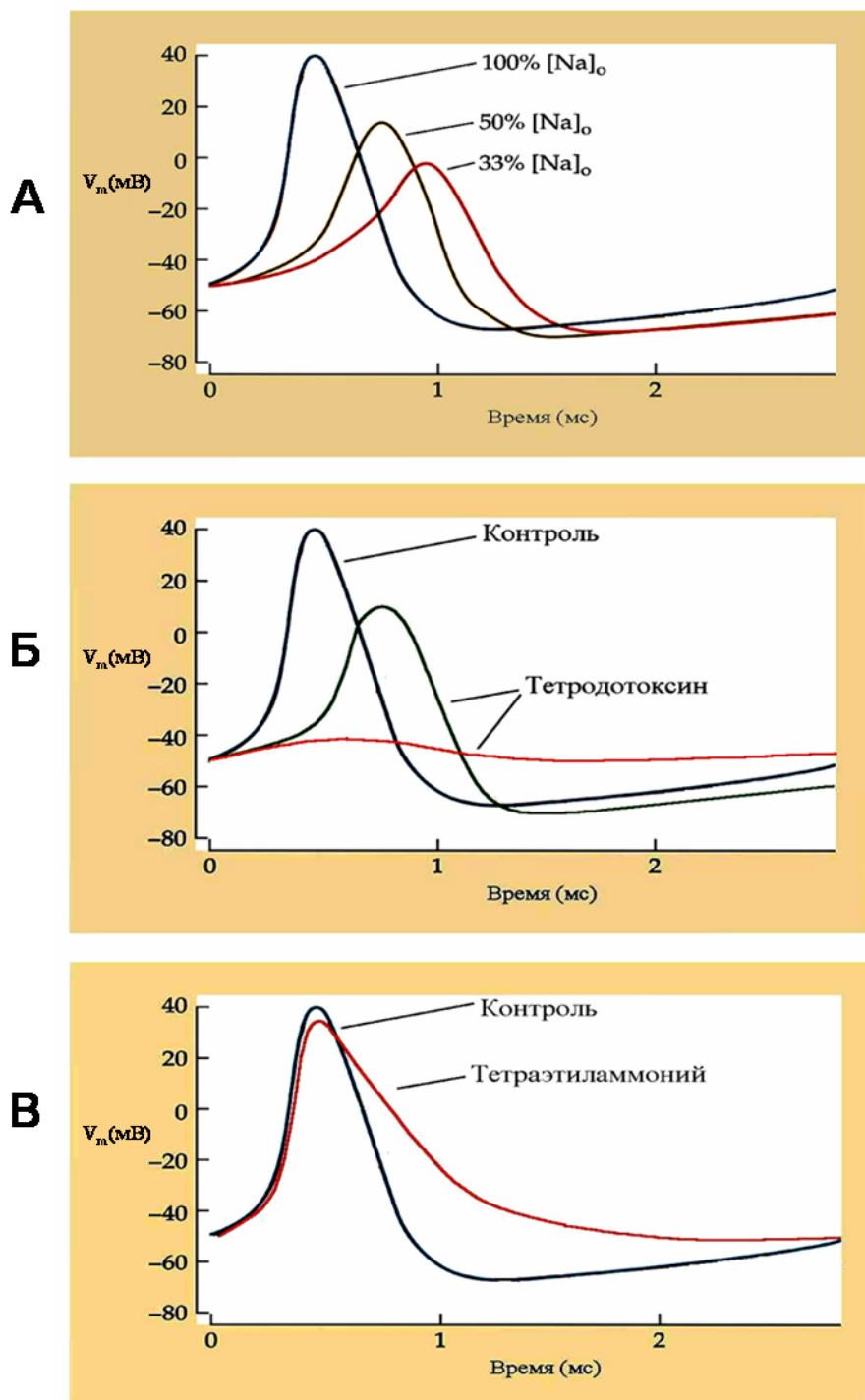


Рис. 19. Роль ионов натрия и калия в возникновении потенциала действия

Потенциалы действия зарегистрированы в гигантском аксоне кальмара. Изменения потенциала действия при уменьшении внеклеточной концентрации ионов натрия (А), при добавлении разных концентраций тетродотоксина – блокатора натриевых каналов (Б) и тетраэтиламмония - блокатора калиевых каналов (В).

Эти ученые работали на гигантском аксоне кальмара, очень удобном объекте, поскольку его диаметр более миллиметра. Крупные размеры позволяли менять внутриклеточный ионный состав аксоплазмы и вводить внутрь аксона один или несколько электродов для отведения потенциала действия и раздражения аксона. Были проведены исследования по влиянию изменений вне- и внутриклеточной концентрации ионов и природных токсинов, блокирующих различные ионные каналы, на форму потенциала действия (рис.19). Оказалось, что при снижении концентрации ионов натрия в окружающей среде потенциал действия уменьшается по амплитуде; следовательно, потенциал действия зависит от концентрации внеклеточного натрия (рис. 19А). При исследовании эффекта тетродотоксина, специфического блокатора натриевых каналов, был получен эффект, аналогичный снижению внеклеточной концентрации ионов натрия - потенциал действия уменьшался, а при высоких концентрациях токсина – не возникал (рис. 19Б). Было сделано заключение, что потенциал действия связан с открытием потенциал-активируемых натриевых каналов и поступлением ионов натрия в цитоплазму.

Далее была проверена роль ионов калия. Для этого использовали тетраэтиламмоний – вещество, специфически блокирующее калиевые каналы. Оказалось, что на амплитуду потенциала действия тетраэтиламмоний влияет слабо, а вот длительность потенциала действия резко увеличивалась (рис. 19В). Был сделан вывод, что ионы калия, выходящие из клетки через потенциал-активируемые калиевые каналы, также имеют значение в формировании потенциала действия, участвуя в фазе реполяризации.

Переворот в анализе ионных токов, участвующих в формировании потенциала действия был произведен при использовании метода фиксации потенциала на мембране, разработанном Коулом, Ходжкиным и Хаксли. Дело в том, что при изучении ионных токов, текущих через мембрану возбудимой клетки, исследователь сталкивается с очень сложной проблемой. Протекание тока через мембрану, за счет перераспределения зарядов приводит к изменению мембранного потенциала, а изменение потенциала сказывается на величине

протекающих токов. Поэтому разобраться в этой системе только при регистрации мембранного потенциала очень трудно. Для регистрации токов необходимо фиксировать мембранный потенциал клетки на одном и том же уровне. Принцип метода фиксации потенциала на мембране заключается в следующем (рис. 20А). Мембранный потенциал клетки искусственно смещается до определенного уровня, а специальный усилитель обратной связи не дает мембранному потенциалу изменяться (поддерживает его на заданном

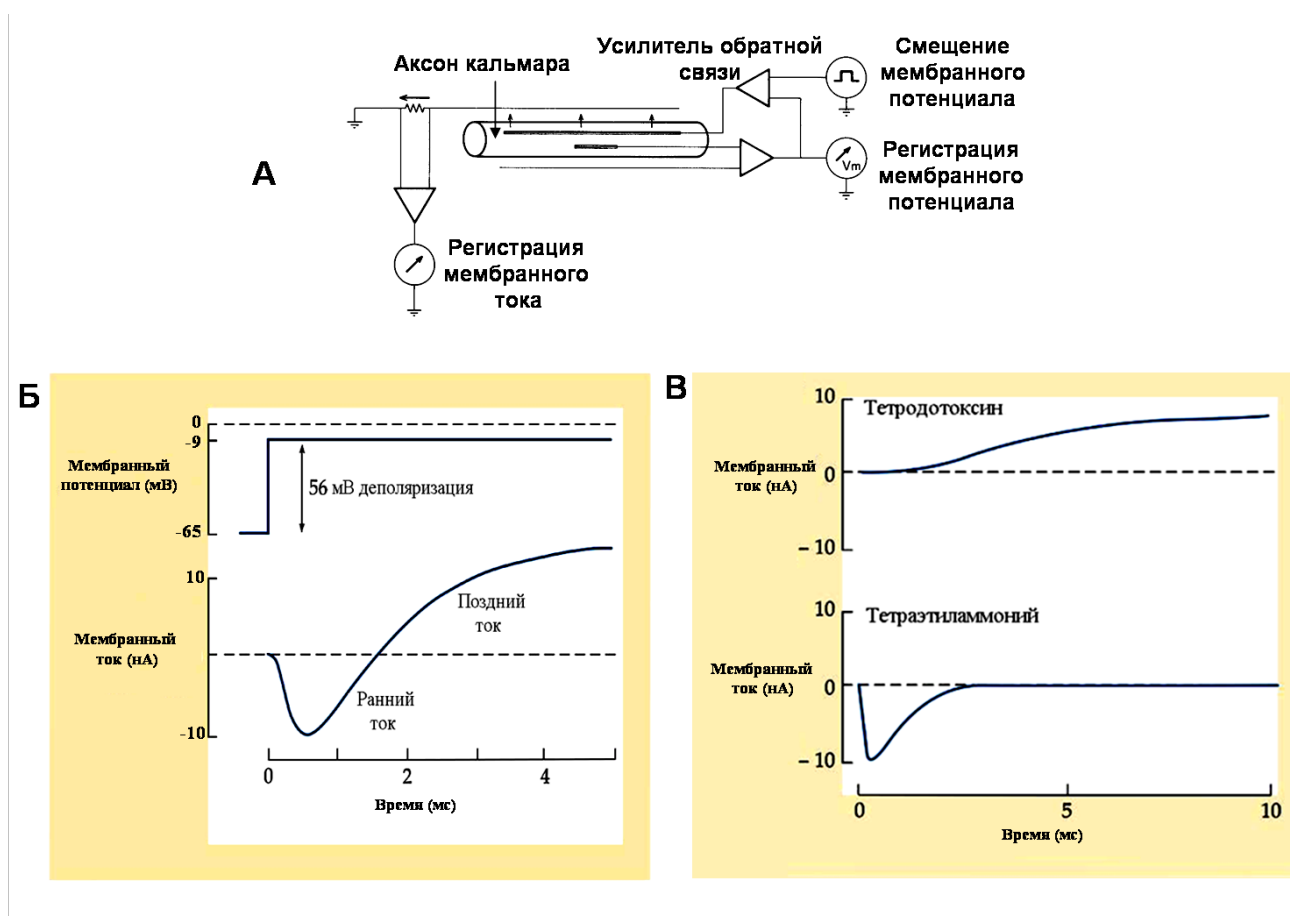


Рис. 20. Регистрация натриевых и калиевых ионных токов в гигантском аксоне кальмара

(А) Метод фиксации мембранного потенциала (подробнее в тексте). (Б) Мембранный потенциал быстро смещается с -65 до -9 мВ и поддерживается на этом уровне. При этом регистрируется сначала короткий входящий, а затем длительный выходящий токи. (В) Эффекты тетродотоксина и тетраэтиламмония на ионные токи. Видно, что поздний ток обусловлен выходящим калиевым током, а ранний – входящим натриевым.

уровне) при прохождении ионных токов через мембрану. Ток, поддерживающий мембранный потенциал на постоянном уровне, является отражением ионных токов, протекающих через мембрану.

На рис. 20 Б показан эксперимент, когда мембранный потенциал аксона кальмара искусственно сдвигается на 56 мВ и поддерживается на этом уровне. В этом случае вначале регистрируется входящий ионный ток, который затем сменяется длительным выходящим током. При использовании блокаторов ионных каналов оказалось, что быстрый входящий ток блокируется тетродотоксином, а поздний ток исчезает при действии тетраэтиламмония (рис. 20В). На основе этих изящных экспериментов были сделаны следующие выводы: входящий ток переносится ионами натрия, а выходящий - ионами калия; натриевый ток быстро нарастает и быстро заканчивается, а калиевый ток – медленно нарастает и не изменяется в процессе деполяризации. Было предположено, что различная динамика этих токов связана с быстрой инактивацией натриевых каналов и отсутствием инактивации у калиевых каналов.

На основе этих экспериментов Ходжкин и Хаксли создали систему дифференциальных уравнений, которая позволила описать трансмембранные ионные токи и рассчитать их динамику во время потенциала действия. Расчеты по эмпирически полученным формулам, отражающим зависимости натриевой и калиевой проводимостей от потенциала и времени, с удивительной точностью повторили форму реального потенциала действия. На рис. 21 представлена рассчитанная динамика натриевых и калиевых ионных токов, а также мембранного потенциала при развитии потенциала действия. Видно, что фаза деполяризации потенциала действия обусловлена быстрым нарастанием натриевого тока и массивным поступлением положительно заряженных ионов натрия в цитоплазму, что сдвигает мембранный потенциал в направлении потенциала равновесия для натрия (E_{Na}). Именно этим объясняется тот факт, что на пике потенциала действия происходит кратковременная смена знака потенциала на внутренней стороне мембраны (овершут). Вспомним, что при

открытии потенциал-активируемых натриевых каналов вход натрия обеспечивается движущей силой для натрия ($V_m - E_{Na}$). Однако пик потенциала действия никогда не достигает натриевого равновесного потенциала (около +50 мВ), поскольку быстро наступающая инактивация натриевых каналов прекращает поступление ионов натрия. Наступление фазы реполяризации потенциала действия обусловлена, с одной стороны, прекращением поступления ионов натрия внутрь, а с другой – более медленным нарастанием калиевого тока, выводящего положительно заряженные ионы калия из клетки. Выход калия заканчивается вместе с окончанием потенциала действия.

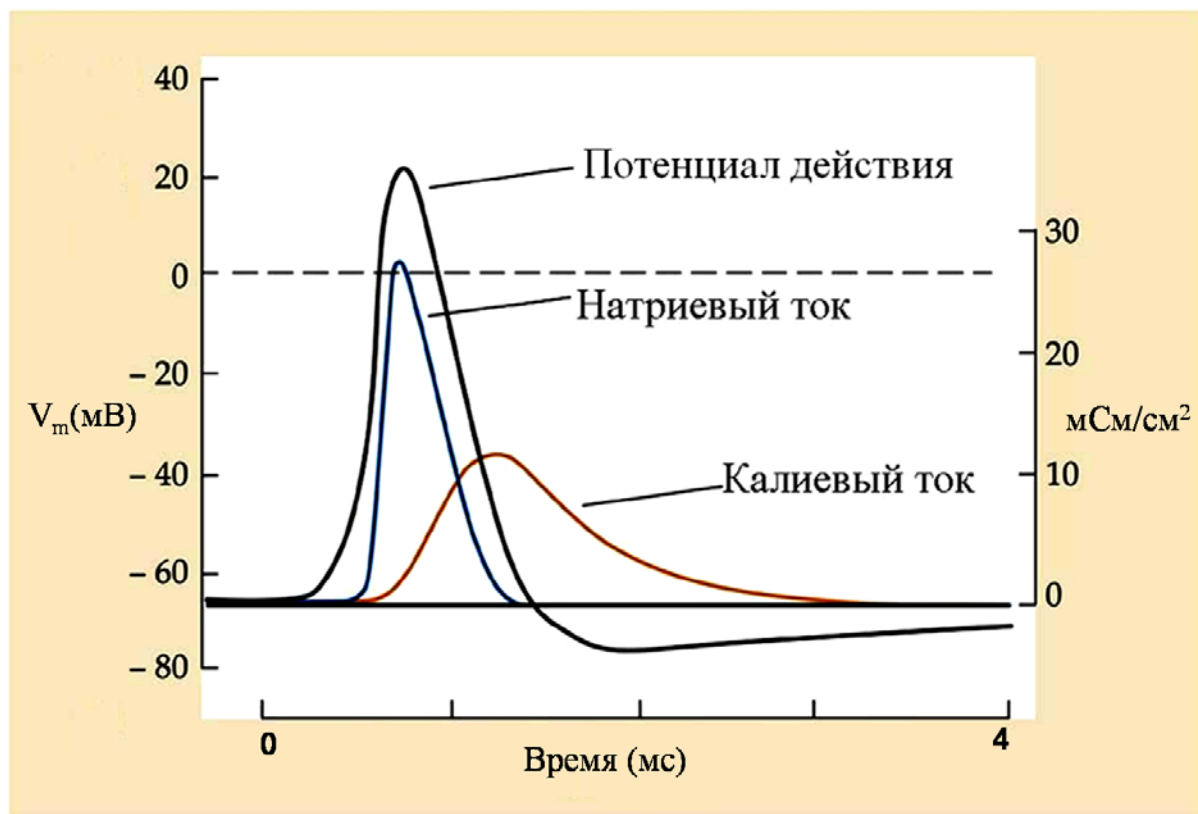


Рис 21. Кинетика ионных токов при формировании потенциала действия

Реконструкция потенциала действия и кинетики ионных токов, лежащих в его основе, при помощи системы дифференциальных уравнений модели Ходжкина - Хаксли. Видно, что фаза деполяризации потенциала действия формируется за счет быстроразвивающегося натриевого входящего тока, который затем быстро инактивируется. Фаза реполяризации обеспечивается медленно нарастающим калиевым выходящим током.

Мембранный потенциал при этом быстро возвращается к исходному уровню и приближается к калиевому равновесному потенциалу (E_K). Отсюда сколько положительных зарядов с ионами натрия входит в клетку во время деполяризации, столько положительных зарядов с ионами калия выходит из клетки. Если бы инактивация натриевых каналов была единственным механизмом фазы реполяризации потенциала действия, то возврат мембранного потенциала к уровню потенциала покоя в большинстве клеток происходил бы гораздо медленнее. Следовые потенциалы, наблюдаемые иногда в конце потенциала действия, связаны с небольшими остаточными проводимостями мембраны для натрия и калия. Так, следовая деполяризация обеспечивается входом ионов натрия, а следовая гиперполяризация - выходом калия.

Естественно, вход ионов натрия и выход ионов калия во время потенциала действия приводят к изменению концентраций этих ионов в цитоплазме (концентрация ионов калия уменьшается, а ионов натрия - возрастает). Расчеты показали, что величина этих изменений зависит от размеров клетки и составляет от тысячных до десятых долей процента. В тоже время увеличение внутриклеточной концентрации ионов натрия увеличивает активность натрий-калиевого обменного насоса, так что внутриклеточные концентрации ионов быстро возвращаются к изначальному уровню.

Общая схема процессов, лежащих в основе формирования потенциала действия, представлена на рис. 22. Мы уже говорили, что натриевые и калиевые каналы, участвующие в формировании потенциала действия, являются потенциал-зависимыми, то есть вероятность открытия этих ионных каналов увеличивается с уменьшением мембранного потенциала. Однако влияние деполяризации на натриевую и калиевую проводимость при развитии потенциала действия имеет некоторые особенности. Воздействие деполяризации на натриевую проводимость носит регенеративный характер. Сначала пороговая небольшая деполяризация увеличивает количество открытых натриевых каналов, а затем положительно заряженные ионы натрия, входящие в клетку, производят дальнейшую деполяризацию мембраны, что

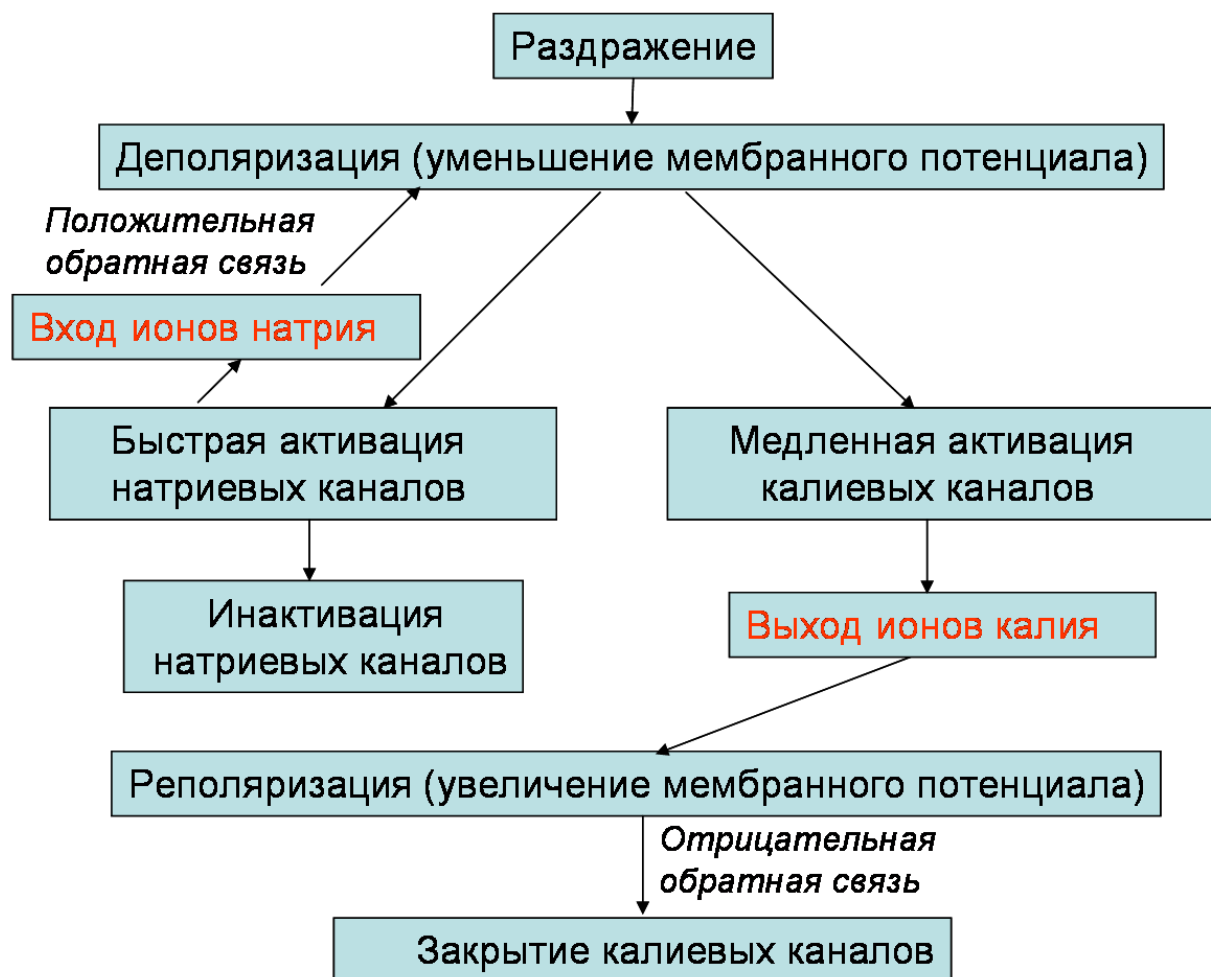


Рис. 22. Схема последовательности событий при возникновении потенциала действия

ведет к открытию большего количества каналов и влечет за собой вход еще большего числа ионов натрия, и так далее. Такой самоусиливающийся процесс называется **положительной обратной связью** (рис. 22). Потенциал-зависимость калиевых каналов, наоборот, характеризуется наличием **отрицательной обратной связи**. При деполяризации количество открытых калиевых каналов возрастает, и ионы калия выходят из клетки по направлению электрохимического градиента. Однако, выход калия не усиливает деполяризацию, а ведет к реполяризации и уменьшению калиевого тока (рис. 22).

С инактивацией натриевых каналов связана очень важная характеристика возбудимых тканей - **рефрактерность** (рис. 23). Дело в том, что, закрывшись посредством инактивации, натриевые каналы восстанавливают свою способность активироваться только через некоторое время (миллисекунда и более). Отсюда во время потенциала действия клетка теряет способность возбуждаться, то есть генерировать повторный потенциал действия на любое по силе раздражение. Эта невозбудимость клетки длится в течение всей фазы

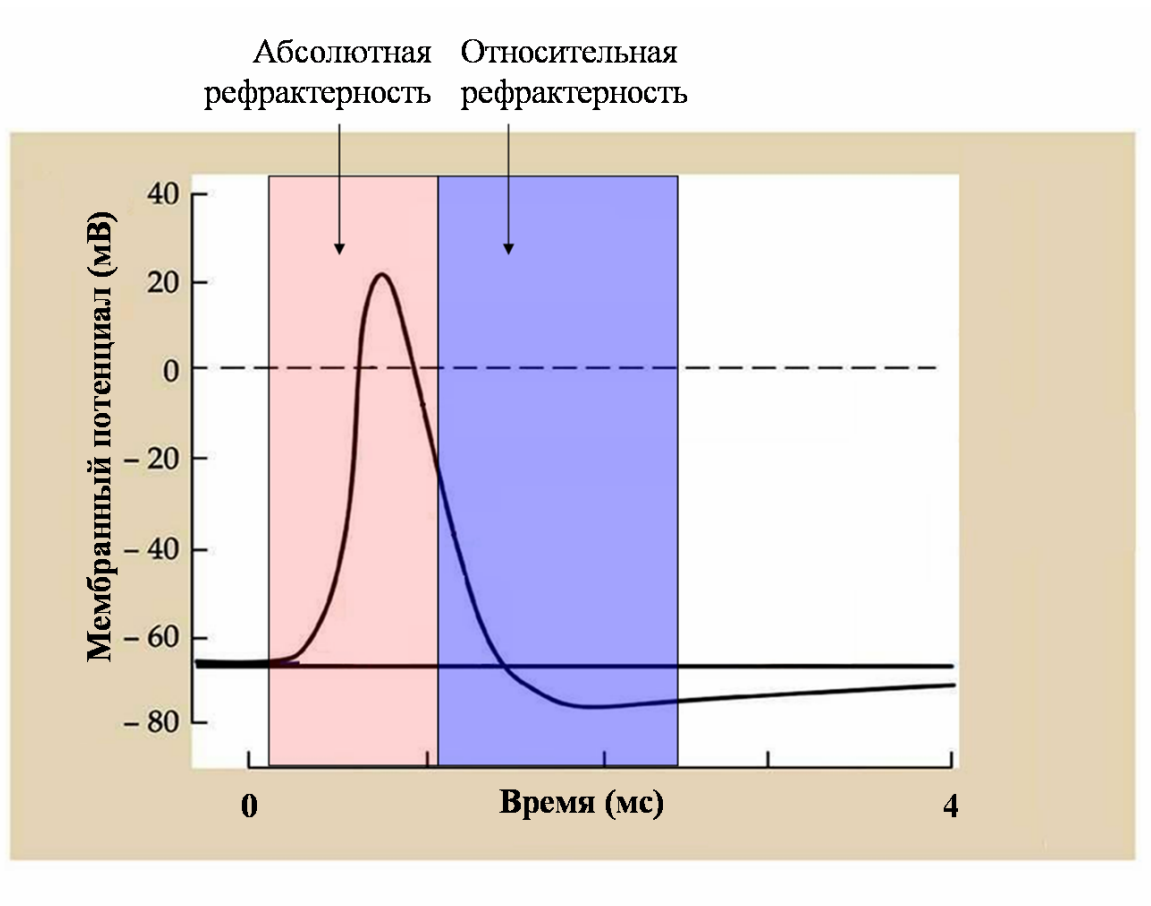


Рис. 23. Рефрактерность

Во время потенциала действия происходит изменение возбудимости клетки. Во время фазы деполяризации и части фазы реполяризации потенциала действия возбудимая клетка теряет способность повторно генерировать потенциал действия (абсолютная рефрактерность). Позже возбудимость восстанавливается, но для возникновения повторного потенциала действия необходимо более сильное раздражение (относительная рефрактерность).

деполяризации потенциала действия, части фазы реполяризации и носит название **абсолютной рефрактерности**. Постепенно натриевые каналы выходят из состояния инактивации, и возбудимость нервной клетки медленно восстанавливается. Но для того, чтобы возбудить клетку в этот период, необходима большая, чем в норме сила раздражения. Этот период времени носит название **относительной рефрактерности**.

3.Молекулярные механизмы активации и инактивации ионных каналов

Методы молекулярной биологии и генетики позволили вскрыть молекулярные механизмы активации и инактивации ионных каналов. Поскольку открытие потенциал-активируемых каналов связано с уменьшением потенциала на мембране, то для того, чтобы канал открылся, необходимо наличие заряженных структур в составе белка канала, которые меняют свое положение при деполяризации. Одной из структур, привлечших особое внимание исследователей в этой связи, является спиральный сегмент S4, пронизывающий мембрану и содержащий цепочку положительно заряженных аминокислот - лизина или аргинина, расположенных на каждой третьей позиции в данном участке молекулы. Предполагают, что этот сегмент играет роль потенциал-чувствительного элемента, обеспечивающего связь между мембранным потенциалом и работой воротного механизма. Можно думать, что деполяризация мембраны (то есть увеличение положительного заряда внутри клетки) вызывает смещение положительных зарядов в направлении внеклеточной среды, поэтому весь сегмент перемещается в том же направлении (рис. 24А). Перемещение S4 влечет за собой дополнительные изменения конформации белковой молекулы, которые в конце концов приводят к открытию канала. В состоянии покоя отрицательный внутриклеточный заряд притягивает спираль в направлении цитоплазмы. Эти предположения были подтверждены направленными мутациями гена, кодирующего область S4 молекулы натриевого канала мозга крысы. Нейтральные или кислые

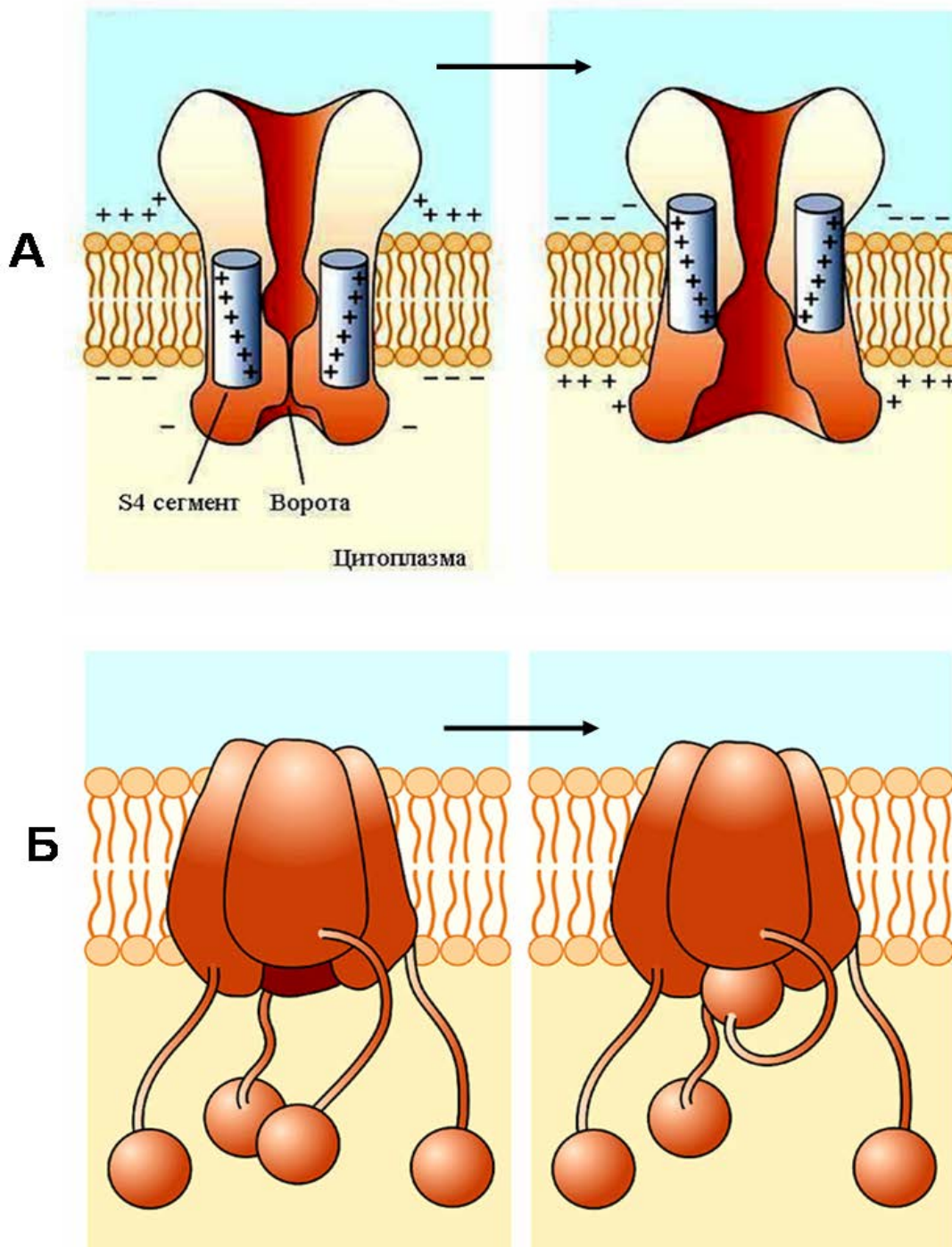


Рис. 24. Молекулярные механизмы активации и инактивации ионных каналов

(А) Открытие потенциал-активируемых ионных каналов связано со смещением положительно заряженных S4 сегментов в сторону наружной поверхности мембраны при деполяризации. (Б) Инактивация многих каналов обеспечивается закупориванием внутреннего устья канала внутриклеточной аминокислотной петлей (модель шара на цепочке).

аминокислотные остатки заменили на один или более щелочных остатков для удаления положительных зарядов из спирали. Такие мутации приводили к нарушению потенциал-зависимости открытия канала. Подобные результаты были получены в результате экспериментов с мутациями области S4 калиевых каналов.

Молекулярные механизмы инактивации каналов иные (рис. 24Б). Наиболее привлекательной моделью является модель «шара на цепочке», по которой внутриклеточная блокирующая частица (шар), закрепленная на цитоплазматической части белковой молекулы канала посредством гибкого соединения (цепочки), при своем раскачивании способна блокировать канал во время инактивации. В результате экспериментов на натриевых каналах удалось идентифицировать внутриклеточную петлю, которая участвует в процессе инактивации. В петле содержится приблизительно 45 аминокислотных остатков, и она подобна булавке, которая, раскачиваясь из стороны в сторону, входит во внутриклеточное устье канала и тем самым блокирует его.

4. Распространение потенциала действия

В нервной системе передача информации на длинные расстояния возможна благодаря тому, что потенциал действия распространяется вдоль аксона нервной клетки равномерно и без потери амплитуды. Аналогичным образом происходит распространение потенциалов действия по мембране мышечных волокон. Принцип распространения потенциала действия в этих структурах одинаков и связан с возникновением **локальных токов**. Мы уже знаем, что потенциал действия обусловлен возникновением входящего натриевого тока. При этом в соседних (неактивных) от места возникновения потенциала действия участках нервного или мышечного волокна возникают локальные выходящие токи, вызывающие перераспределение зарядов на мембране и деполяризацию в этих участках (рис. 25А). Как только деполяризация в неактивных участках достигает порогового уровня, в них открываются натриевые каналы и потенциал действия возникает по соседству

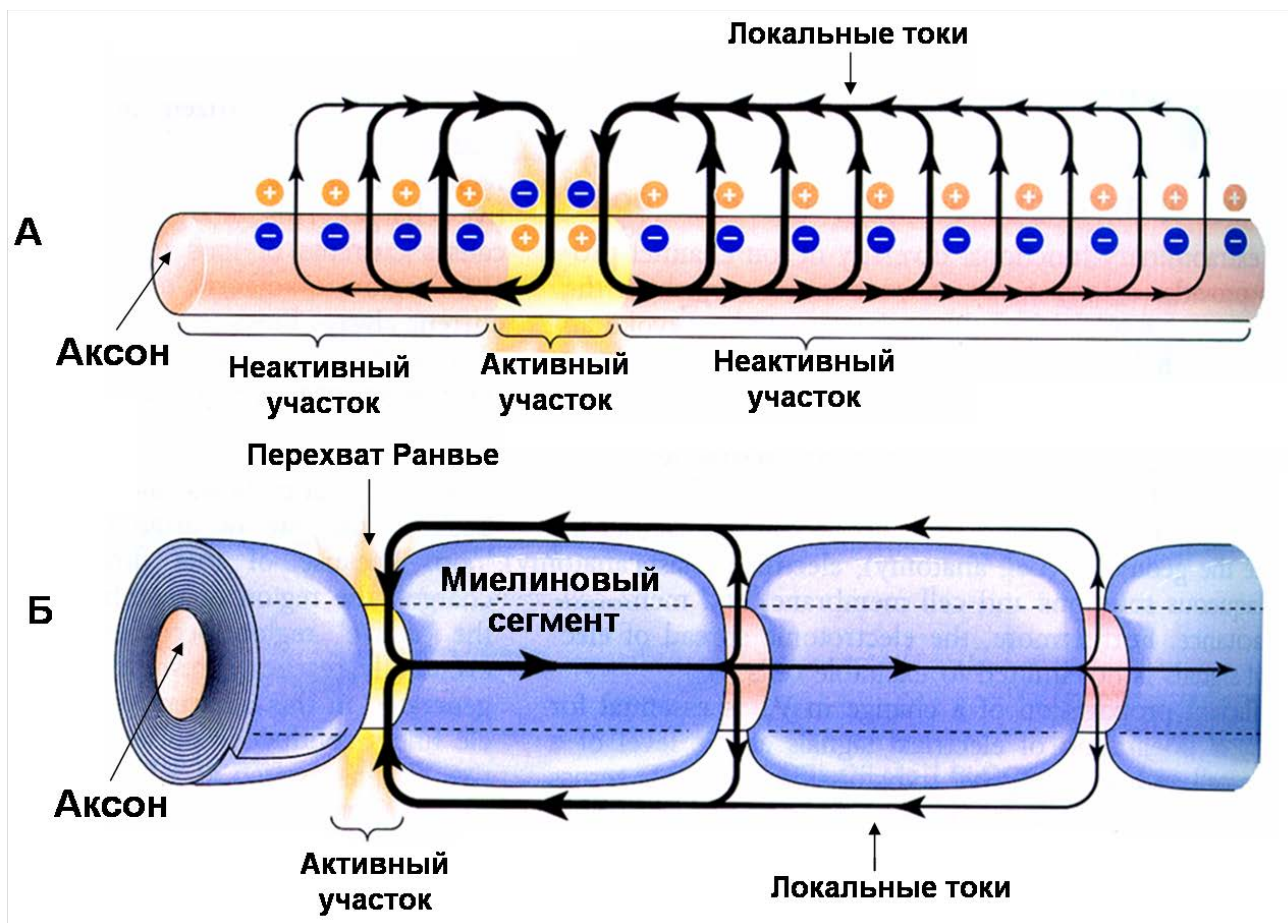


Рис 25. Проведение потенциала действия в немиелинизированных и миелинизированных нервных волокнах

(А) В участке мембраны немиелинизированного нервного волокна, охваченном потенциалом действия («активный участок»), возникают входящие локальные токи, которые возбуждают соседний, «неактивный» участок. Если мембрана не находится в рефрактерном состоянии, и деполяризация достаточна для достижения критического уровня деполяризации, то соседний участок становится активным и генерирует потенциал действия. Локальные токи затухают с расстоянием, поэтому в более отдаленных неактивных участках выходящий ток недостаточен для генерации потенциала действия.

(Б) В миелинизированном нервном волокне локальный ток может течь только через перехваты Ранвье, где нет миелина, и плотность натриевых каналов очень высока. Миелин обладает высоким сопротивлением, поэтому ток не течет в межперехватных участках. Активный участок представлен одиночным перехватом Ранвье. Поэтому потенциал действия распространяется скачкообразно от одного перехвата Ранвье к другому, а иногда перепрыгивает и через несколько миелиновых сегментов.

от первоначального места возникновения, и волна возбуждения продвигается дальше. Другими словами, проведение потенциала действия связано с его постоянным возникновением в соседних участках мембраны. Если взять изолированное нервное или мышечное волокно и вызвать в его середине потенциал действия, то он будет распространяться в обе стороны от места возникновения (рис. 25А). Однако при естественных условиях потенциалы действия распространяются по нервным волокнам только в одном направлении: от рецептора по дендриту к телу чувствительного нейрона и от тела нервной клетки по аксону к другой возбудимой клетке. Это связано с тем, что участки, расположенные сзади от продвигающегося потенциала действия находятся в состоянии рефрактерности, и локальные токи не способны вызвать в них возбуждение.

Скорость проведения потенциала действия зависит от того, насколько быстро и насколько далеко от активного участка происходит деполяризация мембраны до порогового уровня при протекании локальных токов. Это, в свою очередь, зависит от величины входящего тока, генерируемого в активном участке, и кабельных свойств волокна. Величина входящего тока зависит от плотности натриевых каналов в мембране, а кабельные свойства - от удельного сопротивления мембраны и аксоплазмы, а также от диаметра волокна. Оказалось, что чем толще нервное волокно, тем на большее расстояние будет распространяться деполяризация от активного участка, и тем больше скорость распространения потенциала действия. В гигантском аксоне кальмара, диаметр которого около 1 мм, скорость распространения равна 25 м/с, тогда как в некоторых нервных волокнах млекопитающих с диаметром меньше 2 микрометров скорость не превышает 1-2 м/с.

Для того, чтобы увеличить скорость распространения потенциала действия в относительно тонких нервных волокнах, природа создала на них специальную миелиновую оболочку (рис. 25Б). Так, в миелинизированных аксонах млекопитающих с диаметром всего 10-20 мкм скорость распространения равна 70-120 м/с. Миелиновую оболочку образуют глиальные

клетки: в периферической нервной системе - шванновские клетки, а в центральной – олигодендроциты. Мембрана глиальной клетки многократно наматывается на аксон и образует сегмент миелина длиной 1-1.5 мм. Между соседними сегментами миелина имеются короткие участки оголенной мембраны аксона, носящие название перехватов Ранвье. Сегменты миелина обладают изолирующими свойствами, а мембрана нервного волокна под ними практически не имеет проводимости и почти полностью лишена натриевых каналов. Области перехватов Ранвье, наоборот, имеют очень высокую плотность натриевых каналов. Поэтому локальные токи могут течь только от одного перехвата к другому, что позволяет деполяризовать мембрану на более длительные расстояния, вызывая в соседних перехватах Ранвье потенциалы действия. Такой способ проведения потенциала действия называется **сальтаторным проведением** и включает прыжки потенциала действия через миелиновые сегменты от перехвата к перехвату, что резко ускоряет продвижение потенциала действия по нервным волокнам.

По скорости проведения потенциала действия нервные волокна делятся на три группы (А, В, С). К группе А относятся миелинизированные нервные волокна диаметром от 20 до 2 мкм со скоростью проведения от 120 до 15 м/с. В зависимости от диаметра и скорости проведения волокна группы А часто подразделяются на 4 подгруппы (α , β , γ , δ). Эти волокна обеспечивают проведение возбуждения от рецепторов растяжения, прикосновения, боли, холода в нервную систему и от нервной системы к скелетным мышцам. К группе В относятся преганглионарные миелинизированные волокна с диаметром менее 3 мкм и скоростью проведения 3-15 м/с. И, наконец, к группе С – немиелинизированные нервные волокна с диаметром 0.3-1.3 мкм и скоростью проведения 0.5-2 м/с. Они образуют постганглионарные симпатические нервные волокна и волокна дорсальных корешков спинного мозга, ответственных за восприятие некоторых видов боли.

5. Другие виды потенциала действия

Мы узнали, что потенциалы действия в нейронах и скелетных мышечных волокнах связаны с входом положительно заряженных ионов натрия в клетку и выходом положительно - заряженных ионов калия из клетки. Но есть другие ионы, которые могут использоваться для формирования потенциала действия – это ионы кальция. Ионы кальция, также как и ионы натрия, несут положительные заряды, на мембране имеется очень большой градиент для ионов кальция, а потенциал равновесия для этих ионов положительный (рис. 4, 12). В гладкомышечных клетках и кардиомиоцитах плотность потенциал-активируемых кальциевых каналов очень высока, и кальциевые токи достигают такой величины, что могут сильно влиять на форму и длительность потенциала действия, либо полностью формировать его фазу деполяризации. Процесс входа кальция, также как и вход натрия, носит регенеративный характер. Кальциевые потенциалы действия описаны в гладкомышечных клетках и кардиомиоцитах млекопитающих. Мы не будем говорить о механизмах генерации электрических сигналов в этих клетках, поскольку они подробно рассматриваются в других разделах физиологии (физиология сердечно-сосудистой и автономной нервной систем).

Обобщим вышесказанное. Потенциал действия вызывается пороговыми и сверхпороговыми раздражениями, а его амплитуда не зависит от силы раздражения. Потенциал действия является результатом быстрого и значительного увеличения натриевой проводимости мембраны. Вход большого количества ионов натрия и аккумуляция положительных зарядов на внутренней поверхности мембраны клетки сдвигает мембранный потенциал в направлении потенциала равновесия для натрия (E_{Na}). Последующая реполяризация мембраны происходит в результате уменьшения натриевой проводимости на фоне сохраняющейся значительной калиевой проводимости и уменьшения внутриклеточных

положительных зарядов из-за выхода ионов калия из клетки. Мембранный потенциал при этом восстанавливается, вновь приближаясь к калиевому равновесному потенциалу (E_K). В отличие от других видов электрических сигналов в нервной системе (синаптических и рецепторных), потенциалы действия никогда не суммируются и распространяются по мембране, не затухая.

Потенциал действия является уникальным биологическим сигналом. Во-первых, он осуществляется за счет пассивного транспорта ионов, и для его возникновения не нужна энергия. Необходимо только открыть потенциал-активируемые ионные каналы, и электрохимические градиенты, существующие на мембране, за счет возникновения ионных токов на мембране сформируют потенциал действия. Уникальность этого сигнала заключается и в его длительности – в нервной системе он очень короткий (1-2 мс). Для уменьшения длительности потенциала действия природа формирует его двумя положительными ионами - ионами натрия и калия, причем сколько положительных зарядов с ионами натрия входит в клетку, столько положительных зарядов с ионами калия выходит из клетки. Небольшая длительность потенциала действия позволяет нервной клетке генерировать и проводить высокочастотные пачки импульсов и тем самым увеличивать объем передаваемой информации. Кроме того, потенциал действия неизменен по амплитуде и идентичен практически во всех нервных клетках организма и, что самое интересное, в нервных клетках разных животных. Один очень известный физиолог Дж. Г. Николлс написал, что «мы никогда не сможем найти разницу между потенциалами действия в нервах кита, мышцы, профессора и студента». Этим он подчеркивал, что потенциалы действия - универсальные источники кодирования информации в нервной системе, а сложность выполняемых задач определяется их частотой, огромным количеством нейронов и разнообразием связей между ними.

На рис. 26 представлены основатели мембрано-ионной теории происхождения потенциала действия. В 1963 году Алан Ходжкин и Эндрю Хаксли получили Нобелевскую премию за открытие механизмов возбуждения в нервной клетке. Третьим лауреатом Нобелевской премии 1963 года стал Сэр Джон Эклс, который параллельно проводил исследования процессов торможения в нервной системе, о которых мы поговорим позже.



Нобелевская премия 1963 года в области физиологии и медицины



Алан Ходжкин



Эндрю Хаксли



Сэр Джон Эклс

**«За открытия ионных механизмов
возбуждения и торможения нервных клеток»**

Рис. 26. Лауреаты Нобелевской премии 1963 года Алан Ходжкин, Эндрю Хаксли и Сэр Джон Эклс

VII. Градуальные потенциалы

Помимо потенциалов действия, существует еще один, совершенно другой вид потенциалов, возникающих на мембране возбудимых клеток. Это - **градуальные потенциалы**, зависящие от силы раздражения, локальные (не распространяющиеся на большое расстояние), достаточно длительные, низкоамплитудные сигналы. Они могут возникать как в синапсах - **постсинаптические потенциалы**, так и в рецепторных клетках организма - **рецепторные потенциалы**. Далее мы подробно расскажем о том, что представляют собой эти сигналы, какие механизмы лежат в их основе, и какую физиологическую роль они играют.

1. Постсинаптические потенциалы

А. Современные представления о синаптической передаче

Термин "**синапс**" был введен выдающимся английским физиологом Чарльзом Шеррингтоном в 1897 году после пионерских морфологических работ Рамон-и-Кахалю, в которых впервые были получены свидетельства о том, что нервная система состоит из изолированных нервных клеток – нейронов. Слово "синапс" переводится с греческого как соединение, связь. В настоящее время под синапсом понимают специфическое место контакта одной возбудимой клетки с другой, в котором происходит процесс передачи информации путем изменения потенциала мембраны. Основным в нервной системе является **химический синапс**, названный так потому, что в этом виде соединений в процессе передачи информации участвует химическое вещество - **нейромедиатор** (синонимы – нейротрансмиттер, медиатор, посредник). В таких синапсах одна клетка (пресинаптическая) обладает способностью синтезировать и выделять медиатор в окружающую среду (узкую щель между мембранами клеток – синаптическую щель), а другая (постсинаптическая) – воспринимать и отвечать на это вещество специфической реакцией в виде изменения своего мембранного потенциала (поляризацией) и возникновением

постсинаптического потенциала. В зависимости от типа контактирующих клеток, различают два основных типа синапсов – нервно-мышечные и межнейронные.

Квантово-везикулярная гипотеза освобождения нейромедиатора. В 1953 году Бернارد Катц с сотрудниками, исследуя нервно-мышечный синапс лягушки, с помощью микроэлектродов зарегистрировали новый класс постсинаптических потенциалов. Эти сигналы возникали случайно, в покое, имели очень маленькую амплитуду и были названы **миниатюрными потенциалами концевой пластинки (МПКП)**. В ответ на раздражение двигательного нерва возникает высокоамплитудный постсинаптический потенциал, который получил название **потенциала концевой пластинки (ПКП)**. ПКП от раздражения к раздражению варьируют по амплитуде, причем эти колебания кратны амплитуде МПКП. Было предположено, что медиатор в синапсе освобождается в виде мультимолекулярных порций – **квантов**. В покое случайное освобождение из нервного окончания отдельных порций вызывает появление на постсинаптической мембране МПКП, а в ответ на раздражение происходит синхронное освобождение нескольких десятков или сот квантов, и возникает ПКП. Электрофизиологическое определение показало, что квант нейромедиатора в нервно-мышечном синапсе состоит примерно из 10000 молекул ацетилхолина.

Использование метода электронной микроскопии для изучения ультраструктуры синапса позволило в 1954 году Де Робертсу и Беннету выявить в цитоплазме двигательного нервного окончания большое количество синаптических везикул диаметром около 50 нм. Поскольку везикулы имели одинаковые размеры и концентрировались у пресинаптической мембраны, было предположено, что квант медиатора находится в синаптической везикуле, а освобождение медиатора происходит путем выделения содержимого везикулы в синаптическую щель путем экзоцитоза.

Так возникла квантово-везикулярная гипотеза, согласно которой нейромедиатор выделяется в синапсе определенными порциями – квантами, аи кванты содержатся в специализированных органеллах – синаптических везикулах. В дальнейшем квантово-везикулярная гипотеза освобождения медиатора получила подтверждение на самых разнообразных объектах и в настоящее время считается общепризнанной.

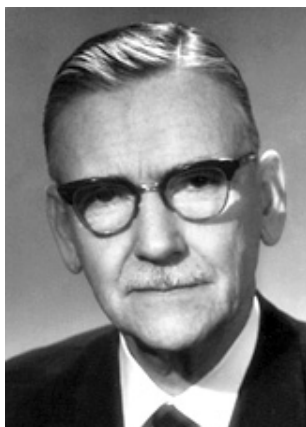
За создание квантовой гипотезы секреции нейромедиатора и другие исследования, касающиеся механизмов синаптической передачи, в 1970 году Бернارد Катц, совместно с Ульф фон Эйлером и Джулиусом Аксельродом были удостоены Нобелевской премии в области физиологии и медицины (рис. 27).



Нобелевская премия 1970 года в области физиологии и медицины



**Сэр
Бернارد Катц**



**Ульф
фон Эйлер**



**Джулиус
Аксельрод**

«За открытие гуморальных передатчиков в нервных терминалях и механизмов их хранения, освобождения и инактивации»

Рис. 27. Лауреаты Нобелевской премии 1970 года Сэр Бернارد Катц, Ульф фон Эйлер, Джулиус Аксельрод

В настоящее время в центральной и периферической нервной системе обнаружено большое число медиаторов. Наиболее распространенные из них - ацетилхолин, глутамат, гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), глицин, биогенные амины (норадреналин и дофамин), АТФ.

Передача возбуждения в химическом синапсе состоит из следующих принципиальных этапов (Рис. 28):

- 1) Деполяризация пресинаптической терминали во время потенциала действия;
- 2) Вход ионов Ca^{2+} через потенциал-зависимые Ca^{2+} каналы в пресинаптическую терминаль;
- 3) Освобождение нейромедиатора в синаптическую щель посредством экзоцитоза синаптических везикул;
- 4) Связывание нейромедиатора с постсинаптическими рецепторами;
- 5) Возникновение постсинаптического потенциала вследствие протекания ионных токов через каналы рецепторов.

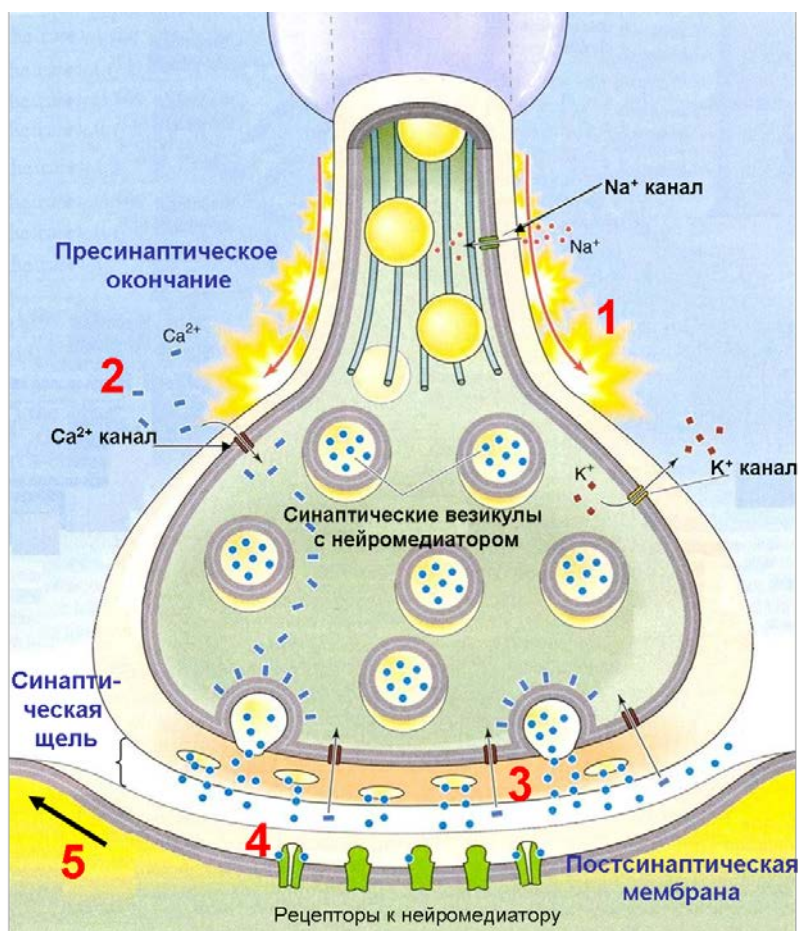


Рис. 28. Основные этапы химической синаптической передачи

Смотрите пояснения в тексте.

Далее мы подробно остановимся на механизмах возникновения постсинаптических потенциалов в нервно-мышечном синапсе и различных видах межнейронных синапсов.

В основе любого постсинаптического потенциала лежит активация ионотропных рецепторов постсинаптической мембраны к нейромедиатору, выделяемому пресинаптической клеткой.

Что представляет собой ионотропный рецептор? По своей сути он является лиганд-зависимым ионным каналом, активируемым при воздействии нейромедиатора с внеклеточной стороны. Основой всех ионотропных рецепторов является крупный белок, состоящий из пяти, реже четырех белковых субъединиц. Молекулярные массы субъединиц варьируют обычно в пределах от 40 до 70 кД. Первичная структура белков различных ионотропных рецепторов обнаруживает высокую степень гомологии. Субъединицы рецептора пронизывают толщу клеточной мембраны, образуя ионный канал. Участки полипептидных субъединиц, расположенные над поверхностью клетки, служат для узнавания и взаимодействия с нейромедиатором. Участки субъединиц, образующие собственно канал, характеризуются богатством гидрофобных неполярных аминокислотных остатков, обладающих высоким сродством к липидному (мембранному) окружению рецептора. Участки субъединиц, расположенные на внутренней поверхности мембраны, служат для взаимодействия с клеточными скелетными белками, ограничивающими подвижность рецептора, и являются мишенью для факторов, регулирующих активность рецептора в зависимости от ряда внутриклеточных процессов. Примером ионотропного рецептора служит никотиновый рецептор ацетилхолина (рис. 29).

Ионотропные рецепторы способны образовывать большое количество подтипов за счет различного сочетания субъединиц. Например, существует более 20 подтипов ГАМК_A-рецепторов с различными комбинациями α -, β -, γ - и δ -субъединиц. В состоянии покоя каналы ионотропных рецепторов закрыты. При взаимодействии с медиатором происходит конформационная перестройка

субъединиц рецепторов, и каналы открываются на несколько миллисекунд. После активации рецепторные макромолекулы теряют на некоторое время чувствительность к медиатору - наступает десенситизация.

Природа ионов, которые способен пропускать рецептор, определяется диаметром канала и характеристиками боковых радикалов аминокислотных остатков стенки канала. Никотиновые рецепторы ацетилхолина открывают путь ионам калия из клетки, а ионам натрия и кальция - внутрь клетки; глутаматные AMPA-рецепторы пропускают в основном одновалентные катионы, а NMDA-рецепторы – еще и ионы кальция; ГАМК_A и глициновые рецепторы пропускают внутрь клетки ионы хлора.

Следует заметить, что помимо ионотропных, существуют и **метаботропные рецепторы** – трансмембранные белковые молекулы, передающие сигнал с мембраны клетки на G-белок и далее на белок-эффектор, катализирующий синтез того или иного вторичного посредника. Активация метаботропных рецепторов хотя и может опосредованно приводить к изменению проницаемости мембраны клетки для ионов, но не вызывает появления характерного постсинаптического потенциала. Некоторые нейромедиаторы (ацетилхолин, глутамат, ГАМК, АТФ) имеют как ионотропные, так и метаботропные рецепторы, тогда как другие (норадреналин, дофамин) - лишь метаботропные рецепторы.

Б. Постсинаптические потенциалы в нервно-мышечном синапсе

В нервно-мышечном синапсе позвоночных из пресинаптического нервного окончания выделяется нейромедиатор - ацетилхолин, а на постсинаптической мембране расположены никотиновые (н) холинорецепторы. Н-холинорецептор является одним из наиболее хорошо изученных и давно известных рецепторов. Размер и структура н-холинорецепторов были определены при помощи электронной микроскопии, молекулярной биологии, генетики и других методов. Он состоит из пяти субъединиц – двух α , одной β ,

одной γ и одной δ , образующих кольцо вокруг центральной поры (рис. 29А). Диаметр молекулы в самой широкой ее части составляет 8,5 нм, а длина – 11 нм. Диаметр центральной поры составляет около 0,7 нм. Третичная структура α -субъединицы с 4-мя трансмембранными спиралями представлена на рисунке 29Б. Строение других трех субъединиц весьма сходно со структурой α -субъединицы, с незначительными вариациями нескольких аминокислот.

Для активации н-холинорецептора необходимо присоединение двух молекул ацетилхолина, по одной к каждой α -субъединице. Длительность взаимодействия ацетилхолина с рецепторами зависит от активности ацетилхолинэстеразы – фермента, расположенного в синаптической щели и разрушающего ацетилхолин на уксусную кислоту и холин, и обычно очень короткая. Никотиновые рецепторы бывают двух типов – мышечного и нейронального, причем существует 7 разновидностей нейрональных холинорецепторов.

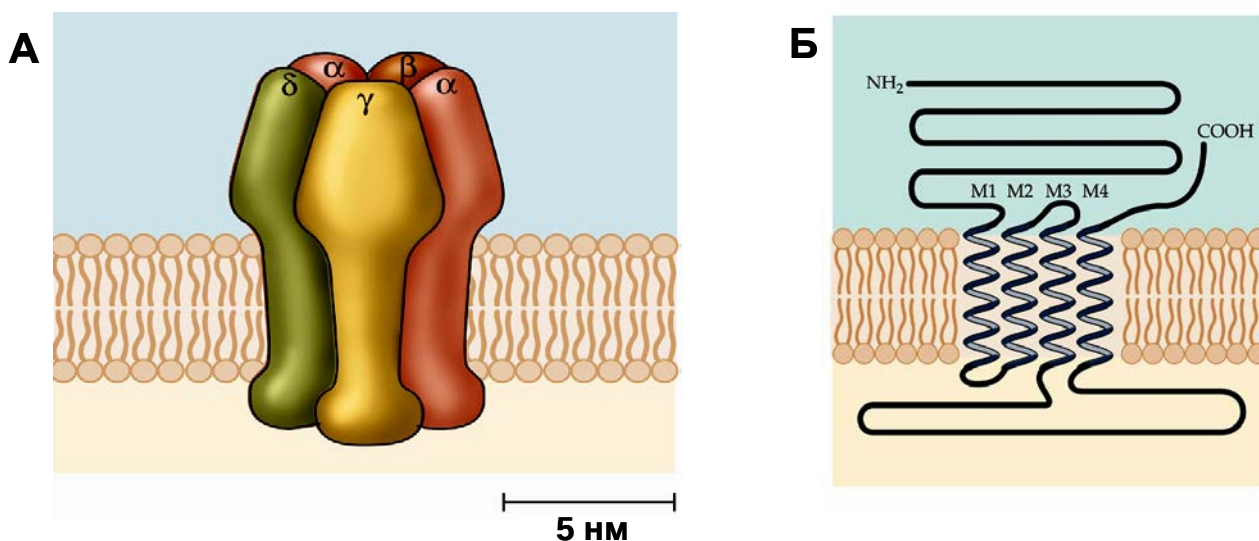


Рис. 29. Структура никотинового холинорецептора

А – н-холинорецептор состоит из пяти субъединиц (2 α , β , γ и δ), расположенных радиально с углом около 72° вокруг центра, что обеспечивает формирование центральной поры. Б – третичная структура α -субъединицы н-холинорецептора. Аминокислотная последовательность имеет 4 трансмембранных спирали (M1-M4), а оба конца (COOH и NH₂) обращены во внеклеточное пространство.

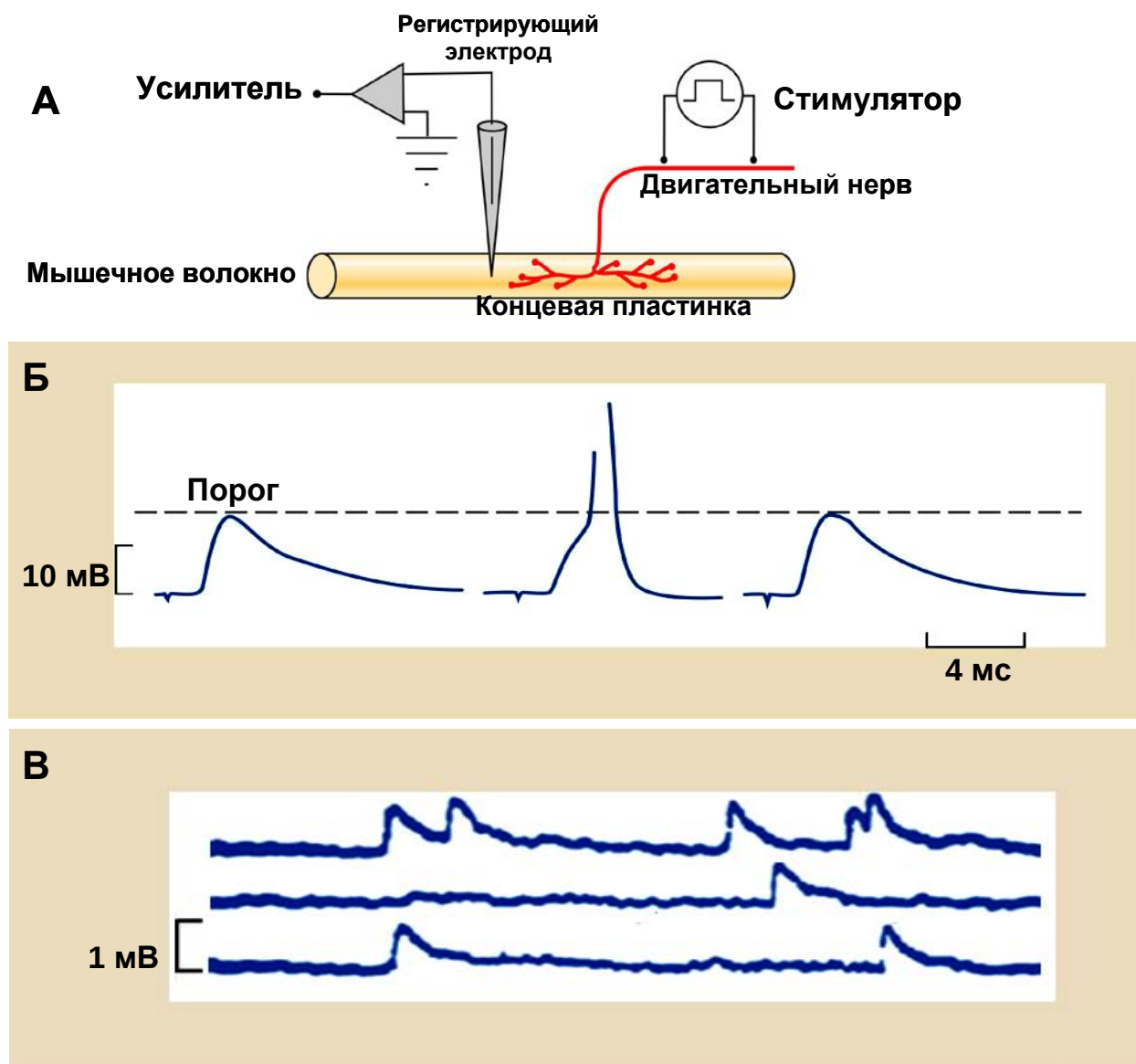


Рис. 30. Регистрация постсинаптических потенциалов в нервно-мышечном синапсе

А — показана принципиальная схема электрофизиологического эксперимента по регистрации потенциалов концевой пластинки. Нервно-мышечный препарат — мышца, выделенная вместе с иннервирующим ее двигательным нервом — помещается в специальную ванночку, наполненную физиологическим раствором. Двигательный нерв стимулируется прямоугольными толчками тока при помощи металлических электродов, подключенных к стимулятору. Для отведения потенциалов концевой пластинки используются регистрирующий (заполненная раствором электролита стеклянная пипетка с острым кончиком, в которую введена хлорсеребряная проволока) и индифферентные электроды, подключенные к усилителю и погруженные в ванночку. Собственно регистрация потенциалов концевой пластинки осуществляется путем введения острого кончика регистрирующего электрода в синаптическую область мышечного волокна. *Б* — Показана графическая запись потенциалов концевой пластинки на фоне блокирования н-холинорецепторов ядом кураре. Концентрация кураре подобрана таким образом, что амплитуда потенциалов концевой пластинки иногда достигает порога генерации ПД (второй сигнал), а иногда нет (первый и третий сигналы). *В* — в отсутствии стимуляции двигательного нерва возникают миниатюрные ПКП, амплитуда которых значительно меньше.

Итак, выделение ацетилхолина в нервно-мышечном синапсе вызывает активацию н-холинорецепторов и возникновение потенциала концевой пластинки (ПКП). ПКП впервые были зарегистрированы при помощи стеклянных микроэлектродов в 50-х годах 20-го века (рис. 30, последняя страница обложки). Это было возможно при использовании яда кураре, который селективно блокирует холинорецепторы, уменьшает амплитуду ПКП ниже порогового уровня и тем самым предотвращает генерацию потенциала действия мышечного волокна. Помимо ПКП, вызванных потенциалом действия, можно зарегистрировать миниатюрные ПКП, возникающие спонтанно в отсутствии стимуляции (рис. 30 В). В этом случае использовать кураре не нужно, поскольку амплитуда МПКП и так очень мала. Если регистрирующий микроэлектрод отдалять от области концевой пластинки, то амплитуда ПКП уменьшается, а их длительность увеличивается, что свидетельствует о том, что ПКП появляется лишь в области синапса.

Ионная природа ПКП была установлена позднее, в 60-х годах. С использованием метода фиксации мембранного потенциала (Рис. 20А) было выявлено, что величина и направление ионных токов, лежащих в основе ПКП, зависят от потенциала на мембране (рис. 31). При нормальном потенциале мембраны скелетного мышечного волокна (около -90 мВ) ток концевой пластинки (ТКП) имеет входящее направление. Если снижать мембранный потенциал, то при определенном его значении амплитуда ТКП становится равной нулю. Эта величина потенциала на мембране получила название **потенциала реверсии**. В нервно-мышечном синапсе лягушки потенциал реверсии составляет около 0 мВ (Рис. 31). Если производить дальнейшее смещение мембранного потенциала в сторону положительных значений, то ТКП приобретает выходящее направление.

Почему важно знать потенциал реверсии? Потенциал реверсии ТКП дает информацию об ионных токах, которые протекают через каналы рецептора. Например, если бы каналы были проницаемы только для натрия, потенциал

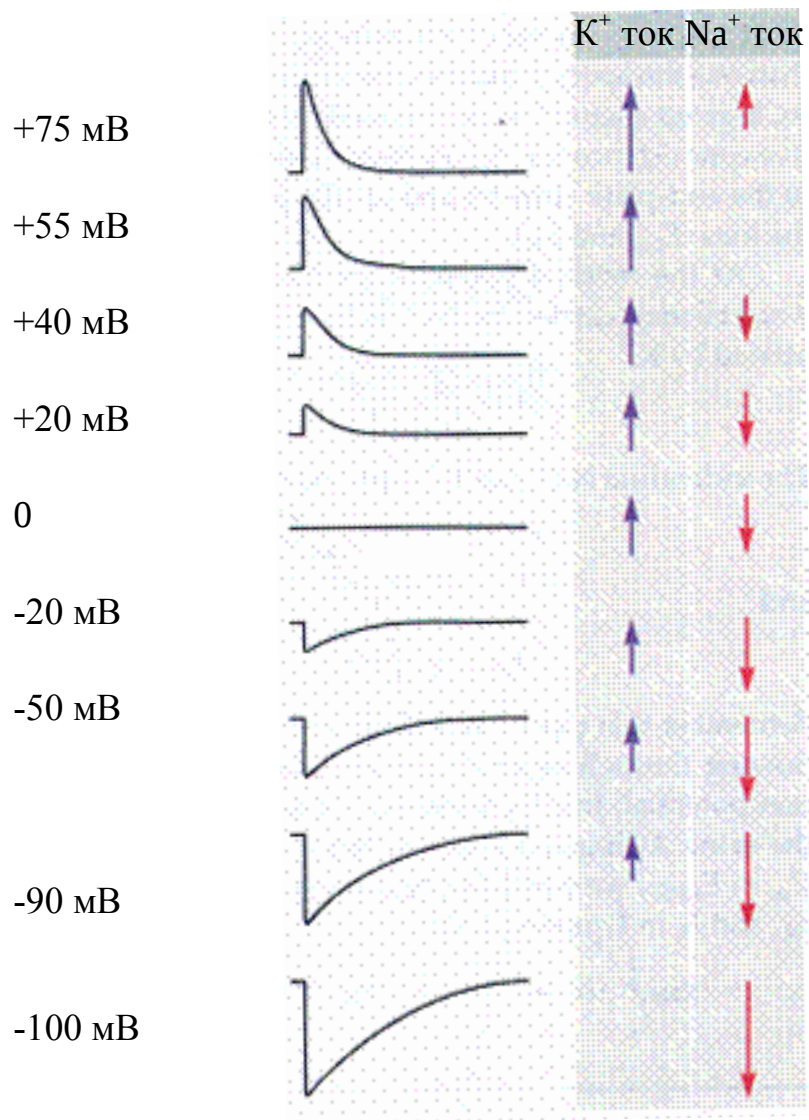


Рис.31. Зависимость амплитуды и направления суммарного тока концевой пластинки от мембранного потенциала

Показаны суммарные токи концевой пластинки, зарегистрированные при фиксации мембранного потенциала на различных уровнях, и движущие силы для натрия и калия (вверх – из клетки, вниз – в клетку) при каждом значении потенциала. При отрицательных значениях мембранного потенциала электрохимическая движущая сила для ионов натрия, направленная внутрь, гораздо больше, чем движущая сила для ионов калия, направленная наружу, поэтому суммарный ТКП имеет входящее направление (на рисунке – вниз). При потенциале мембраны 0 мВ движущие силы для натрия и калия становятся равными, поэтому суммарный ТКП принимает нулевое значение. При положительных значениях потенциала электрохимическая движущая сила для ионов калия становится больше, чем движущая сила для ионов натрия, поэтому ТКП приобретает выходящее направление.

реверсии соответствовал бы натриевому равновесному потенциалу (около +50 мВ). Для калия и хлора потенциал реверсии составляет около -90 мВ, а для кальция +120 мВ. Как видно, ни один из ионов не имеет потенциал реверсии в районе 0 мВ (рис. 31).

Оказалось, что канал н-холинорецептора проницаем сразу для нескольких ионов. Изменение наружной концентрации натрия или калия сильно влияло на величину потенциала реверсии, изменение концентрации кальция имело гораздо меньший эффект, а варьирование концентрации хлора вообще не вызывало изменений. На основании этих данных был сделан вывод о том, что н-холинорецепторы пропускают только катионы. В этом случае при потенциале реверсии хотя суммарный ТКП и равен нулю, это не означает, что через постсинаптическую мембрану не текут токи. На самом деле будет течь два тока одинаковой величины и противоположного направления – входящий натриевый и выходящий калиевый. При смещении потенциала в ту или другую сторону от значения реверсии будет наблюдаться преобладание натриевого либо калиевого тока (рис. 31).

В. Постсинаптические потенциалы в межнейрональных синапсах

Потенциал концевой пластинки скелетной мышцы является возбуждающим, поскольку он деполяризует мембрану, и при достижении критического уровня деполяризации приводит к возникновению потенциала действия. Аналогичные потенциалы возникают в межнейрональных синапсах и носят название возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП). В мозге они возникают при активации рецепторов к глутамату (NMDA и AMPA), аспартату и некоторым другим медиатором. В общем виде, возбуждающим эффектом будут обладать те ионотропные рецепторы, канальная пора которых проницаема для натрия и/или кальция.

Установлено, что помимо возбуждающих, в центральной нервной системе существуют и **тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП)**.

Они обладают противоположными свойствами, то есть гиперполяризуют постсинаптическую мембрану, понижают возбудимость клетки и препятствуют генерации потенциала действия. Процесс генерации тормозных потенциалов получил название **постсинаптического торможения**. В центральных синапсах тормозные постсинаптические потенциалы возникают при активации глициновых рецепторов и рецепторов к гамма-аминомасляной кислоте (ГАМК), пропускающих внутрь клетки ионы хлора либо выпускающих из клетки ионы калия. Большую роль в расшифровке механизмов торможения в ЦНС сыграли исследования, выполненные выдающимся физиологом Сэром Джоном Эклсом, о котором мы уже упоминали ранее (рис. 26).

Далее мы рассмотрим постсинаптические потенциалы, возникающие в нейронах при возбуждении ионотропных рецепторов к различным нейромедиаторам.

I. Глутаматергические потенциалы

Основным медиатором мозга человека является возбуждающая аминокислота глутамат, которая служит медиатором примерно в 75% возбуждающих синапсов мозга. Важная роль глутамата в мозге человека заслуживает подробного рассмотрения глутаматергических синапсов.

Ионотропные рецепторы глутамата можно разделить на три основных подтипа. Это NMDA-, AMPA- и каинатные рецепторы. Названия подтипов основаны на том, что первые, помимо природного медиатора глутамата, могут активироваться его синтетическим аналогом – N-метил-D-аспартатом (NMDA), вторые – α -амино-3-метил-4-изоксазол-пропионовой кислотой (AMPA), а третьи – каинатной кислотой.

Эти рецепторы различаются по структуре, ионной селективности, проводимости и кинетике активации.

Рассмотрим подробнее NMDA-рецепторы. Они являются тетрамерами, состоящими из двух разных пар субъединиц. Субъединицы одной пары

связывают глутамат, а другой – взаимодействуют с глицином (рис. 32А). Глицин является аллостерическим ко-активатором NMDA-рецепторов. NMDA-рецепторы обладают значительной проницаемостью для ионов кальция и натрия, и способны находиться в активном, проводящем ионный ток состоянии, несколько сот миллисекунд. Важной особенностью NMDA-рецепторов является тот факт, что при потенциале покоя (около -70 мВ) каналы поров этих рецепторов заблокированы ионами магния. Поэтому, даже при наличии глутамата и глицина, NMDA-рецепторы не способны вызвать ни деполяризацию, не обеспечить повышение внутриклеточной концентрации кальция. Помочь освободиться от магниевых блока может только деполяризация, реализуемая, например, через AMPA-рецепторы.

AMPA-рецептор также состоит из двух пар субъединиц, которые могут быть либо одинаковыми, либо разными (рис. 32Б). Все AMPA-рецепторы пропускают одновалентные катионы, а некоторые (в зависимости от субъединичного состава) обладают также умеренной проницаемостью для кальция. В любом случае кальциевая проницаемость AMPA-рецепторов значительно ниже в сравнении с NMDA-рецепторами. Ионный канал AMPA-рецептора нечувствителен к магнию, открыт всего несколько миллисекунд и быстро переходит в состояние нечувствительности к активирующему действию глутамата. Этой относительно короткой деполяризации достаточно для того, чтобы снять магниевый блок NMDA-рецепторов.

Как правило, NMDA- и AMPA-рецепторы ко-локализованы на одном синапсе, хотя их пространственная локализация может и различаться. В первом случае при активации синапса будут возникать двухкомпонентные постсинаптические потенциалы, имеющие быстрый AMPA-зависимый и медленный NMDA-зависимый компонент (рис. 32В). Во втором случае, в зависимости от того, какие рецепторы присутствуют на постсинаптической мембране, будут возникать либо быстрые (AMPA), либо медленные (NMDA) потенциалы.

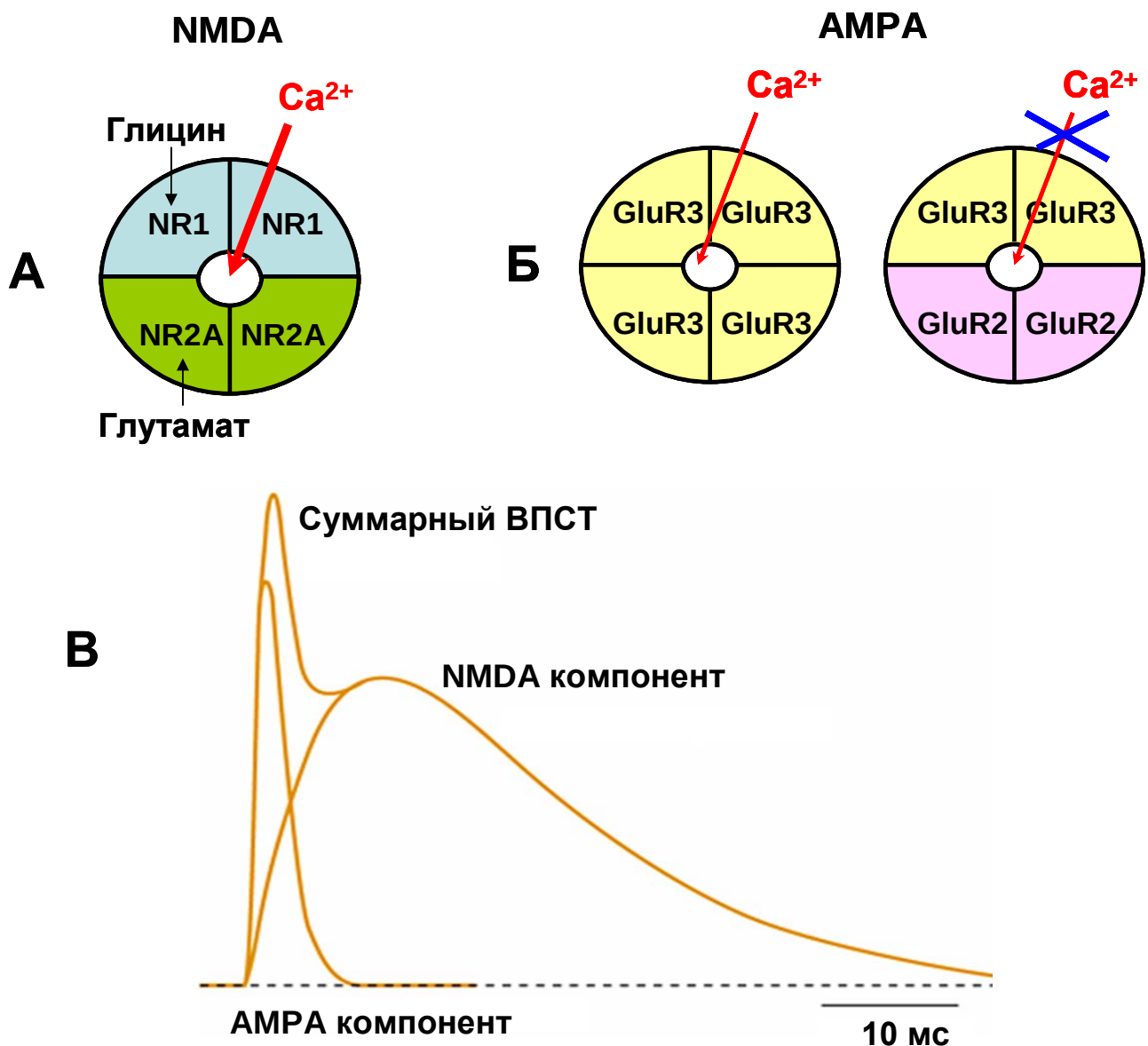


Рис. 32. Два вида рецепторов и два компонента постсинаптического ответа в глутаматергическом синапсе

На верхней части рисунка показана субъединичная организация NMDA (А) и AMPA (Б) рецепторов и их проницаемость для кальция. NMDA-рецепторы состоят из двух разных пар субъединиц, связывающих глутамат (NR2A) и глицин (NR1) и обладают значительной проницаемостью для кальция. AMPA-рецепторы, в зависимости от субъединичного состава (4 GluR3 либо 2 GluR2+2 GluR3, существуют и другие варианты) либо умеренно проницаемы, либо совсем не проницаемы для кальция. При этом все ионотропные глутаматные рецепторы пропускают моновалентные катионы. В – Суммарный возбуждающий постсинаптический ток (ВПСТ) состоит из двух компонентов. Активация AMPA-рецепторов приводит к быстрой и кратковременной деполяризации клетки (несколько миллисекунд), что снимает магниевый блок NMDA-рецепторов. Компонент, связанный с активацией NMDA-рецепторов, имеет более медленное нарастание и спад (десятки миллисекунд).

Долговременная пластичность. Уникальная способность глутаматергического синапса сохранять следы предшествующей активности на долгое время лежит в основе долговременных форм синаптической пластичности - **долговременной потенциации** и **долговременной депрессии**. Суть этих явлений состоит в том, что кратковременная активность, сопровождающаяся значительным входом кальция в нейрон, приводит к увеличению (долговременная потенциация) или уменьшению (долговременная депрессия) амплитуды постсинаптического потенциала, которое длится в течение дней, недель, месяцев и даже лет. Долговременная потенциация была открыта более 30 лет назад выдающимися физиологами Терье Ломо и Тимом Блиссом, а долговременная депрессия – чуть позднее. Долговременная пластичность синапса является клеточной формой памяти, дающей надежду понять ключевые механизмы работы мозга.

Как долговременная потенциация, так и депрессия запускаются одним и тем же фактором – ритмической активацией глутаматергического синапса. При этом сначала под действием глутамата активируются AMPA-рецепторы, которые обеспечивают деполяризацию постсинаптической мембраны. Деполяризация снимает магниевый блок NMDA-рецепторов, которые теперь способны к активации. Активированные под действием глутамата NMDA-рецепторы обеспечивают дальнейшую деполяризацию и значительный вход ионов кальция в постсинаптическую клетку.

Почему же в одном случае возникает потенциация, а в другом депрессия? Это связано с частотой активности синапса. Низкочастотная стимуляция за счет активации небольшого количества NMDA-рецепторов вызывает умеренное повышение концентрации кальция, что приводит к долговременной депрессии; напротив, высокочастотная активация вызывает более выраженную и длительную активацию большого числа NMDA-рецепторов, ведущую к значительному входу кальция в клетку и развитию потенциации. Разные уровни внутриклеточной кальциевой концентрации запускают различные внутриклеточные каскады реакций, приводящие к разнонаправленным

изменениям синаптической силы, Одним из важнейших механизмов экспрессии долговременной пластичности в обоих случаях является изменение количества AMPA-рецепторов на постсинаптической мембране. Отсюда происходит увеличение или уменьшение амплитуды постсинаптического потенциала.

Помимо постсинаптических, существуют и пресинаптические механизмы долговременных форм пластичности, которые запускаются ретроградными посредниками (монооксид азота, монооксид углерода и др.). Эти посредники синтезируются в постсинаптической клетке, а затем диффундируют в пресинаптическую клетку и за счет действия на определенные белки изменяют количество освобождаемых квантов глутамата.

Исследования ионного канала NMDA-рецептора привели к неожиданным результатам, имеющим важное прикладное значение. Оказалось, что некоторые блокаторы NMDA-рецепторов являются эффективными средствами для лечения эпилепсии, ишемии и ряда нейродегенеративных заболеваний. Важным свойством таких блокаторов является то, что они ингибируют только активированные рецепторы, причем пропорционально степени их активации. Это устраняет избыточную и длительную активацию нейронов, предохраняя их от запрограммированной гибели - апоптоза. Поэтому использование блокаторов ионных каналов NMDA-рецепторов будет, по-видимому, перспективным также при лечении травм мозга и инсультов, сопровождающихся повышением уровня внеклеточного глутамата.

В медицине широко применяются такие блокаторы NMDA-рецепторов, как мемантин – для лечения болезни Альцгеймера, амантадин – для лечения болезни Паркинсона, кетамин – в качестве средства для наркоза, декстрометорфан – как противокашлевое средство, и др.

II. ГАМК-ергические потенциалы

ГАМК взаимодействует с рецепторами, которые делятся на два основных типа. ГАМК_A- и ГАМК_C-рецепторы представляют собой лиганд-зависимые хлорные каналы, и результатом действия ГАМК является повышение проницаемости мембраны для хлора, который входит в клетку и приводит к гиперполяризации мембраны (рис. 33Б). ГАМК_B-рецепторы являются метаботропными.

Рис. 33. Структура ГАМК_A-рецептора и ГАМК-ергические постсинаптические потенциалы

А – показан ГАМК рецептор, состоящий из двух α -, двух β - и одной γ -субъединиц. ГАМК и барбитураты связываются с α - и β -субъединицами, а бензодиазепины – с γ -субъединицей. Б – Показан тормозный постсинаптический потенциал, зарегистрированный при разных уровнях потенциала на мембране. Потенциал реверсии составляет -82 мВ, что соответствует равновесному потенциалу для хлора и подтверждает хлорную природу ГАМК-ергического потенциала. В покое мембранный потенциал нейрона менее отрицателен (-60, – 70 мВ), и ГАМК-ергический потенциал является тормозным, гиперполяризующим. При сильно отрицательных значениях (-90, -100 мВ) он становится деполяризующим.

ГАМК-ергические интернейроны составляют основную массу нервных клеток мозга, выполняющих функцию торможения. Этот тормозный медиатор повсеместно сопровождает глутамат, прекращая его возбуждающее действие. Действие ГАМК необходимо, чтобы обеспечить адресность и точность команд, исходящих от нервной клетки. Дефицит ГАМК приводит к закономерному перевозбуждению нервной системы.

ГАМК_A-рецептор представляет собой пентамер. Идентифицировано четыре вида субъединиц (α , β , γ , δ), которые, соединяясь в различных комбинациях, образуют большое разнообразие изоформ рецептора. ГАМК_A-рецептор, помимо сайта связывания ГАМК, имеет несколько модуляционных сайтов, являющихся мишенью для действия различных химических веществ, в том числе лекарственных препаратов. К ним в первую очередь относятся сайты связывания бензодиазепинов и барбитуратов (рис. 33А). И те, и другие потенцируют хлорные токи через ГАМК-рецепторы. Бензодиазепины (диазепам и др.), которые применяются в медицине в качестве транквилизаторов и мышечных релаксантов, увеличивают частоту открывания ионных каналов, тогда как барбитураты (фенобарбитал и др.), обладающие противосудорожным действием, продлевают время открытого состояния канала. ГАМК-рецепторы модулируются также анестетиками, этанолом, ионами цинка и некоторыми стероидами природного происхождения.

Однако не всегда ГАМК – тормозный нейромедиатор. На ранних стадиях постнатального развития у крыс, обезьян (возможно, и у человека) ГАМК, так же, как глутамат, оказывает деполяризующее, то есть возбуждающее действие на нейроны. Это связано с тем, что в постнатальном периоде концентрация ионов хлора в нейронах настолько велика, что при открывании хлорных каналов ГАМК-рецепторов хлор по градиенту идет не внутрь, а наружу, тем самым деполяризуя мембрану. В ходе дальнейшего развития организма происходит созревание системы удаления хлора из клеток, и ГАМК становится тормозным медиатором. Этот интересный феномен играет важное значение в

развитии нервной системы. В раннем постнатальном периоде содружественное действие глутамата и ГАМК вызывает «гигантские деполяризующие потенциалы», которые, как считают, обеспечивают созревание синапсов между нервными клетками. Это связано с тем, что вход кальция в клетку в условиях деполяризации активирует синтез рецепторов и белков секреторного аппарата. После формирования основных синаптических контактов ГАМК приобретает свойства исключительно тормозного нейромедиатора.

III. Глицинергические потенциалы

Глицин является второй (после ГАМК) по распространенности тормозной аминокислотой. Глициновый рецептор, также как многие другие ионотропные рецепторы, представляет собой олигомер, образованный α и β субъединицами. Глициновые тормозные синапсы представлены прежде всего в наиболее древних участках ЦНС – в стволе мозга и, особенно, в спинном мозге. Тормозные синапсы в этих участках ЦНС можно разделить на 3 типа – исключительно глицинергические, чисто ГАМК-ергические и смешанные, где два тормозных медиатора выделяются из одних и тех же нервных окончаний. Из этих трех вариантов наиболее широко представлен последний смешанный вариант. Глицин, как и ГАМК, для реализации торможения использует механизм активации хлорных ионных каналов. Вход хлора по каналам приводит к появлению гиперполяризующего, тормозного постсинаптического потенциала, что препятствует генерации потенциала действия. В бесхлорной среде тормозная роль глицина пропадает, еще раз демонстрируя ключевую роль хлорной проводимости. Специфическим блокатором активируемых глицином хлорных каналов является широко известный яд стрихнин. Введение этого яда в организм сопровождается судорогами, отражающими устранение торможения на уровне спинного мозга. Хотя глицин и не играет столь широко распространенной тормозной роли в головном мозге, однако, он является принципиально важным агентом для коактивации возбуждающих глутаматных

NMDA-рецепторов. Для этого нужны микромолярные концентрации этой аминокислоты.

IV. АТФ-ергические потенциалы

Роль АТФ в синаптической передаче была установлена в течение последних десятилетий. В 1992 году было доказано, что в одном из участков мозга, который называется «уздечкой», роль передатчика возбуждения с нейрона на нейрон выполняет именно АТФ. Установлено, что АТФ секретируется совместно с ацетилхолином в нервно-мышечном синапсе. Недавно было показано совместное выделение АТФ с другим трансммиттером – ГАМК в спинном мозге. Как будет сказано ниже (см. раздел «Соматосенсорная система»), АТФ играет важную роль в болевой рецепции.

Существует необычайно большое разнообразие рецепторов АТФ, превышающее подтипы рецепторов для давно установленных «классических» нейротрансммиттеров. В целом, рецепторы АТФ (обозначаемые как P2 рецепторы) делятся на 2 больших семейства – ионотропные рецепторы – P2X, и метаботропные рецепторы – P2Y. P2X-рецепторы имеют канальную пору, проницаемую для катионов (натрия, калия и кальция). Соответственно, при их активации возникает входящий ток, что приводит к появлению возбуждающего постсинаптического потенциала. P2Y–рецепторы через G-белок в большинстве случаев связаны с фосфолипазой C, расщепляющей фосфолипиды клеточной мембраны до активных производных. Интересно, что для активации как P2X, так и P2Y рецепторов, достаточно внеклеточной концентрации АТФ в 1000 раз меньше той, которая имеется внутри активируемой клетки.

Г. Взаимодействие постсинаптических потенциалов и генерация потенциалов действия

На одном нейроне соседние нервные клетки образуют огромное количество синапсов, иногда до нескольких тысяч. В живом мозге происходит постоянная

активация тысяч синаптических контактов. Если на мембране одного нейрона одновременно возникают постсинаптические потенциалы в нескольких синапсах, то происходит **пространственная суммация** этих потенциалов (рис. 34 Б, В). Если же в одном синаптическом входе несколько постсинаптических потенциалов возникают в короткий временной промежуток, то наблюдается их **временная суммация** (рис. 34 А). В конечном итоге, все это будет влиять на частоту генерации потенциалов действия нейрона. В случае возбуждающих постсинаптических потенциалов пространственная и временная суммация будет облегчать достижение критического уровня деполяризации и генерацию потенциала действия. При суммации тормозных потенциалов будет наблюдаться более выраженная гиперполяризация и увеличение порога генерации потенциала действия. При пространственной или временной суммации возбуждающих и тормозных потенциалов будет наблюдаться в той или иной степени их взаимное погашение.

Постоянное взаимодействие возбуждающей и тормозящей активности на постсинаптическом нейроне приводит к флуктуации мембранного потенциала. Мембрана тела нейрона действует как интегратор. Обычно самым низким порогом для генерации потенциала действия обладает **аксонный холмик**. Он содержит в своей мембране в 7 раз больше потенциалозависимых натриевых каналов, чем в соме нейрона, и может генерировать спайки с большей легкостью. Возникший потенциал действия распространяется в двух направлениях: вдоль аксона и по телу нейрона. В теле нейрона и дендритах ретроградный потенциал действия затухает, так как в этих отделах клетки мало потенциал-зависимых натриевых каналов. Исключение составляют дендриты первично-чувствующих чувствительных нейронов, в которых происходит генерация потенциалов действия и их проведение к телу клетки и аксону. По аксону потенциал действия распространяется до его окончаний, вызывая деполяризацию и освобождение нейромедиатора.

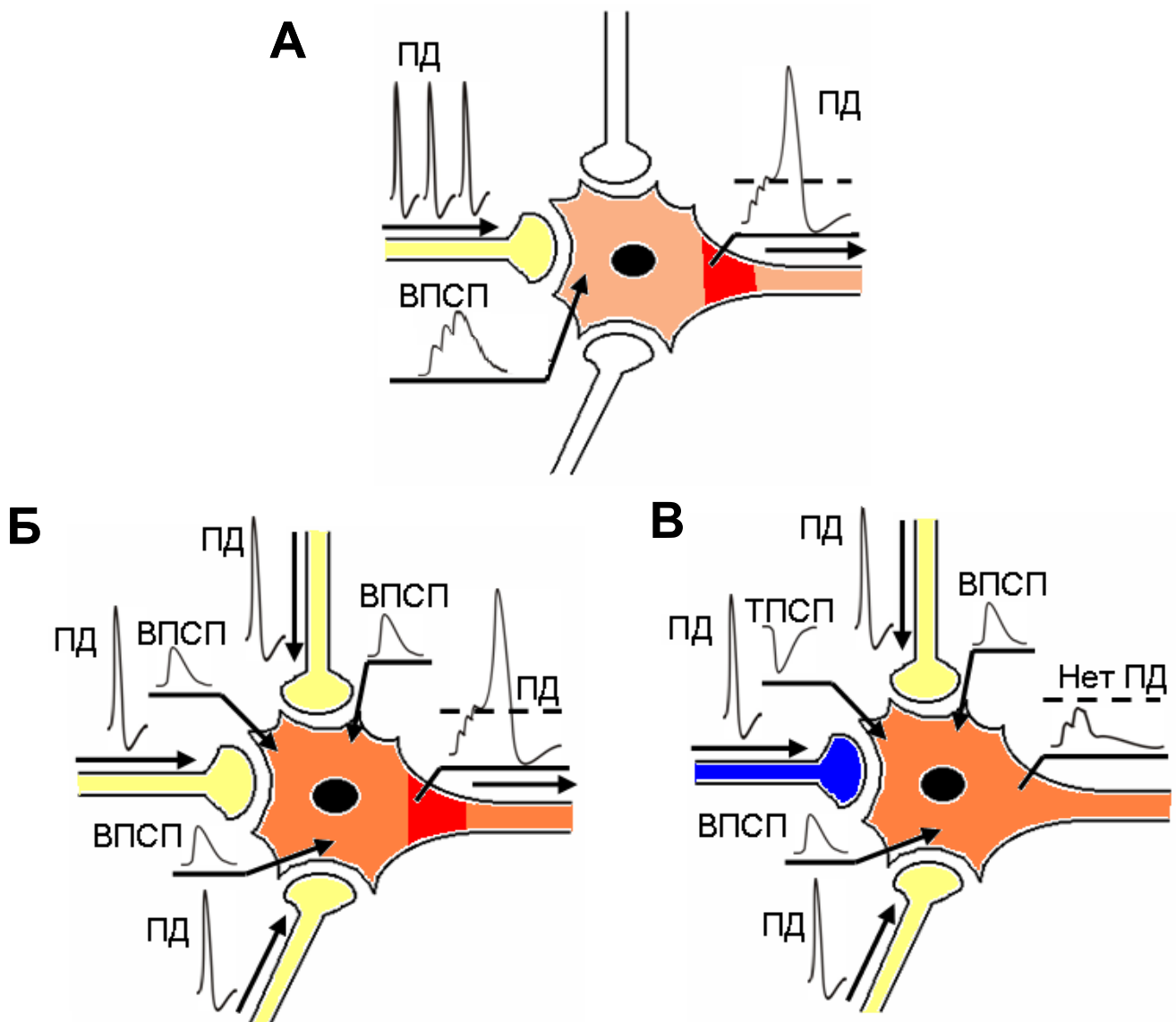


Рис. 34. Пространственная и временная суммация постсинаптических потенциалов на мембране нейрона

Представлена гипотетическая нервная клетка, на которой окончания соседних нейронов образуют аксо-соматические синапсы (входы «1», «2», «3»). А – Временная суммация. При высокочастотной активации входа «2» происходит суммация трех последовательных ВПСП. Суммарный ВПСП электротонически распространяется по мембране клетки и достигает аксонного холмика (темный участок центрального нейрона), где происходит генерация потенциала действия (ПД). Б – Пространственная суммация (3 ВПСП). При одновременной активации входов «1», «2» и «3» возникают пространственно разделенные ВПСП. Электротоническое распространение сигналов по мембране приводит к их суммации. В области аксонного холмика достигается критический уровень деполяризации, и возникает ПД. В – Пространственная суммация (2 ВПСП + 1 ТПСП). Ситуация как в Б, но вход «2» является не возбуждающим, а тормозным. При суммации ТПСП, возникшего во входе «2», с ВПСП входов «1» и «2» критический уровень деполяризации мембраны не достигается, и ПД не возникает.



Нобелевская премия 1932 года в области физиологии и медицины



**Сэр Чарльз Скотт
Шеррингтон**



**Эдгар Дуглас
Эдриан**

«За открытия, относящиеся к функциям нейронов»

Рис. 35. Лауреаты Нобелевской премии 1932 года Сэр Чарльз Скотт Шеррингтон и Эдгар Дуглас Эдриан

Процессы интеграции синаптических воздействий в нейронах впервые были изучены выдающимся английским физиологом сэром Чарльзом Шеррингтоном, который кстати и ввел термин «синапс», а также описал механизм торможения. В 1932 году он совместно с Эдгаром Эдрианом, изучавшим механизмы функционирования рецепторных органов и нервных волокон, был удостоен Нобелевской премии (рис. 35).

Итак, конечным итогом синаптической передачи является возникновение на постсинаптической клетке градуального электрического сигнала – постсинаптического потенциала. Его амплитуда, в отличие от потенциала действия, может очень сильно меняться, в зависимости от ряда факторов – количества высвободившегося медиатора, чувствительности рецепторов, предшествующей активности синапса, и т. д. Именно это свойство постсинаптического потенциала – способность изменяться, лежит в основе синаптической пластичности – феномена, объясняющего формирование памяти и обучения. Мы узнали, что постсинаптические потенциалы могут быть не только возбуждающими, но и тормозными, что еще больше увеличивает пластические характеристики этих сигналов.

Информация, поступающая к нейрону по огромному количеству синапсов в виде постсинаптических потенциалов, интегрируется мембраной клетки и приводит к постоянному колебанию мембранного потенциала. При достижении критического уровня деполяризации происходит генерация потенциала действия – сигнала, который нейрон передает через аксон другим клеткам. В итоге деятельность нервной клетки сводится к созданию паттерна активности, характеризующегося двумя параметрами – частотой и количеством потенциалов действия. Таким образом кодируется любая информация в нервной системе.

2. Рецепторные потенциалы. Характеристика и свойства

Мы познаем окружающий нас мир при помощи органов чувств. Эта уникальная способность связана с наличием специальных клеток – рецепторов, чувствительных к тем или иным видам воздействий, таким как свет, звук, запах, прикосновение и др. **Рецептор** – это высокоспециализированная клетка (нервная или эпителиальная), способное воспринять, трансформировать и передать энергию внешнего стимула в нервную систему. Понятие «рецептор» имеет и еще одно значение: мембранная белковая молекула, чувствительная к какому-либо стимулу; следует различать «клеточный рецептор» и «молекулярный рецептор». Далее мы будем использовать данный термин в первом значении.

Все рецепторы подразделяются на первично- и вторично-чувствующие (таблица 2, рис. 36). У **первично-чувствующих рецепторов** стимул воспринимается непосредственно (первично) сенсорным нейроном, тогда как в случае **вторично-чувствующих рецепторов** стимул воспринимается специализированной клеткой (обычно эпителиальной природы), которая затем передает сигнал чувствительному нейрону.

При воздействии **адекватного стимула** в рецепторах возникают особые электрические сигналы – **рецепторные потенциалы**, которые кодируют интенсивность и длительность воздействия стимула. Таким образом, любой вид сенсорного восприятия сопровождается **трансдукцией** - процессом перехода энергии любого стимула в электрический сигнал нервной системы. В таблице 2 представлено сравнение свойств различных сенсорных систем.

Рецепторный потенциал возникает в результате активации специальных рецепторных белковых молекул, чувствительных к каким-либо воздействиям. Большинство рецепторных потенциалов являются **возбуждающими**, то есть проявляются в виде **деполяризации** мембраны. Они связаны с неселективным увеличением проницаемости для небольших катионов (натрий, калий, кальций). Вместе с тем, в сетчатке глаза и волосковых клетках уха были найдены и **тормозные** рецепторные потенциалы, которые **гиперполяризуют** мембрану.

Таблица 2. Свойства чувствительных систем организма

Сенсорная система	Модальность	Энергия стимула	Класс рецепторов	Клеточный тип рецепторов	Вид Рецепторов
<i>Зрительная</i>	Зрение	Свет	Фоторецептор	Палочки и колбочки	Вторично-чувствующие
<i>Слуховая</i>	Слух	Звук	Механорецептор	Волосковые клетки (улитка уха)	Вторично-чувствующие
<i>Вестибулярная</i>	Баланс	Гравитация	Механорецептор	Волосковые клетки (вестибулярный лабиринт),	Вторично-чувствующие
<i>Соматосенсорная</i>	Прикосновение	Давление	Механорецептор	Кожные механорецепторы	Первично-чувствующие
	Проприоцепция	Смещение	Механорецептор	Мышечные и суставные рецепторы	Первично-чувствующие
	Температурная чувствительность	Тепловая	Терморецептор	Тепловые и холодовые рецепторы	Первично-чувствующие
	Боль	Химическая, тепловая, механическая	Хеморецептор, Терморецептор, Механорецептор	Полимодальные, тепловые и механические ноцицепторы	Первично-чувствующие
<i>Вкусовая</i>	Вкус	Химическая	Хеморецептор	Вкусовые сосочки	Вторично-чувствующие
<i>Обонятельная</i>	Запах	Химическая	Хеморецептор	Обонятельные нейроны	Первично-чувствующие

Впервые рецепторные потенциалы были зарегистрированы Эдгаром Эдрианом на мышечных веретенах кожно-грудинной мышцы лягушки. В 1932 году за это и другие открытия в области физиологии нервной системы он был удостоен Нобелевской премии (рис. 35).

Возникновение рецепторного потенциала является начальным этапом сенсорного восприятия. Будучи локальным ответом, рецепторный потенциал затухает вблизи места возникновения, поэтому для успешной передачи сенсорного сигнала в нервной системе необходимо возникновение потенциала действия. Процесс передачи сенсорного сигнала в первично- и вторично-чувствующих рецепторах различается (рис. 36). В случае первично-чувствующих рецепторов на мембране дендрита сенсорного нейрона возникает рецепторный потенциал, и при достижении порогового уровня генерируется потенциал действия. Далее он проводится по дендриту, телу и аксону нейрона, достигая нервных окончаний аксона и вызывая выброс медиатора из них. В случае вторично-чувствующих рецепторов стимул воспринимается мембраной специализированной воспринимающей клетки, которая образует химический синапс с чувствительным нейроном. Рецепторный потенциал воспринимающей

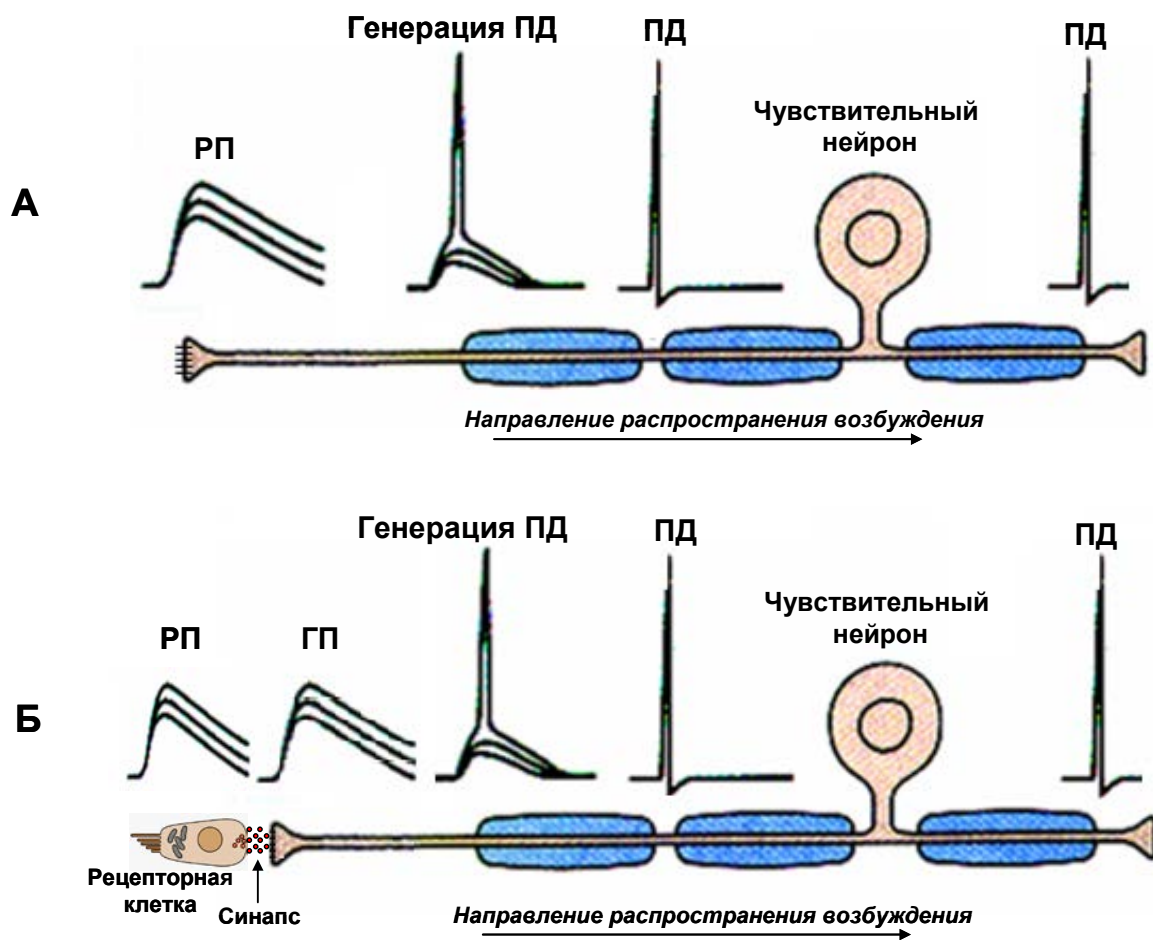


Рис. 36. Принципиальные различия между первично-чувствующими и вторично-чувствующими рецепторами

В случае первично-чувствующих рецепторов (А) рецепторный потенциал (РП) возникает в окончании дендрита чувствительного нейрона. Затем происходит генерация потенциала действия (ПД), который проводится до тела клетки и далее по аксону.

В случае вторично-чувствующих рецепторов (Б) рецепторный потенциал возникает в специализированной рецепторной клетке, которая образует синапс с дендритом нейрона. Под действием рецепторного потенциала происходит изменение уровня секреции нейромедиатора из рецепторной клетки и возникновение генераторного потенциала (ГП) в дендрите чувствительного нейрона. Далее происходит генерация потенциала действия и его проведение к телу и далее по аксону чувствительного нейрона. Следует помнить, при некоторых видах рецепции (например, фоторецепции) дендрит чувствительного нейрона очень короткий, и проведение возбуждения по нему происходит электротонически, а потенциал действия генерируется в аксонном холмике.

клетки вызывает выброс медиатора, что приводит к появлению постсинаптического потенциала сенсорного нейрона, называемого также **генераторным потенциалом**. При достижении критического уровня деполяризации в нейроне возникает потенциал действия, который проводится в центральную нервную систему. Необходимо заметить, что гиперполяризационные рецепторные потенциалы, встречающиеся в фоторецепторах и волосковых клетках, уменьшают выброс медиатора, тем самым снижая величину мембранного потенциала и блокируя возникновение потенциалов действия в нейроне.

Более детально рассмотрим процесс трансдукции стимулов в различных видах рецепторов.

А. Фоторецепция в сетчатке глаза

Фоторецепторы расположены в сетчатке глаза и обеспечивают зрительную рецепцию. Существует два вида фоторецепторов – палочки и колбочки, которые отвечают за ночное и дневное зрение, соответственно. На рис. 37А показано их строение. Рассмотрим механизмы сенсорной трансдукции в этих клетках. В покое (в темноте) фоторецепторы деполяризуются постоянным входящим током в области наружного сегмента. Данный ток, названный «темновым», осуществляется в основном ионами натрия,двигающимися по электрохимическому градиенту через катионные каналы. За счет этого мембранный потенциал покоя фоторецепторов достаточно низок – около -40 мВ. Воздействие света приводит к закрытию этих каналов, и следовательно, гиперполяризации мембраны фоторецептора. Таким образом, активация фоторецепторов приводит к возникновению **гиперполяризационного рецепторного потенциала** (рис. 37 Б).

Начальный этап фототрансдукции связан с абсорбцией света специальными зрительными пигментами, расположенными на мембранах внутриклеточных дисков (в палочках) либо инвагинациях плазматической мембраны (в колбочках) (Рис. 37А). Пигментом палочек является родопсин,

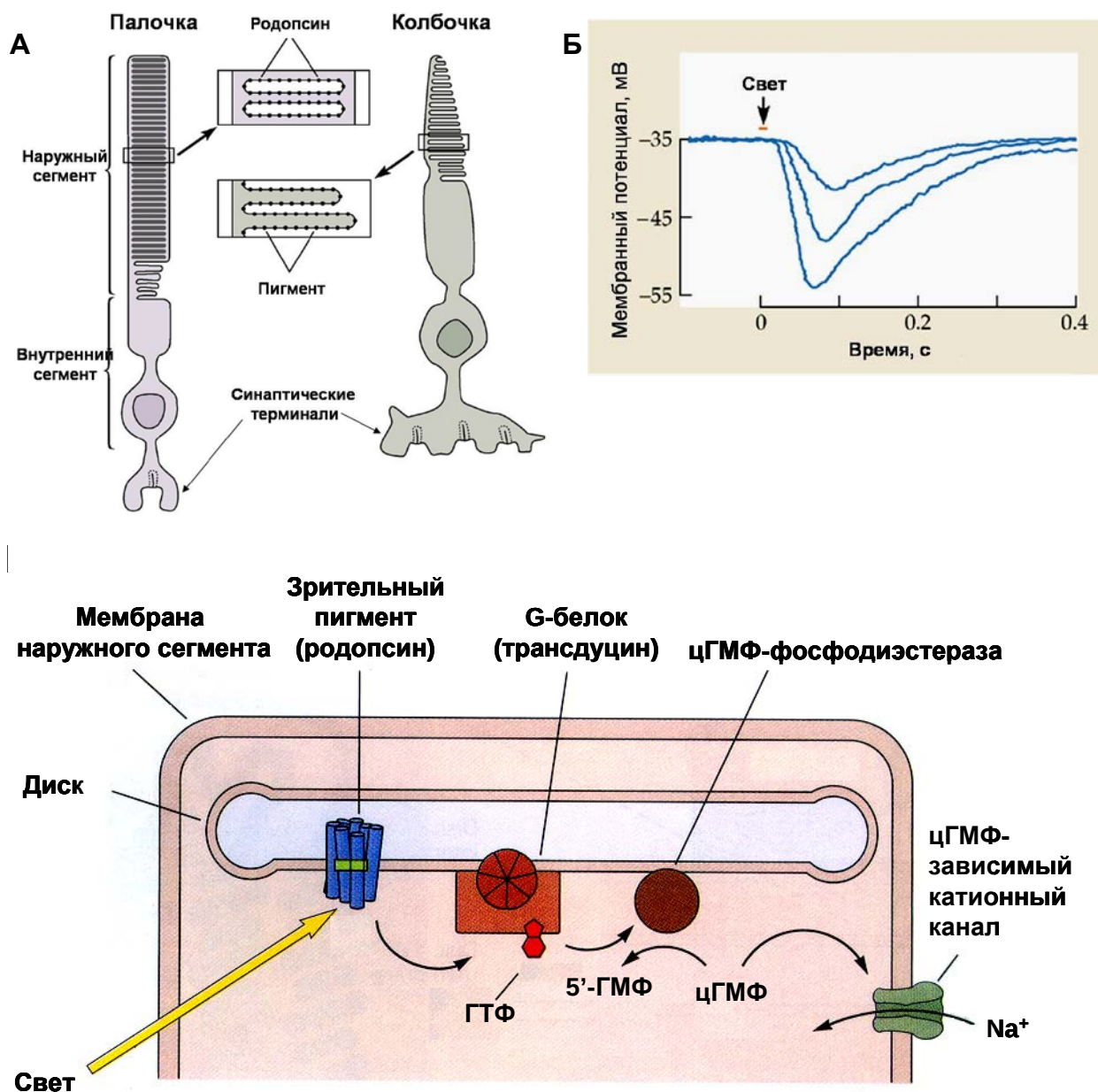


Рис. 37. Фоторецепция

А – Строение фоторецепторов. Палочки и колбочки состоят из наружного сегмента, содержащего пигмент, внутреннего сегмента и синаптической терминали, высвобождающей глутамат на клетки второго порядка. Б – Воздействие света вызывает гиперполяризационный рецепторный потенциал, амплитуда которого зависит от интенсивности света. В – Фототрансдукция в рецепторах сетчатки показана на примере палочки. В отсутствие света цГМФ-зависимые катионные каналы под действием высокой концентрации цГМФ находятся в открытом состоянии. При попадании света на фоторецептор (показан желтой стрелкой) происходит активация зрительного пигмента (родопсина в палочках), встроенного в мембраны дисков наружного сегмента фоторецептора. Активированный пигмент стимулирует G-белок (трансдуцин в палочках), который активирует цГМФ-фосфодиэстеразу. Этот фермент расщепляет цГМФ до 5'-ГМФ, что приводит к снижению внутриклеточной концентрации цГМФ и, следовательно, к закрытию цГМФ-зависимых катионных каналов. Уменьшение входящего тока приводит к гиперполяризации мембраны фоторецептора.

который состоит из белка опсина и светопоглощающей части – 11-цис ретиналя, производного витамина А. Под действием света 11-цис ретиналь превращается в транс-ретиналь. Каждый из трех видов колбочек имеет пигмент, предназначенный для поглощения определенной части спектра видимого света – красной, зеленой или синей. Пигменты колбочек структурно очень сходны с родопсином палочек; отличие заключается лишь в структуре белковой части (опсин), которая и определяет светочувствительность пигмента.

Установлено, что связующим звеном между процессом активации зрительных пигментов и изменением проницаемости мембраны фоторецептора является вторичный посредник - циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ). В покое (в темноте) в цитоплазме содержится высокая концентрация цГМФ, что поддерживает цГМФ-чувствительные катионные каналы мембраны фоторецептора в открытом состоянии. Падение света на фоторецепторы приводит к снижению концентрации цГМФ, что уменьшает долю открытых каналов. На рисунке 37 В показан внутриклеточный каскад фототрансдукции.

Фоторецепторы образуют глутаматергические синапсы с биполярными клетками. Выделяют два типа таких клеток – «ON» (включать) и «OFF» (выключать). ON-клетки ингибируются (гиперполяризуются), а OFF-клетки, наоборот, активируются (деполяризуются) под действием глутамата, выделяемого фоторецепторами. Каждая колбочка имеет синапсы как с ON-, так и с OFF-клетками. В покое за счет деполяризации мембраны темновым током кальциевые каналы фоторецепторов открыты, происходит вход кальция и постоянный выброс глутамата. Соответственно, в покое ON-клетки гиперполяризованы, а OFF-клетки – деполяризованы. При действии света происходит гиперполяризация фоторецепторов, что приводит к уменьшению выброса глутамата, и, следовательно – деполяризации ON-клеток и гиперполяризации OFF-клеток. Различные ответы на глутамат связаны с его действием на разные катионные каналы в ON- и OFF-клетках. Так, в ON-клетках глутамат вызывает открытие калий-селективных ионных каналов, либо закрытие цГМФ-зависимых каналов, обеспечивающих входящий натриевый

Рис. 38. Передача сигналов между клетками сетчатки

Под действием света происходит гиперполяризация мембраны колбочки, что приводит к угнетению выброса глутамата в синапсах на биполярных клетках. ON- и OFF-биполярные клетки по-разному реагируют на уменьшение выброса глутамата. Так, ON-клетки отвечают деполяризацией мембраны и увеличением собственного выброса глутамата в синапсе с ганглиозной клеткой. Далее, в ганглиозной клетке возникает генераторный потенциал и залп потенциалов действия. Напротив, OFF-клетки отвечают гиперполяризацией и уменьшением секреции глутамата в синапсе с ганглиозной клеткой. Соответственно, происходит гиперполяризация ганглиозной клетки и прекращение генерации потенциалов действия.

ток. В OFF-клетках глутамат активирует каналы, проводящие ионы натрия.

Биполярные клетки образуют глутаматные синапсы с ганглиозными клетками. Деполяризация ON-клетки под действием света будет приводить к возбуждению ганглиозной клетки (**генераторный потенциал**) и генерации в ней потенциалов действия, тогда как гиперполяризация OFF-клетки при действии света будет вызывать ингибирование ганглиозной клетки (Рис. 38). Помимо фоторецепторов, биполярных и ганглиозных клеток, в сетчатке есть горизонтальные и амакринные клетки, которые участвуют в обработке и передаче сенсорной информации.

Ключевое значение в развитии представлений о зрительной рецепции сыграли работы трех выдающихся ученых. Это швед Рагнар Гранит, открывший механизм цветовосприятия, американец Халдан Хартлайн, расшифровавший процессы кодирования зрительной информации, и американец Джордж Уолд, который открыл фотохимические реакции, лежащие в основе зрительного восприятия. В 1967 году они были удостоены Нобелевской премии (рис. 39).



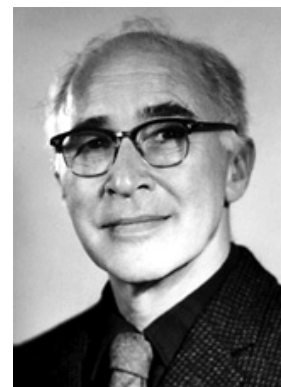
Нобелевская премия 1967 года в области физиологии и медицины



**Рагнар
Гранит**



**Халдан Кеффлер
Хартлайн**



**Джордж
Уолд**

«За открытие первичных физиологических и химических зрительных процессов в глазе»

Рис. 39. Лауреаты Нобелевской премии 1967 года Рангар Гранит, Халдан Кеффлер Хартлайн, Джордж Уолд

Б. Механорецепция во внутреннем ухе

Восприятие звуковых колебаний (слух) и изменений скорости движения (вестибулярная система) обеспечиваются волосковыми клетками, расположенными в улитке и полукружных каналах уха. Волосковые клетки обладают колоннообразной формой и не имеют отростков. На плоской апикальной поверхности клетки расположен **волосковый пучок**, который представляет собой рецепторный аппарат для восприятия механического стимула - перемещения жидкости полостей внутреннего уха. Высота волоскового пучка в зависимости от локализации клетки может варьировать от 1 до 100 мкм. В состав пучка входит 20-200 стереоцилий различной длины, образующих скошенную структуру, и 1 киноцилия, обладающая булавовидной формой и расположенная с высокого края пучка (Рис 40 А).

Мембрана волоскового пучка содержит механочувствительные неселективные катионные каналы, при этом небольшая их часть открыта и в покое. Мембранный потенциал покоя волосковой клетки составляет около -60 мВ. Отклонение волоскового пучка в сторону высокого края вызывает открытие еще большего количества механочувствительных каналов, что приводит к деполяризации мембраны клетки. И наоборот, смещение пучка в сторону низкого края закрывает даже те каналы, которые открыты в покое, и мембрана гиперполяризуется (Рис. 40 Б). Электронно-микроскопические исследования показали, что открытие и закрытие механочувствительных каналов волоскового пучка происходит за счет ворот, положение которых регулируется натяжением эластической пружины, прикрепляющейся к каналам двух соседних стереоцилий (Рис. 40 В).

Волосковые клетки обладают очень высокой чувствительностью к механическим стимулам. Минимальный рецепторный потенциал величиной примерно 100 мкВ возникает при отклонении волоскового пучка всего лишь на 0.3 нм. Исследования с применением метода пэтч-кламп и шумового анализа показали, что каждая волосковая клетка содержит около 100 механочувствительных каналов, то есть на одну стереоцилию приходится всего

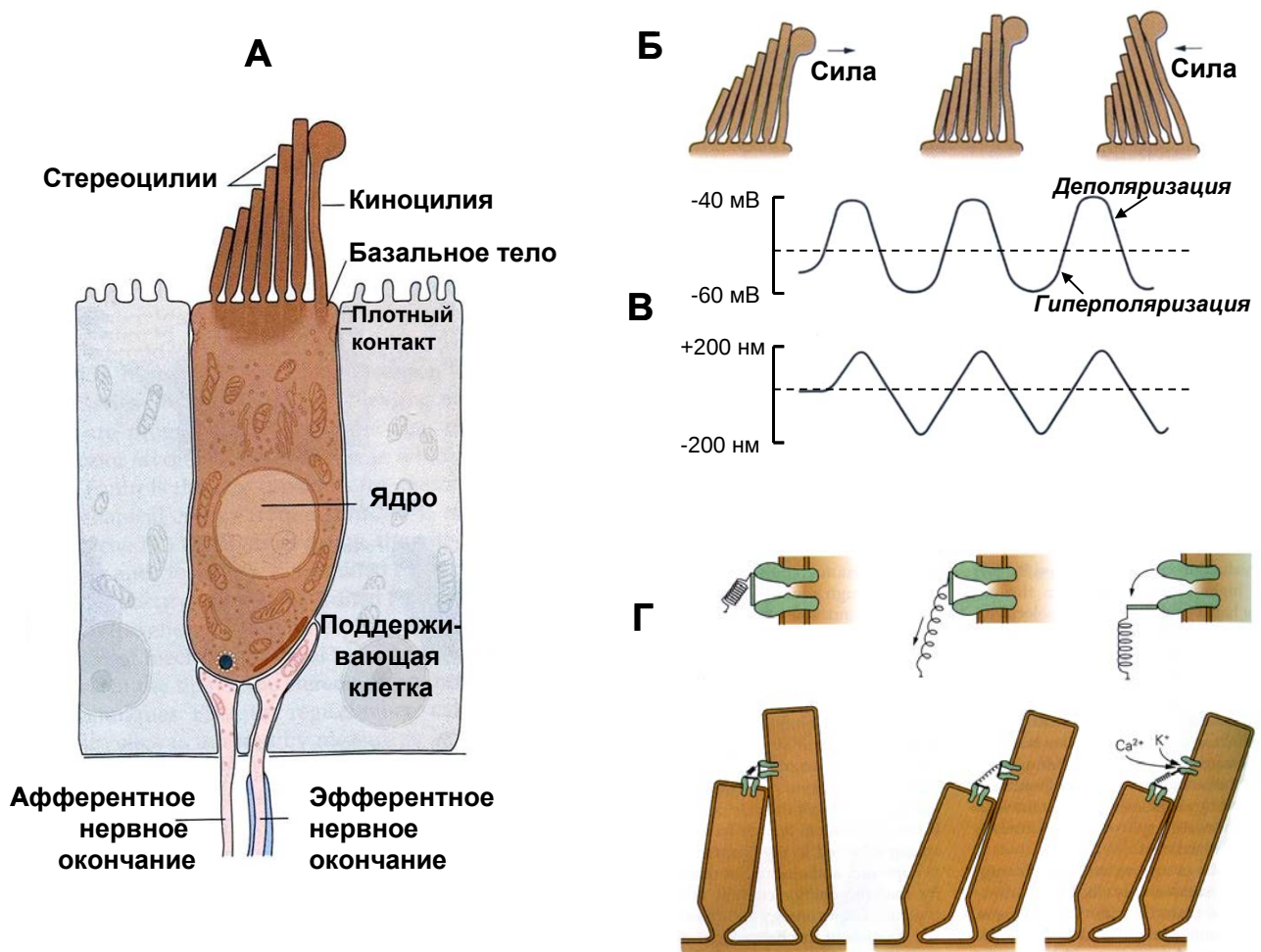


Рис. 40. Механорецепция в волосковых клетках

А – Волосковая клетка связана с соседними поддерживающими клетками кольцевым плотным контактом в области апикального периметра. От апикальной поверхности базального тела отходит волосковый пучок – механочувствительная часть клетки. На базолатеральной поверхности волосковой клетки расположены синапсы с афферентными и эфферентными нервными окончаниями. Механическое воздействие на волосковый пучок (*В*, нижняя запись) вызывает отклонение этой эластической структуры (*Б*), что приводит к появлению деполяризационных (при отклонении в сторону высокого края) и гиперполяризационных (при отклонении в сторону низкого края) рецепторных потенциалов (*В*, верхняя запись). *Г* – Механизм открытия механочувствительных катионных каналов под воздействием растяжения.

один либо несколько каналов. Ток через эти каналы осуществляется в основном калием, концентрация которого выше в эндолимфе, чем в волосковой клетке, а также в меньшей степени кальцием. Пора этих каналов может быть блокирована аминогликозидными антибиотиками – стрептомицином, гентамицином и др., что обуславливает их ототоксичность. Считается, что эти вещества повреждают волосковые пучки и вызывают гибель волосковых клеток.

Волосковые клетки образуют синапсы с чувствительными нервными окончаниями (Рис. 40 А). Синапсы расположены с базолатеральной поверхности стороны каждой волосковой клетки. Освобождение нейромедиатора (вероятно, глутамата) из волосковой клетки запускается входом ионов кальция при деполяризации, однако наблюдается и в отсутствии стимуляции благодаря наличию кальциевых каналов, открытых при мембранном потенциале покоя. Количество выделяемого медиатора усиливается при деполяризации клетки и уменьшается при гиперполяризации.

В. Обонятельная рецепция

Обонятельные нейроны расположены в обонятельном эпителии носовой полости. Особенностью этих клеток является то, что они живут всего 30-60 дней, и постоянно замещаются новыми, образующимися из популяции базальных стволовых клеток. Обонятельный нейрон представляет собой биполярную клетку с дендритом и аксоном. Дендрит отходит от апикального полюса нейрона и образует 10-20 тонких цилий, располагающихся в слизистом слое. Именно цилии обеспечивают детекцию запахов. Слизь, вырабатываемая поддерживающими клетками обонятельного эпителия и Боуменовыми железами, обеспечивает необходимую среду для распознавания запахов.

В мембране цилий содержится около 1000 различных видов рецепторов. Все они принадлежат к большому семейству структурно схожих белков, взаимодействующих с G-белками. Воздействие пахучих веществ вызывает каскад реакций: активация рецептора – активация G-белка – активация

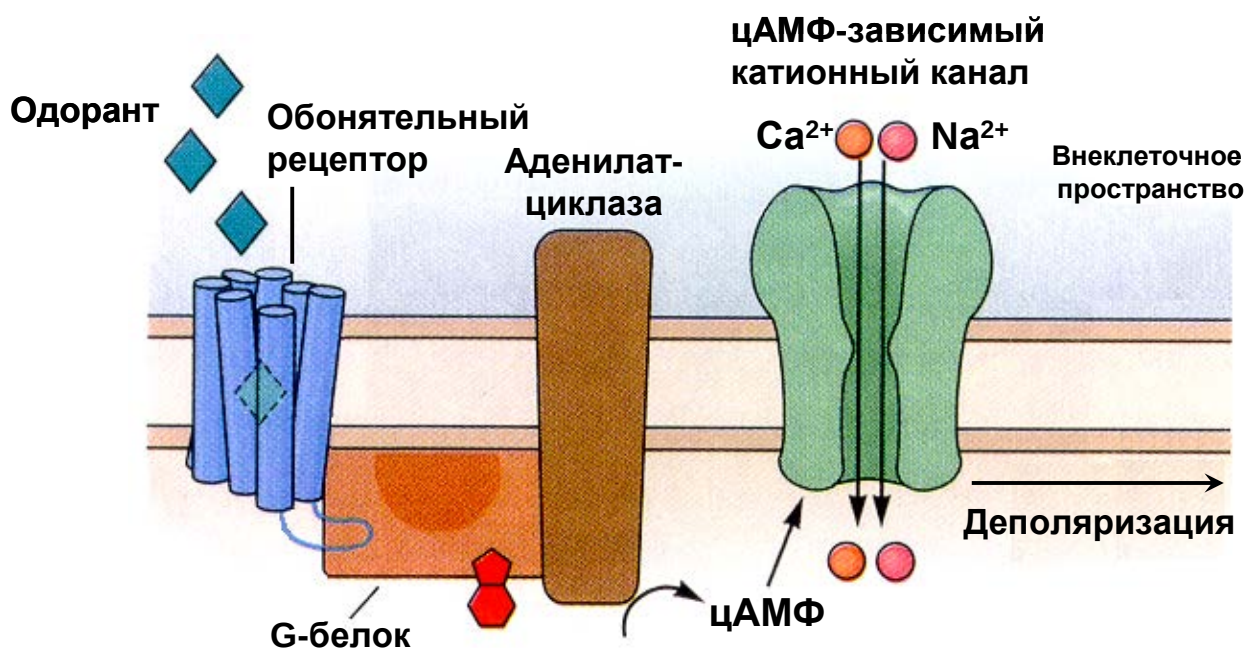


Рис.41. Сенсорная трансдукция в обонятельных нейронах

Смотрите объяснения в тексте.

аденилатциклазы - повышение уровня внутриклеточного цАМФ – активация цАМФ-зависимых катионных каналов. Ток через данные каналы вызывает деполяризацию мембраны (Рис. 41).

Выявлено, что связывание рецепторов с одорантами вызывает также активацию сигнальных путей инозитолтрифосфата, цГМФ и монооксида углерода, однако их роль пока недостаточно изучена.

Г. Вкусовая рецепция

Распознавание вкуса происходит благодаря вкусовым клеткам, расположенным во вкусовых почках на поверхности языка, неба, глотки, надгортанника и верхней трети пищевода. Наибольшее количество вкусовых почек расположено в сосочках языка: грибовидных, желобоватых и листовидных.

В составе вкусовой почки выделяют 4 типа клеток: базальные, темные, светлые и промежуточные клетки. Считается, что базальные клетки являются

стволовыми, благодаря которым происходит постоянная регенерация вкусовых клеток. Вкусовая рецепция связывается с функцией трех остальных (небазальных) типов клеток. На апикальной поверхности вкусовых клеток расположено до 40 микроворсинок, которые выступают во вкусовую пору, расположенную на поверхности эпителия. Именно микроворсинки обеспечивают сенсорную трансдукцию. Будучи не-нейрональными эпителиальными клетками, вкусовые клетки, тем не менее, образуют химические синапсы с окончаниями чувствительных нейронов на своей базальной поверхности и способны к генерации потенциала действия. (рис.42).

Есть четыре основных вкуса: горький, соленый, сладкий и кислый. Кроме того, выделяют дополнительный, пятый вкус «умами» (в переводе с японского языка – «восхитительный вкус»), вызываемый глутаматом натрия. В общих словах, механизм сенсорной трансдукции состоит из следующих этапов: взаимодействие химического вещества с ионными каналами или рецепторами на апикальной мембране вкусовой клетки – возникновение рецепторного потенциала на мембране вкусовой клетки (деполяризация) - потенциал действия вкусовой клетки - секреция нейромедиатора из вкусовой клетки в синапсе с чувствительным нервным окончанием – возникновение генераторного потенциала в афферентном нейроне и генерация потенциала действия. Иногда действие вкусового вещества за счет активации систем

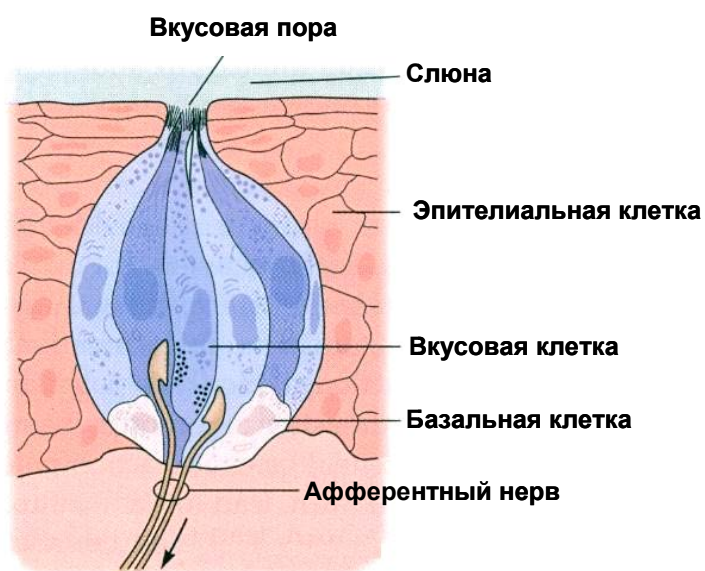


Рис.42. Строение вкусовой почки

вторичных посредников вызывает выброс кальция из внутриклеточных депо, при этом выделение медиатора из вкусовой клетки происходит **без деполяризации мембраны**.

Начальный этап рецепции различных вкусов обеспечивается разными механизмами, причем каждый вкус может иметь несколько трансдукционных путей.

Так, сладкий вкус обеспечивается взаимодействием сладкого вещества с G-белок-связанными рецепторами, ведущим к повышению уровня внутриклеточного цАМФ и активации цАМФ-зависимой протеинкиназы А. Эта киназа, в свою очередь, инактивирует калиевые каналы покоя на мембране клетки путем фосфорилирования, что приводит к деполяризации мембраны (Рис. 43 А). Другой возможный механизм – активация инозитолтрифосфатного пути с последующим выбросом кальция из внутриклеточных депо.

Горький вкус также определяется активацией G-белок-связанных рецепторов. Далее происходит либо активация фосфолипазы С с дальнейшим увеличением продукции инозитолтрифосфата и выбросом кальция из депо, либо активация G-белка густдудина с последующим увеличением активности фосфодиэстераз и снижением концентрации цАМФ и цГМФ в клетке. Некоторые горькие вещества напрямую вызывают блок калиевых каналов мембраны вкусовой клетки, что ведет к деполяризации (Рис. 43 Г).

Соленый вкус, в частности NaCl, связан с диффузией ионов натрия по апикальным амилорид-чувствительным натриевым каналам вкусовых клеток, что напрямую деполяризует мембрану (Рис. 43 Б). Калиевые соли деполяризуют мембрану за счет изменений величины выходящего калиевого тока.

Кислый вкус связан с блокадой апикальных калиевых каналов покоя под действием ионов водорода, что приводит к деполяризации мембраны волосковой клетки. Другой возможный механизм – вход ионов водорода по амилорид-чувствительным натриевым каналам. При высокой концентрации

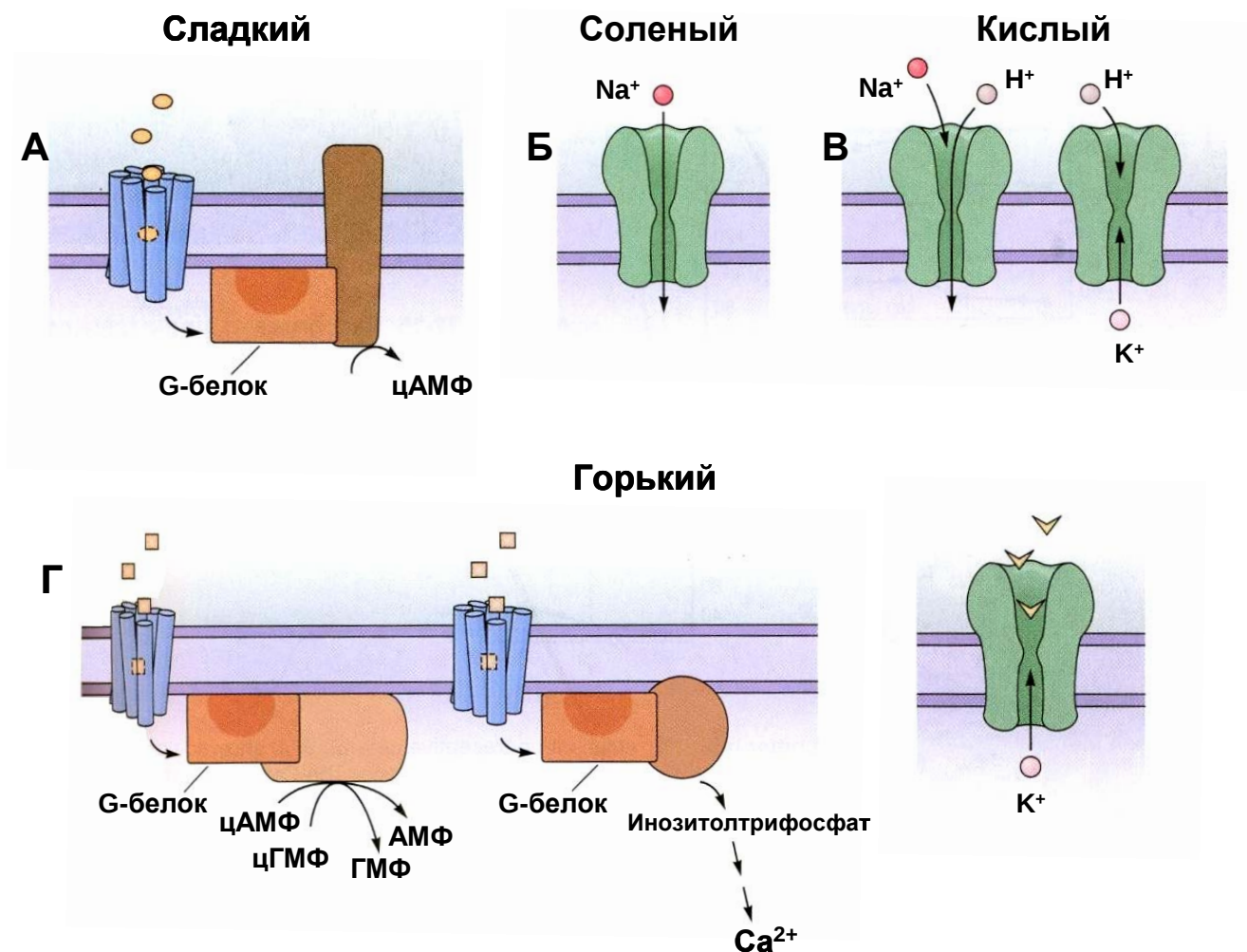


Рис. 43. Трансдукционные механизмы вкуса

Смотрите пояснения в тексте

NaCl в слюне протоны блокируют вход натрия по этим каналам, поэтому кислоты ослабляют рецепцию соленого вкуса у человека (Рис. 43 В).

Вкус «умами», вероятно, трансдуцируется путем активации метаботропных (G-белок-связанных) глутаматных рецепторов.

Таким образом, все разнообразие трансдукционных механизмов вкусовой чувствительности можно разделить на два больших класса: те, которые связаны с прямым действием на ионные каналы мембраны, и те, что определяются активацией мембранных рецепторов и запуском каскада вторичных посредников.

Д. Механорецепция в мышечных веретенах

Мышечные веретена представляют собой рецепторы растяжения в скелетных мышцах млекопитающих. Каждое мышечное веретено, состоящее из 8-10 интрафузальных волокон, иннервируется двумя типами сенсорных волокон – более крупными и быстрыми типа Ia и более тонкими и медленными типа II (Рис. 44А). Окончания волокон Ia чувствительны в основном к быстрым изменениям степени растяжения, тогда как группа II – к уровню статического напряжения. Сенсорные волокна типа Ia представляют собой афферентное звено моносинаптических стретч-рефлексов.

Растяжение мышечных веретен вызывает физическую деформацию мембран чувствительных нервных окончаний, что приводит к активации неселективных катионных каналов, связанных при помощи белка спектрина с цитоскелетом клетки (Рис. 44 Б). Вход натрия и, возможно, кальция по этим каналам приводит к деполяризации сенсорных окончаний, при этом амплитуда рецепторного потенциала пропорциональна силе растяжения (Рис.44 В). При достижении критического уровня деполяризации возникает потенциал действия. Относительно длительное растяжение вызывает залп нервных импульсов.

Е. Соматосенсорная система

Рецепторы соматосенсорной системы, в соответствии с типом стимула, на который они отвечают, можно разделить на три основных типа: **механорецепторы, терморецепторы и ноцицепторы.**

Механорецепторы кожи реагируют на тактильные стимулы – прикосновение к коже, поглаживание или давление. Большинство из них являются инкапсулированными нервными окончаниями, то есть имеют специализированную капсулу, опосредующую влияние механической деформации на мембрану нервной терминали. Выделяют быстро адаптирующиеся – волосные рецепторы, тельца Мейсснера, тельца Пачини, а

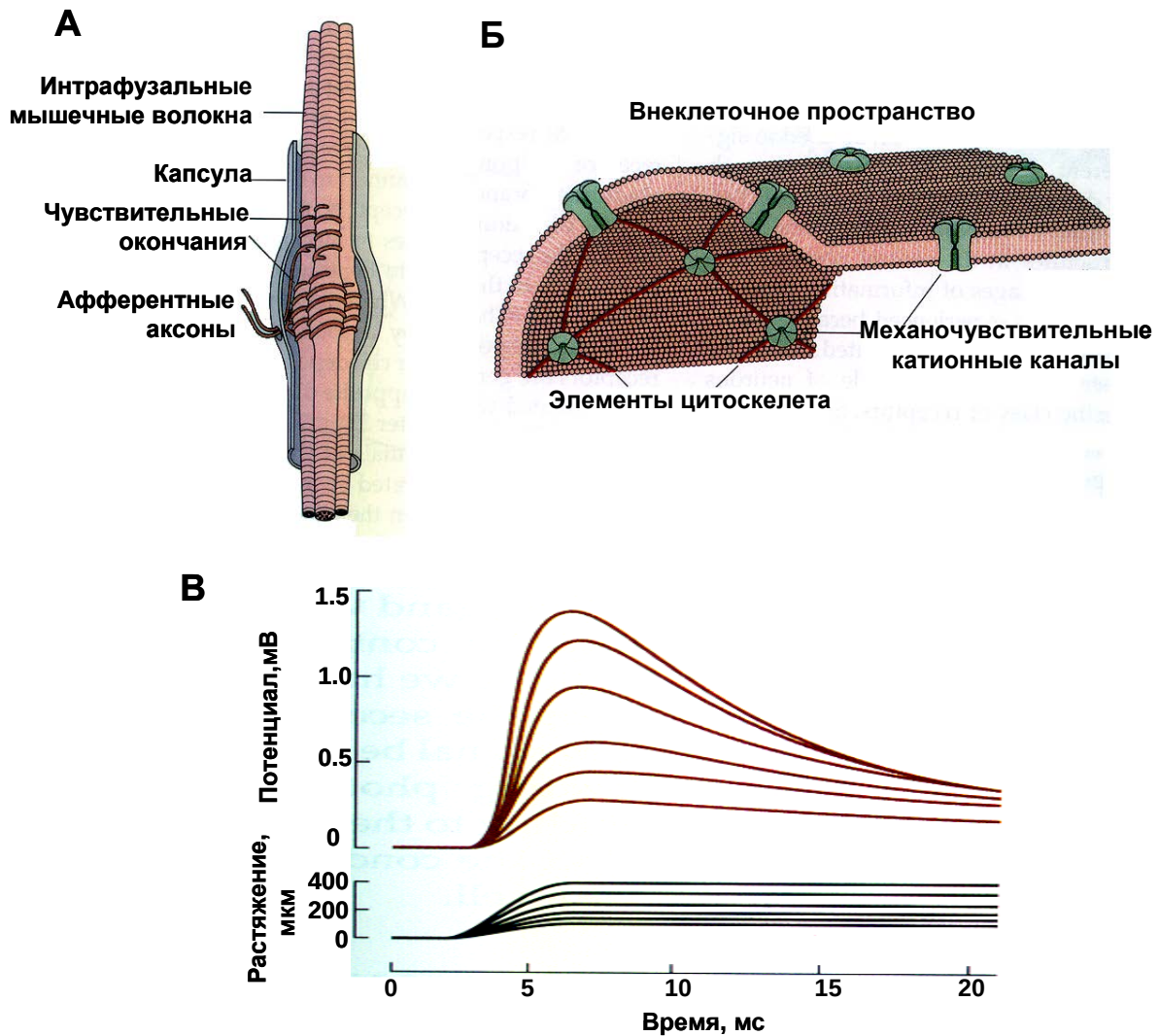


Рис. 44. Механорецепция в мышечных веретенах

На верхней части рисунка показаны строение мышечного веретена (А) и механочувствительной мембраны сенсорных окончаний (Б). В – ответы изолированного мышечного веретена на растяжение. Верхняя запись показывает рецепторные потенциалы, возникающие в сенсорных окончаниях при растяжении на разную длину. Нижняя запись отражает амплитуду растяжений. Начальная деполяризация чувствительных окончаний пропорциональна амплитуде и скорости растяжения (динамический ответ), однако, когда растяжение фиксируется на определенной длине, рецепторный потенциал спадает до более низких значений, пропорциональных только амплитуде растяжения (статический ответ).

также медленно адаптирующиеся – диски Меркеля и тельца Руффини. При этом наиболее поверхностно из них расположены тельца Мейсснера и диски Меркеля, а глубоко – тельца Пачини и Руффини (Рис. 45). Механорецепторы иннервируются толстыми миелинизированными волокнами, проводящими потенциалы действия с большой скоростью.

Трансдукция в механорецепторах происходит благодаря наличию механочувствительных ионных каналов в мембране нервного окончания, при активации которых возникает входящий катионный (натриевый или кальциевый) ток, обеспечивающий возникновение деполяризующего рецепторного потенциала с последующей генерацией потенциала действия. В отсутствии тактильных стимулов механорецепторы «молчат».

Рис. 45. Локализация и морфология механорецепторов кожи

Многие механорецепторы располагаются поверхностно, в области границы эпидермиса и дермы (свободные нервные окончания, тельца Мейсснера, диски Меркеля), тогда как другие – более глубоко, в дерме и подкожной клетчатке (тельца Пачини и Руффини). Рецепторный аппарат кожи без волосяного покрова (пальцев, ладоней, губ и др.) и волосистой кожи несколько различен. Например, тельца Мейсснера располагаются преимущественно в безволосой коже, тогда как в волосистой коже расположено больше свободных нервных окончаний.

Терморесепторы, обеспечивающие температурную чувствительность кожи, представляют собой свободные нервные окончания. Термальные ощущения происходят из разности между температурой объекта, контактирующего с кожей, и нормальной температурой кожи (34° С). В отличие от механорецепторов, тепловые и холодные ресепторы даже при нормальной температуре с небольшой частотой генерируют потенциалы действия (2-5 имп/с). При охлаждении исчезает импульсация тепловых ресепторов, а при нагревании – холодных. Максимальная активность холодных ресепторов наблюдается при 25° С, а тепловых – при 45°С. Дальнейшее снижение или повышение температуры приводит к снижению активности терморесепторов. Из этого следует, что во-первых, они не могут сигнализировать о боли, связанной с сильным нагреванием или охлаждением, а во-вторых, один только тепловой или холодный ресептор не может дать точную информацию о температуре.

Последние исследования показали, что термотрансдукция связана с наличием специальных, температуро-чувствительных ионных каналов из семейства TRP (transient receptor potential – «временный ресепторный потенциал») на мембранах терморесепторов. Эти каналы проницаемы для катионов, особенно для кальция. На данный момент существует несколько разновидностей температуро-чувствительных TRP-каналов (TRPV1, TRPV3, TRPM8, TRPA1), активирующихся при различных значениях температуры; этот ряд продолжает расти.

Таким образом, изменение температуры приводит к активации TRP-каналов мембраны ресептора, появлению (или возрастанию) входящего катионного тока и увеличению частоты генерации потенциалов действия. Возбуждение от терморесепторов проводится по Аδ и С-волокам.

Болевые ресепторы, или **ноцицепторы** реагируют на стимулы, угрожающие организму повреждением. Выделяют Аδ-механорецепторы и полимодальные С-ноцицепторы. Аδ-механорецепторы реагируют на сильные механические воздействия, такие как, например, укол иглой. С-ноцицепторы

реагируют на стимулы разной модальности – химические, механические, температурные (выше 45⁰С или ниже 5⁰С). Известно, что боль вызывают многие химические факторы - гистамин, брадикинин, высвобождение калия из поврежденных клеток, АТФ, серотонин, вещество Р, повышение кислотности, ацетилхолин и др. Это свидетельствует о том, что многие болевые рецепторы являются хеморецепторами.

Поскольку боль вызывают стимулы различных модальностей, существует довольно много трансдукционных механизмов боли, многие из которых изучены недостаточно.

Важную роль в трансдукции боли играют катионные каналы из уже упомянутого нами семейства TRP. Наиболее изученным из них является TRPV1-канал, или «ванилоидный рецептор», который чувствителен к нескольким воздействиям - повышенной температуре (порог активации около 43⁰С), капсаицину – компоненту «чилийского» жгучего перца и повышенной кислотности. Существует другие – TRPV2-каналы, которые за счет чувствительности к более высокой температуре (53⁰С) обеспечивают болевую рецепцию избыточного нагревания.

Что касается детекции болевых механических стимулов, то на данный момент открыто два механизма. Первый связан с наличием в мембране рецепторов механочувствительных катионных каналов из семейства дегенеринов. Вторым механизмом, показанным на ряде объектов, связан с увеличением концентрации внеклеточной АТФ в тканях при их деформации. Внеклеточная АТФ активирует G-белок-связанные АТФ-чувствительные ионные каналы на мембране ноцицепторов, что приводит к деполяризации и генерации потенциалов действия.

Итак, любое сенсорное восприятие начинается с возникновения градуального электрического сигнала – рецепторного потенциала на мембране воспринимающей клетки. Чем сильнее и дольше стимул будет действовать на организм, тем больше по амплитуде и длительнее будет рецепторный потенциал. В конечном итоге возникновение рецепторного потенциала будет влиять на частоту и количество потенциалов действия, генерируемых и проводящихся чувствительным нейроном в центральную нервную систему. В случае деполяризационного рецепторного потенциала эти параметры будут возрастать, а в случае гиперполяризационного – снижаться. Следовательно, любой сенсорный сигнал попадает в мозг в виде частотно-импульсного кода, то есть последовательности некоторого количества потенциалов действия, идущих с определенной частотой. Любое сенсорное ощущение при этом будет определяться типом и количеством активированных рецепторов, частотой и количеством потенциалов действия, идущих по афферентным нервам от рецепторов, а также тем, в какие участки мозга эти сигналы попадают.

Как вы помните, нейроны, получая информацию от соседних нервных клеток в виде постсинаптических потенциалов на своей мембране, обрабатывают и передают ее другим клеткам также в виде частотно-импульсного кода потенциалов действия. Именно так мотонейроны «принимают» решение – совершать организму движение или нет. Таким образом, этот универсальный механизм кодирования информации, основанный на интеграции градуальных электрических сигналов на мембране клетки и генерации неградуальных – потенциалов действия, лежит в основе всех функций нервной системы.

Таким образом, современная физиология далеко продвинулась в понимании электрической сигнализации возбудимых клеток. Тем не менее, многие вопросы пока остаются непонятными. Несомненно, дальнейшее изучение процессов, лежащих в основе электрических событий на мембранах возбудимых клеток, позволит нам приблизиться к

пониманию высших интегративных функций мозга и организма в целом. Завершая данное пособие, нам бы хотелось привести высказывание выдающегося современного нейробиолога Эрика Кэндела, получившего в 2000 году совместно с Арвидом Карлссоном и Полом Грингардом Нобелевскую премию «За открытие механизмов передачи сигналов в нервной системе» (рис. 46):

«Прогресс в понимании основных умственных функций происходит благодаря подходу, основанному на том допущении, что эти функции возникают из биологических свойств нервных клеток и манеры их взаимодействий. Согласно этому взгляду, разум может быть рассмотрен как набор операций, осуществляемых мозгом – органом, обрабатывающим информацию, который обладает большой мощностью благодаря огромному количеству, разнообразию, взаимодействиям его нервных клеток и сложности контактов между ними».

Все эти процессы связаны с электрическими сигналами, возникающими на мембранах нервных клеток.



Нобелевская премия 2000 года в области физиологии и медицины



Арвид
Карлссон



Пол
Грингард



Эрик Р.
Кэндел

«За открытие механизмов передачи
сигналов в нервной системе»

Рис. 46. Лауреаты Нобелевской премии 2000 г. Арвид Карлссон, Пол Грингард, Эрик Р. Кэндел

Используемая литература

- Начала физиологии.** Под ред. А.Д. Ноздрачева - М.: «Высшая школа», (2001).- 1087 с.
- Нормальная физиология.** Под редакцией К.В. Судакова - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», (2006). – 920 с.
- Основы физиологии человека.** Под ред. Б.И. Ткаченко - СПб. «Международный фонд истории науки», (1994) – 979 с.
- Медиаторы и синапсы.** А.Л.Зефиров и др. – Казань.: КГМУ, (2002). – 56с
- Современный курс классической физиологии.** Под ред. Ю.В. Наточина и В.А. Ткачука – М.: «Гэотар-Медиа», (2007) – 384 с.
- Medical physiology.** Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep.(2003). Elsevier Science (USA).1319p.
- Neurobiology.**Gordon M. Shepherd.(1988). Oxford University Press. 689.
- Review of medical physiology.** William F. Ganong (1991).. Middle East Edition. 754.
- Physiology.** Robert M. Berne, Matthew N. Levy. (1993). Mosby-Year Book. 1071.
- Principles of neural science.** Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessell. (2000). McGraw-Hill.1414.
- From neuron to brain.** John G. Nicholls, A. Robert Martin, Bruce G. Wallace, Paul A. Fuchs. (2003). Sinauer Associates.671.
- Voltage-gated ion channels and electrical excitability.** Armstrong C.M., Hille B. (1998). Neuron. 20:371-380.
- Molecular mechanisms of nociception.** Julius D., Basbaum AI (2001) Nature. 413: 203-210.

Подписи к рисункам на обложке:

На первой странице обложки:

Изображение нейронной сети (компьютерная графика)

На последней странице обложки, сверху:

Электрический скат – рыба, обладающая специальными электрическими органами, позволяющими наносить противникам электрические удары силой до 300 вольт. Эти органы являются популярным объектом физиологических исследований. Возникновение электрических токов ската связано с генерацией электрических сигналов в его нервной системе.

На последней странице обложки, снизу:

На рисунке представлен один из первых экспериментов по электрофизиологической регистрации синаптических сигналов - потенциалов концевой пластинки в нервно-мышечном синапсе лягушки. А и В – миниатюрные (спонтанные) потенциалы концевой пластинки. С – Потенциалы концевой пластинки, вызванные раздражением двигательного нерва двумя импульсами, идущими через короткий временной интервал (Взято из: Del Castillo J., Katz B. (1954) Quantal components of the end-plate potential. J. Physiol., 124, 560-573).

