

**Межклеточные взаимодействия.
Внутриклеточный сигналинг.
Мембранный потенциал**

Лекция № 2
для студентов 2 курса лечебного факультета
2011-2012 уч.г.

1. Межклеточные взаимодействия.
Внутриклеточный сигналинг.
1. Мембранный потенциал. Потенциал покоя и потенциал действия.
1. Реакции возбудимых мембран в постоянном электрическом поле

1. Межклеточные взаимодействия. Внутриклеточный сигналинг



Межклеточная передача сигнала с участием лигандов:

- **Синаптическая** - нервная система - синапс - эффектор (нейромедиаторы)
- **Эндокринная** – на клетки эффекторы удаленные от источника гормона (при участии системы кровообращения)

Внутриклеточная передача сигнала

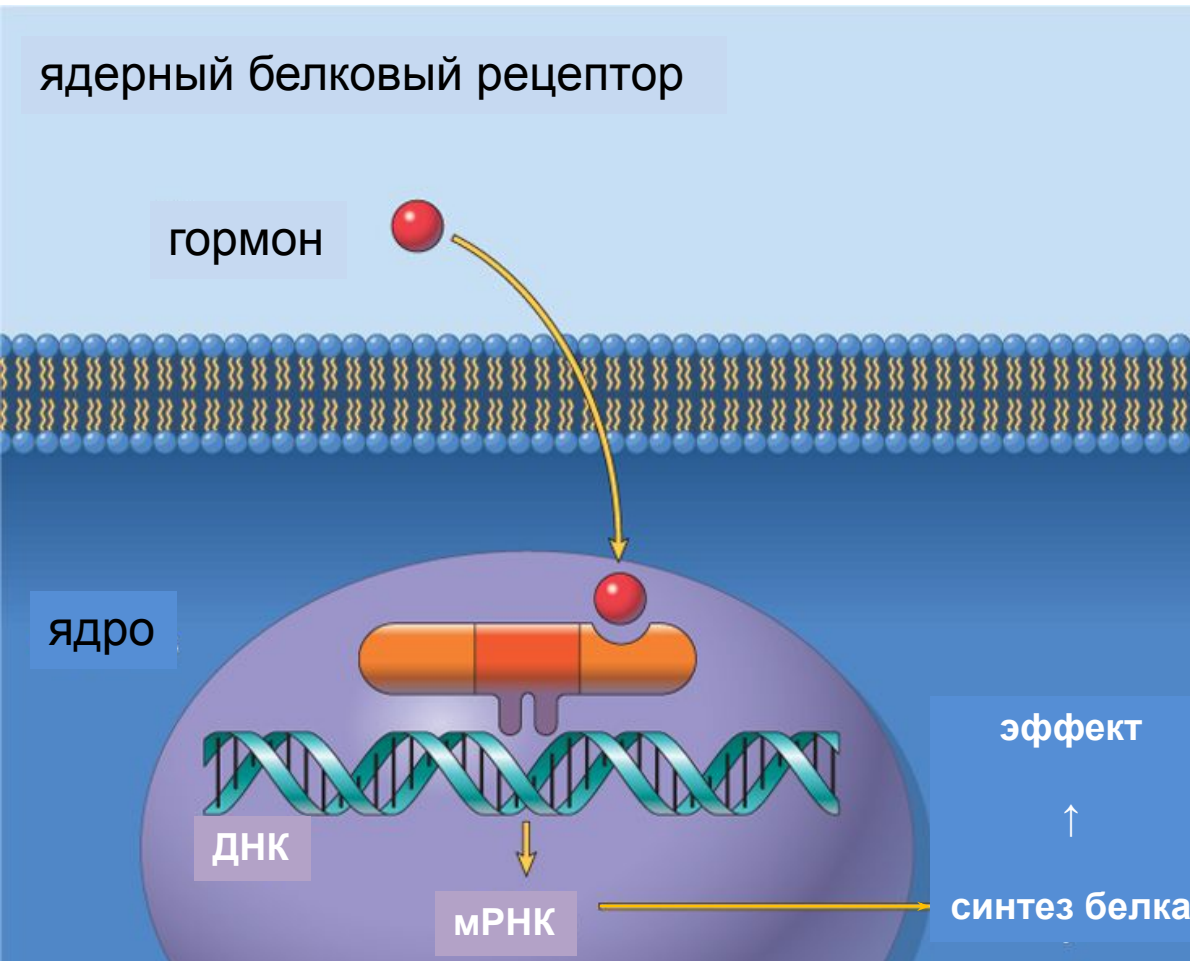
Внеклеточные вещества (лиганды) – **первичные мессенджеры** (гормоны, нейромедиаторы и т.п.)

- липофильные – гидрофобные (ядро- транскрипция – синтез ПК)
- липофобные – гидрофильные (транскрипция, ионные каналы, втор. мессенджеры - активация ПК)

Внутриклеточные медиаторы - **вторичные мессенджеры** (как правило активируют в клетках протеинкиназы):

- цАМФ цГТФ , Ca^{2+} , инозитолтрифосфат [ИФ₃ (InsP₃)],
- диацилглицерин [ДАГ] и монооксид азота (NO).

Механизм действия на клетку первичного липофильного мессенджера



Лиганд

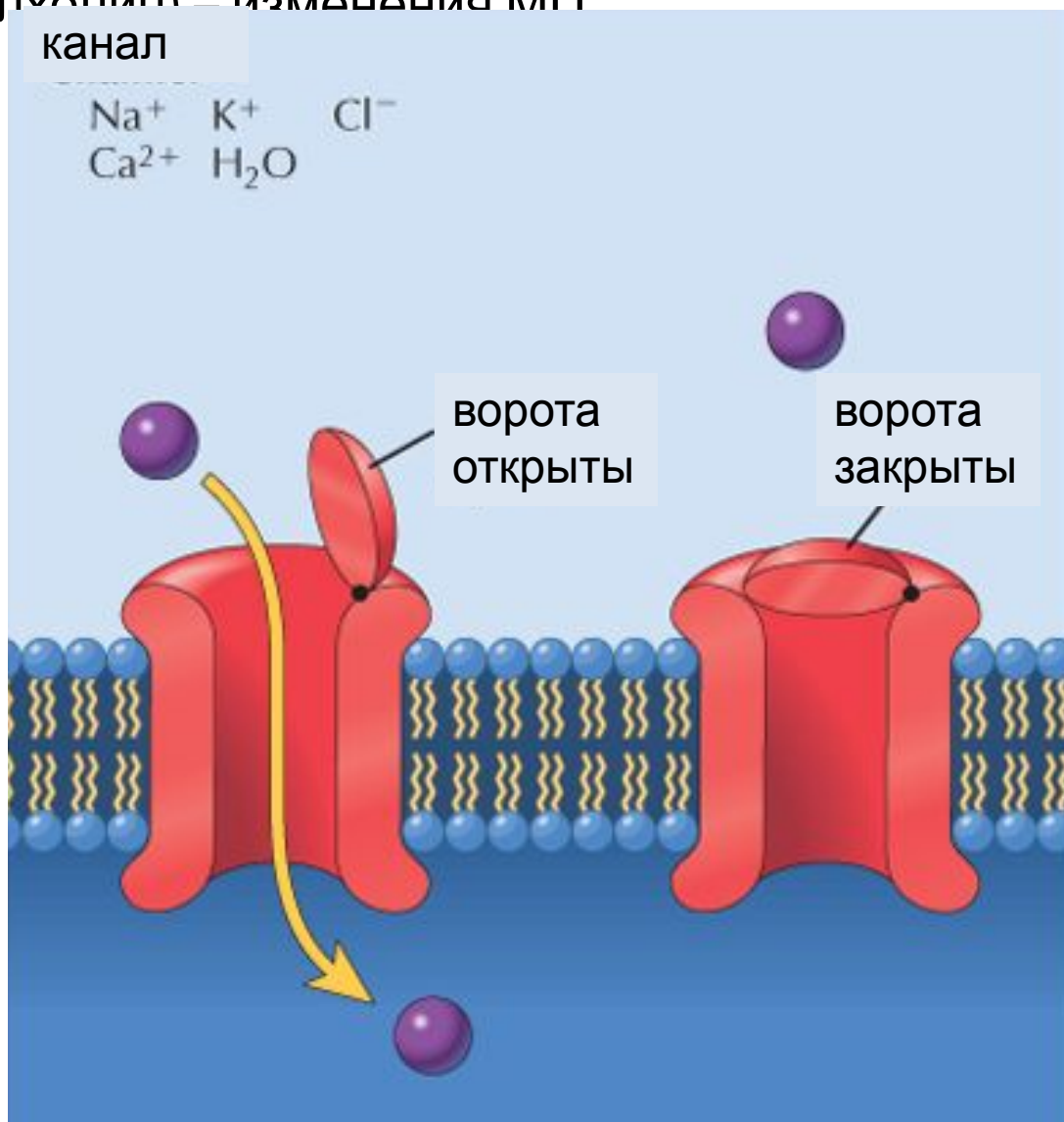
- диффундирует в клетку
- связывается с рецептором
- инициирует транскрипцию

Напр.,

- Альдостерон
- Кортизол
- Кальцитриол
- Эстроген
- Прогестрон
- Тестостерон
- Тиреоидные гормоны

Механизмы работы химических мессенджеров (гидрофильных, липофобных)

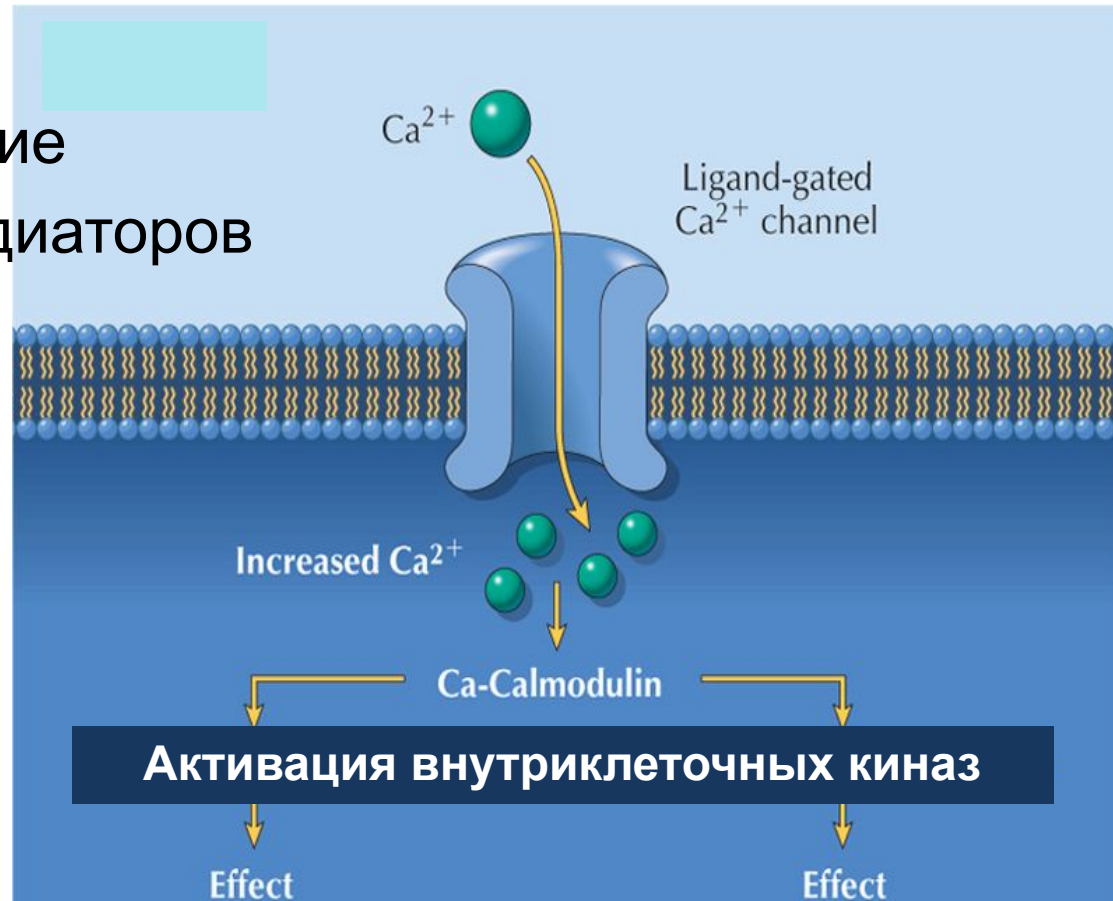
1) Взаимодействие с мембранным рецептором - открытие или закрытие ионных каналов в клеточной мембране (напр., ацетилхолин) — изменения МП



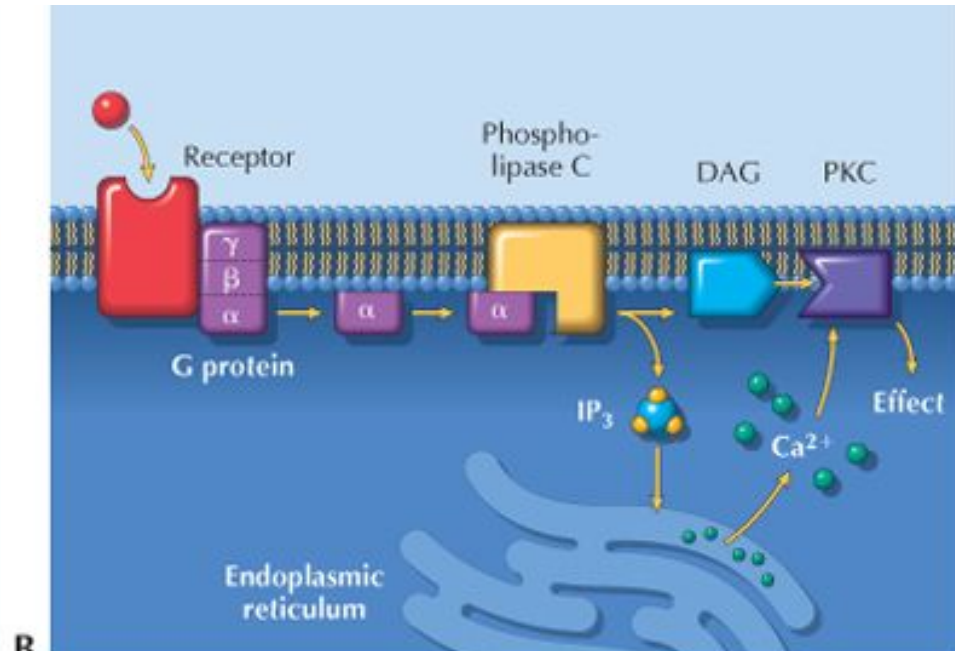
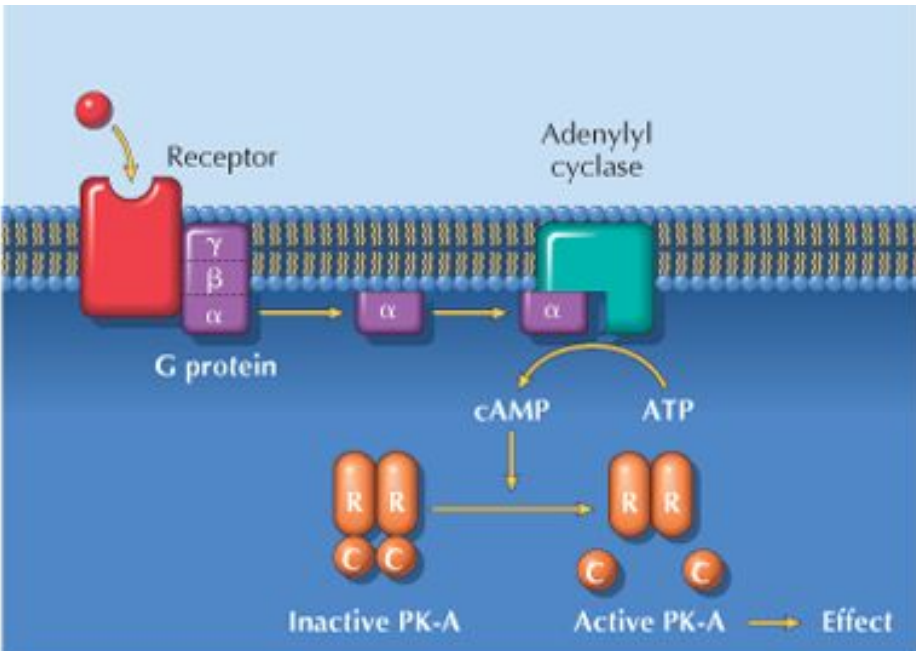
2) активация внутриклеточных протеинкиназ

Ca⁺⁺ - вторичный мессенджер

- вход в клетку через лиганд-зависимые каналы
- связывается с кальмодулином
 - активация внутриклеточных киназ
- в клетке инициирует
 - мышечное сокращение
 - выделение нейромедиаторов
 - секрецию гормонов



Активация внутриклеточных протеинкиназ с участием вторичных мессенджеров



Активация внутриклеточных эффектов с участием **аденилат циклазы (АЦ)** и **цАТФ** как вторичного мессенджера

- \uparrow цАМФ
- активация протеинкиназы А

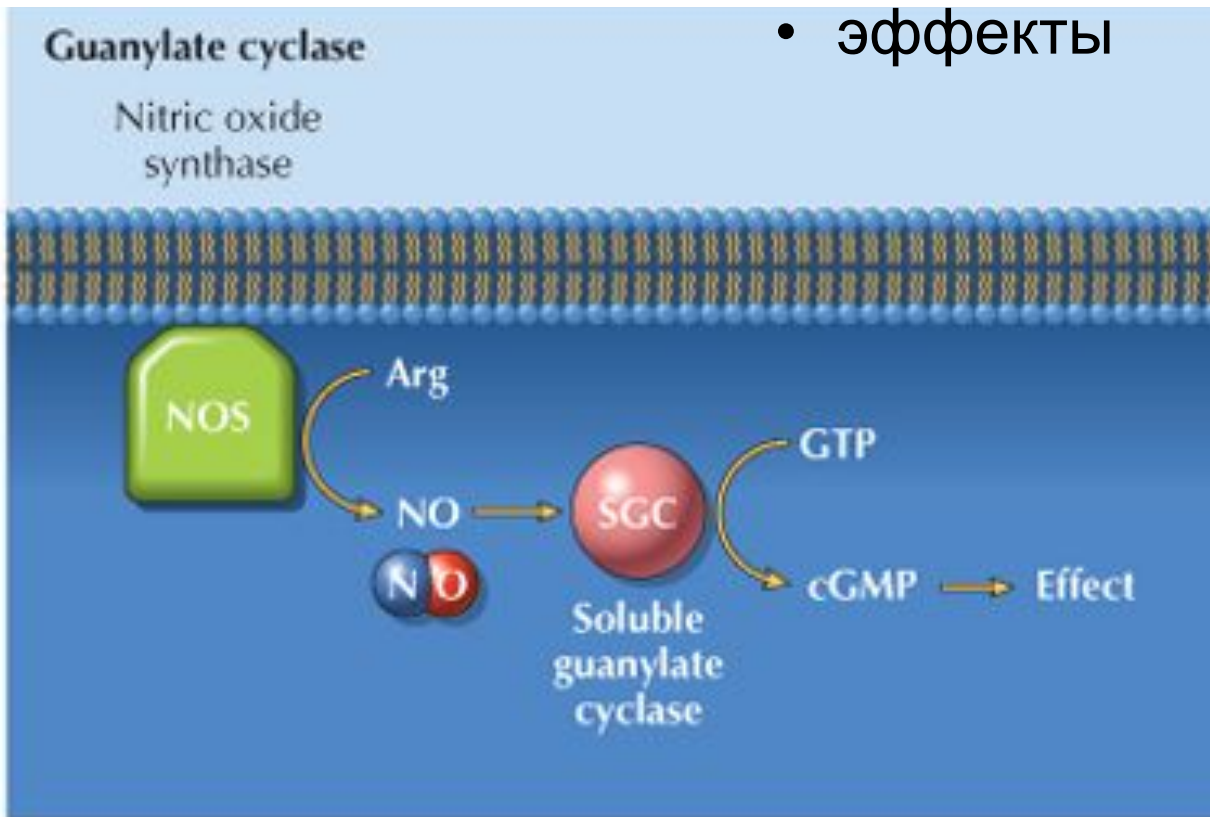
Активация внутриклеточных эффектов с участием **G-белка** и **фосфолипазы С**

- гидролиз мембранных фосфолипидов
- инозитол дифосфат:

Активация внутриклеточных протеинкиназ с участием вторичных мессенджеров

активация гуанилат циклазы

- увеличение цГМФ (вторичный мессенджер)
 - активация цГМФ-зависимых киназ клетки
 - эффекты



Таким образом,

развитие внутриклеточных эффектов – это результат активации разнообразных путей внутриклеточной передачи сигнала вследствие активации лигандом вторичных мессенджеров:

- процессы транскрипции
- изменение ионной проницаемости мембраны
- активация мембранных и внутриклеточных киназ

2. Мембранный потенциал: потенциал покоя, потенциал действия

- **Возбуждение** (свойство) - способность высокоспециализированных тканей реагировать на раздражение сложным комплексом физико-химических реакций, сопровождающихся колебаниями мембранного потенциала
 - связано с наличием в мембране **электрически** и **химически** управляемых каналов, которые
 - меняют свою проницаемость для ионов.

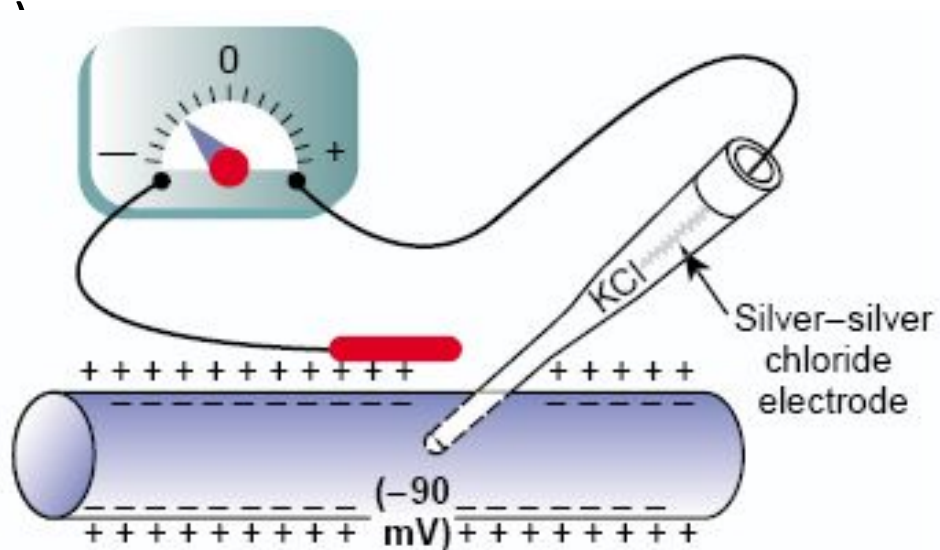
Возбудимые ткани

- нервная, мышечная, железистая
 - генерация МПД
 - специфический ответ (нервный импульс, сокращение, синтез и секреция БАВ)

- Трансмембранная разность потенциалов (**мембранный потенциал**) – у всех клеток:
 - для клетки в покое – это **мембранный потенциал покоя (МПП)**

НО...

- **МПП** – ключевая роль в процессах **возбуждения** нервов, мышц, эндокринных клеток
- В покое цитоплазма клетки **электронегативна** по отношению к внеклеточной жидкости (микроэлектродная техника)

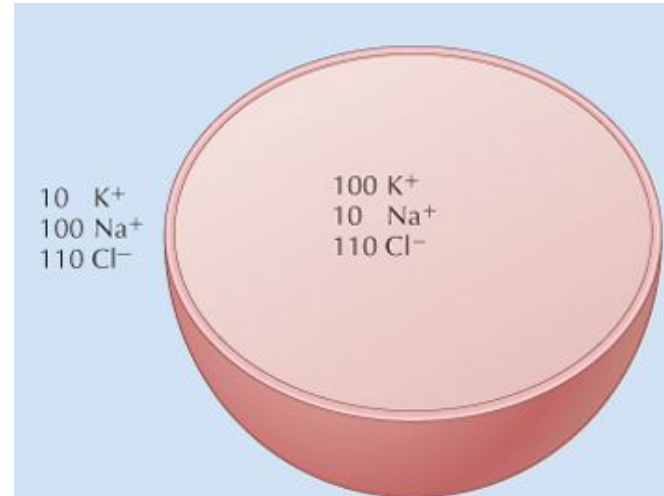


Основы потенциала покоя/ мембранного потенциала

1. Различия **концентраций** ионов [C] снаружи и внутри клетки

$[K^{+in}] > [K^{+out}]$,

$[Na^{+in}] < [Na^{+out}]$



2. Разная **проницаемость** мембраны (P) для ионов калия, натрия ($P_k > P_{Na}$ в покое)
3. Наличие **белков-насосов** (перенос ионов против градиента концентрации)

ИОННОЕ РАВНОВЕСИЕ И МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОКОЯ

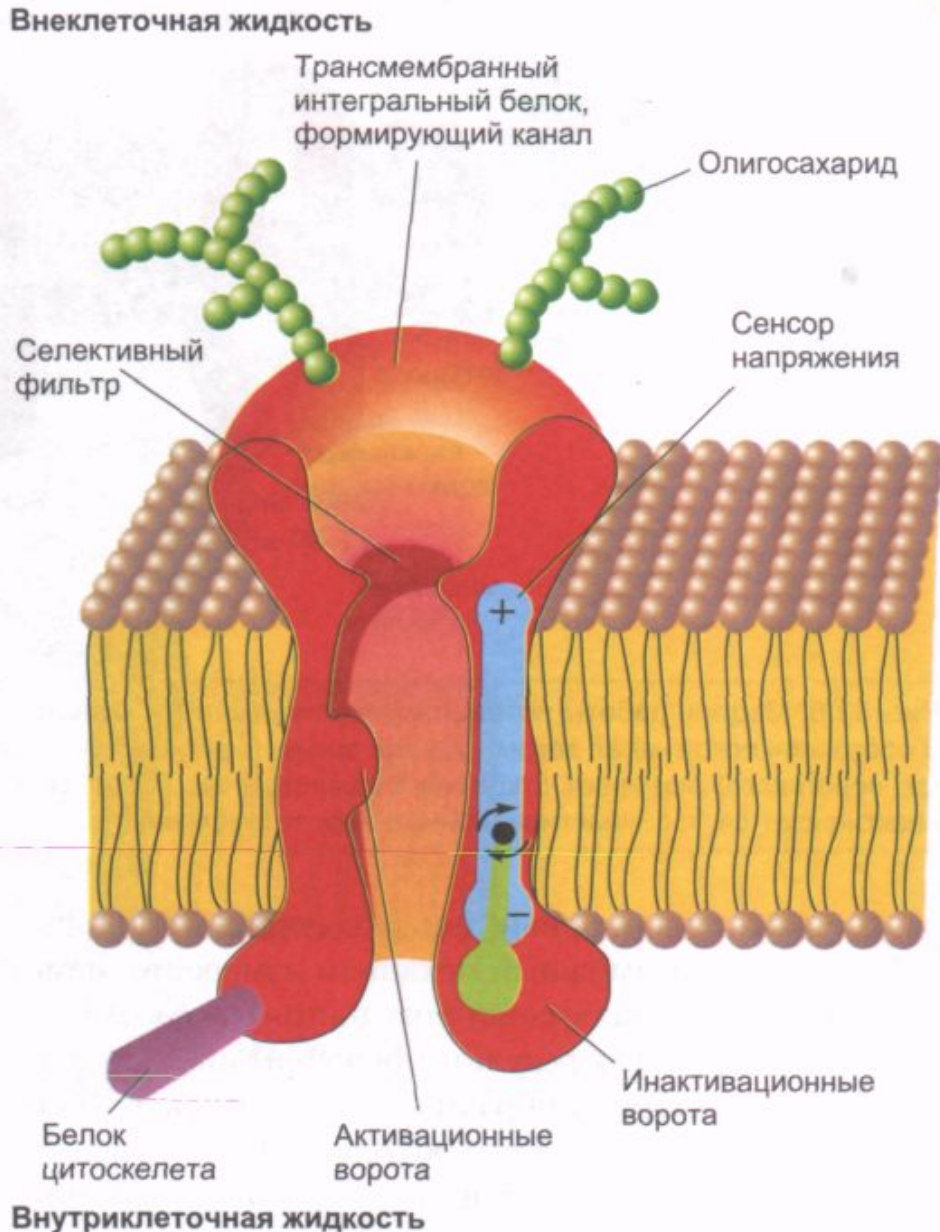
Ионы перемещаются через мембрану благодаря **электрохимическому градиенту** по обе стороны мембраны

Движение каждого иона через мембрану стремится привести потенциал покоя к состоянию равновесия для данного иона.

Движение ионов через мембрану

- через ионные каналы
 - ионоспецифичны
 - меняют проницаемость под влиянием внешних для клетки факторов
 - медиаторы, гормоны

Модель ионоселективного канала



Ионоселективные каналы

- транспортные системы
 - натриевые, калиевые, кальциевые, каналы для хлора и т. д.

Ионный канал состоит из

- **сенсора** (индикатора) напряжения ионов в самой мембране и
- **селективного фильтра.**
- **воротного механизма,**

Типы ионных каналов

1. Потенциалчувствительные

- изменяют проницаемость в ответ на изменение электрического поля

1. Хемочувствительные

- рецепторуправляемые, лигандзависимые

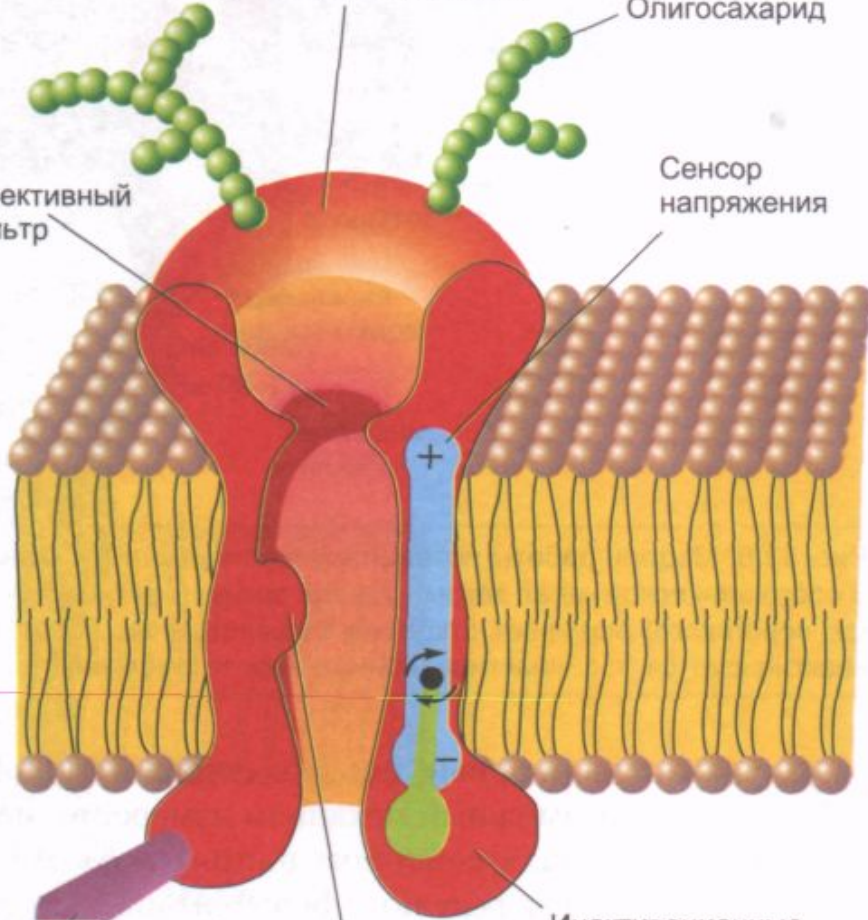
Внеклеточная жидкость

Трансмембранный
интегральный белок,
формирующий канал

Олигосахарид

Селективный
фильтр

Сенсор
напряжения



Белок
цитоскелета

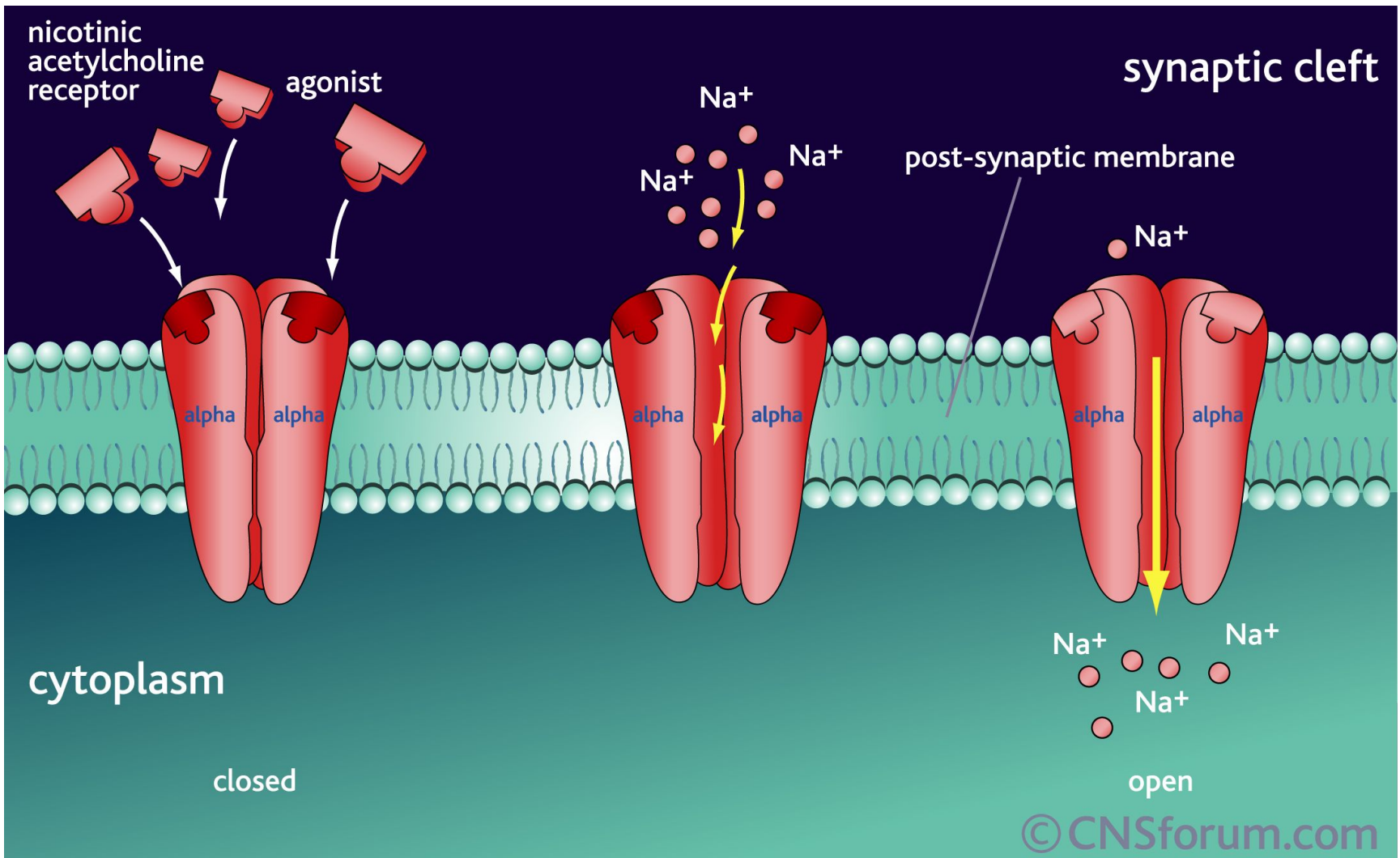
Активационные
ворота

Инактивационные
ворота

Внутриклеточная жидкость

Потенциалчувствительные
ые
(потенциалуправляемые
) каналы

Хемочувствительные (хемо/лигандуправляемые) каналы



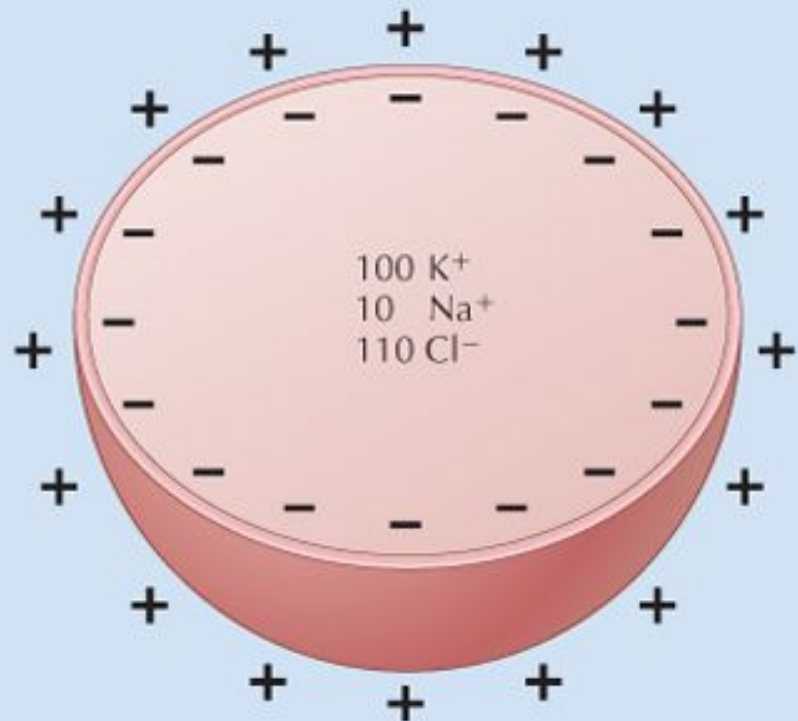
$$V_m = 0$$

10 K⁺
100 Na⁺
110 Cl⁻



$$V_m = -61\text{mV}$$

100 K⁺
10 Na⁺
110 Cl⁻



Мембранный потенциал гипотетической клетки

- В покое мембрана проницаема преимущественно для K⁺
→ отрицательный заряд внутри и + снаружи;

- В упрощенной системе, когда учитывают проницаемость лишь для 1 иона трансмембранная диффузионная разность потенциалов рассчитывается по формуле Нернста:

$$E_k = (RT/ZF) \ln(K_o/K_i)$$

где

E_k — равновесный потенциал,

R — газовая постоянная,

T — абсолютная температура,

Z — валентность иона,

F — постоянная Фарадея,

K_o и K_i — концентрации ионов K^+ вне и внутри клетки соответственно.

Однако клеточная мембрана проницаема и для других ионов, поэтому для расчет реального МП используют уравнение Гольдмана-Ходжкина-Каца

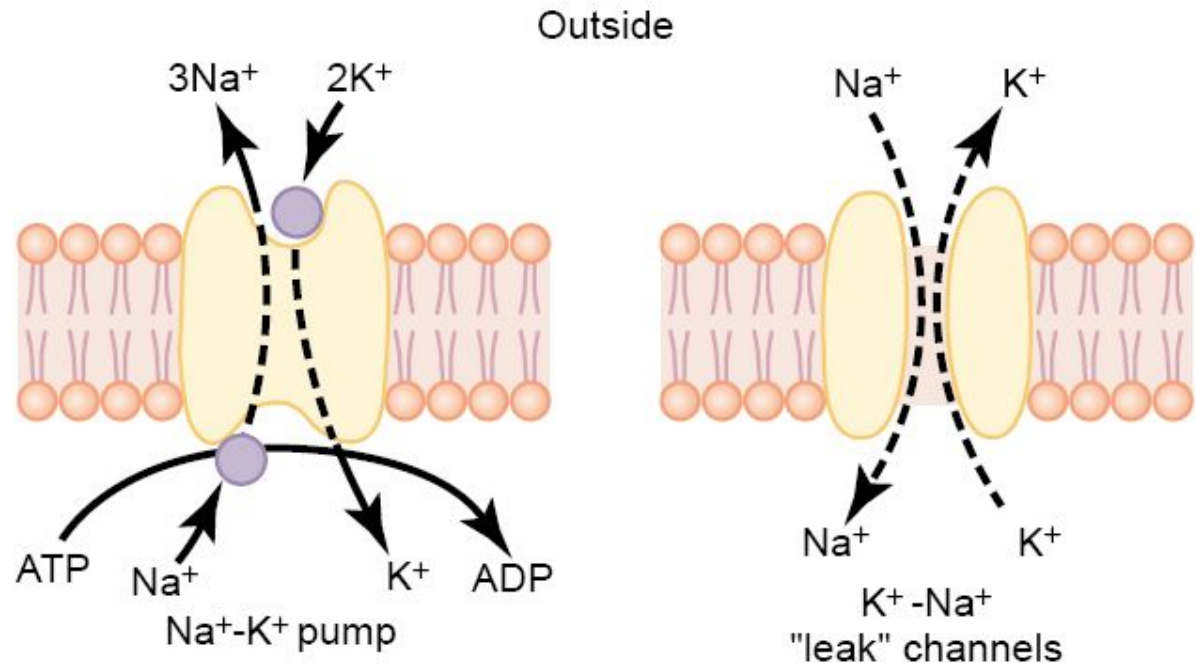
$$V_m = \frac{RT}{ZF} \ln \frac{P_{K^+}[K^+]_o + P_{Na^+}[Na^+]_o + P_{Cl^-}[Cl^-]_i}{P_{K^+}[K^+]_i + P_{Na^+}[Na^+]_i + P_{Cl^-}[Cl^-]_o}$$

Ионы	Концентрация в саркоплазме (ммоль)	Концентрация вне клетки (ммоль)
K+	140	2,5
Na+	10	120
Cl-	3-4	120
Ca ²⁺	<0,001	2
A- (полипептиды)	140	0

- Ионы перемещаются через мембрану благодаря **электрохимическому градиенту** по обе стороны мембраны

Ионные насосы (Na/K – АТФ-аза)

- 1) поддерживают неравновесное распределение Na^+ и K^+
 - расщепление 1 АТФ - перенос 3 Na^+ (из клетки) и 2 K^+ (в клетку) - *электрогенность транспорта*, т. е.
 - цитоплазма клетки заряжена отрицательно по отношению к внеклеточному пространству.
- 2) движение ионов против градиента концентрации и
 - поддержание концентрационного градиента:



Мембранный Потенциал (покоя) -

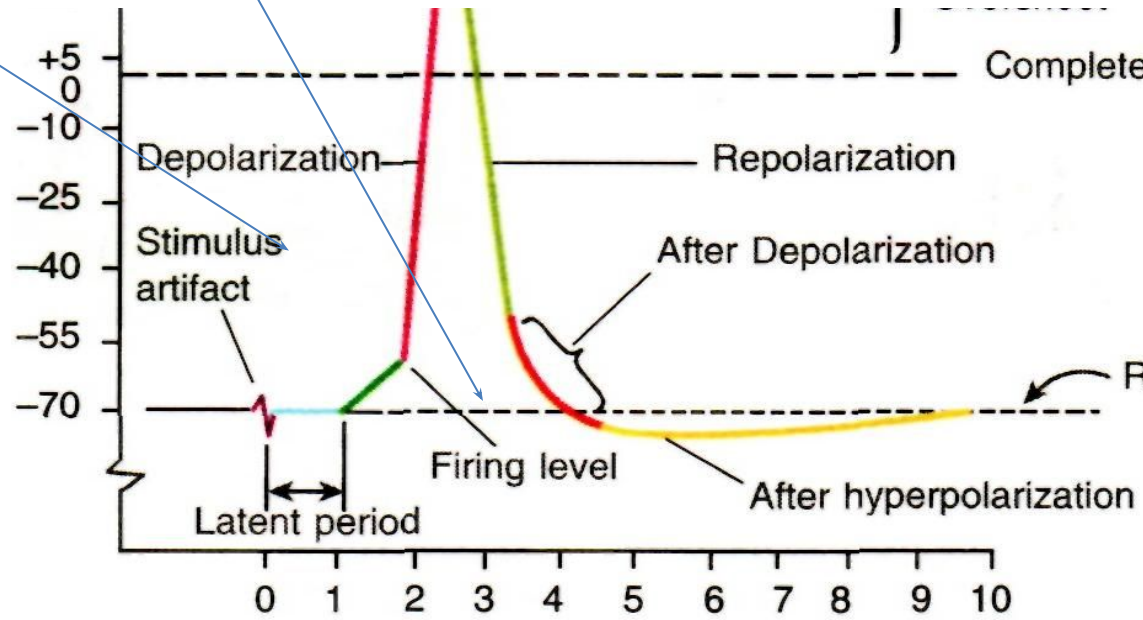
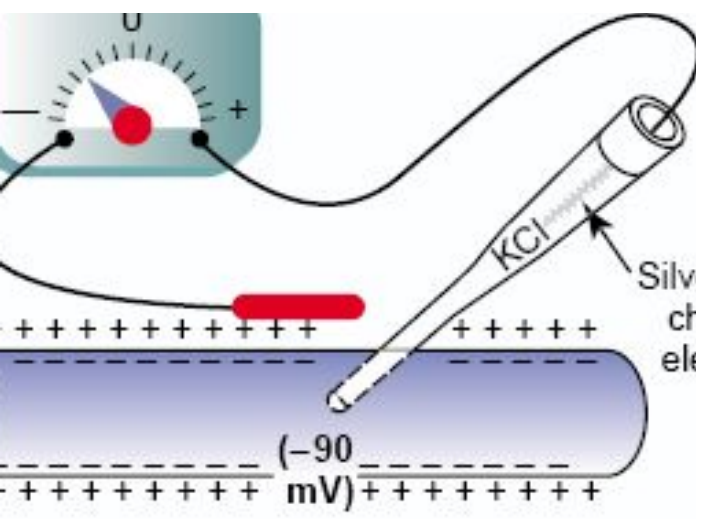
- -70 mV для большинства клеток;
- -90 mV для нейронов;
- K^+ - основной вклад, т.к.
 - $[K_{in}] \gg [K_{out}]$
 - проницаемость для K^+ выше, чем для других ионов в покое

Клетка называется **гиперполяризованной**, если

- МП более негативен чем нормальный потенциал покоя;

Клетка **деполяризована**

- мембрана менее электроотрицательна, чем в нормальный для нее потенциал покоя.



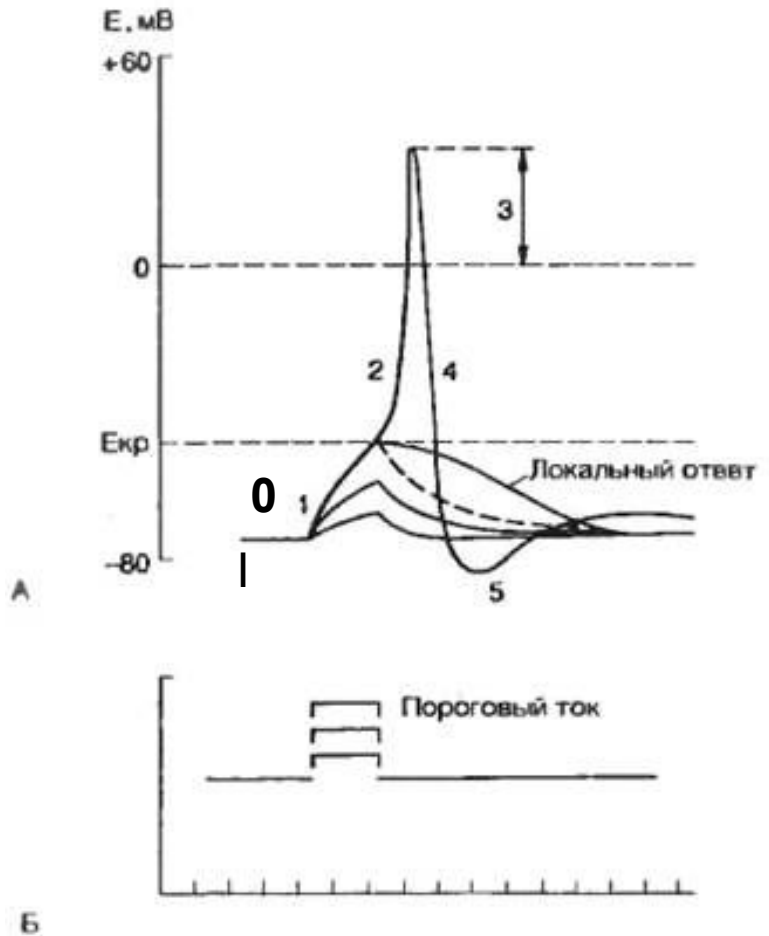
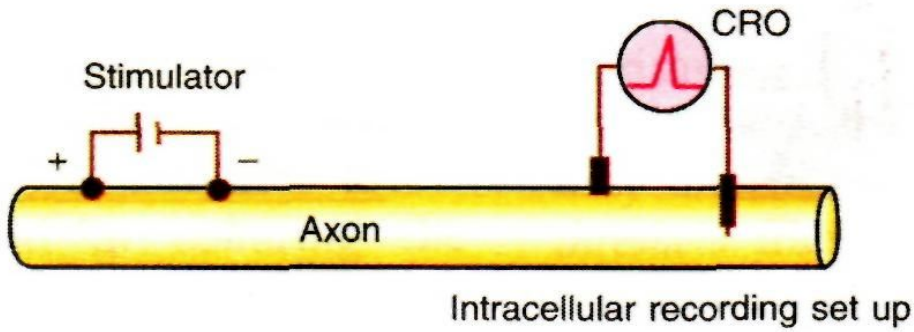
Итак, МП – функция

- концентрационных градиентов
- проницаемости мембраны для ионов
- работы электрогенных ионных насосов

Потенциал действия (ПД) – быстрые колебания трансмембранной разности потенциалов, обусловленные изменением ионной проницаемости мембраны:

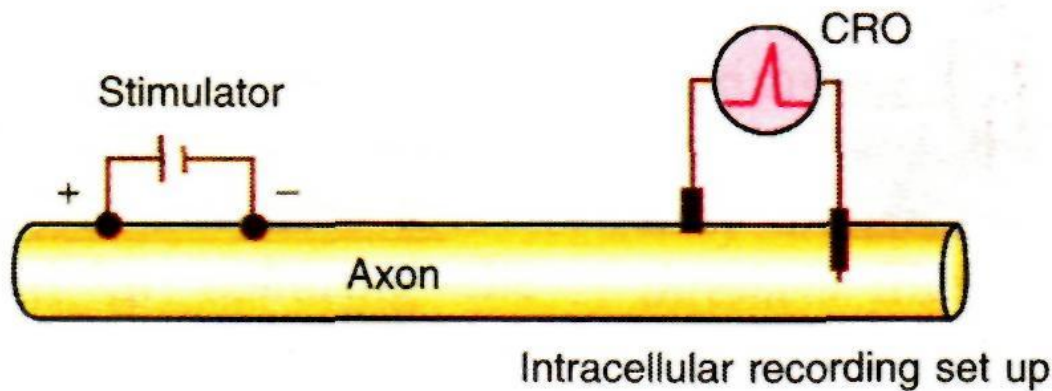
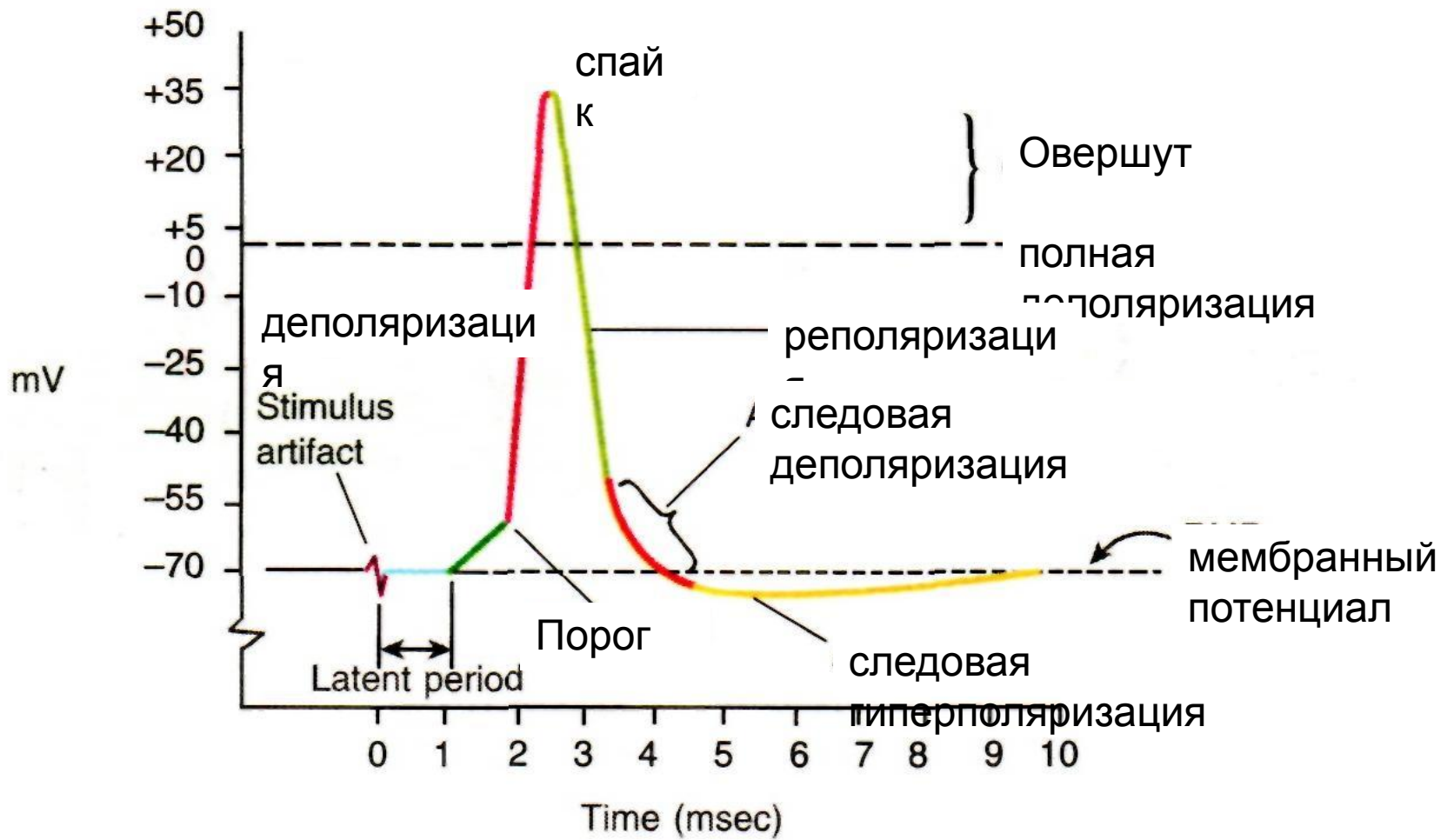
Последовательность процессов при стимуляции клетки и развитии ПД

- 0) латентный период
- 1) локальный ответ
- 2) деполяризация
- 3) овершут
- 4) реполяризация
- 5) следовые потенциалы
 - следовая деполяризация,

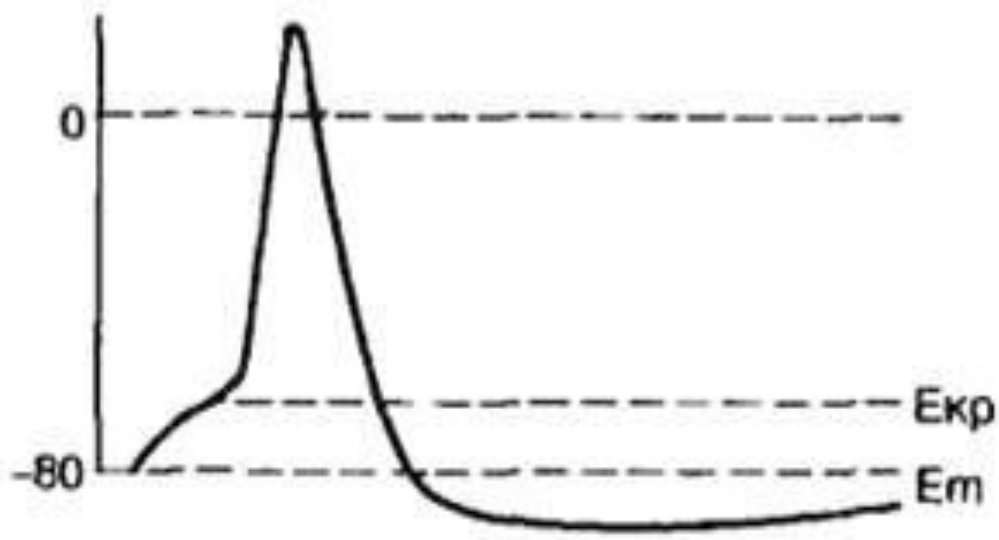


Наиболее важные характеристики ПД:

- пороговый потенциал (**критический уровень деполяризации**)
- ответ по принципу **«все или ничего»** (ПД только в ответ на пороговые или сверхпороговые стимулы)
- **бесдекрементное распространение ПД** по мембране клетки
- **рефрактерный период**

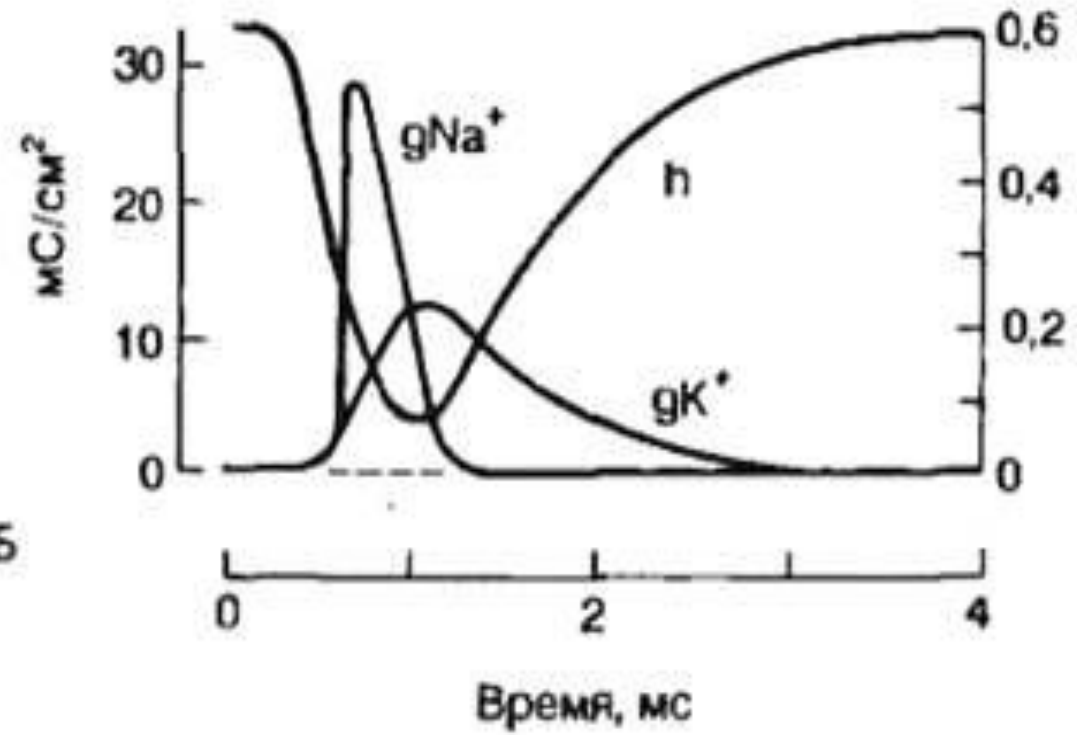


А



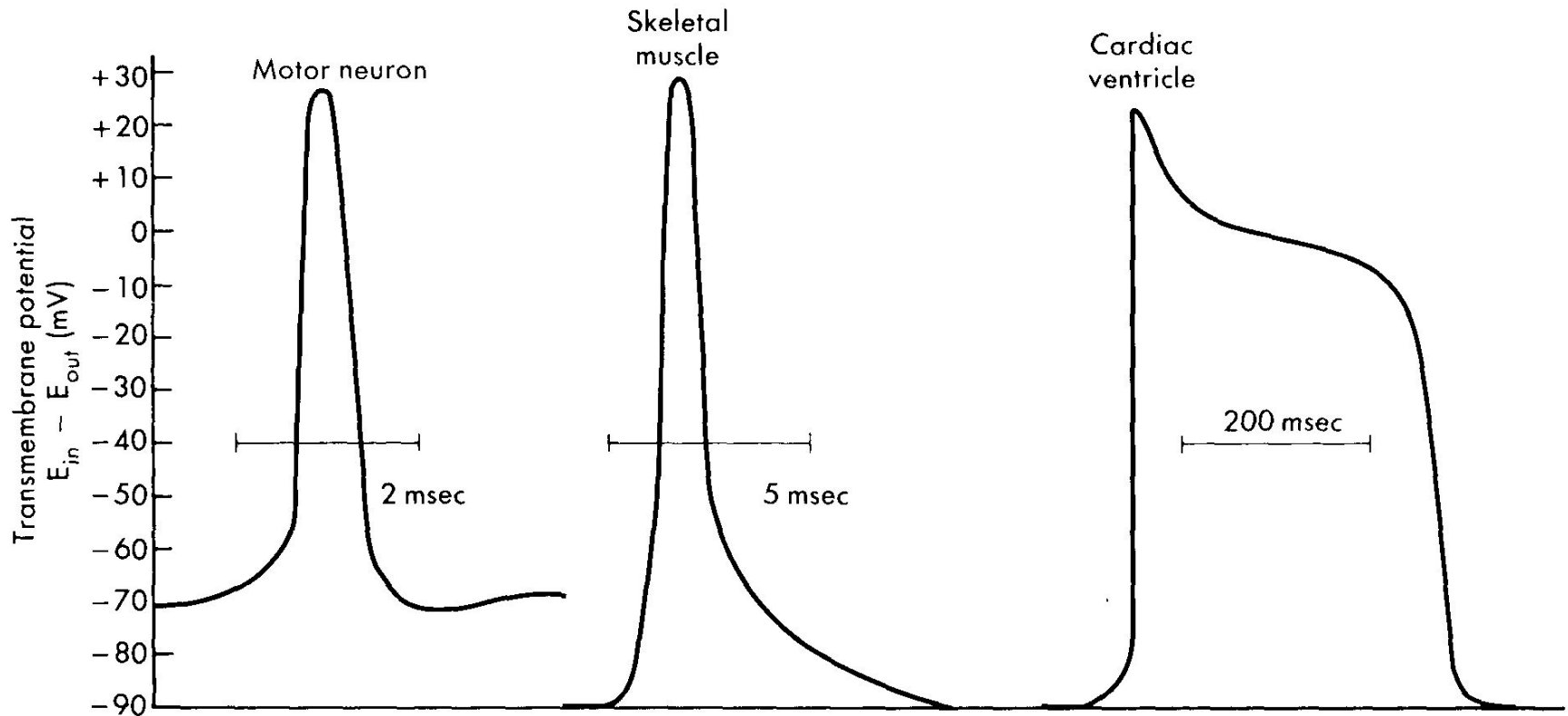
Потенциал действия (А) и изменение проводимости клеточной мембраны (Б) для Na^+ (g_{Na^+}) и K^+ (g_{K^+}) во время генерации потенциала действия;

Б



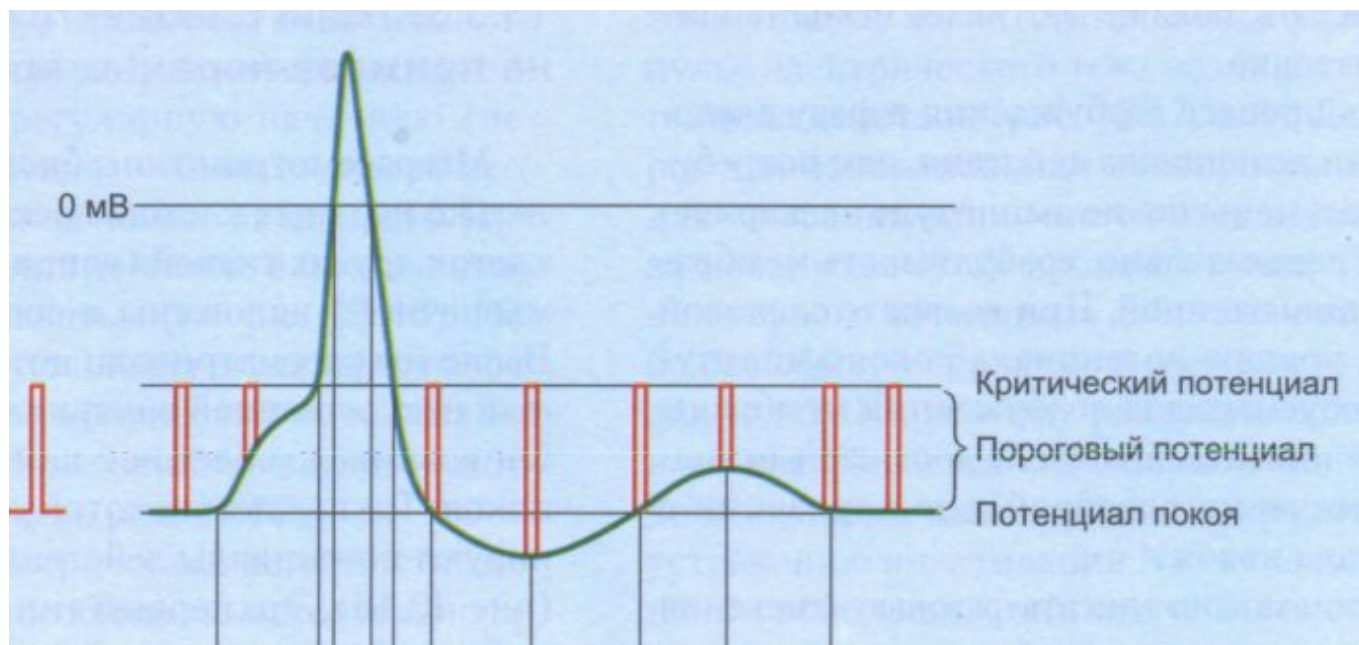
h — показатель способности натриевых каналов к активации.

Особенности ПД для разных типов возбудимых клеток



Развитие ПД возможно в том случае, если раздражитель достиг пороговой силы (**порог раздражения**), т.е. в результате **местной (локальной)** деполяризации изменил величину МП до критической (**критический уровень деполяризации**)

Критический уровень деполяризации – необходимые для открытия потенциалзависимых ионных каналов изменения поляризации мембраны



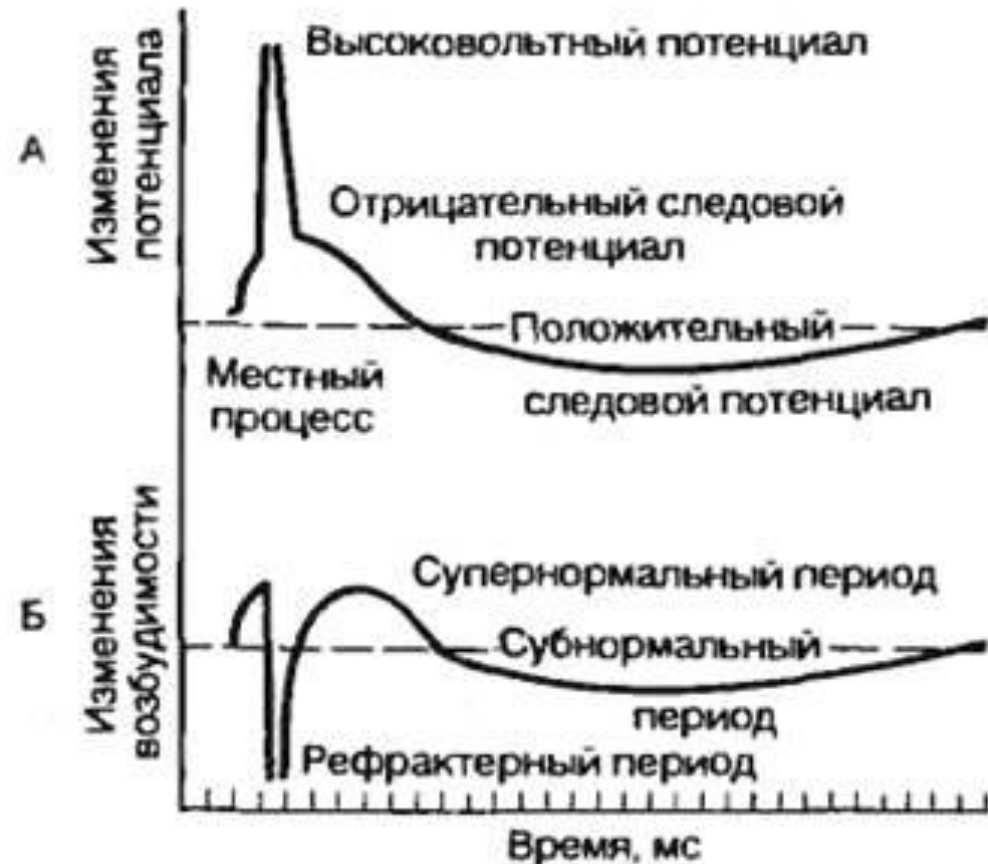
Потенциал действия является своеобразным триггером, запускающим их **специфическую функциональную активность** клетки:

- проведение нервного импульса,
- сокращение мышцы,
- секреция БАВ (гормоны, ферменты, цитокины и пр.)

Фазовые изменения возбудимости во время развития потенциала действия

Во время ПД возбудимость клеточной мембраны (способность реагировать на действие раздражителя изменением ионной проницаемости) претерпевает фазовые изменения:

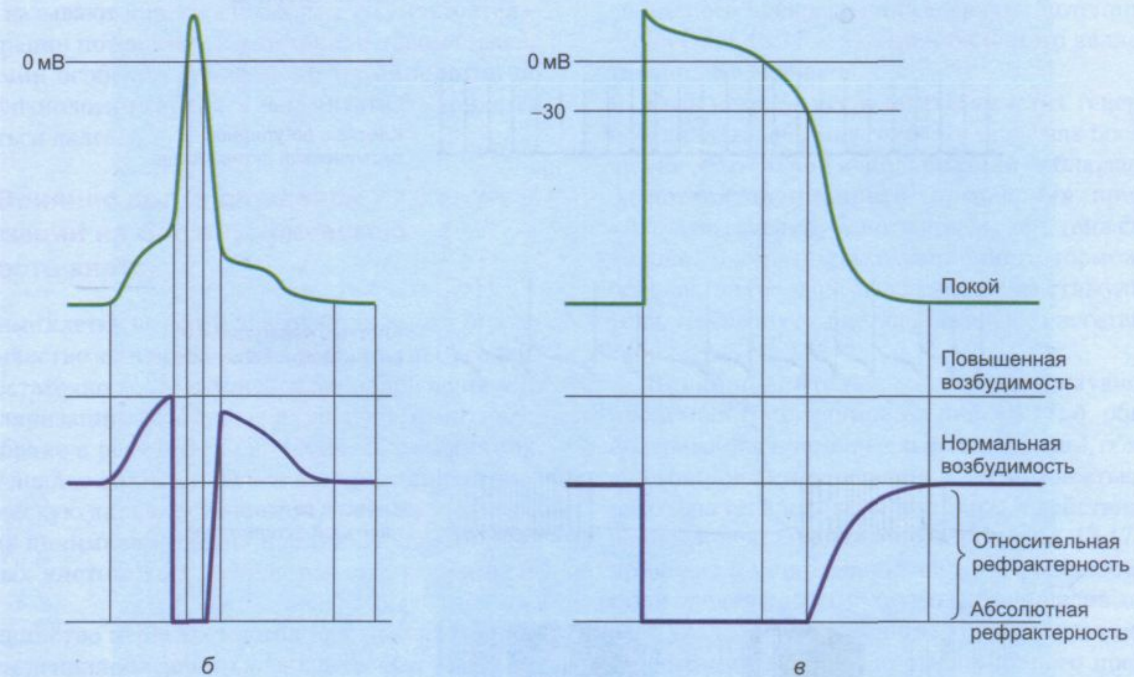
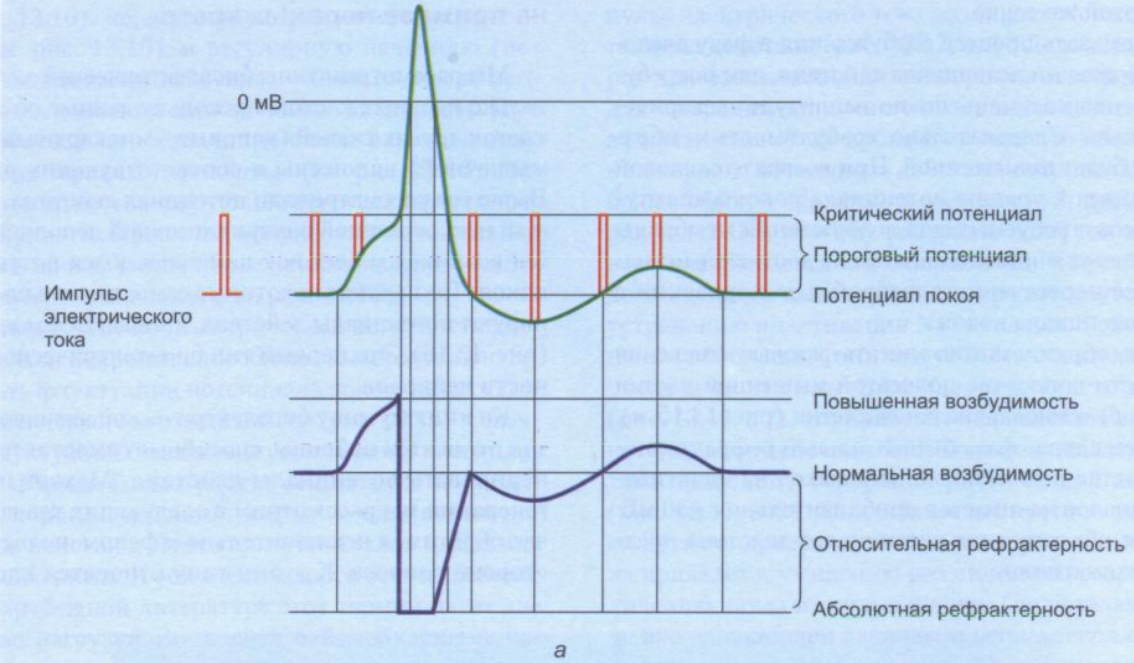
- 1) **повышенная возбудимость** (во время локального ответа)
- 2) **абсолютная рефрактерность** (деполяризация и начальная реполяризация)
- 3) **относительная рефрактерность** - от 2 до окончания реполяризации
- 4) **повышенная возбудимость**, или супервозбудимость (следовая деполяризация)
- 5) **Пониженная возбудимость** (следовая гиперполяризация)



а) соотношение фаз ПД и возбудимости клеточной мембраны нейрона

б) ПД и возбудимость поперечно-полосатой мышечной клетки

в) ПД и возбудимость миокардиальной клетки



3. РЕАКЦИИ ВОЗБУДИМЫХ МЕМБРАН В ПОСТОЯННОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПОЛЕ

Реакции возбудимых мембран в постоянном электрическом поле

Трансмембранная разность потенциалов на мембране любой живой клетки определяет ее чувствительность к электрическому полю:

- небольшие по силе (1-10 мА) постоянные токи → существенное физиологическое действие на клеточные мембраны, особенно возбудимых клеток (используют в ФИЗИОТЕРАПИИ),
 - возникающие при этом изменения возбудимости называют **электротоническими явлениями**,
 - при пропускании постоянного тока под катодом возникает **частичная деполяризация** мембраны (**катэлектротон**), а под анодом — ее **гиперполяризация** (**анэлектротон**)
 - **Механизм**: искусственно измененные условия электродиффузии ионов

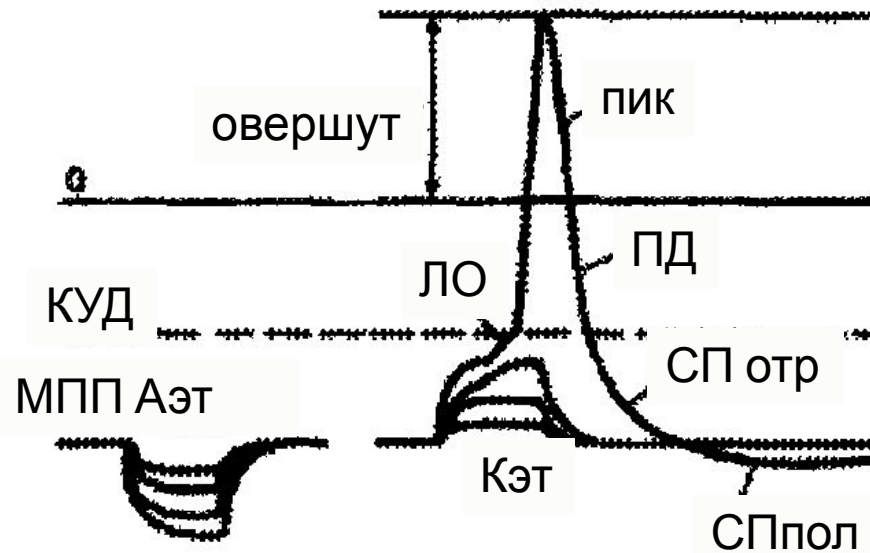
Законы электрического раздражения возбудимых тканей

Раздражение возбудимых тканей
обеспечивается только внешним **ТОКОМ**
выходящего направления



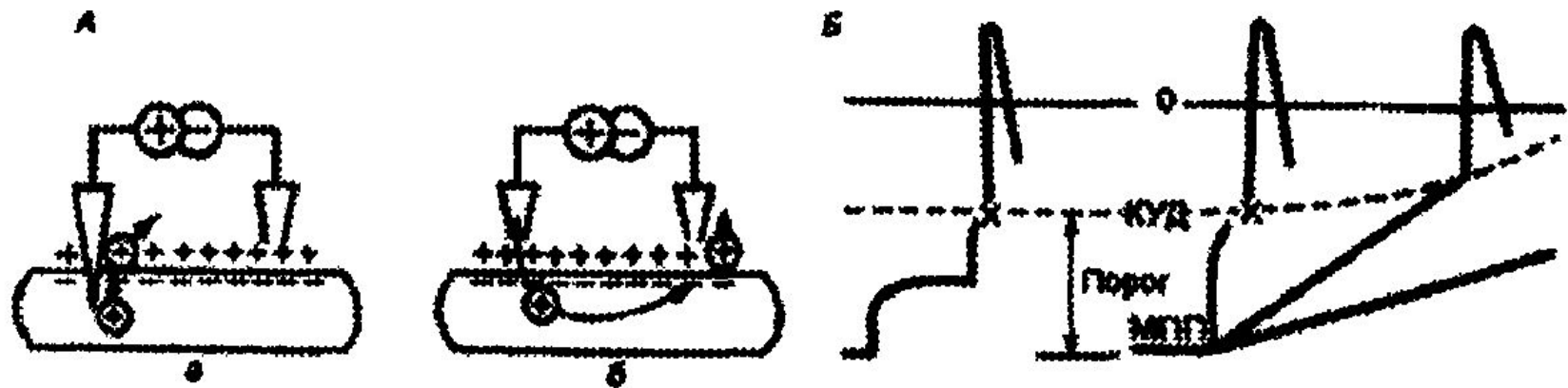
при приложении к нерву или мышце двух
разнополярных электродов деполяризация
возникает только в области **катода**, т.к. именно
здесь локальные - ионные токи имеют
выходящее направление

Реакции возбудимых мембран в постоянном электрическом поле



Основные электрофизиологические феномены на возбудимой мембране.

Аэт — анэлектротон; КУД — критический уровень деполяризации, Кэт — катэлектротон; ЛО — локальный (подпороговый активный) ответ; МПП — мембранный потенциал покоя; ПД — потенциал действия; СП (отр и пол) отрицательный и положительный следовые потенциалы.



Зависимость АД от направления, силы и крутизны тока

А — эффективное направление электрического тока при внутриклеточном (а) и внеклеточном (б) раздражении Б — порог возбуждения, КУД и их изменение при медленном нарастании силы тока