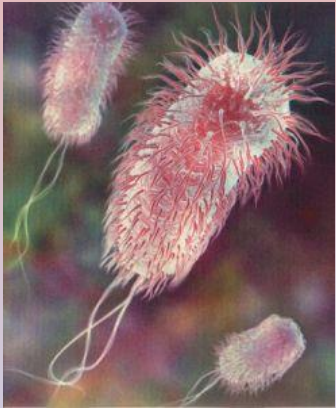


**Раздражимость и
возбудимость клеток и тканей.
Методы исследования
электровозбудимых мембран.
Потенциал покоя и механизм
его формирования**

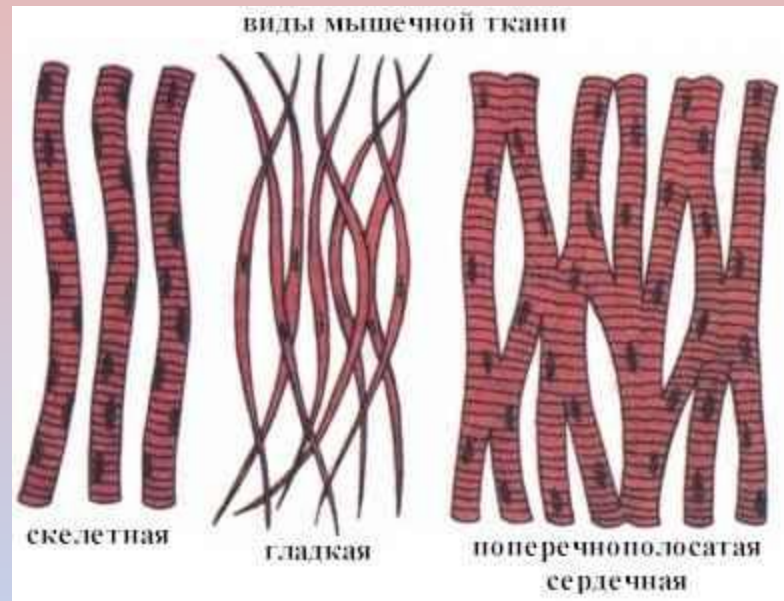
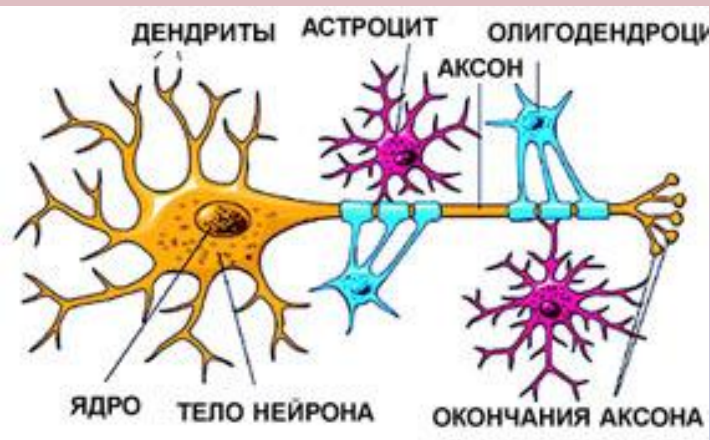


2006 © Igor Torgachkin

2006 © Игорь Торгачкин

РАЗДРАЖИМОСТЬ - ОБЩЕЕ СВОЙСТВО ВСЕХ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ





ВОЗБУДИМЫЕ ТКАНИ



Beauty Women

ВОЗБУЖДЕНИЕ – сложный биологический процесс, который характеризуется специфическим изменением обмена веществ, **временной деполяризацией мембраны** клеток и проявляющейся специализированной реакцией ткани.

Мера возбудимости – **порог раздражения**, т.е. минимальная сила раздражителя, вызывающая ответ.

РАЗДРАЖИТЕЛИ

```
graph TD; A[РАЗДРАЖИТЕЛИ] --> B[ПОДПОРОГОВЫЕ]; A --> C[ПОРОГОВЫЕ]; A --> D[СВЕРХПОРОГОВЫЕ];
```

ПОДПОРОГОВЫЕ

ПОРОГОВЫЕ

СВЕРХПОРОГОВЫЕ

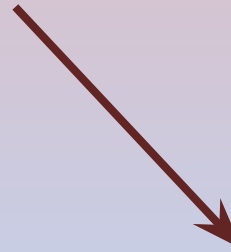
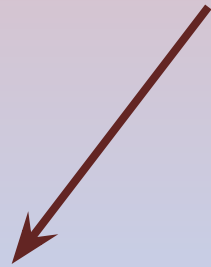
РАЗДРАЖИТЕЛИ

□ **ФИЗИЧЕСКИЕ** (механические, звуковые, световые, температурные, электрические)

□ **ХИМИЧЕСКИЕ** (щелочи, кислоты, гормоны, продукты обмена веществ)

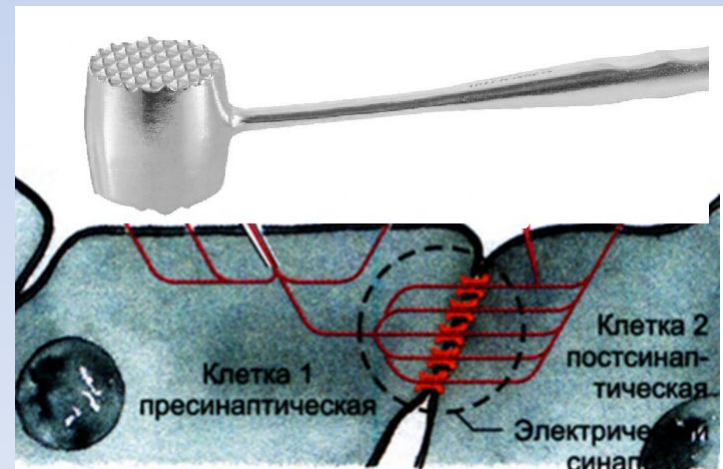
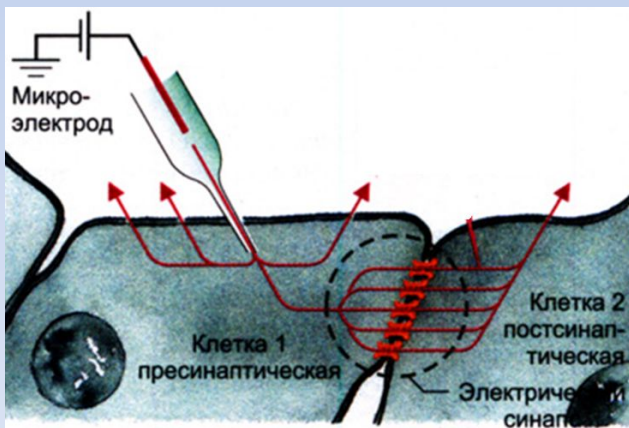
□ **ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ** (изменения осмотического давления, pH и т.п.)

РАЗДРАЖИТЕЛИ



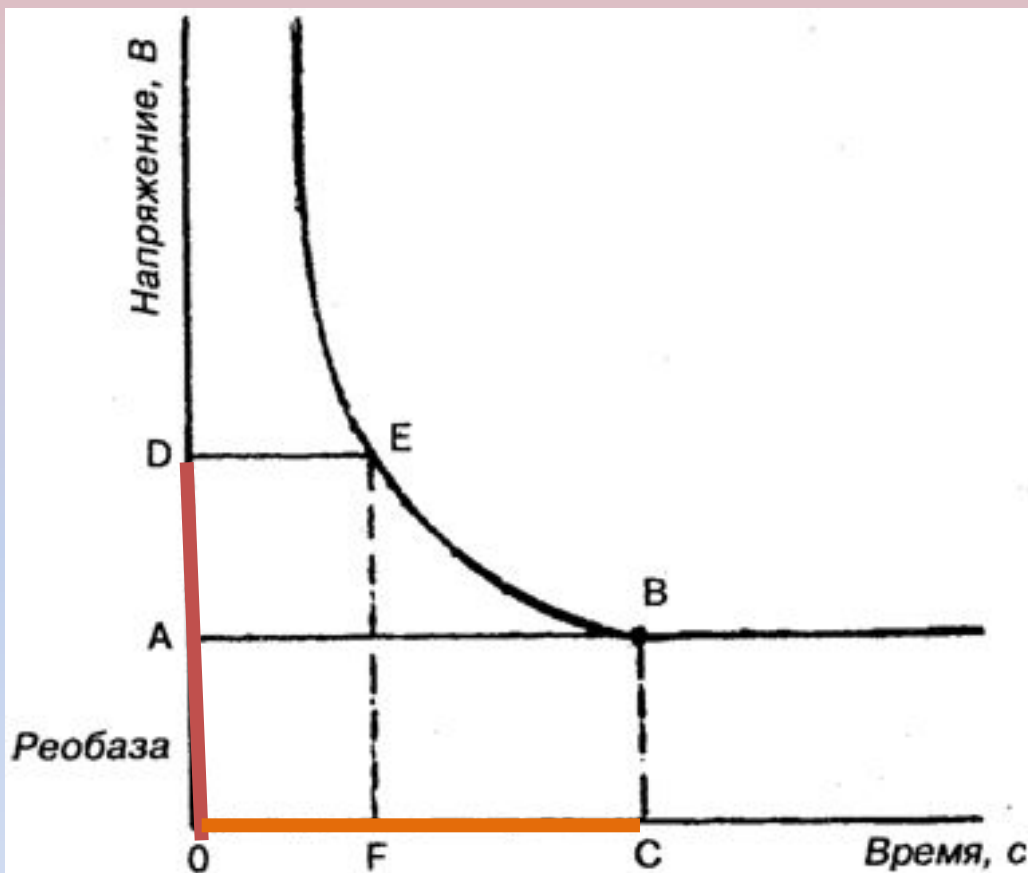
АДЕКВАТНЫЕ

НЕАДЕКВАТНЫЕ



СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ ПОРОГОВОЙ СИЛОЙ
РАЗДРАЖЕНИЯ И ЕГО ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ

КРИВАЯ «СИЛА –



OA – реобаза

OC – полезное

время

OD – 2 реобазы

OF – хронаксия

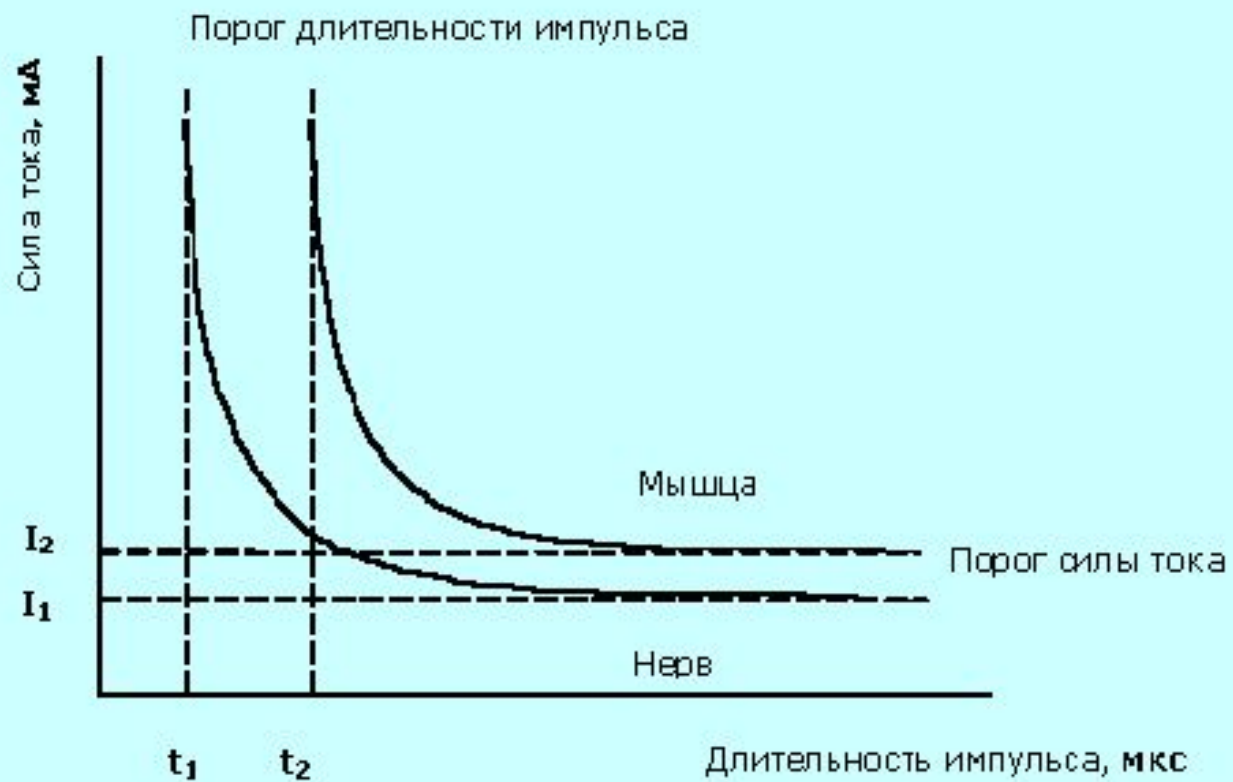


Рис. 1. Кривая «сила-длительность» для нервных и мышечных волокон

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРОВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ

ПРОГРЕСС В ИССЛЕДОВАНИИ БИОПОТЕНЦИАЛОВ ОБЕСПЕЧЕН

- РАЗРАБОТКОЙ МИКРОЭЛЕКТРОДНОГО МЕТОДА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО ОТВЕДЕНИЯ ПОТЕНЦИАЛОВ
- СОЗДАНИЕ СПЕЦИАЛЬНЫХ УСИЛИТЕЛЕЙ БИОПОТЕНЦИАЛОВ
- ВЫБОР УДАЧНЫХ ОБЪЕКТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

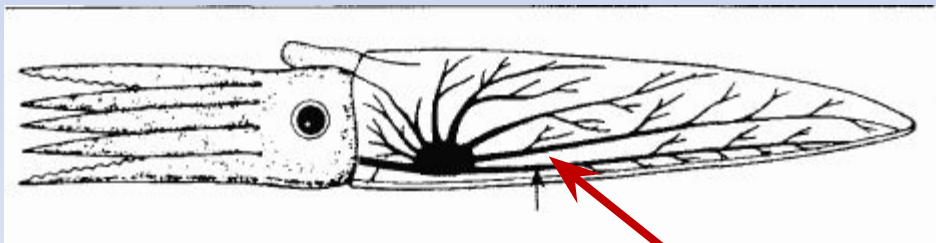


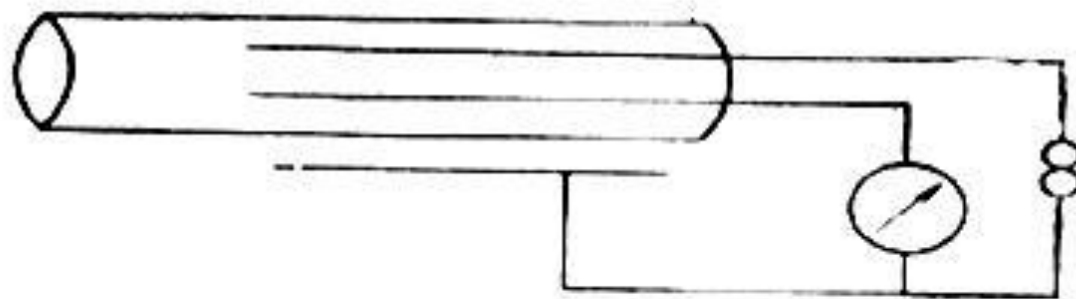
Рис. 7. Головоногий моллюск кальмар (схема).
Стрелкой указан гигантский аксон.

ДИАМЕТР гигантского
аксона – 0,5 – 1 мм

ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ УСТАНОВКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗБУДИМЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ

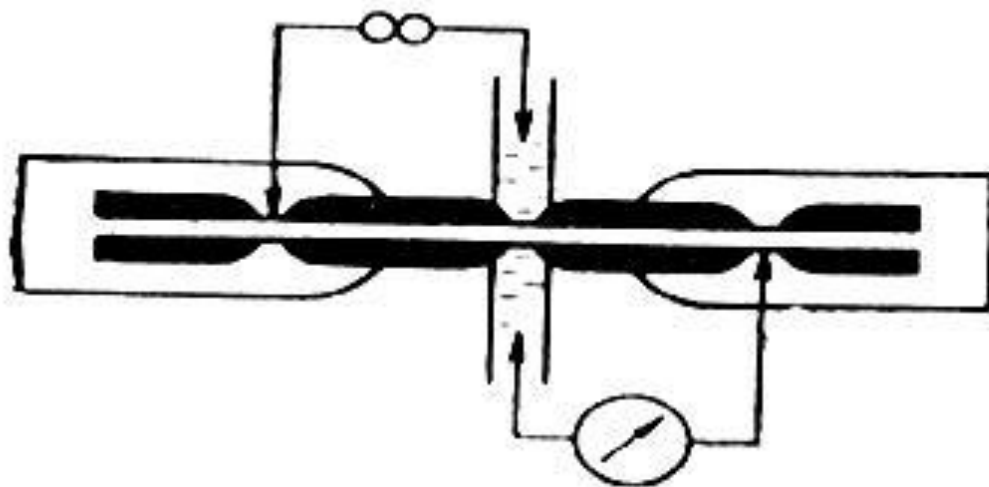
- 1) электроды для регистрации и стимуляции;
- 2) усилители биоэлектрических сигналов;
- 3) регистратор;
- 4) стимулятор;
- 5) система для обработки физиологической информации.

Схемы методик, применяемых для различных нервных волокон для исследования их электрогенеза



а - внутриклеточное раздражение и отведение потенциалов гигантского аксона кальмара при коаксиальном введении электродов .

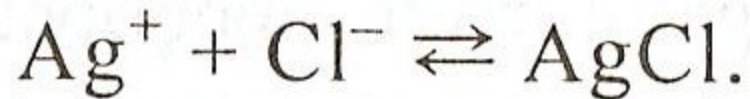
б



б - раздражение и отведение потенциалов от одиночного перехвата Ранвье, изолированного двумя воздушными промежутками ("мостиками").

НЕПОЛЯРИЗУЮЩИЕСЯ ЭЛЕКТРОДЫ: хлорсеребряный

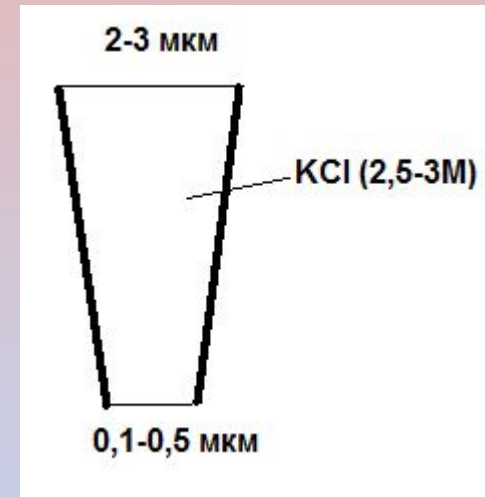
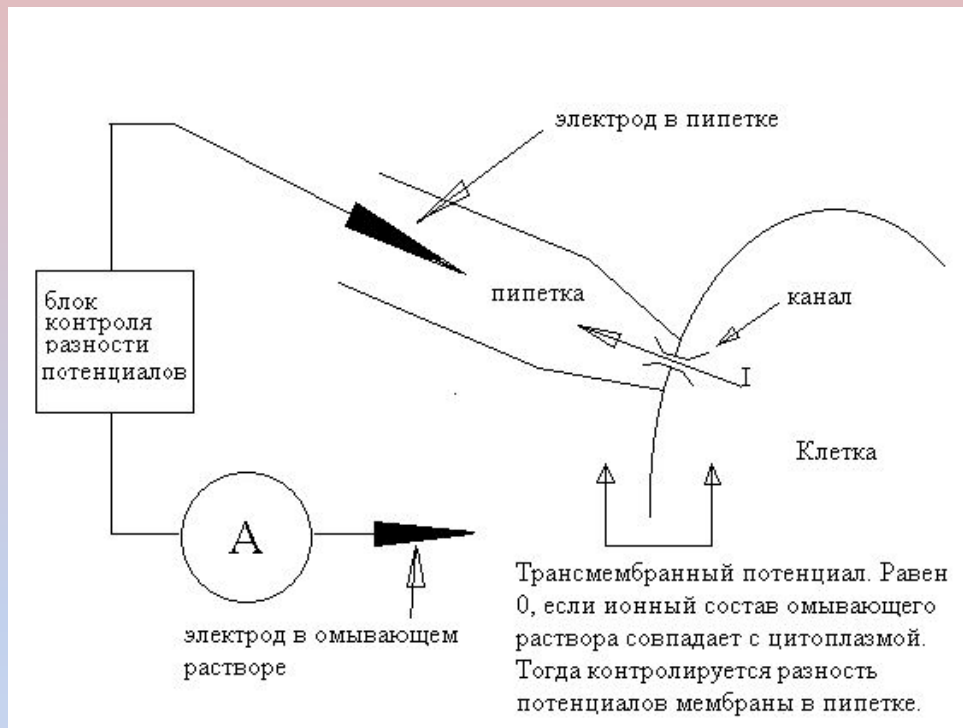
электрод



Суммарное равновесие имеет вид



Благодаря стабильности [потенциала](#) и простоте конструкции является одним из наиболее часто употребляемых в лабораторной практике. Представляет собой серебряную пластинку или проволочку, покрытую слоем малорастворимой [соли](#) Представляет собой серебряную пластинку или проволочку, покрытую слоем малорастворимой соли [серебра](#) Представляет собой серебряную пластинку или проволочку, покрытую слоем малорастворимой соли серебра (обычно -



Микроэлектроды введены в 1946 американскими учёными **Р. Джерардом** и **Дж. Лингом**.

Применяются для отведения электрических потенциалов от одиночного мышечного волокна или от отдельной клетки.

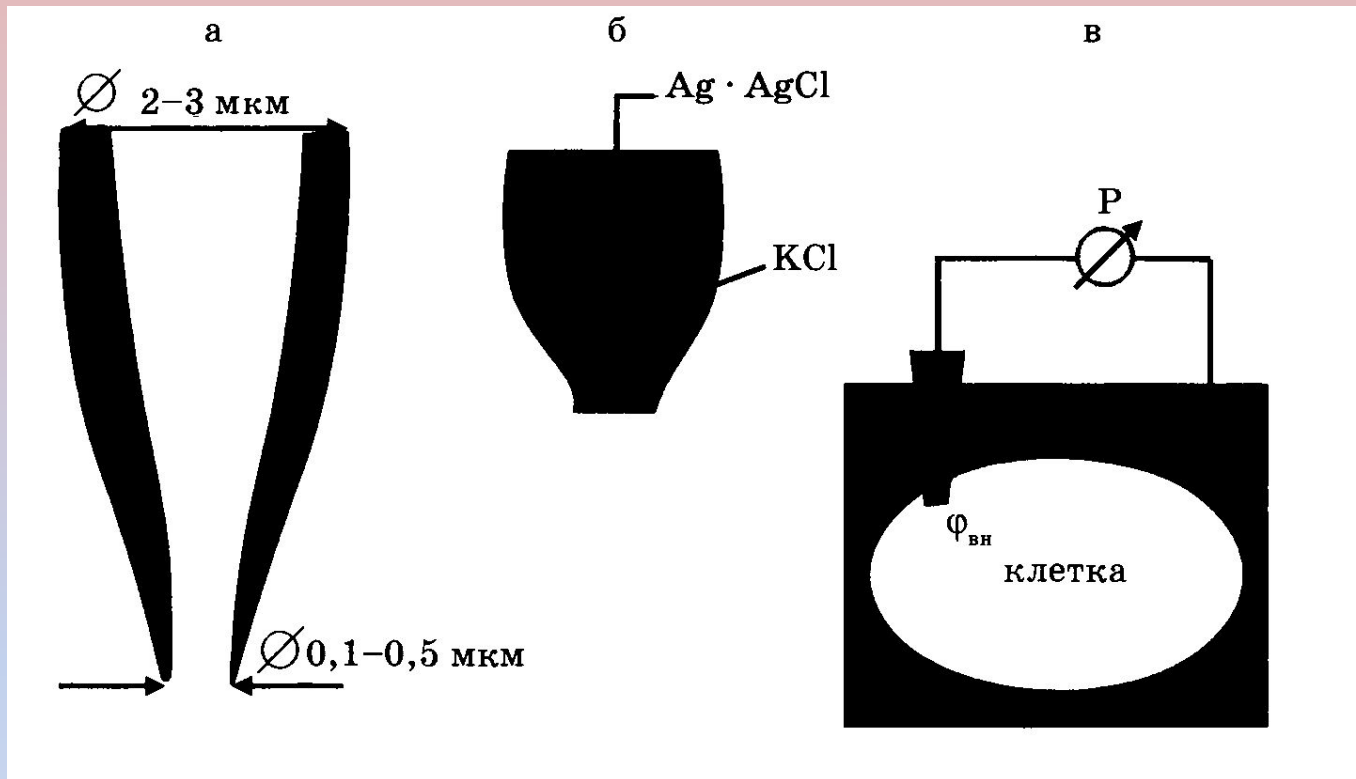
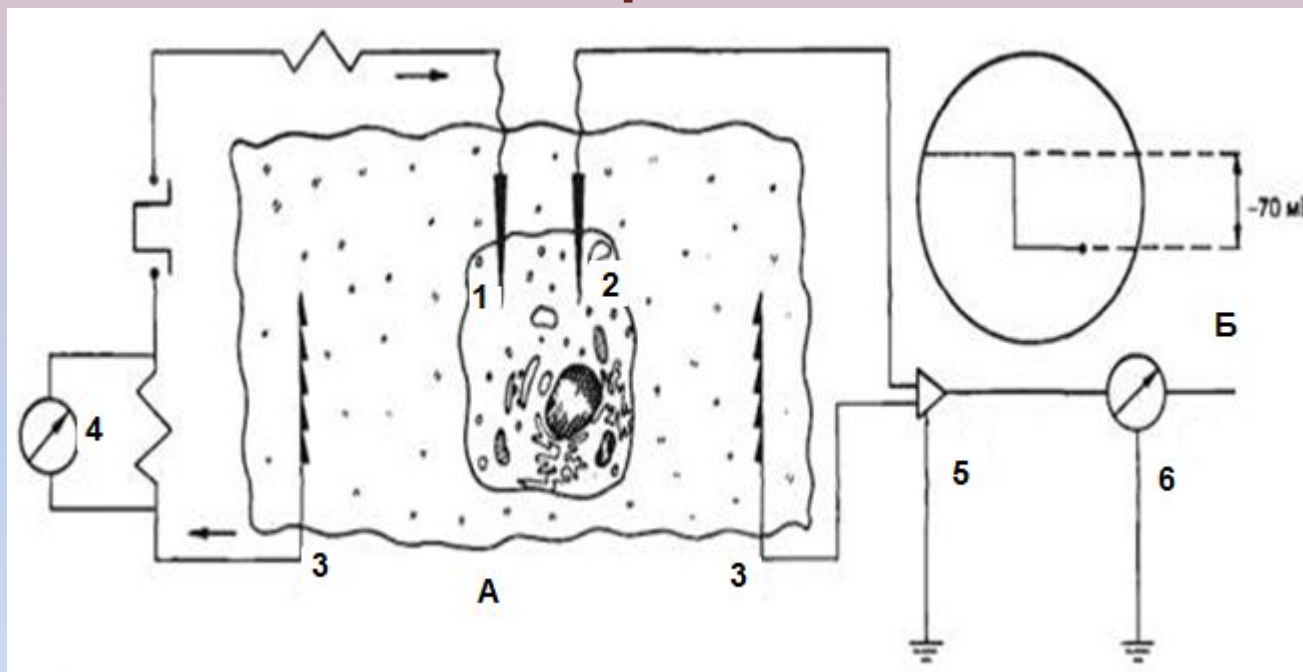


Рис. 3.1. Микроэлектродный метод измерения биопотенциалов:
а – стеклянная микропипетка; б – стеклянный микроэлектрод;
в – схема регистрации мембранного потенциала

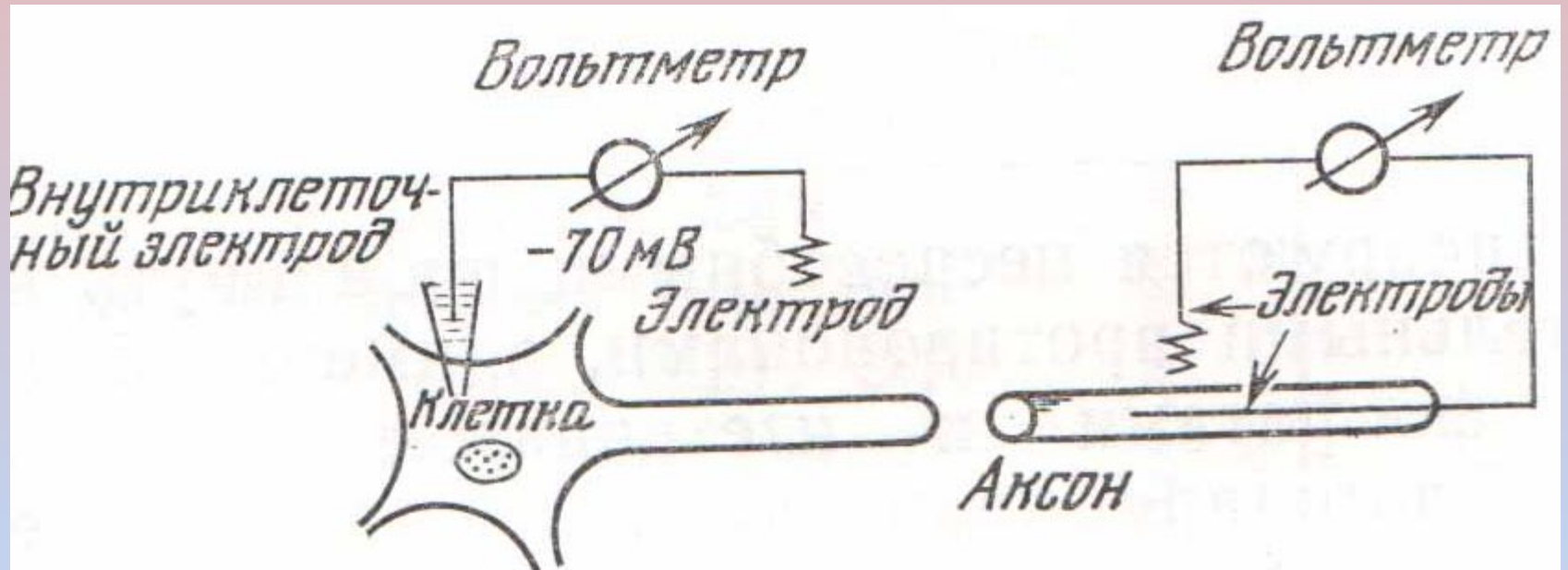
Внутриклеточная регистрация трансмембранных потенциалов и электростимуляция клеточной мембраны



А — схема установки для изучения электрических характеристик клеточных мембран; Б — момент введения микроэлектрода в клетку. 1 — стеклянный микроэлектрод для подачи тока; 2 — стеклянный микроэлектрод для регистрации реакции клеточной мембраны; 3 — электроды сравнения; 4 — измеритель величины раздражающего тока; 5 — усилитель; 6 — регистратор.

В лабораторных исследованиях используются

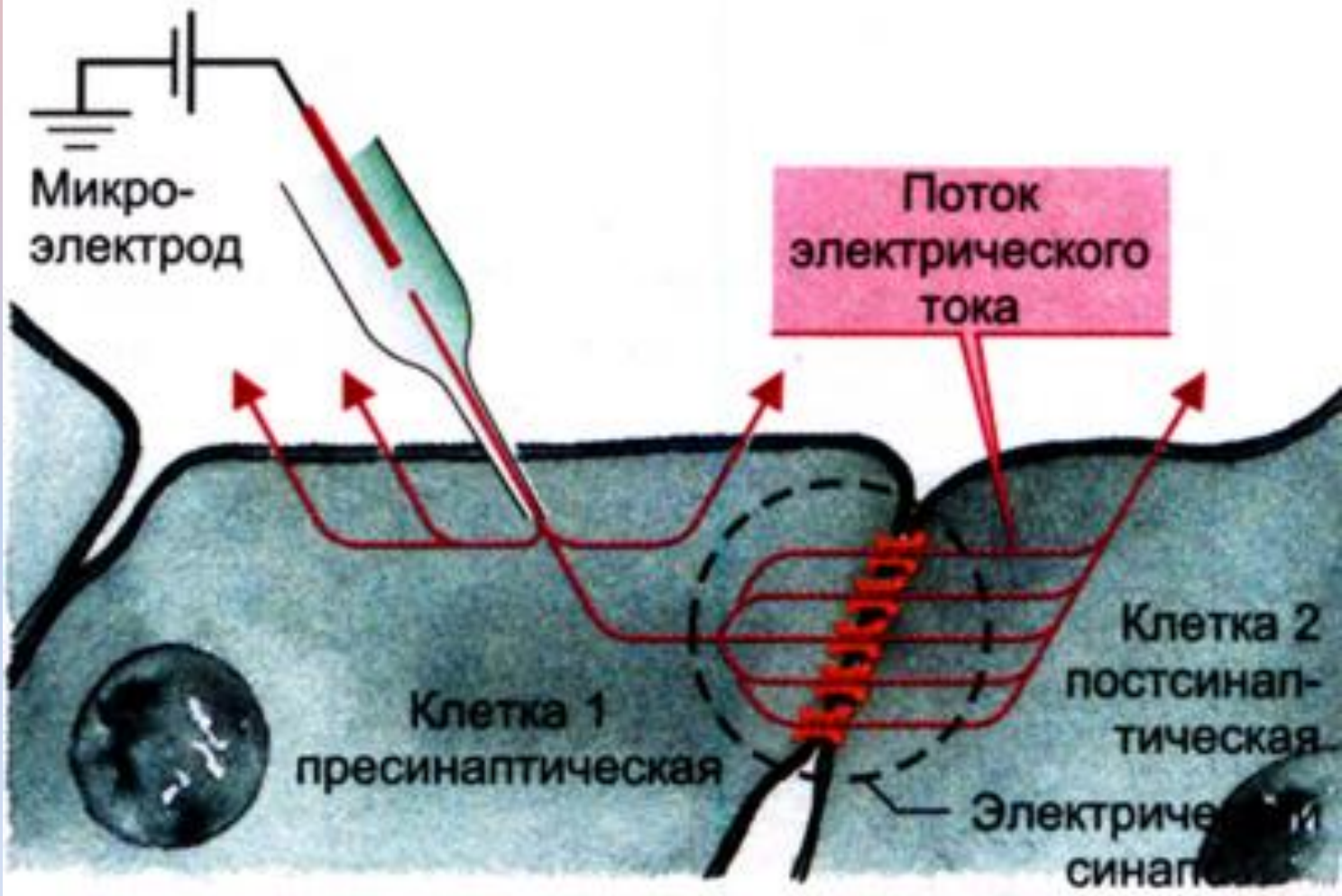
- **металлические** микроэлектроды с диаметром кончика порядка 1 мкм ,
- **стеклянные микропипетки** с диаметром кончика меньше 1 мкм , заполненные раствором электролита



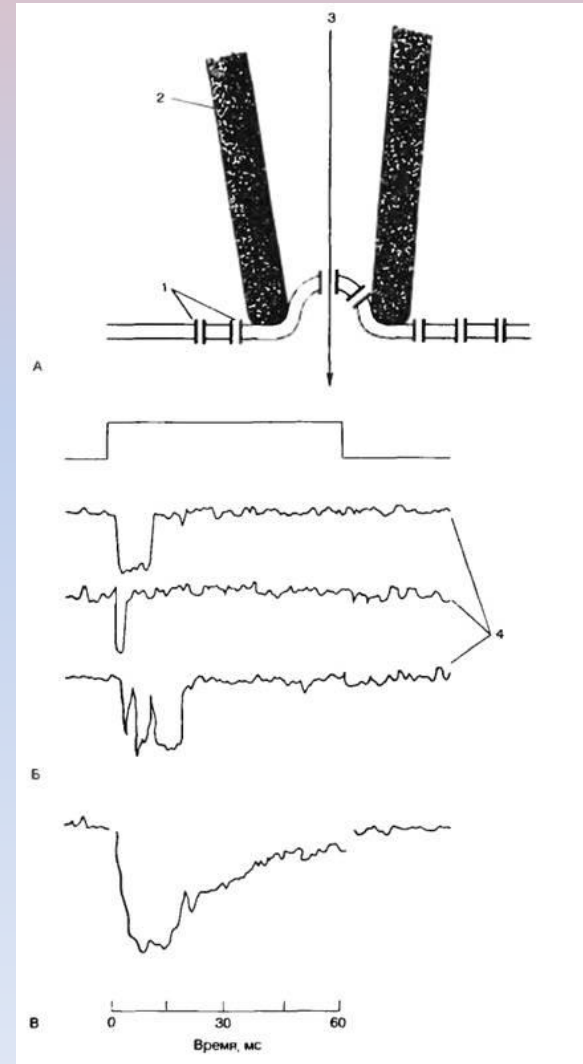
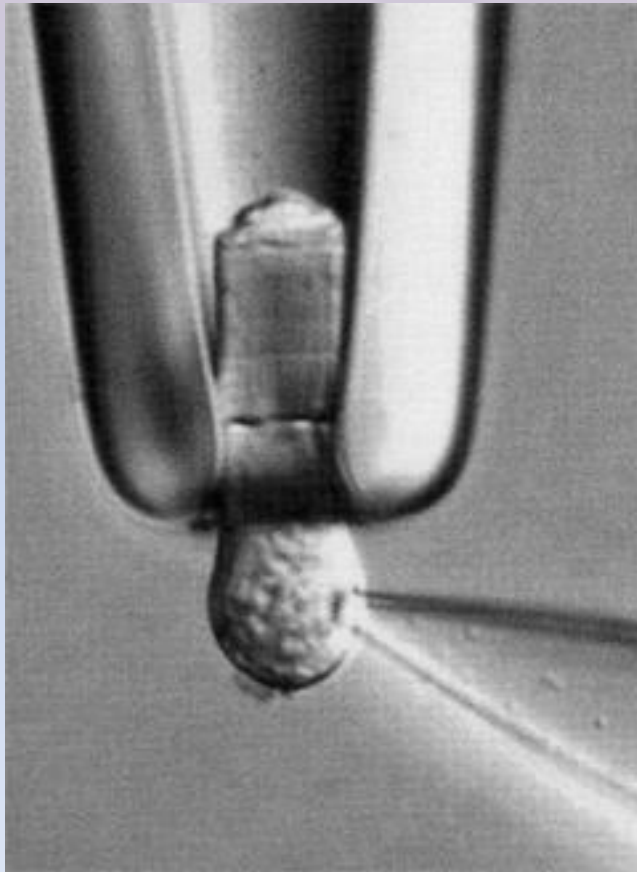
РЕГИСТРАЦИЯ МП НЕРВНОЙ КЛЕТКИ

А) путем введения микроэлектрода;

Б) путем введения микроэлектрода внутрь аксона



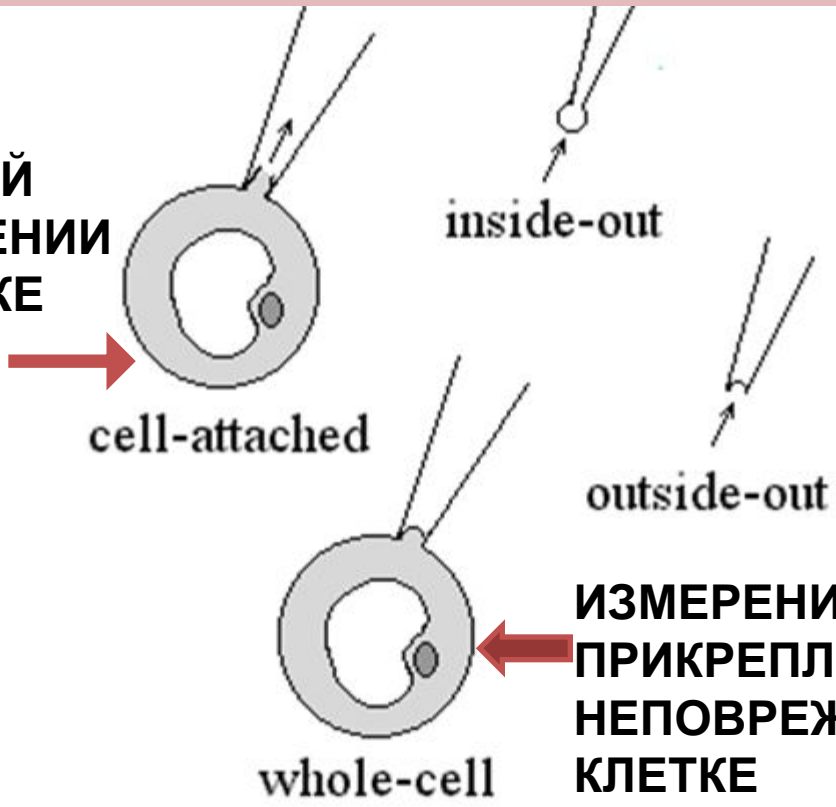
Метод пэтч-кламп введен в лабораторную практику Э. Неером и Б. Сакманом в 1976 Г.



Клеточная мембрана формирует очень плотный контакт с поверхностью кончика микроэлектрода. Между стеклом и мембранным фрагментом возникает контакт, имеющий гигаомное сопротивление. В результате образуется электрически изолированный участок мембраны, и шум регистрирующего сигнала уменьшается на несколько порядков. К участку прикладывается напряжение и меряется возникший ионный ток.

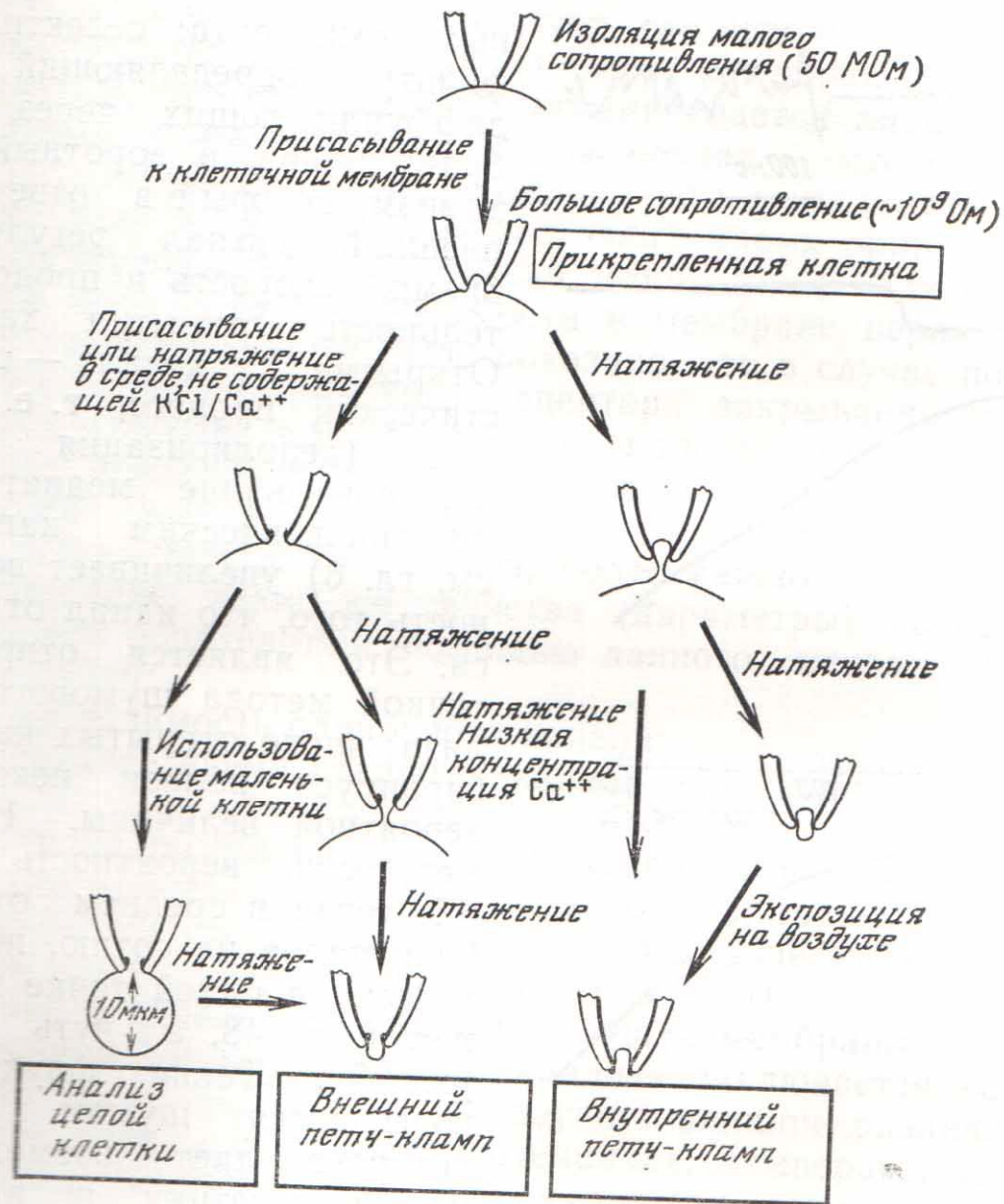


**ИЗМЕРЕНИЯ НА ЦЕЛОЙ
КЛЕТКЕ ПРИ РАЗРУШЕНИИ
МЕМБРАНЫ В КОНЧИКЕ
МИКРОПИПЕТКИ**



**ИЗМЕРЕНИЯ НА
ПРИКРЕПЛЕННОЙ, НО
НЕПОВРЕЖДЕННОЙ
КЛЕТКЕ**

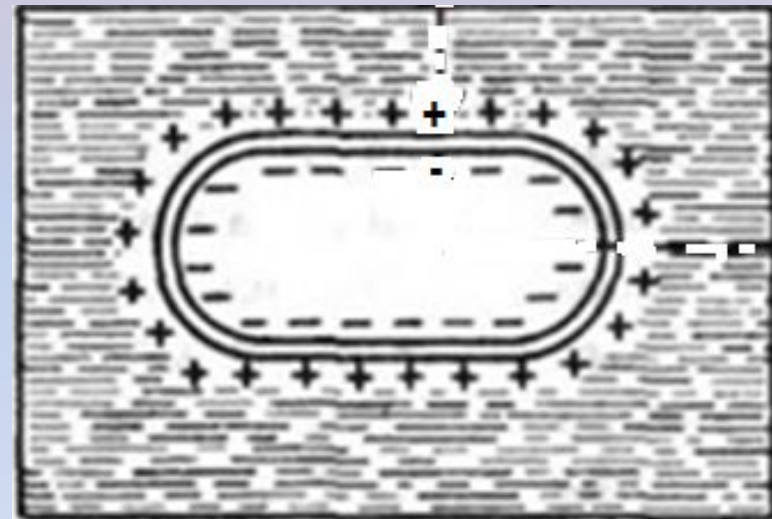
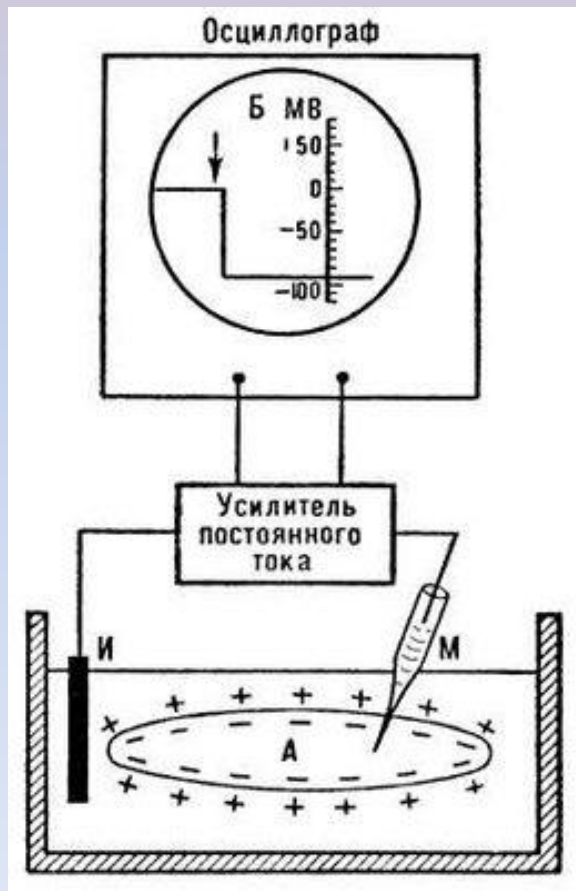
**Различные способы измерения ионных токов
методом пэтч-кламп**



Мембранная теория возбуждения:

при раздражении возбудимой клетки в её поверхностной мембране происходит молекулярная перестройка, которая приводит к изменению проницаемости мембраны и появлению трансмембранных ИОННЫХ ТОКОВ.

Основные положения **мембранной теории возбуждения** сформулированы немецким нейрофизиологом **Ю. Бернштейном** (1902)



ПОЛЯРИЗАЦИЯ КЛЕТочНОЙ МЕМБРАНЫ В
ПОКОЕ

Развитие **мембранной теории возбуждения** получило в трудах английских учёных: П. Бойла и Э. Конуэя (1941), **А. Ходжкина, Б. Каца, А. Хаксли** (1949).

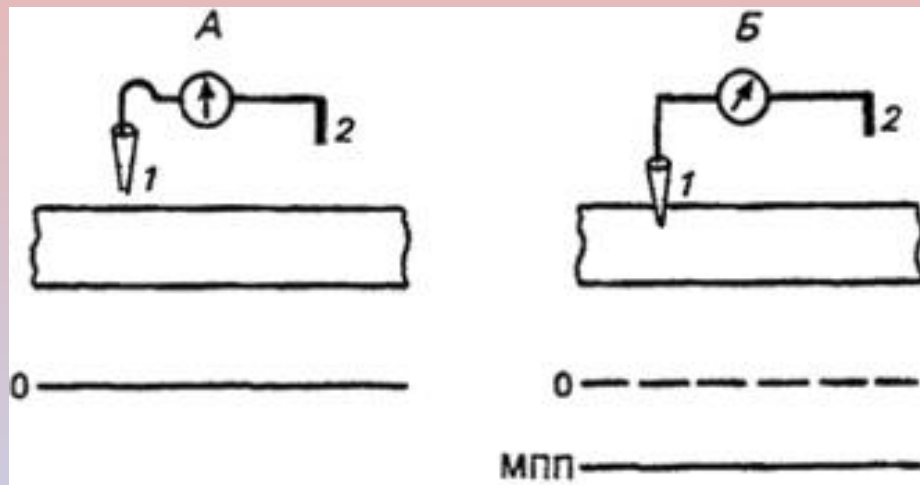


А. ХОДЖКИН



А. ХАКСЛИ

Нобелевская премия по физиологии и медицине, 1963 г
"За открытия, касающиеся ионных механизмов возбуждения и торможения в периферических и центральных участках мембраны нервных клеток"



Регистрация мембранного потенциала покоя

А — микроэлектрод 1 еще не введен в нервное волокно; луч осциллографа показывает, что разность потенциалов у микроэлектрода и индифферентного электрода 2 равна нулю.

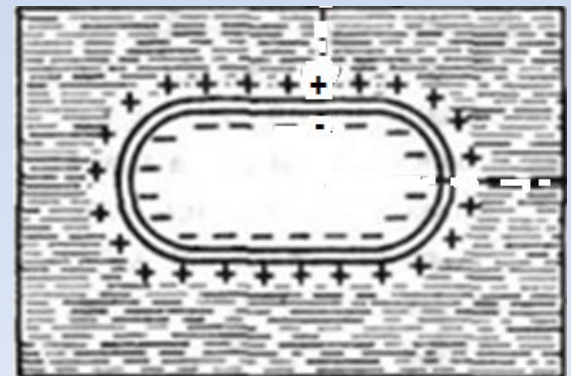
Б — микроэлектрод введен в нервное волокно (прокол мембраны); он регистрирует постоянный отрицательный потенциал относительно внешнего раствора — мембранный потенциал покоя.

Потенциал покоя, механизм его формирования

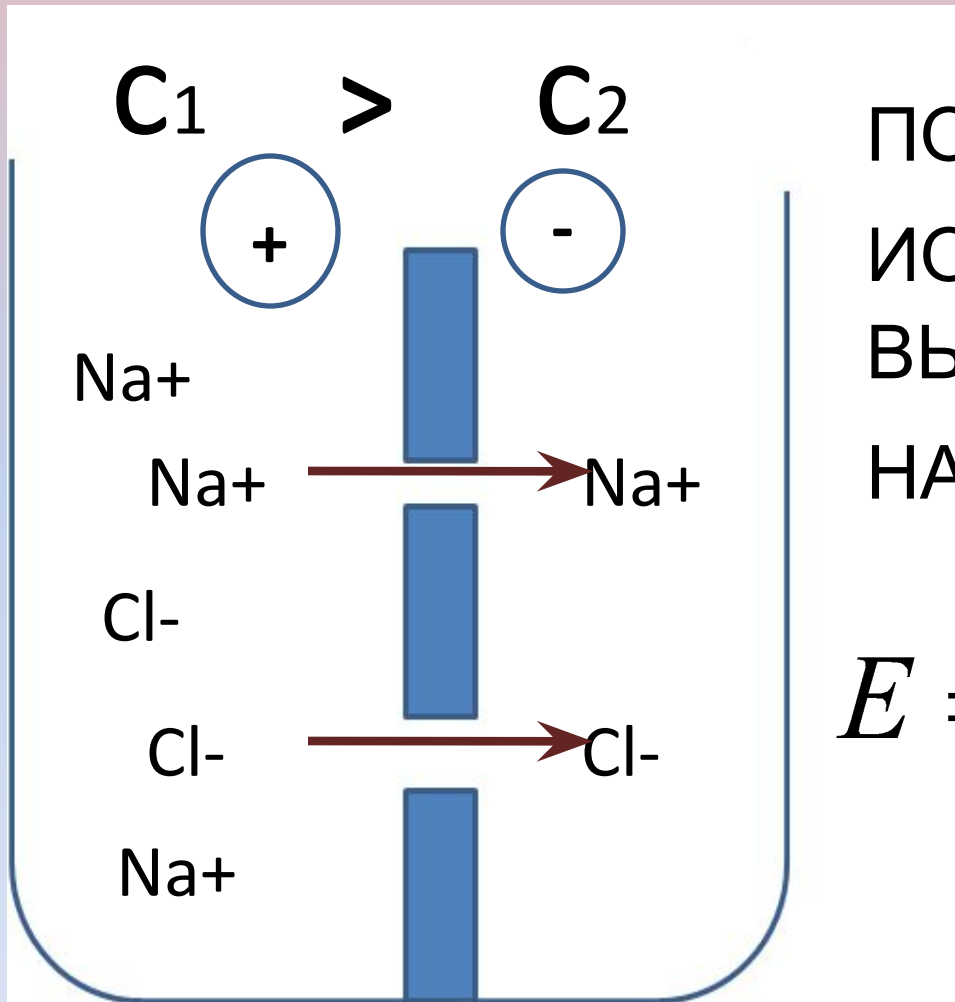
Предположение Бернштейна:

поверхностная мембрана возбудимой клетки в покое обладает избирательной проницаемостью: **ионы K^+** проходят через неё гораздо легче, чем ионы Na^+ и Cl^- .

Т. к. концентрация **K^+** в клетке выше, чем во внеклеточной среде, диффузия этих ионов через мембрану создаёт на ней разность потенциалов — **потенциал покоя (ПП)**, причём внутренняя сторона мембраны оказывается заряженной отрицательно, а внешняя — положительно.



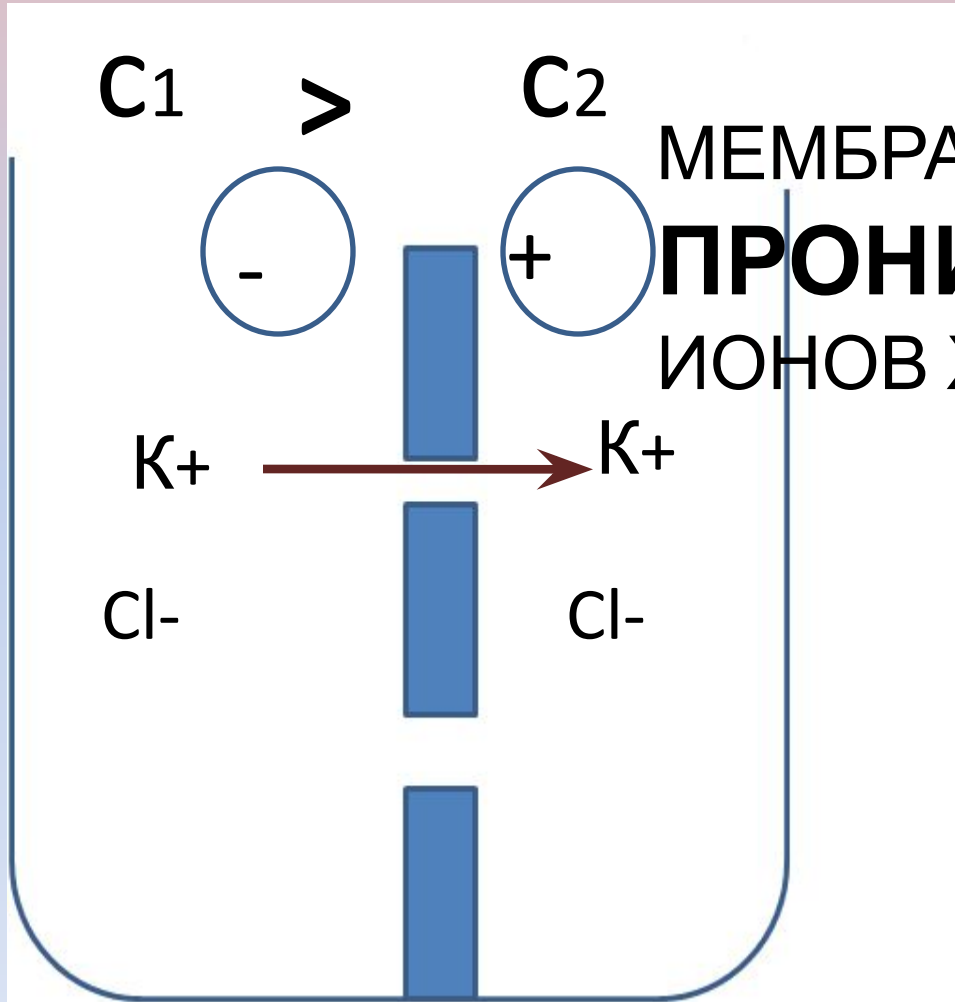
ДИФФУЗИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ



ПОДВИЖНОСТЬ
ИОНОВ ХЛОРА (**v**)
ВЫШЕ, ЧЕМ ИОНОВ
НАТРИЯ (**u**)

$$E = \frac{RT}{F} \frac{u - v}{u + v} \ln \frac{c_1}{c_2}$$

МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ



МЕМБРАНА **НЕ**
ПРОНИЦАЕМА для
ИОНОВ ХЛОРА

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{c_1}{c_2}$$

**ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ
ПОТЕНЦИАЛ**

$$\tilde{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + zF\varphi$$

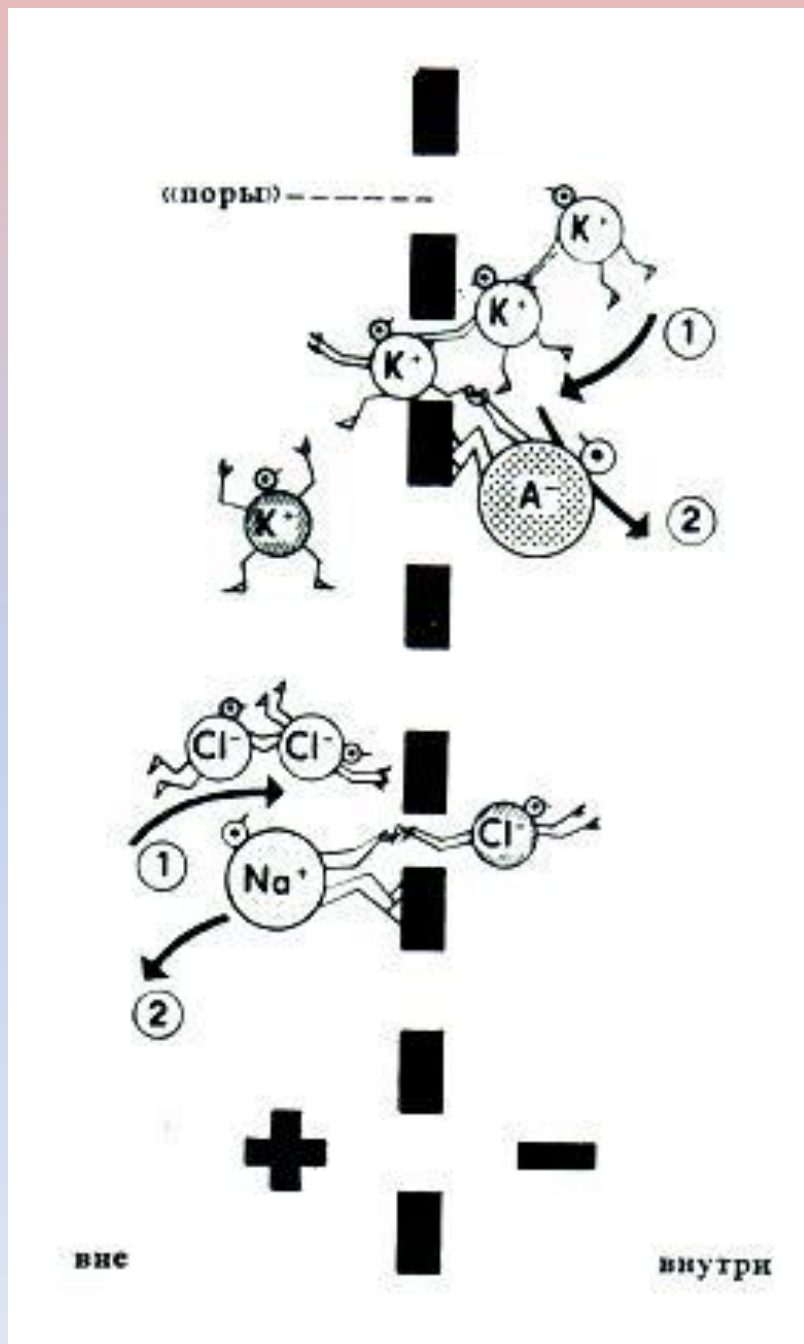
УСЛОВИЕ РАВНОВЕСИЯ

$$\mu_{00} + RT \ln C_0 + zF\varphi_0 = \mu_{0i} + RT \ln C_i + zF\varphi_i$$

РАВНОВЕСНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ:

$$E_{\text{Na}} = +35 \dots +65 \text{ мВ}$$

$$E_{\text{K}} = -70 \dots -100 \text{ мВ}$$



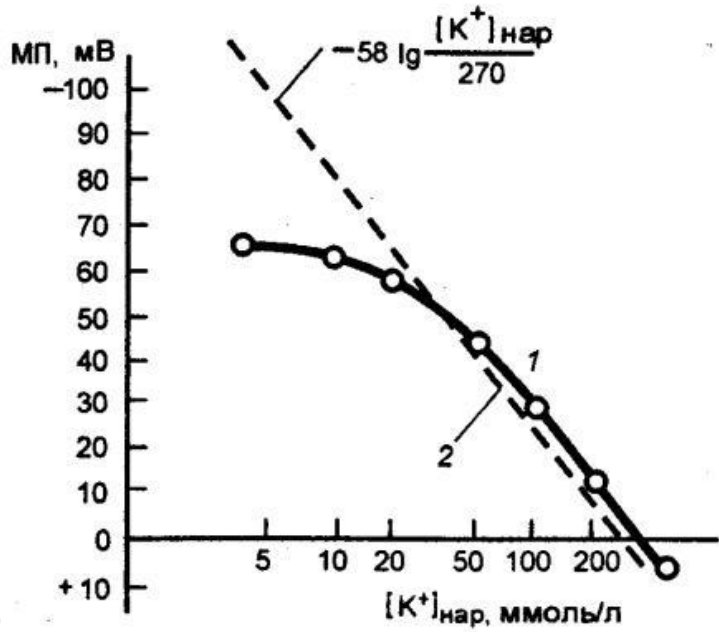
Возникновение электрохимического равновесия на полупроницаемой мембране.

Диффузионное давление (1) в равновесии с противоположной электростатической силой (2), стремящейся удержать вместе ионы с противоположными зарядами

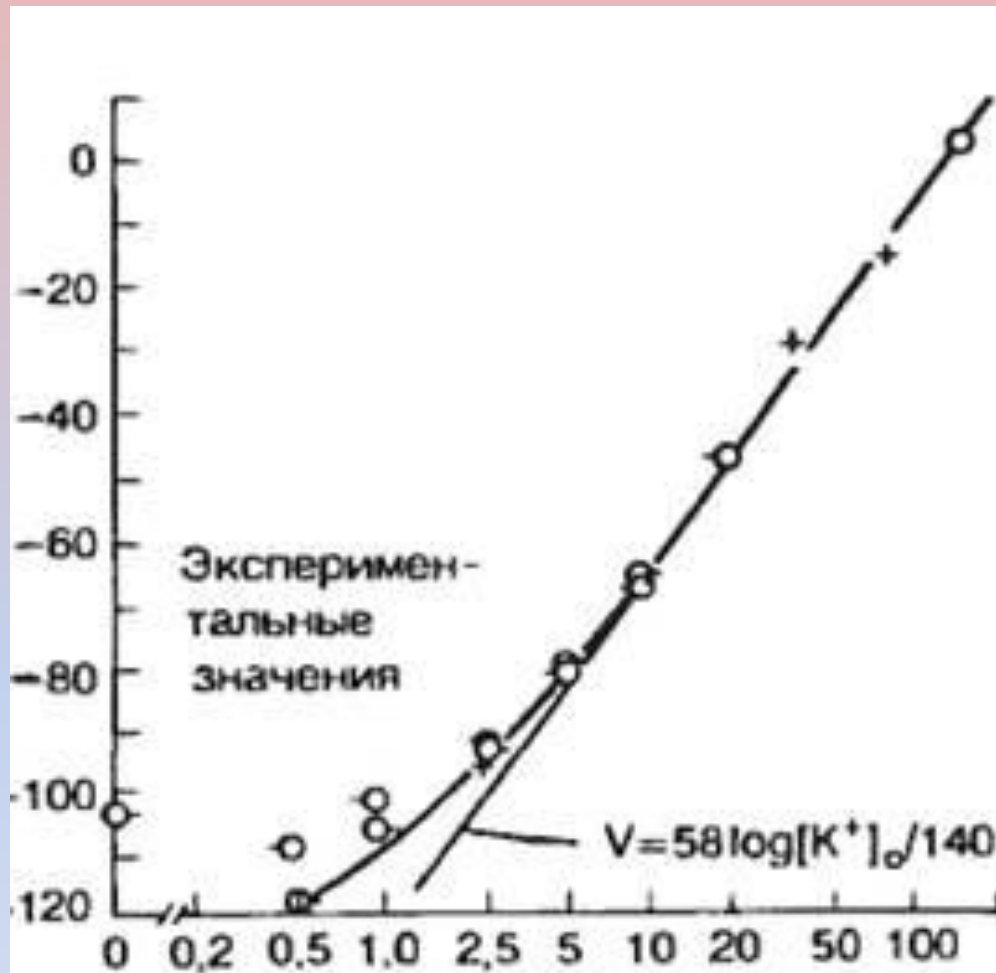


$$\text{Потенциал равновесия} = -61,5 \log \left(\frac{[K^+]_i}{[K^+]_o} \right)$$

Рис. 1.12. Потенциал покоя клетки миокарда определяется балансом между градиентом концентрации и электростатическими силами для калия, так как в покое открыты только калиевые каналы. Градиент концентрации способствует току K^+ из клетки, в то время как электрические силы стараются удержать положительно заряженные ионы K^+ внутри клетки. Потенциал равновесия может быть рассчитан с помощью уравнения Нернста для калия, как это показано на рисунке



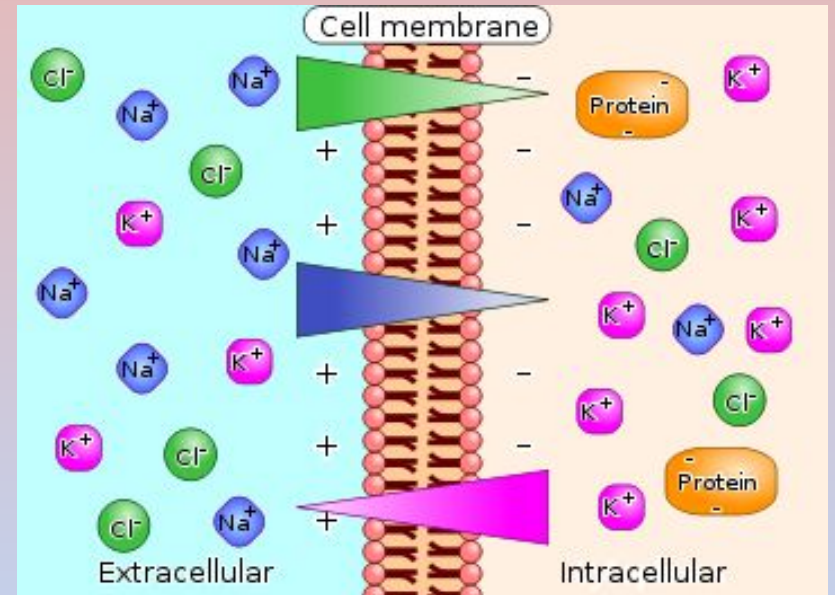
Зависимость мембранного потенциала (МП) нервного волокна каракатицы от наружной концентрации K^+ (1) и величина МП, рассчитанная по уравнению Нернста для калиевого электрода (2)



Зависимость величины ПП от $[K^+]_e$ (расчетная и экспериментальная кривые).

По оси абсцисс – содержание калия во внешней среде в мМ, по оси ординат – величина мембранного потенциала в мВ.

Параметры	Гигантски й аксон	Портняж- ная мышца	Эритроцит ы человека
Внутриклеточная концентрация (ммоль/л)			
Na ⁺	78	13	19
K ⁺	392	138	136
Cl ⁻	104	2	78
Внеклеточная концентрация (ммоль/л)			
Na ⁺	462	108	155
K ⁺	22	2,5	5
Cl ⁻	286		
Равновесный потенциал (мВ)			
E _{Na}	+45	+53	+55
E _K	-73	-101	-86
E _{Cl}	-44	-92	-9
Потенциал покоя (мВ)			
E	-60	-92	-6...-10



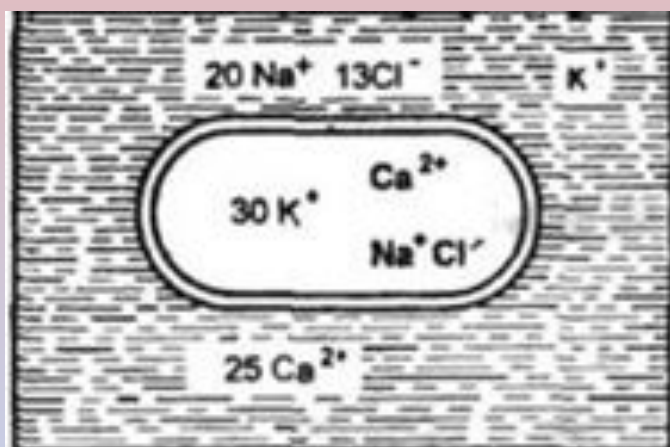
Снаружи	Внутри	Снаружи	Внутри
Na^+ 120	Na^+ 9,2	Na^+ 460	Na^+ 50
K^+ 2,5	K^+ 140	K^+ 10	K^+ 400
Cl^- 120	Cl^- (3-4)	Cl^- 540	Cl^- 40-100
			Изэтионат ⁻ 270
			Аспарат ⁻ 75
			-90 мв
			-60 мв

- состояние равновесия наступает в результате диффузии лишь очень **небольшого количества ионов** (по сравнению с их общим содержанием);
- калиевый равновесный потенциал всегда **больше** (по абсолютному значению) реального потенциала покоя

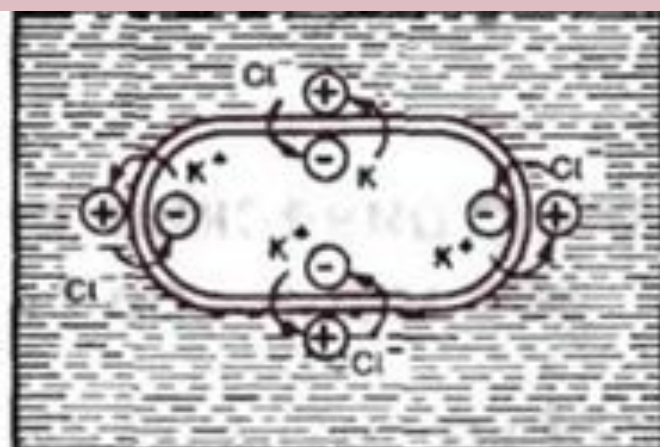
УРАВНЕНИЕ НЕРНСТА

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+{}_e]}{[K^+{}_i]}$$

Здесь и далее индекс «e» относится к внешним концентрациям ионов, а индекс «i» - ко внутренним.



а



б

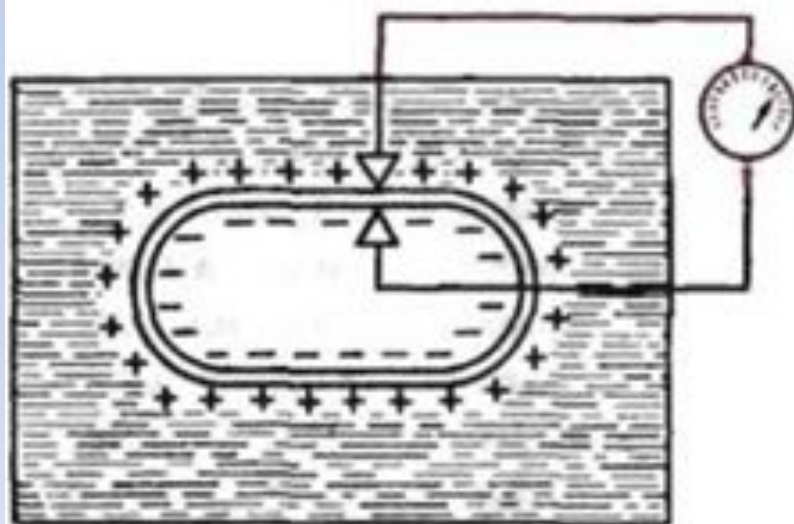


Рис. 1.1. Поляризация клеточной мембраны невозбужденной клетки.

а — соотношение концентрации ионов Na^+ , K^+ , Cl^- и Ca^{2+} внутри клетки и во внеклеточной жидкости; б — перемещение ионов K^+ и Cl^- вследствие концентрационного градиента; в — регистрация трансмембранного потенциала покоя.

ПП гигантского аксона кальмара (- 70 мВ) близок к его E_K (- 75 мВ), но не равен ему.

ПРИЧИНА: **ПП** формирует утечка и других ионов: Na^+ , Cl^- .

При этом поступление Cl^- в аксон, ($E_{Cl} > - 70$ мВ) повышает, а Na^+ понижает ПП ($E_{Na} = +55$ мВ).

Итоговая величина ПП, обусловленного переносом многих ионов может быть достаточно точно рассчитана по формуле Гольдмана.

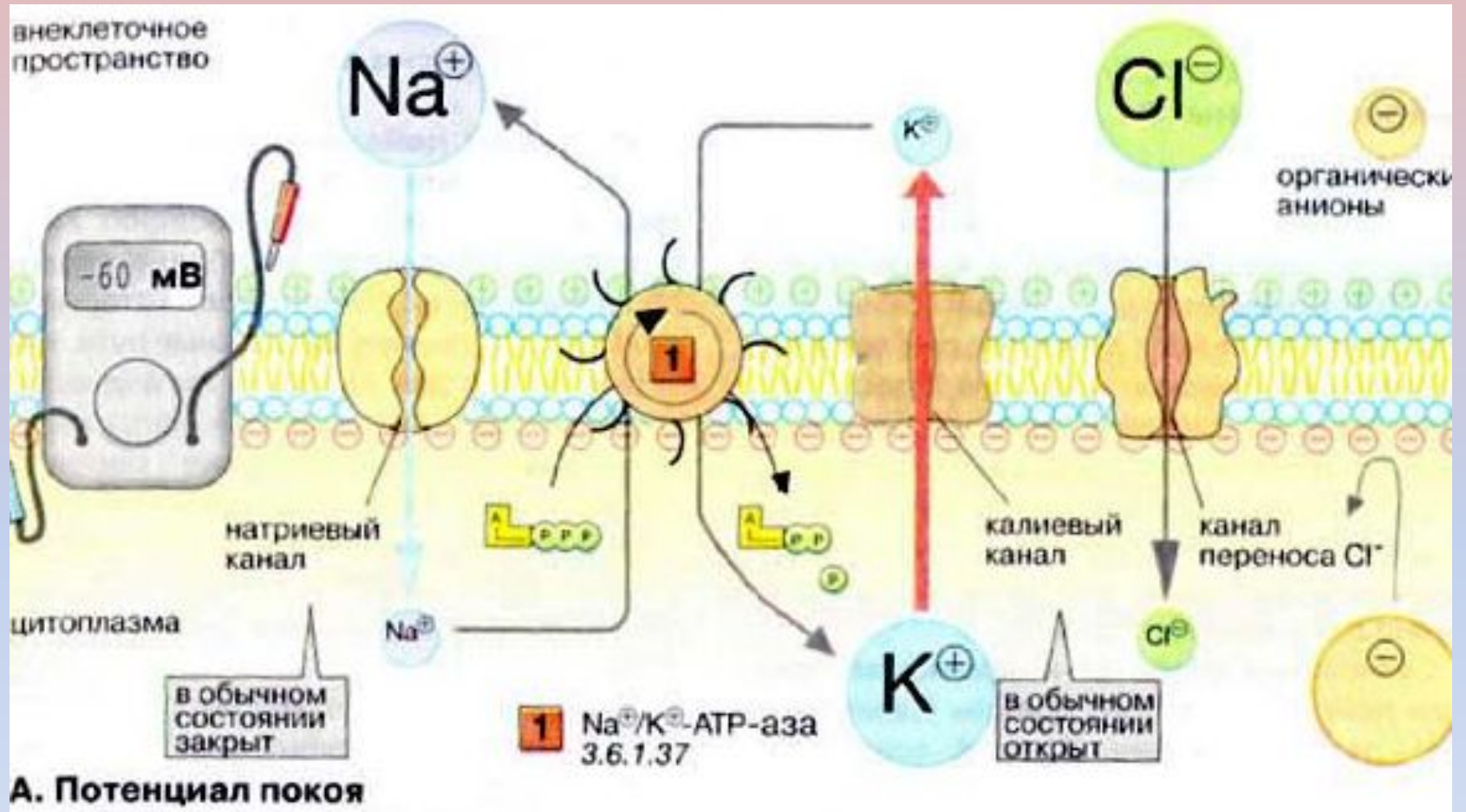
УРАВНЕНИЕ ГОЛЬДМАНА

$$ППП = E_p = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+_e] + P_{Na} [Na^+_e] + P_{Cl} [Cl^-_i]}{P_K [K^+_i] + P_{Na} [Na^+_i] + P_{Cl} [Cl^-_e]}$$

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$$

Соотношение проницаемостей потенциалобразующих ионов в
состоянии покоя

**Вклад активного транспорта
в формирование потенциала
покоя**



ПП складывается из $E_{\text{конц}}$ и $E_{\text{нас}}$

РОЛЬ **Na/K** НАСОСА В ГЕНЕРАЦИИ **ПП**

- Поддержание высокой концентрации K^+ внутри клетки, что обеспечивает постоянство величины ПП. Электрогенность насоса: вклад в ПП.
- Поддержание низкой концентрации Na^+ внутри клетки, что, с одной стороны, обеспечивает **генерацию потенциала действия**, с другой — обеспечивает сохранение нормальных осмолярности и объема клетки.

Электротонический потенциал и локальный ответ, их сходство и различие

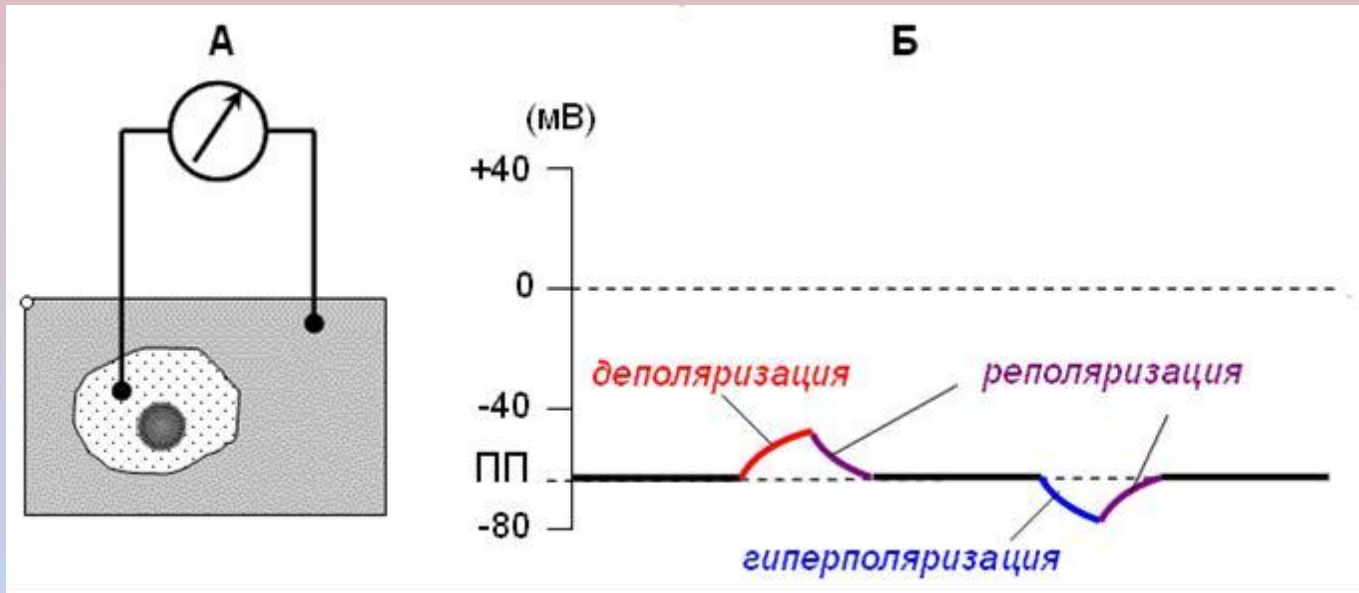
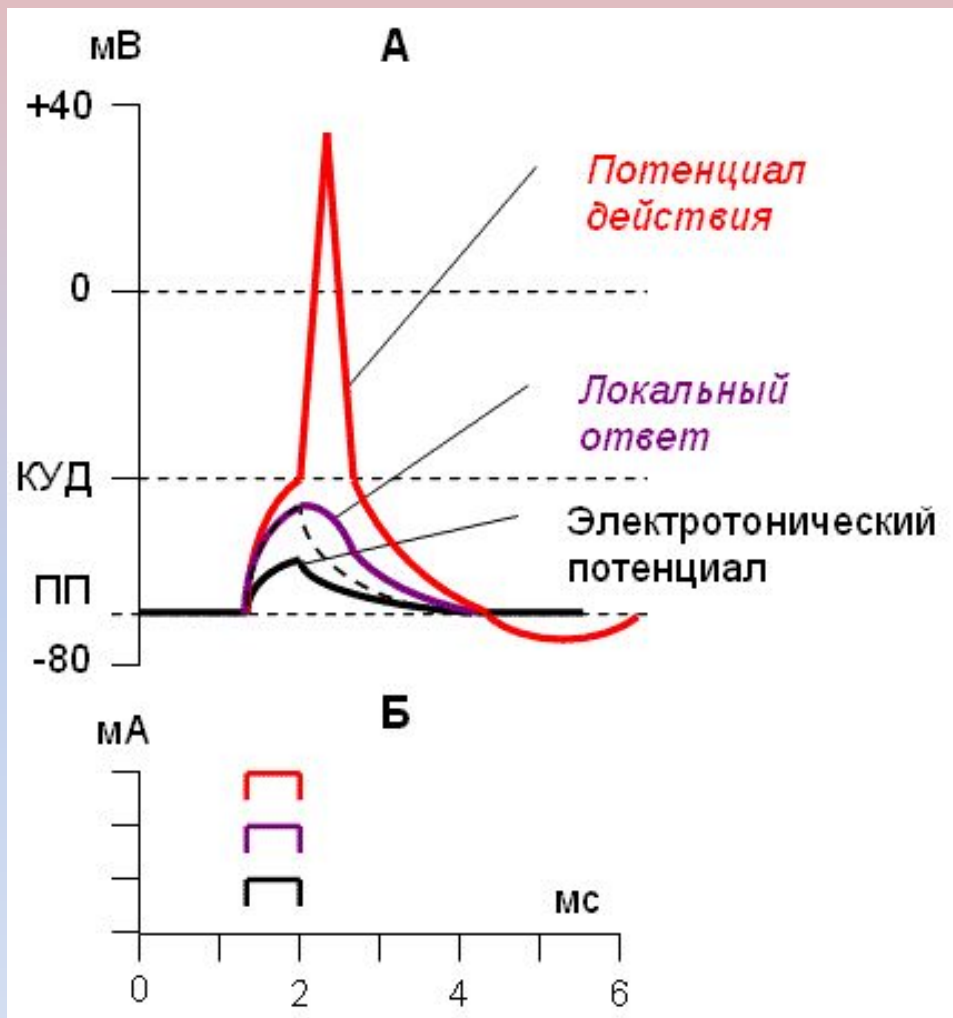


Схема регистрации мембранного потенциала клетки (А);
 мембранный потенциал клетки в состоянии покоя и его возможные
 изменения (Б):

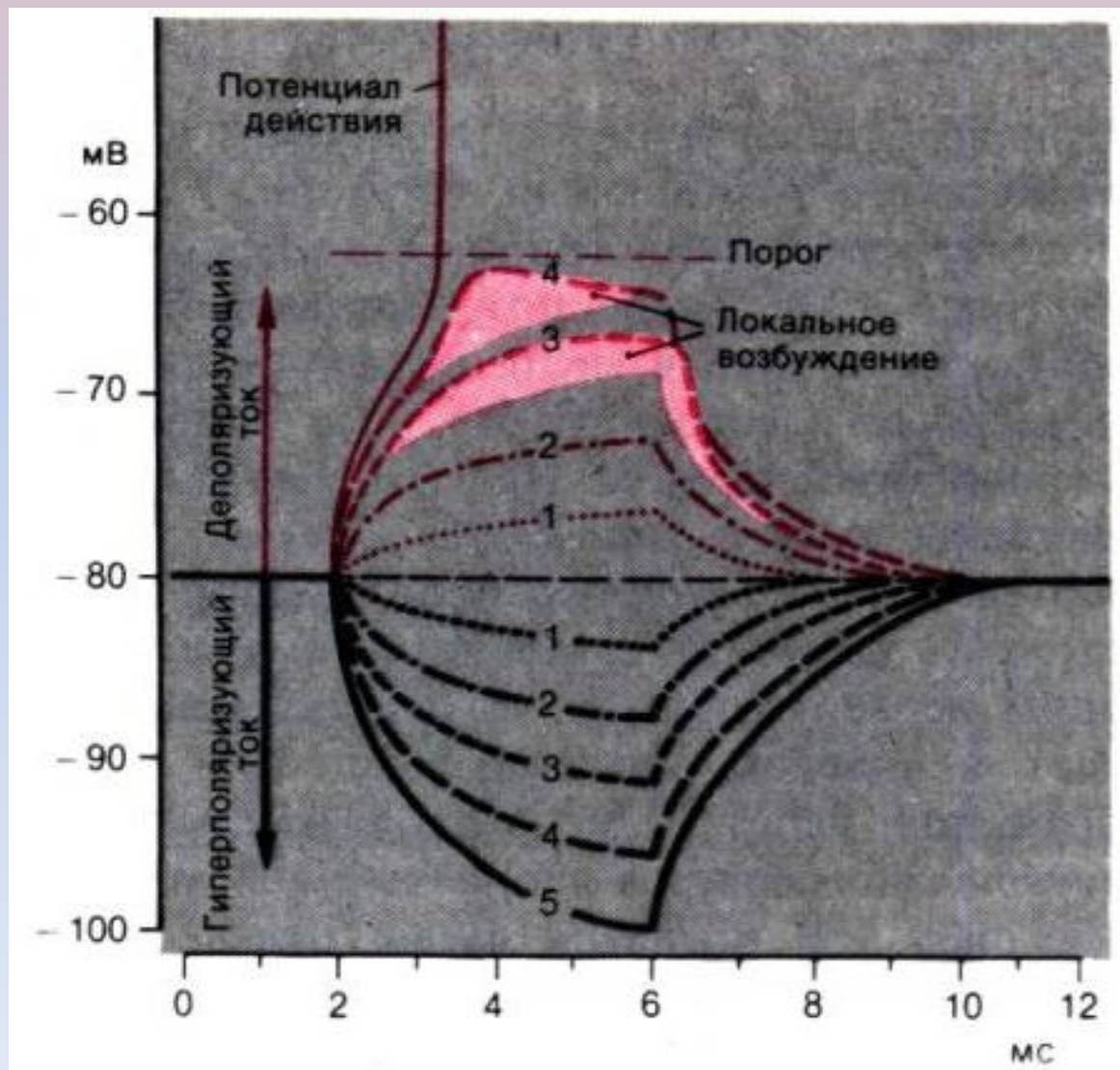
1 – депполяризация, 2 – гиперполяризация,

3 – реполяризация

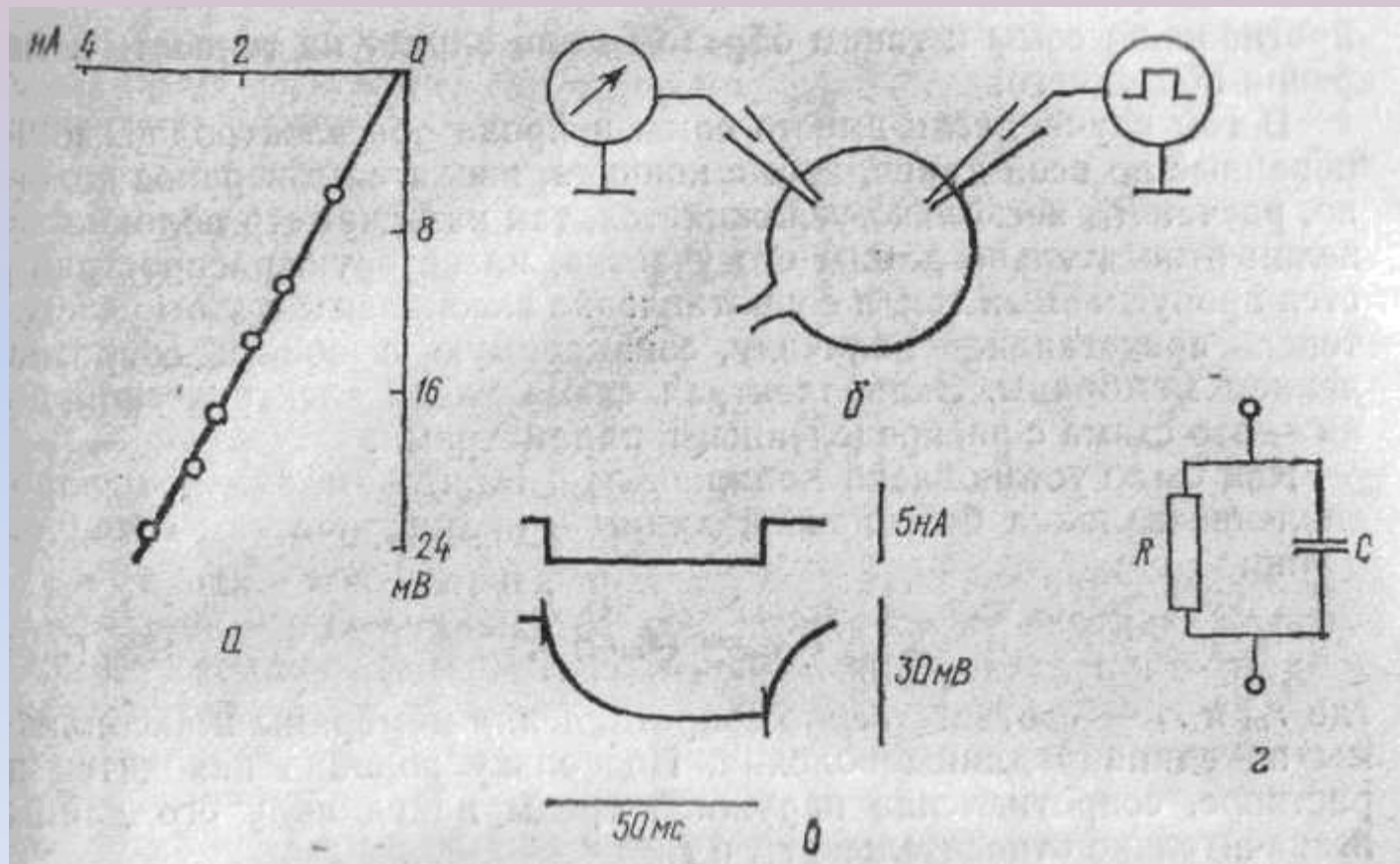


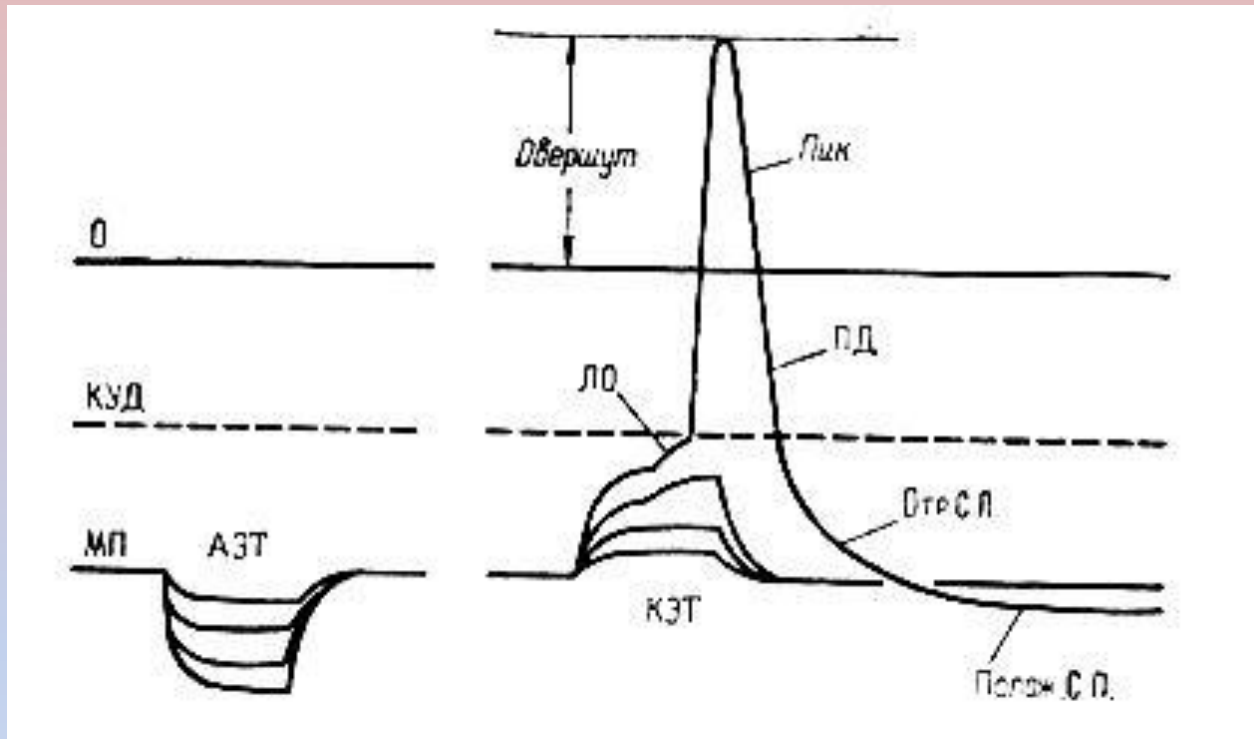
Изменение мембранного потенциала клетки (А) при действии электрического тока различной силы (Б):

ЭЛЕКТРОТОНИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ И ЛОКАЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ



ВОЛЬТ-АМПЕРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭЛЕКТРОНИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА





МП - мембранный потенциал покоя,

ПД - потенциал действия,

ЛО - локальный ответ,

КУД - критический уровень деполяризации, **СН** - следовая негативность, **СП** - следовая позитивность,

АЭТ - анэлектротонический потенциал,

КЭТ - катэлектротонический потенциал