

# Лекция 1.

## Основы электрофизиологии сердца.

Розенштраух Л.В\*.

Ин-т Экспериментальной кардиологии

РКНПК МЗ РФ

Москва.

2001 г.

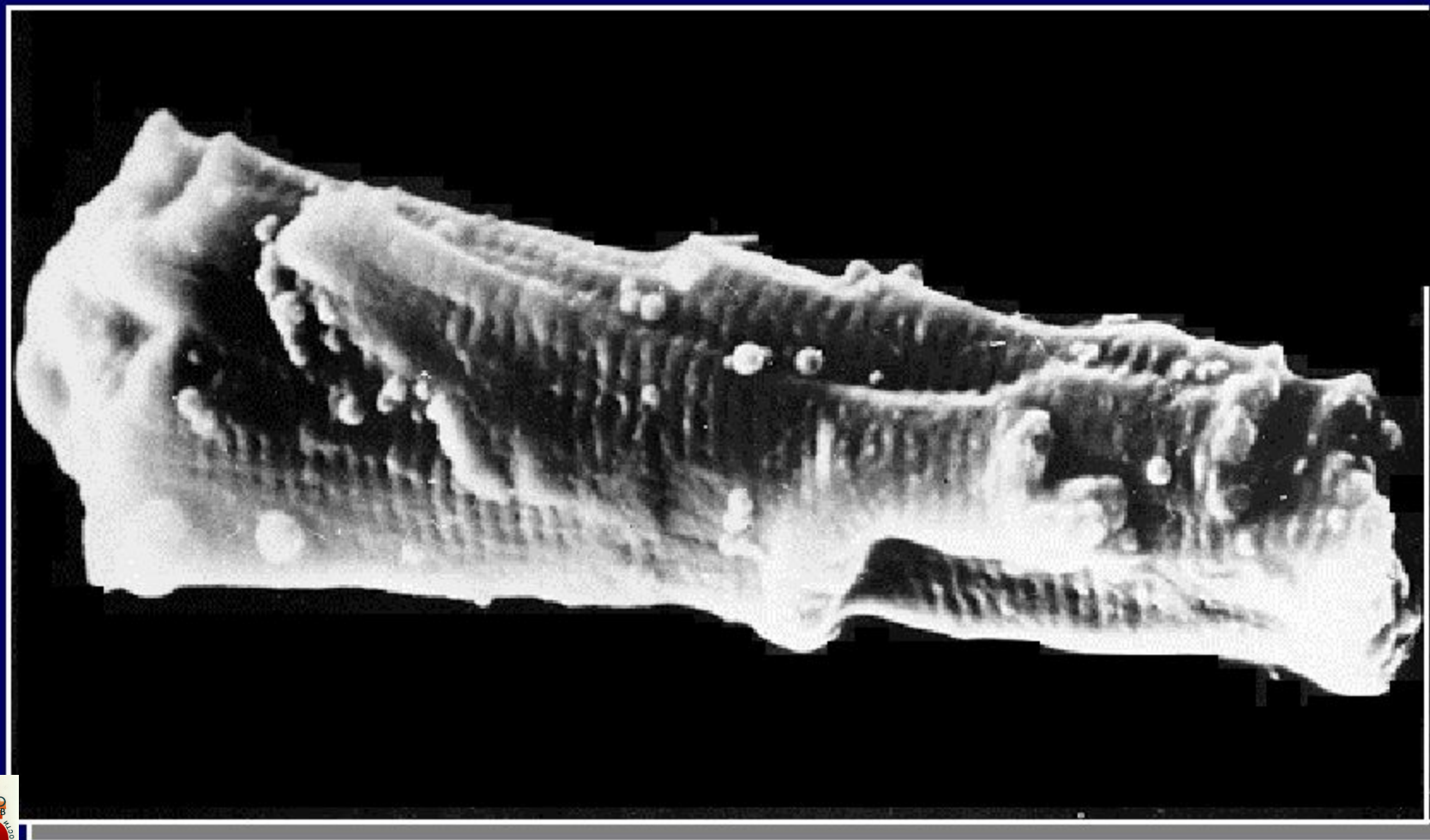
- 1.Вместо введения – морфология кардиомиоцита.....( 3-6 ).
- 2.Щелевые контакты-основа взаимодействия клеток в сердце.....( 7-15 ).
- 3.Трансмембранные - потенциал покоя и потенциал действия...( 16 – 27 ).
- 4.Возбудимость кардиомиоцитов и сердца.....( 29 – 37 ).
- 5.Ионные токи кардиомиоцита.....( 38 – 46 ).
- 6.Ионные каналы: структура и функция..... ( 47 – 58 ).
- 7.Рецепторы кардиомиоцита и ионные каналы..... ( 59 – 69 ).
- 8.Ионно-обменные транспортные механизмы.....( 70 – 73 ).
- 9.Рекомендованная литература..... ( 74 ).

Вместо введения.

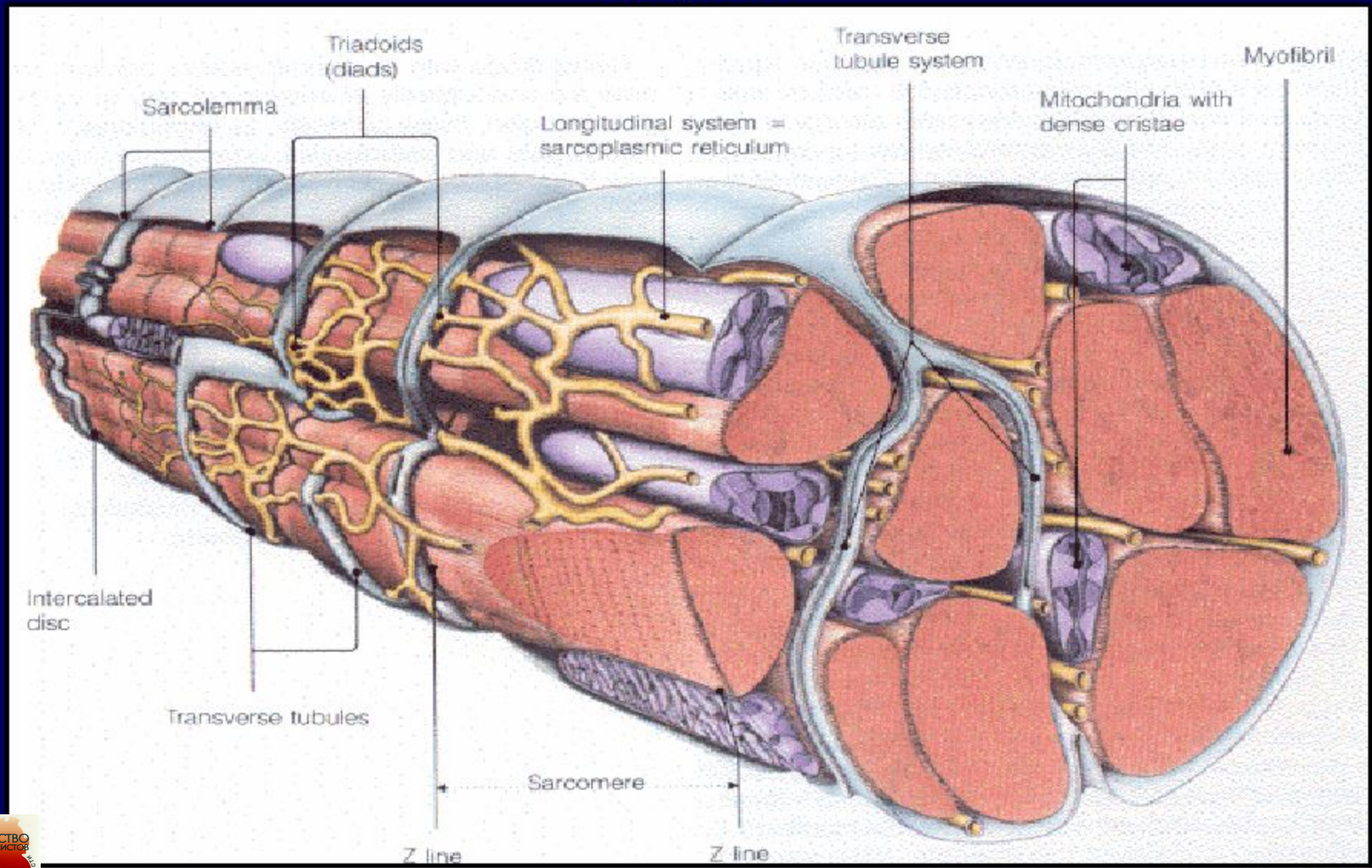
# Морфология кардиомиоцита.

4. Ферментативно изолированные из желудочков кардиомиоциты выглядят как структуры неправильной формы, нередко в виде деформированных цилиндров со следами торцевых и боковых контактов межклеточных связей на соответствующих поверхностях. Предсердные клетки удлинены. На рисунке представлена электронная микрофотография желудочковой клетки.
5. Реконструкция ультраструктуры части кардиомиоцита.
6. Фрагмент кардиомиоцита с капиллярами.

Изолированный кардиомиоцит  
желудочка крысы.  
(Электронная микрофотография)

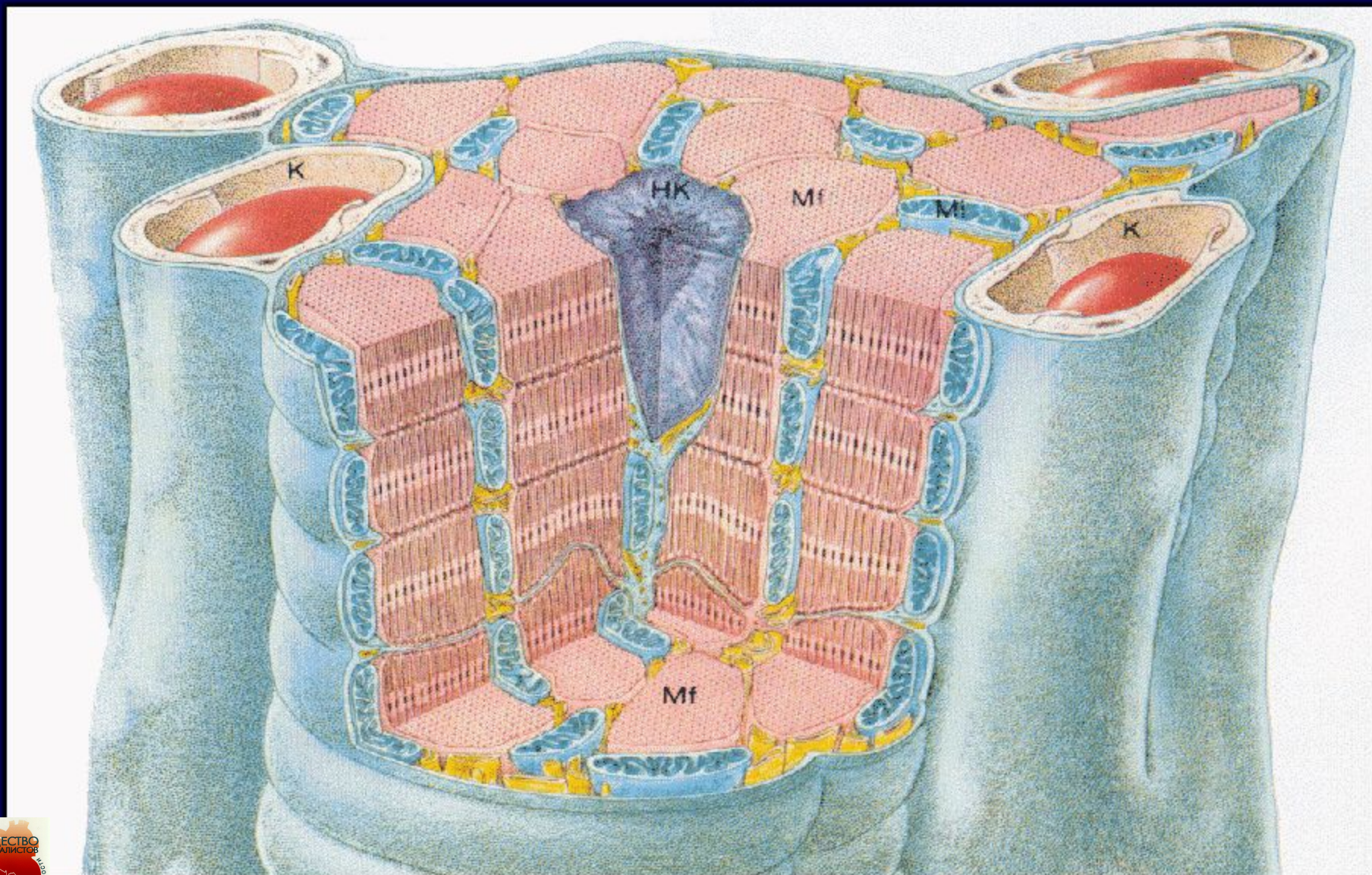


**Трехмерная реконструкция фрагмента кардиомиоцита** – клеточная мембрана формирует Т тубулы, которые проходят насквозь клетку; ретикулум образует диады, триады и продольную сеть; митохондрии расположены рядом с сократительным аппаратом.



# Трёхмерная реконструкция кардиомиоцита и капилляров.

Один кардиомиоцит окружен 8-12 капиллярами, что обеспечивает высокий уровень обмена веществ.

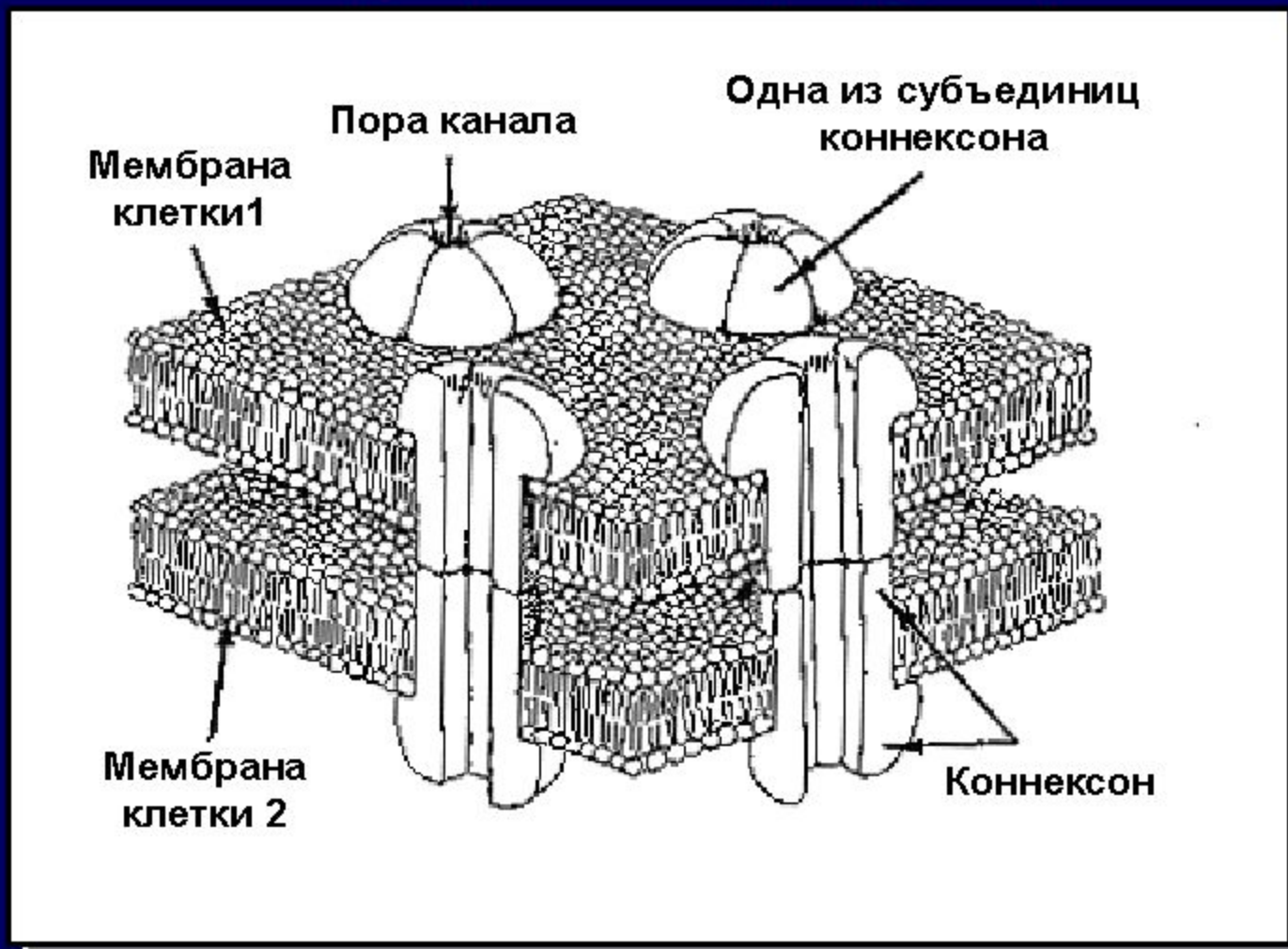


# Взаимодействие клеток сердца осуществляется с помощью щелевых контактов:

8. Макроструктура щелевых контактов.
9. Аминокислотная последовательность одного из белков щелевого контакта- коннексина 43 (Cx43).
10. Первичная структура различных коннексинов (Cx37, Cx40, Cx42, Cx45), C – коннексин; цифра – молекулярная масса в kD).
11. Топология коннексина.
12. Типы щелевых контактов, построенных из разных коннексинов.
13. Иммунолокализация коннексинов в сердце.
14. Электрофизиологические свойства щелевых контактов.
15. Число и пространственная ориентация щелевых контактов и их влияние на скорость проведения.

## Макроструктура щелевых контактов (GAP JUNCTION) кардиомиоцитов

(шесть молекул белка коннексина составляют один коннексон, два коннексона контактирующих клеток формируют щелевой контакт).





# I. Аминокислотная последовательность коннексина 43 (Cx43)

1 MGDWSALGKLLDKVQAYSTAGGK VWLSVLFIFRILLGTAY ESAWGDEQS

M1

51 AFRCNTQQPGCENVCYDKSFPISHVR FWLQIIFVSVPTLLYLA HVFYVM

M2

101 PKEEKLNKKEEELKVAQTDJVNVEMLKQIEIKKFKYGIEEHGKVKMRGQ

151 LLRTYIISILFKSVFEVA FLLIQWYIYQFSLSAVYTCKRDPCPHQVDCFL

M3

201 SRPTEKT IFIIFMLVVSLVSLALNI IELFYVFFKGVKDRVKGRSDPYHAT

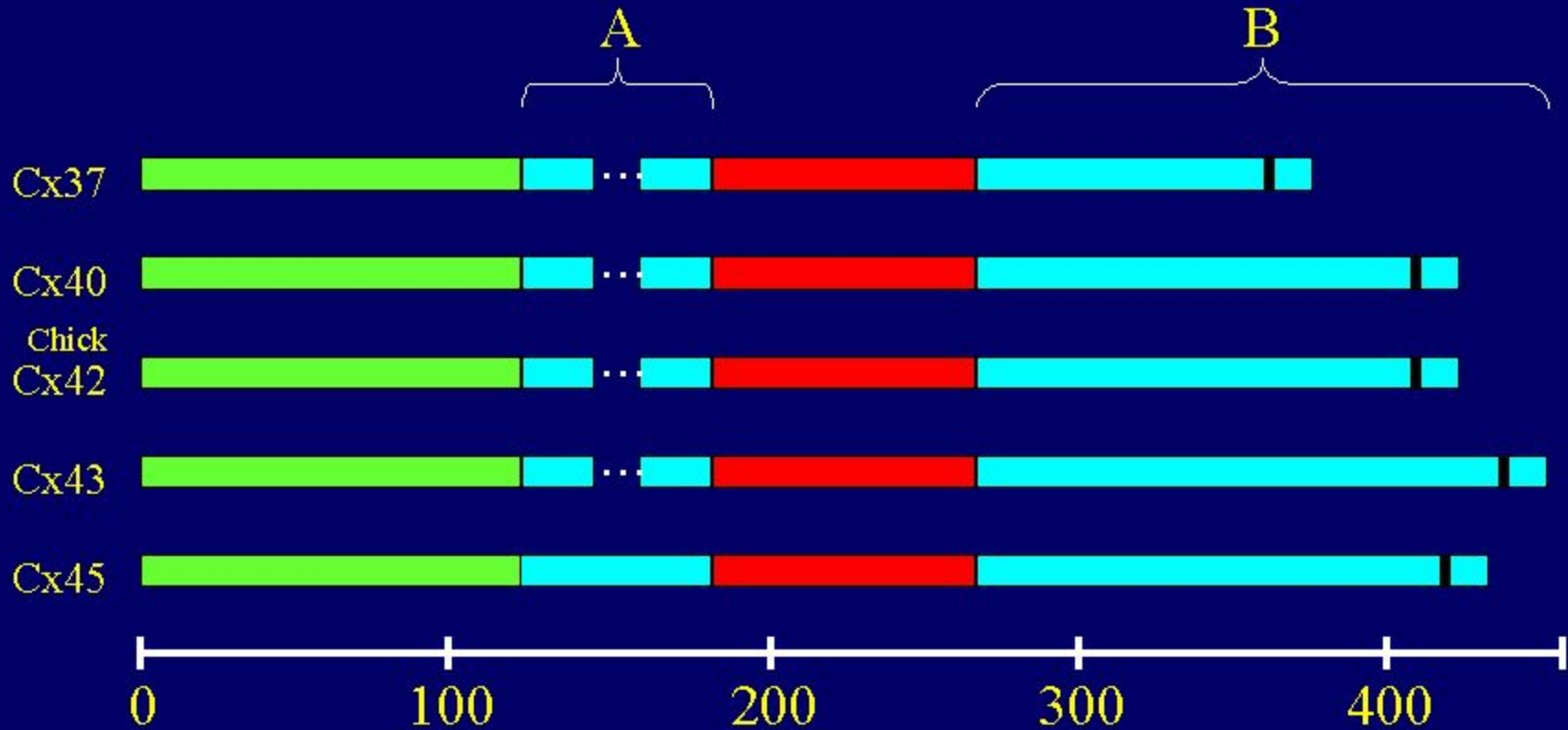
M4

251 TQP\$P\$KDCQ\$PKYAYFNGCSSPTAPLSPMSPPGYKLVTGDRNNSCRN

301 YNKQASEQNWANYSAEQNRMGQAGSTISNSHAQPRDFPDDNQNAKKVAAQ

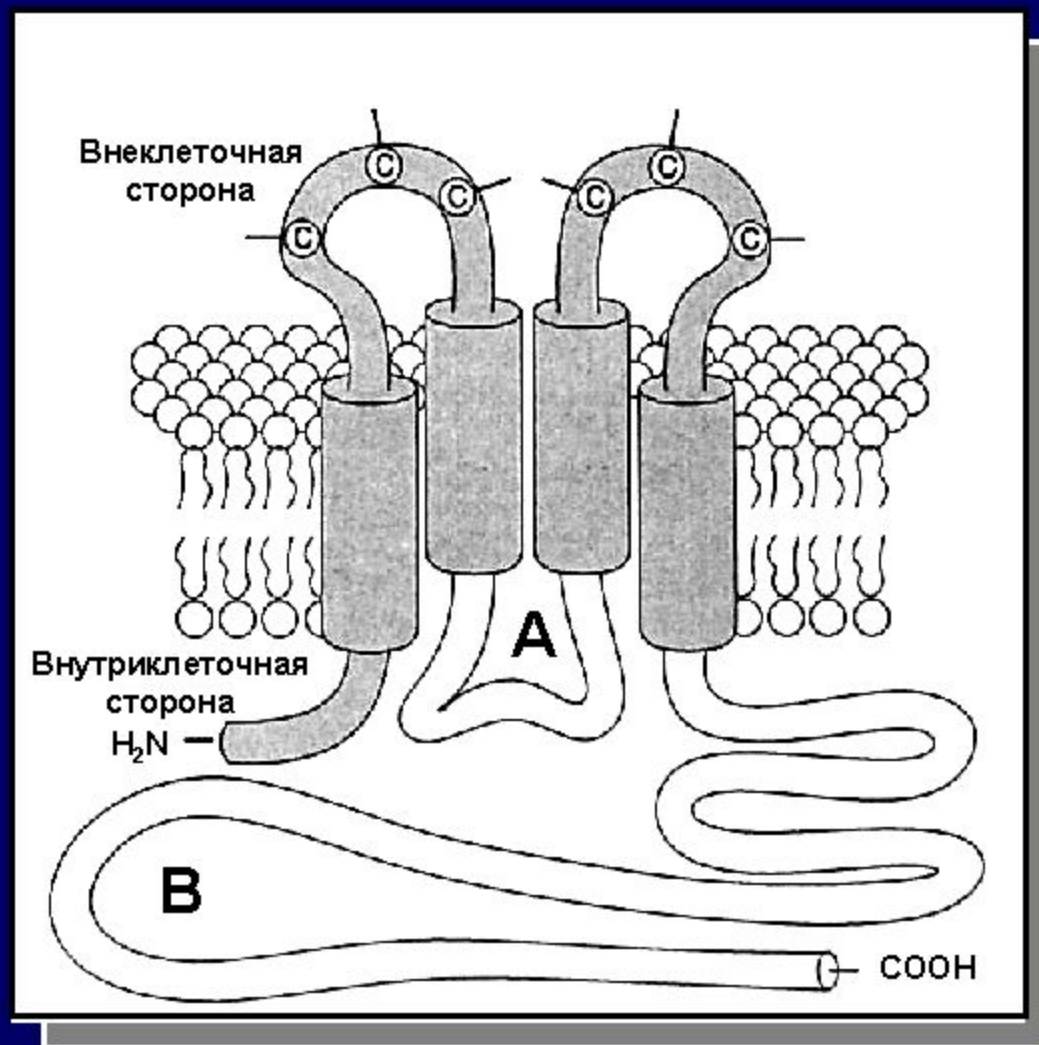
351 HELQPLAIVDQRPSSRASSRASSRPRPDDLEI

## II. Первичная структура коннексинов

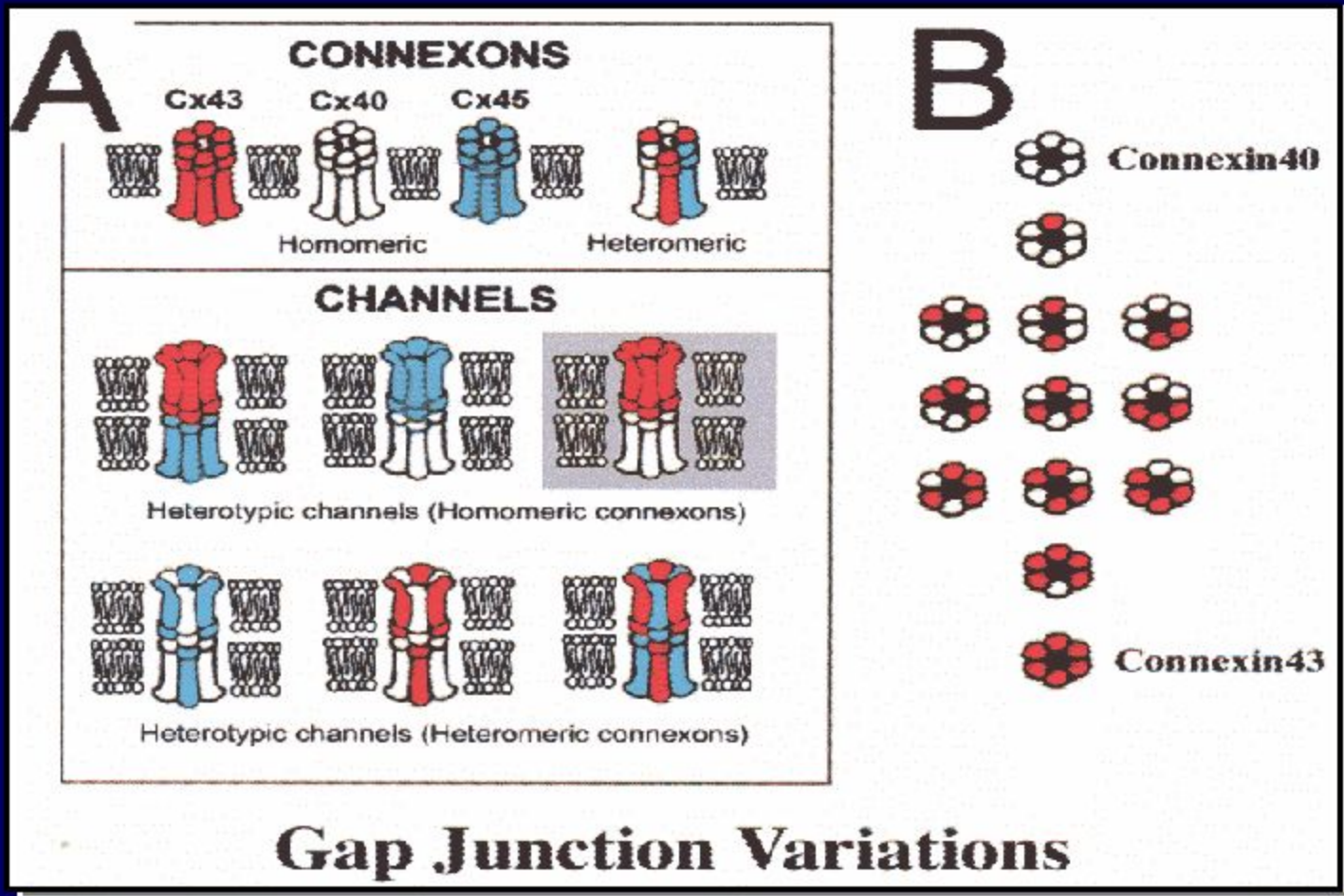


Аминокислоты  
в участках А и В имеют малую гомологию структуры

### III. Топология коннексина



А, В - цитоплазматические участки молекулы



## Gap Junction Variations

Варианты организации коннексонов и каналов ( А ); на В показаны в плане варианты коннексонов, состоящих из Cx40, Cx43, и их комбинации – всего 13 вариантов; 3 коннексина дают более 6000 вариантов каналов. В среднем ряду на А – гетеротипические каналы из гомомерических коннексонов; в нижнем ряду – гетеротипические каналы из гетеромерических коннексонов.

# ИММУНОЛОКАЛИЗАЦИЯ КОННЕКСИНОВ В СЕРДЦЕ

	Сх43	Сх40	Сх45	Сх37
<u>ПРЕДСЕРДИЕ</u>				
Миокард	+	+	+	-
Эндотелий	-	+	-	+
Эндокард	-	+	?	+
<u>ЖЕЛУДОЧЕК</u>				
Миокард	+	-	+	-
Эндотелий	-	+	-	+
Эндокард	-	+	+	+
<u>ПРОВОДЯЩАЯ СИСТЕМА</u>				
С-А узел	+?	+?	+	
А-В узел	+?	?	?	
Гис-Пуркинье	+	+	+	

## Электрофизиологические свойства контактов Gap Junction, состоящих из разных коннексинов в сердечно-сосудистой системе.

Коннексин	Проводимость ( pS)	Чувствительность* к потенциалу	Ионная селективность** ( анион/катион )
Cx43	90-115	+	0.13
Cx40	150-160	++	0.29
Cx45	25	+++	0.20
Cx37	300-350	+++	0.43

\* чувствительность к потенциалу отражает соотношение между трансконтактным потенциалом и проводимостью.

\*\*Все контакты обладают проницаемостью для красителей и поэтому относительно неселективны.

Гомотипические каналы, состоящие из гомомерических коннексонов отличаются друг от друга структурой C-терминали во внутриклеточных доменах. Несколько протеинкиназ ( протеинкиназа C, cGMP-зависимая протеинкиназа) принимают участие в фосфорилировании канальных белков. Белки коннексонов имеют время полу-жизни от 1.3 до 3 часов. Данные о коннексонах находятся в стадии быстрого накопления.



# Число и пространственная ориентация высоко проводящих межклеточных контактов в разных отделах сердца собаки.

	<u>Левый желудочек</u>	<u>Пограничный гребешок</u>	<u>S-A узел</u>
I.	3.3 +/- 1.4 (29)*	0.8 +/- 0.6 (12)	0.7 +/- 0.5 (14)
II.	2.0 +/- 0.7 (18)	0.7 +/- 0.6 (11)	1.4 +/- 1.0 (30)
III.	2.1 +/- 0.9 (19)	1.1 +/- 0.7 (17)	2.1 +/- 0.9 (40)
IV.	<u>3.9 +/- 1.1 (34)*</u>	<u>3.8 +/- 0.7 (60)*</u>	<u>0.6 +/- 0.7 (12)</u>
	<b>11.3 +/- 2.2</b> клетки, связанные с каждым МИОЦИТОМ	<b>6.4 +/- 1.7</b> клетки, связанные с каждым МИОЦИТОМ	<b>4.8 +/- 0.7</b> клетки, связанные с каждым МИОЦИТОМ

**Контакты:** I – бок в бок; II – бок в бок в середине клетки;  
III – бок в бок в конце клетки; IV – конец в конец.

\*Данные выражены как среднее +/- стандартное отклонение, звездочка показывает достоверное различие ( $p < 0.01$ ) по отношению к S-A узлу.

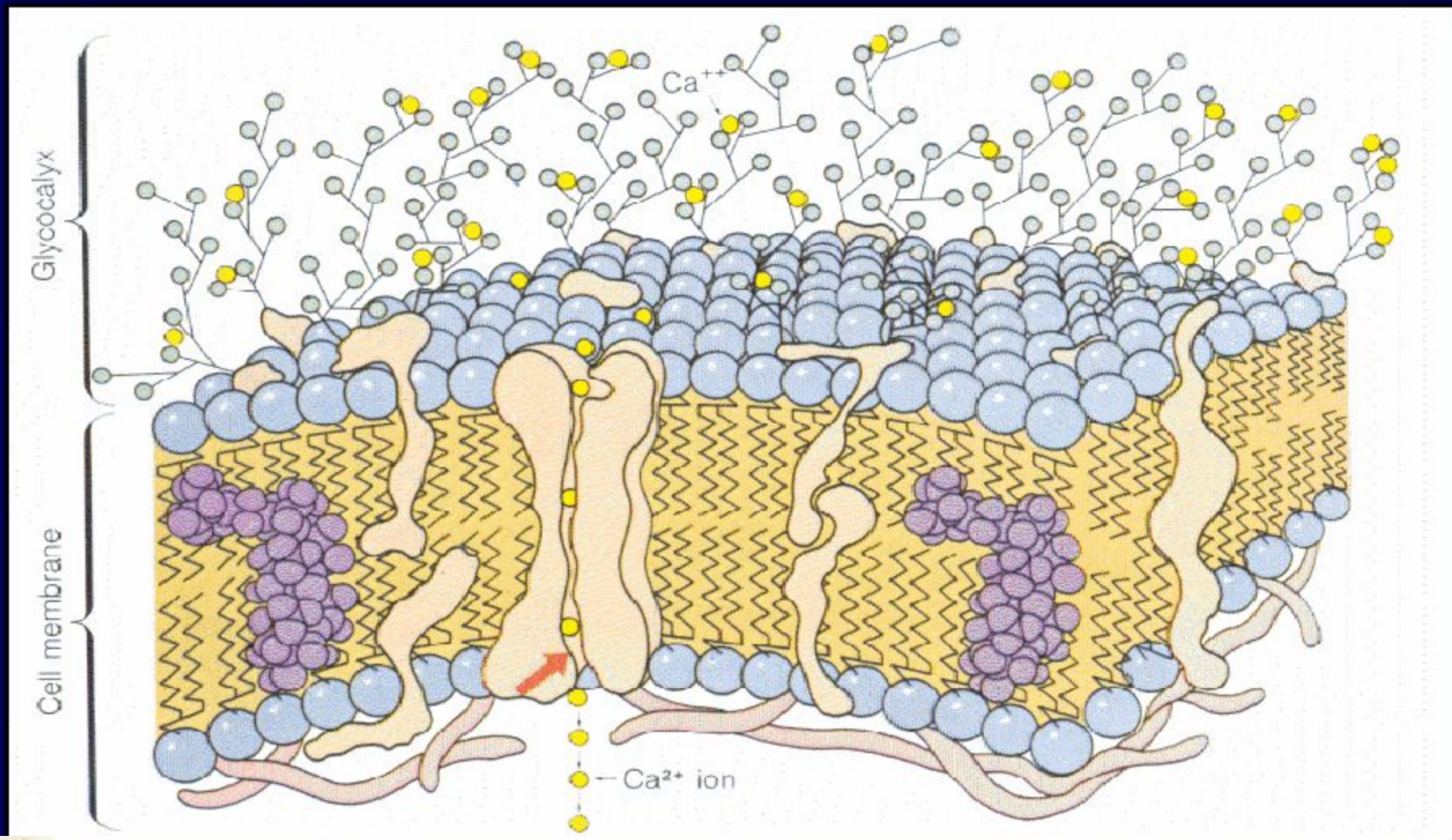
# Трансмембранный потенциал покоя (ПП) и потенциал действия (ПД) в волокнах сердца:

17. Схема клеточной мембраны кардиомиоцита.
18. Вне- и внутриклеточное распределение ионов.
19. Направление движения ионов при ПП и ПД.
20. Расчет потенциала покоя.
21. Расчет потенциала действия.
22. Электрическая модель клеточной мембраны.
23. Электротоническое взаимодействие между клетками.
24. Микроэлектродная техника.
25. Техника фиксации потенциала.
26. Микроэлектродные регистрации ПП и ПД.
27. Схема потенциалов действия в различных участках сердца.
28. Последовательность развития потенциалов в сердце.



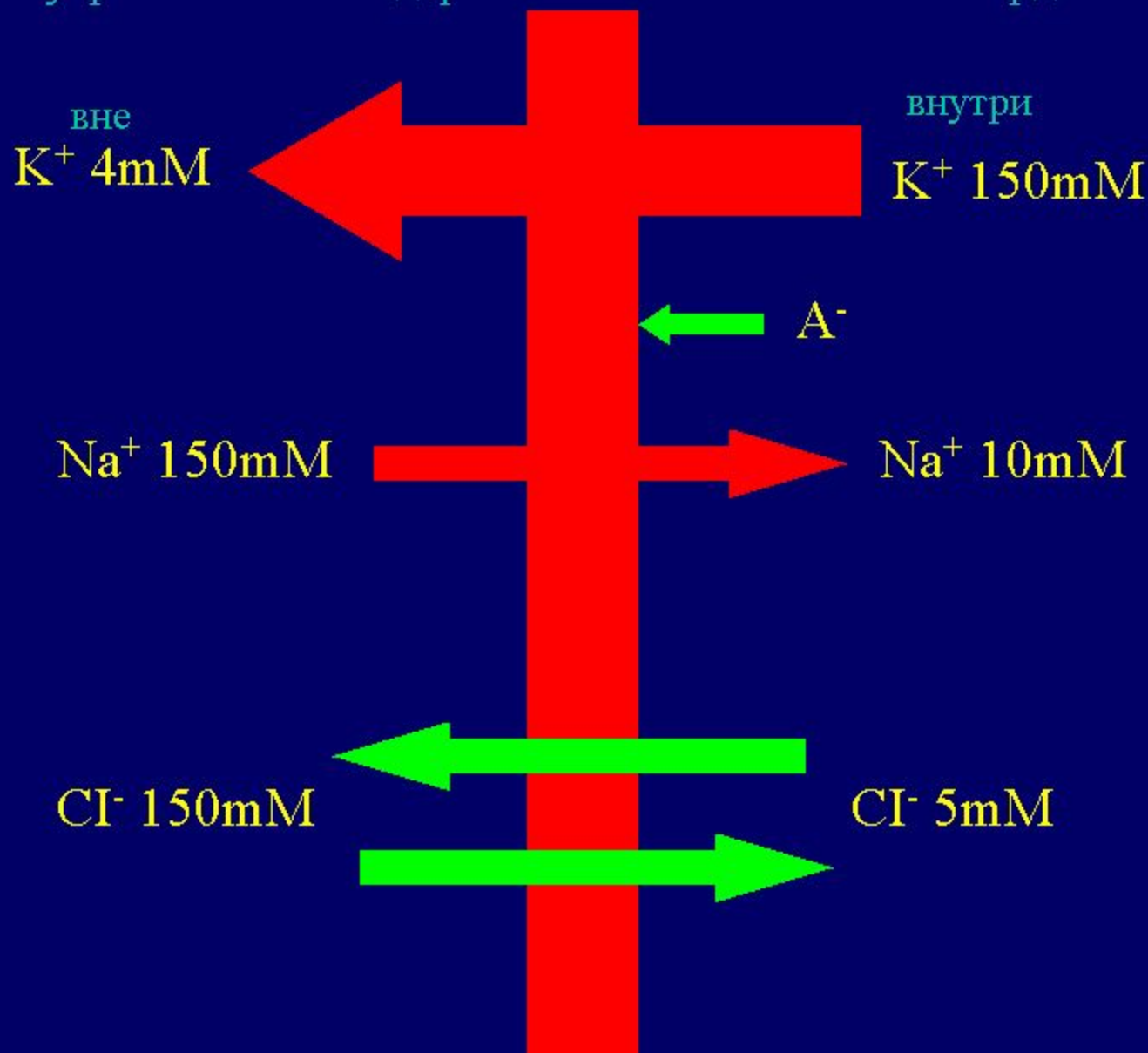
## Схема мембраны кардиомиоцита.

Показан фосфолипидный бислой со встроенным кальциевым каналом и др.; внешняя поверхность мембраны формирует гликокаликс (сиаловые кислоты и пр.) с отрицательно заряженными местами связывания; показано связывание ионов кальция.



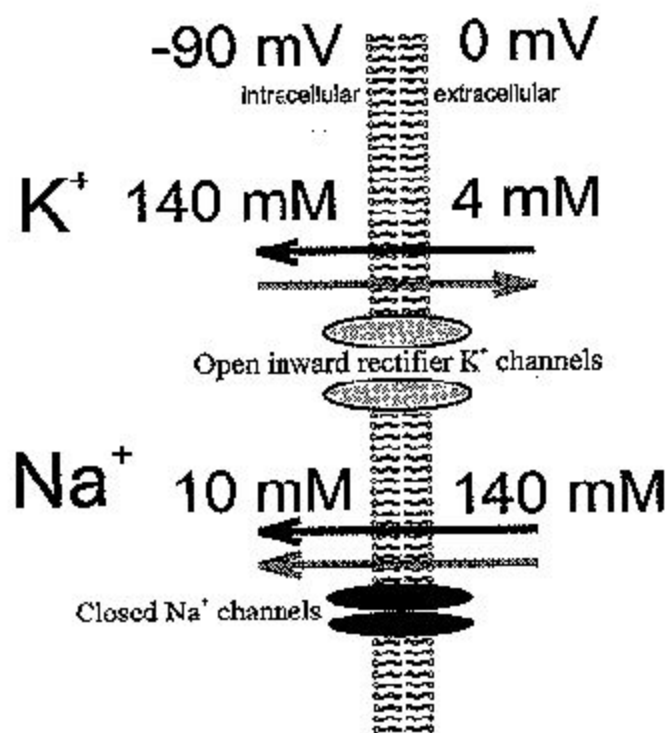
A.Flekenstein Myokardium, Vessels, Calcium. Knoll AG, Ludwigshafen, 1985.

# Вне- и внутриклеточное содержание основных ионов в кардиомиоците

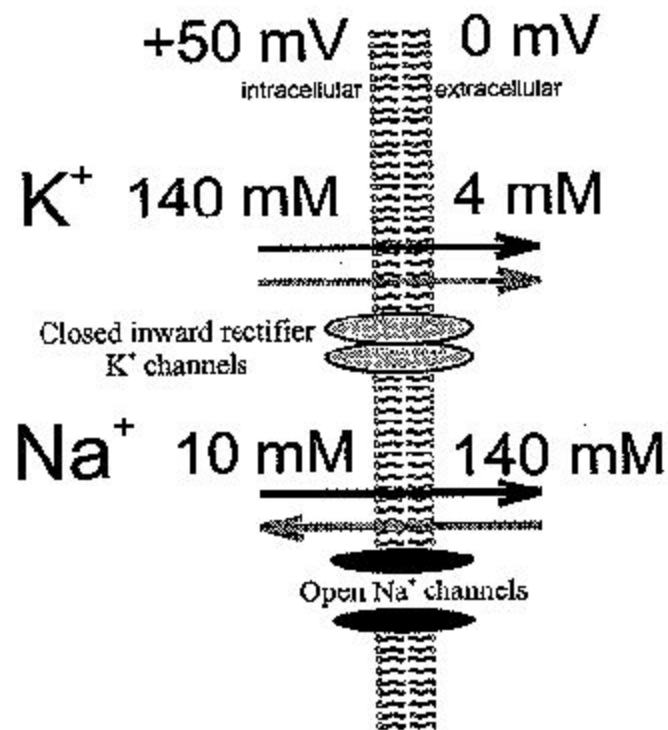


Внутриклеточные и внеклеточные концентрации ионов натрия и калия в клетке сердца в покое (слева) и в конце фазы 0 потенциала действия (справа); градиенты для этих ионов в покое и при возбуждении и соответствующие потенциалы показаны на схеме.

*Rest*



*End of phase 0*



## Количественная оценка потенциала покоя (ПП) в сердечной клетке.

Если бы клеточная мембрана в состоянии покоя была проницаема только для ионов  $K^+$ , то величина ПП определялась бы уравнением Нернста:

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i}$$

где  $R$  – газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура,  $F$  – константа Фарадея,  $[K^+]_o$  и  $[K^+]_i$  вне – и внутриклеточная концентрация калия. При  $36^\circ C$   $E_K$  для волокон Пуркинье при  $[K^+]_o = 4 \text{ мМ}$  и  $[K^+]_i = 150 \text{ мМ}$

$$E_K = RT/F \times \ln ( 4/150 ) = 26.6 \times \ln ( 4/150 ) = 61.4 \times \log ( 4/150 ) = - 96.6 \text{ мВ.}$$

В действительности величина ПП больше  $E_K$ , так как небольшой вклад в него вносит поступление натрия в клетку.

Полное описание ПП ( $V_r$ ) дает уравнение Гольдмана, которое учитывает проницаемость в покое не только для ионов калия, но и для ионов натрия:

$$V_r = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o + P_{Na}/P_K [Na^+]_o}{[K^+]_i + P_{Na}/P_K [Na^+]_i} ;$$

Где  $P_{Na}/P_K$  – отношение проницаемости натрия к калию  $1/100$  и этой величиной можно пренебречь; таким образом, ПП действительно близок к калиевому равновесному потенциалу.

## Количественная оценка потенциала действия (ПД) в сердечной клетке.

При генерации ПД внутриклеточный потенциал является положительным, так как при возбуждении мембрана временно становится значительно более проницаема для ионов натрия по сравнению с калием и поэтому мембранный потенциал стремится к потенциалу равновесия для натрия (расчитанному по уравнению Нерста) –  $E_{Na}$ .

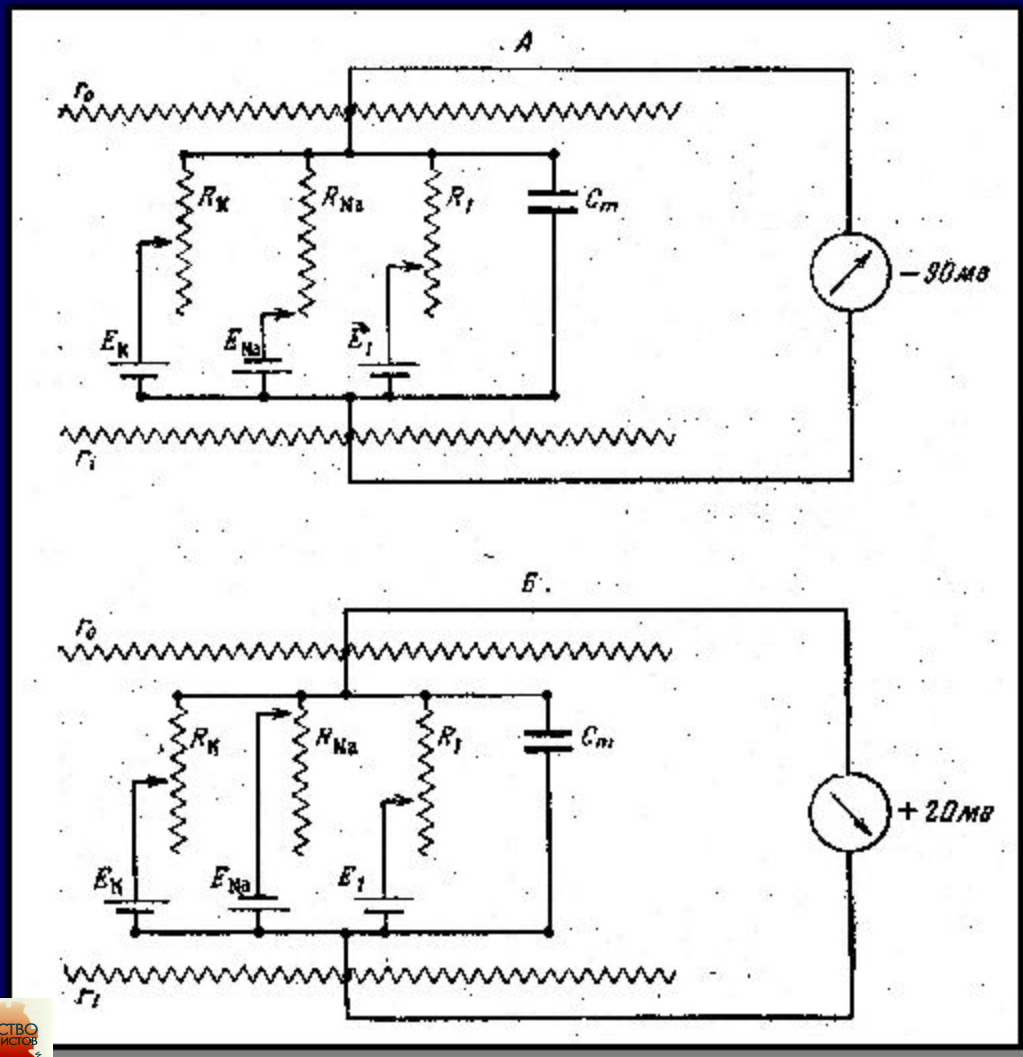
При соотношении внеклеточной концентрации натрия к внутриклеточной 150 к 10, натриевый равновесный потенциал составляет:

$$E_{Na} = RT/F \times \ln [Na]_o / [Na]_i = 26/6 \times \ln 150/10 = 61.4 \times \log 150/10 = \underline{+ 72 \text{ mV.}}$$

Повышенная проницаемость ионов натрия сохраняется непродолжительное время и поэтому мембранный потенциал, не достигнув  $E_{Na}$ , возвращается к уровню покоя.

# Модель возбудимой клетки (электрические эквивалентные цепи).

А – волокно в состоянии покоя; Б – волокно в состоянии возбуждения.



$E_K$  – э.д.с., связанная с градиентом концентрации калия.

$R_K$  – сопротивление переносу калия.

$E_{Na}$  – э.д.с., связанная с градиентом концентрации натрия.

$R_{Na}$  – сопротивление переносу натрия.

$E_I$  – э.д.с., связанная с градиентами концентрации всех других ионов.

$R_I$  – сопротивление переносу этих ионов через мембрану,

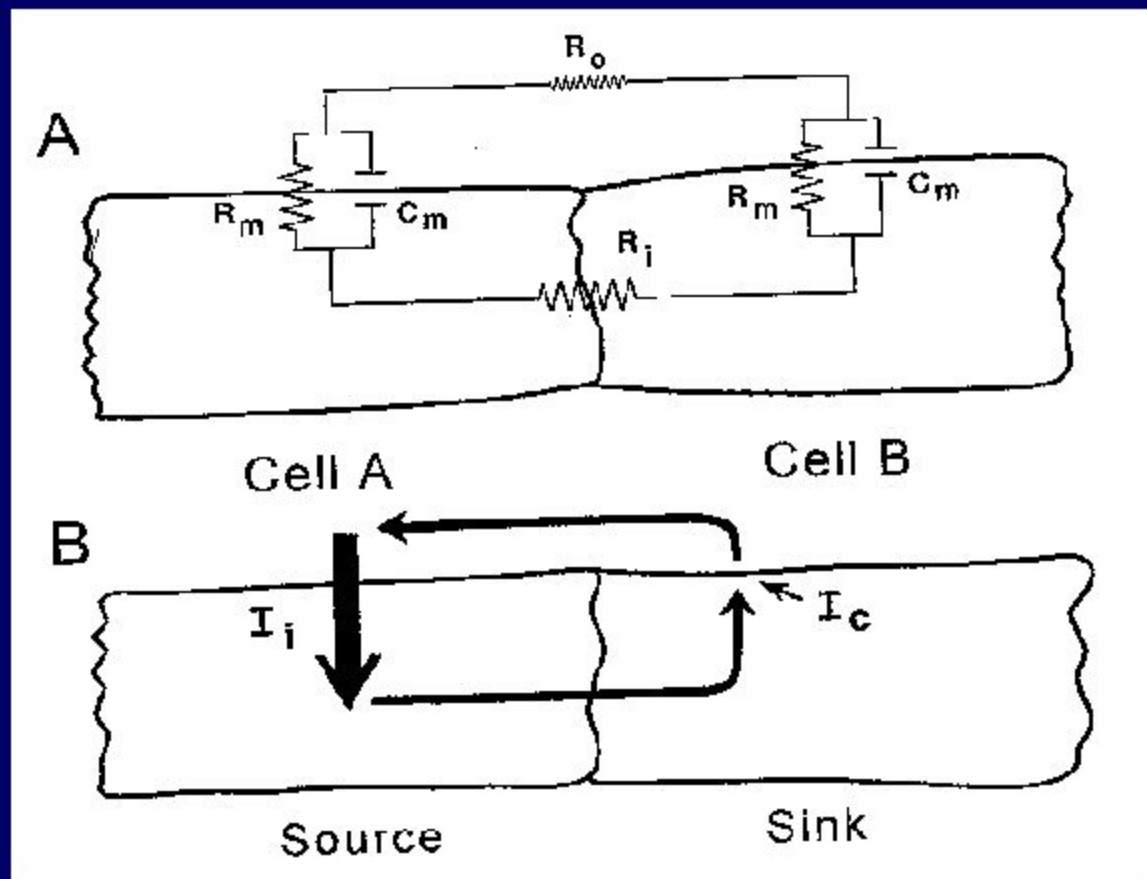
$r_0$  – сопротивление внеклеточной жидкости,

$r_1$  – сопротивление цитоплазмы и щелевых контактов,

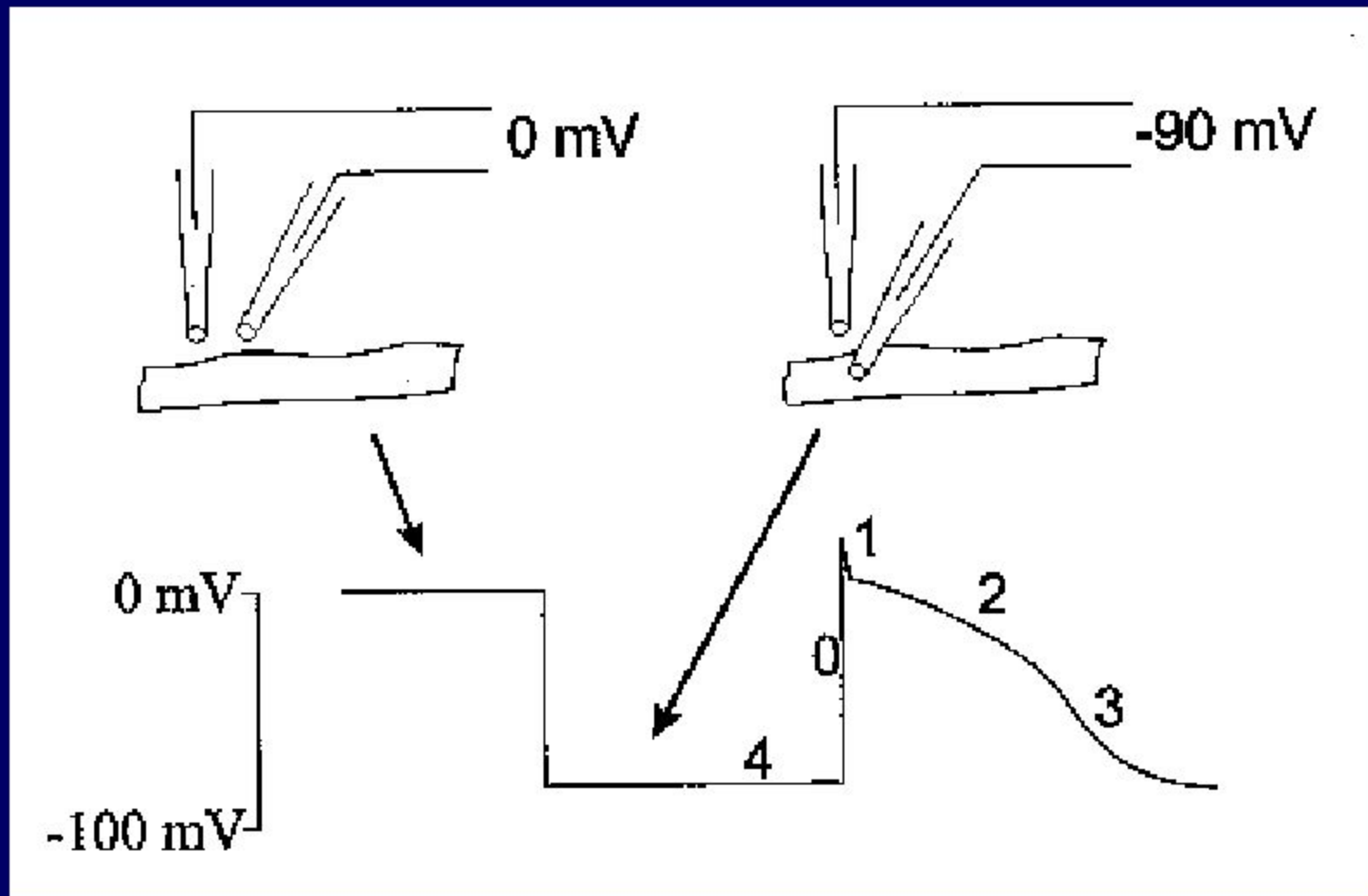
$C_m$  – емкость мембраны.

## Электротоническое взаимодействие между клетками.

**(A)** эквивалентная электрическая цепь между двумя соседними клетками.  $R_m$  - сопротивление мембраны;  $R_o$  - внеклеточное сопротивление;  $R_i$  - межклеточное сопротивление току локальной цепи,  $C_m$  - емкость мембраны. **(B)** компоненты тока локальной цепи.  $I_i$  - ионный ток;  $I_c$  - емкостной ток; общий ток мембраны:  $I_m = I_i + I_c$ . Source-источник, Sink-сток.

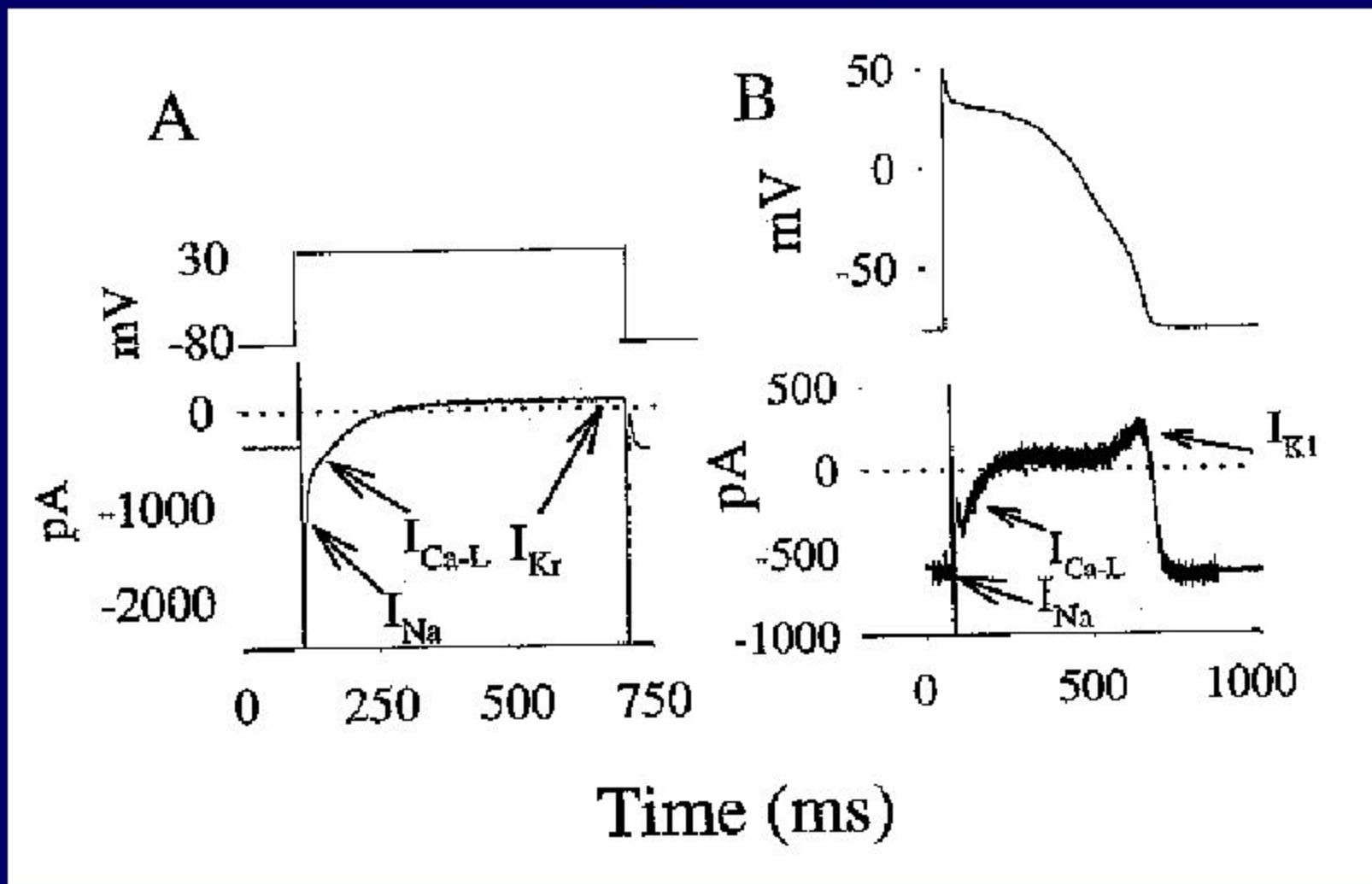


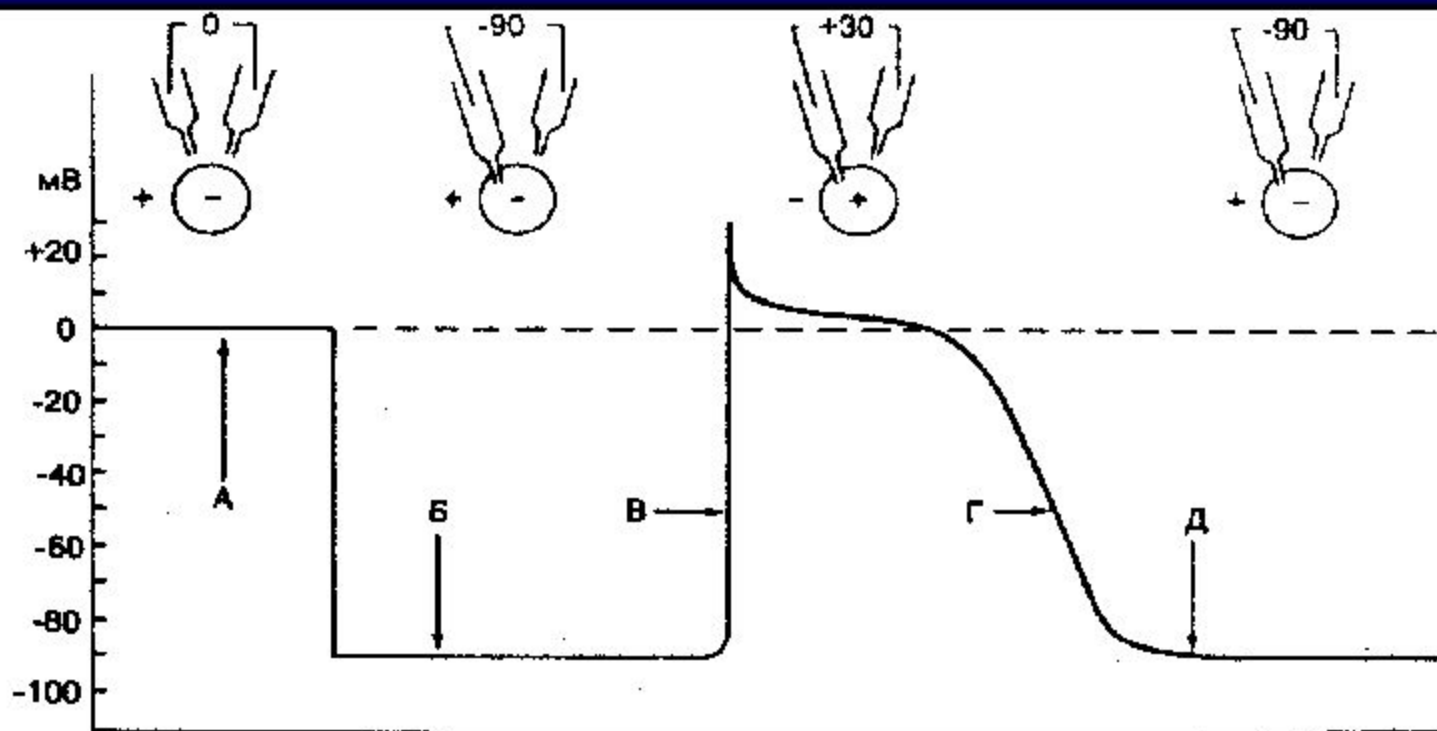
# Наиболее распространенные методы современной клеточной электрофизиологии: микроэлектродная техника.





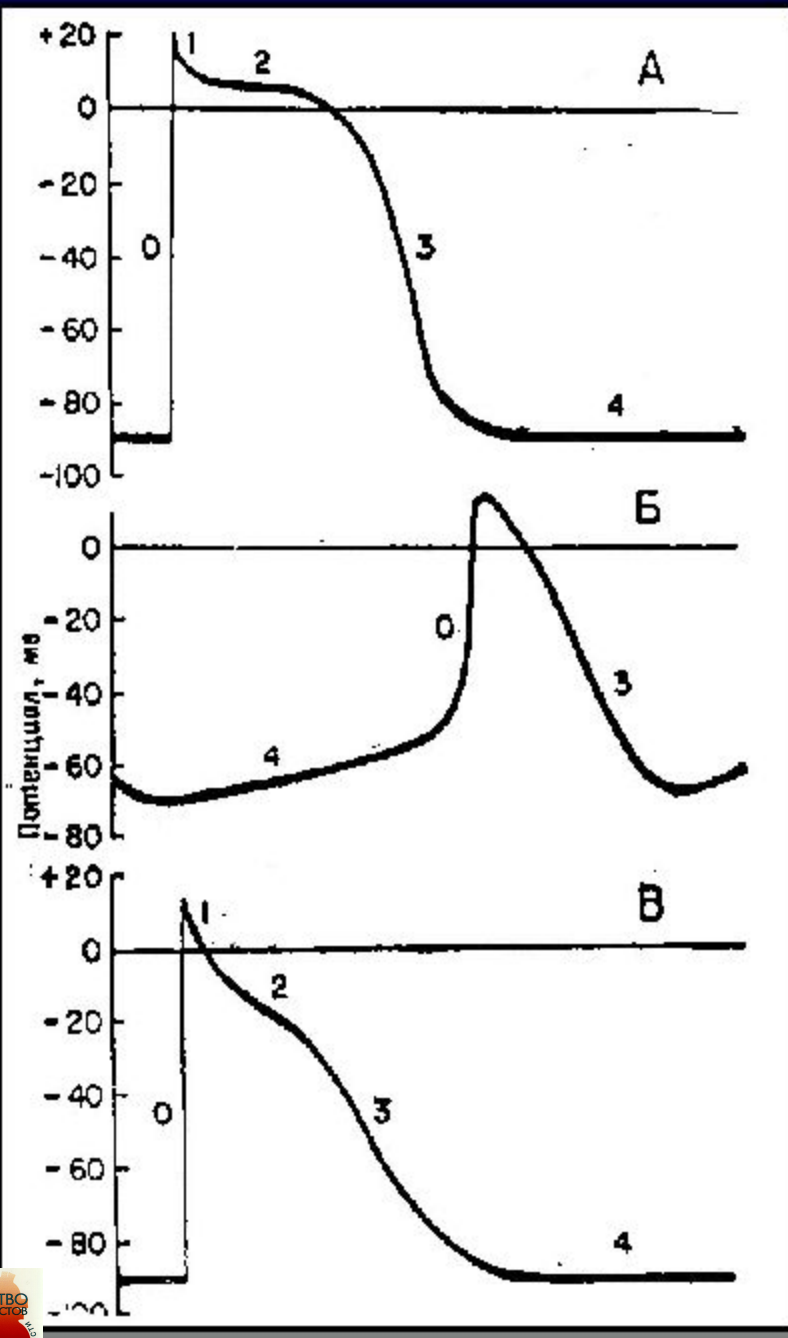
# Наиболее распространенные методы современной клеточной электрофизиологии: техника фиксации потенциала (voltage clamp).





### Потенциал покоя и потенциал действия в сердечных клетках.

Вверху — схематическое изображение клетки (кружок) и двух микроэлектродов. Фрагмент А — оба микроэлектрода находятся во внеклеточном пространстве и разности потенциалов между ними нет; Б — кончик одного микроэлектрода введен в клетку, что позволяет регистрировать разность потенциалов между внутренним пространством клетки и внеклеточной средой; в данном случае это потенциал покоя, равный  $-90$  мВ; В — фаза быстрой деполяризации потенциала действия, возникающая при возбуждении клетки; на пике потенциала действия клетка становится на  $+30$  мВ более положительной по отношению к внешней среде; Г — конечная фаза реполяризации, во время которой мембранный потенциал возвращается к уровню покоя

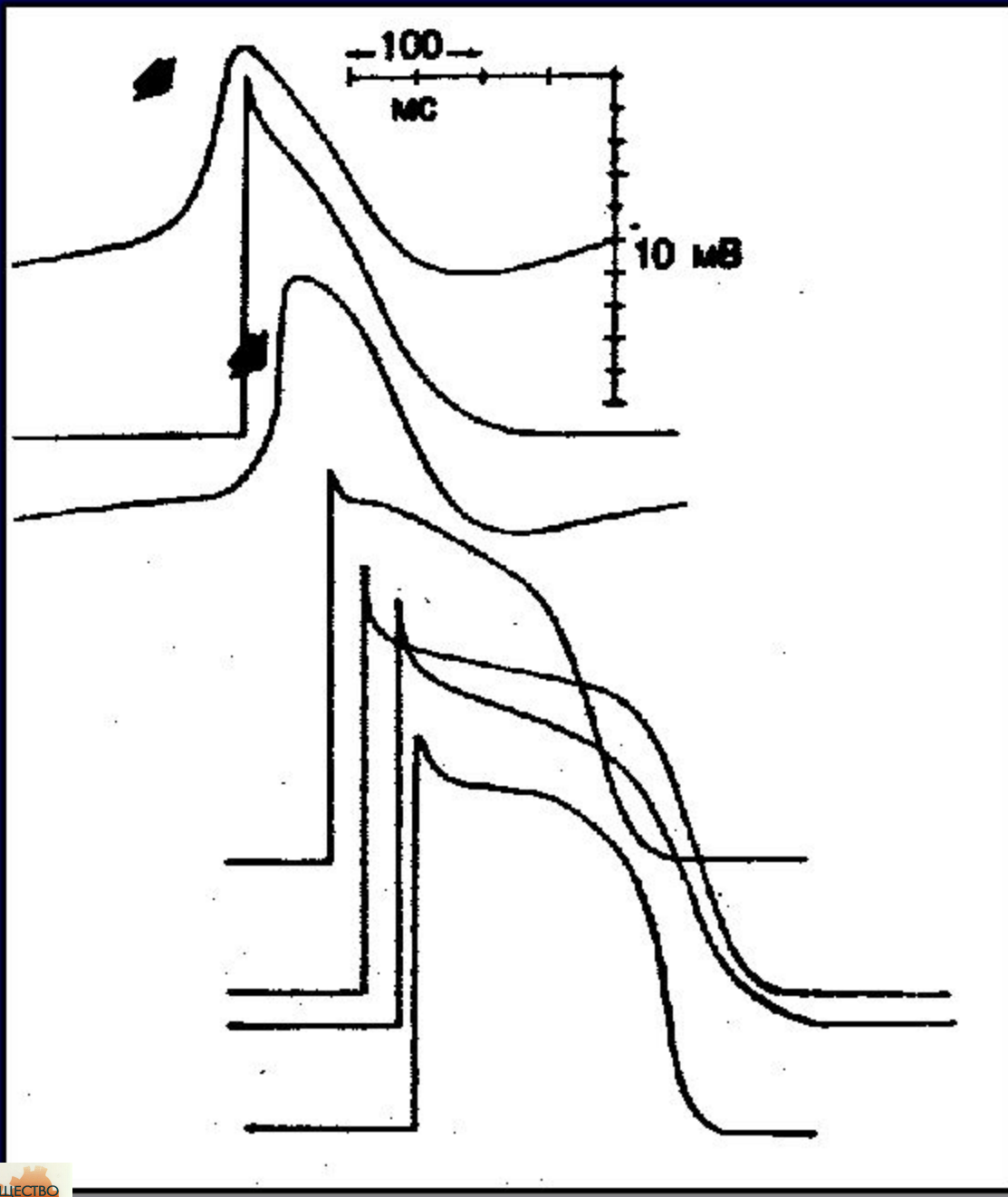


**Схематическое изображение мембранных потенциалов действия, зарегистрированных от желудочка ( А ), синоаурикулярного узла ( Б ), и предсердия ( В ).**

Скорость развертки на Б вдвое меньше, чем на А и В.

В потенциалах действия обозначают следующие фазы : 0 - фаза быстрой деполяризации; 1 – фаза быстрой реполяризации; 2 – фаза плато; 3 – фаза быстрой реполяризации; 4 – фаза диастолы.

Б.Гоффман, П.Крейнфилд  
 Электрофизиология. сердца. ИЛ. Москва 1962



## Схематическое изображение потенциалов действия (ПД) в разных участках сердца.

**Сверху вниз:**

сино-аурикулярный узел, предсердие, атрио-вентрикулярный узел, пучок Гиса, волокно Пуркинье в ложном сухожилии, конечное волокно Пуркинье, мышечное волокно желудочка.

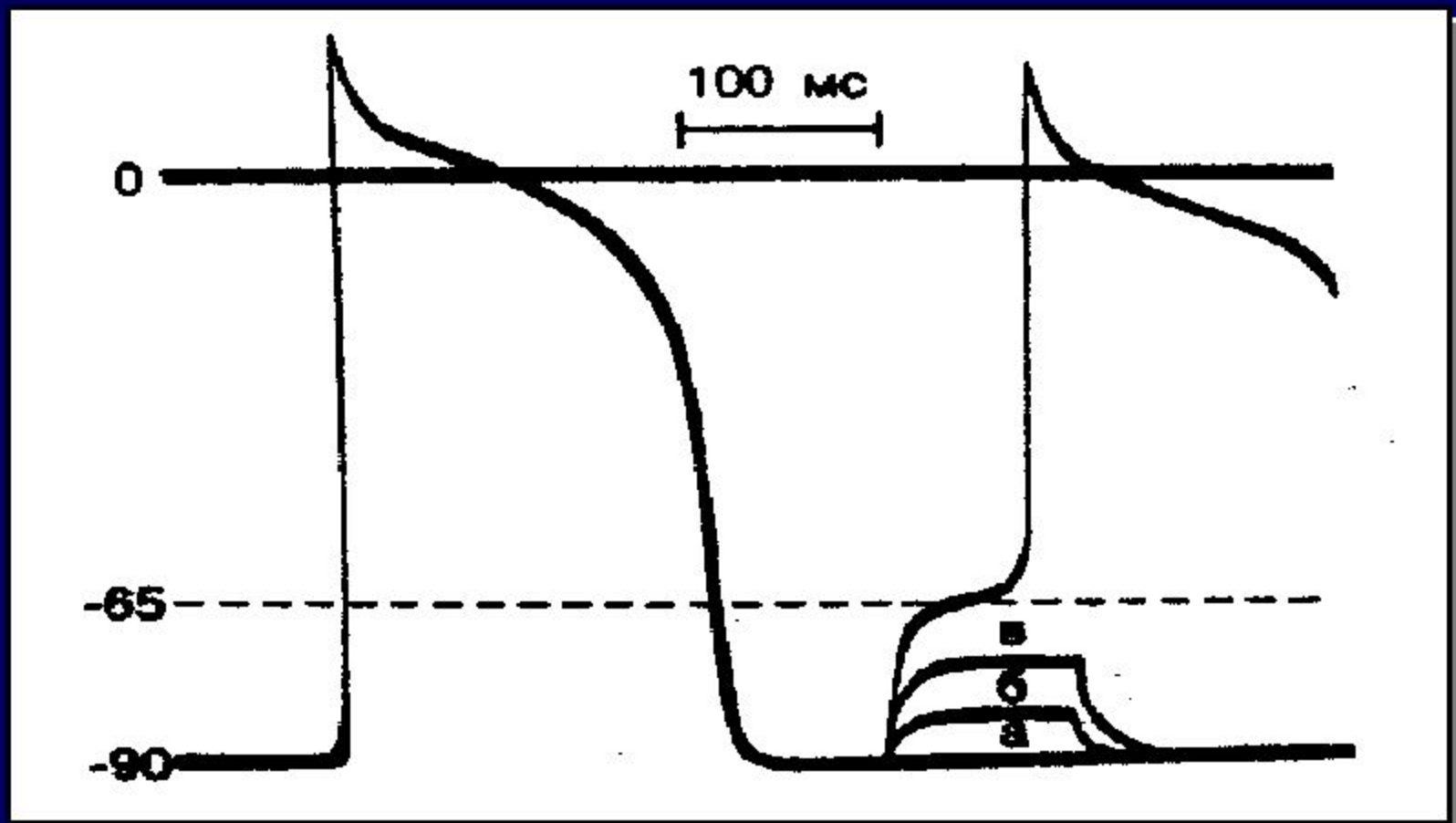
Видны последовательность возбуждения различных участков, а также различия в амплитуде, конфигурации и длительности потенциалов действия.

Стрелками отмечены ПД с медленно нарастающим фронтом.

# Возбудимость кардиомиоцитов и сердца:

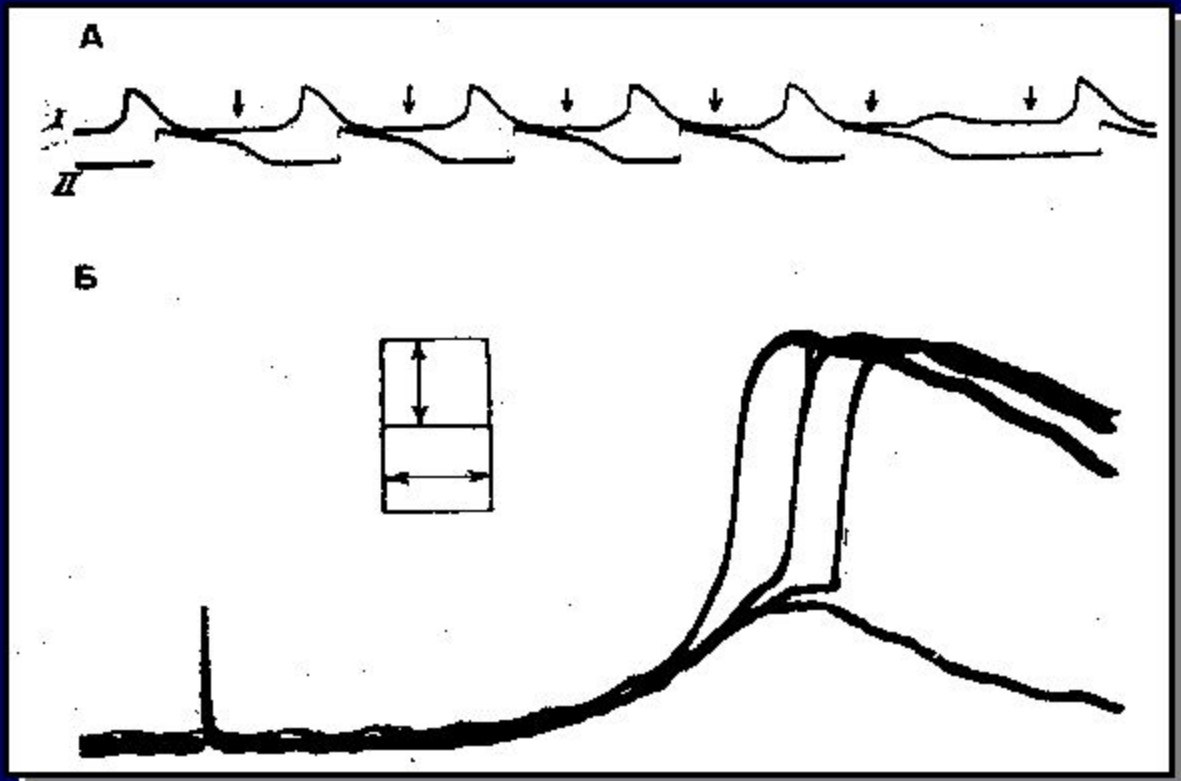
30. Пороговые и подпороговые ответы волокна желудочка.
31. Периоды Венкебаха, как пример декрементного проведения в атрио-вентрикулярном узле.
32. Местные и регенеративные ответы кардиомиоцита на раздражение в конечные фазы реполяризации ПД.
33. Рефрактерные периоды, отнесенные к ПД.
34. Соотношение между уровнем ПП и  $dV/dt$  ПД.
35. Кривая «сила-интервал» для желудочка собаки.
36. Кривая «сила-интервал» для предсердия кошки.
37. Кривая «сила-интервал» при раздражении катодом и анодом для желудочка сердца собаки.

Влияние подпороговых ( а,б ) и пороговых ( в ) толчков деполяризирующего тока на мембранный потенциал одиночного волокна желудочка. Подпороговые стимулы вызывают реакцию местного ответа, пороговые – регенеративную деполяризацию. В клетках рабочего миокарда переход порогового потенциала в регенеративный ответ происходит очень быстро и этот переход в нормальном потенциале действия ( ПД ) не виден ( см. первый ПД).



# Периоды Венкебаха

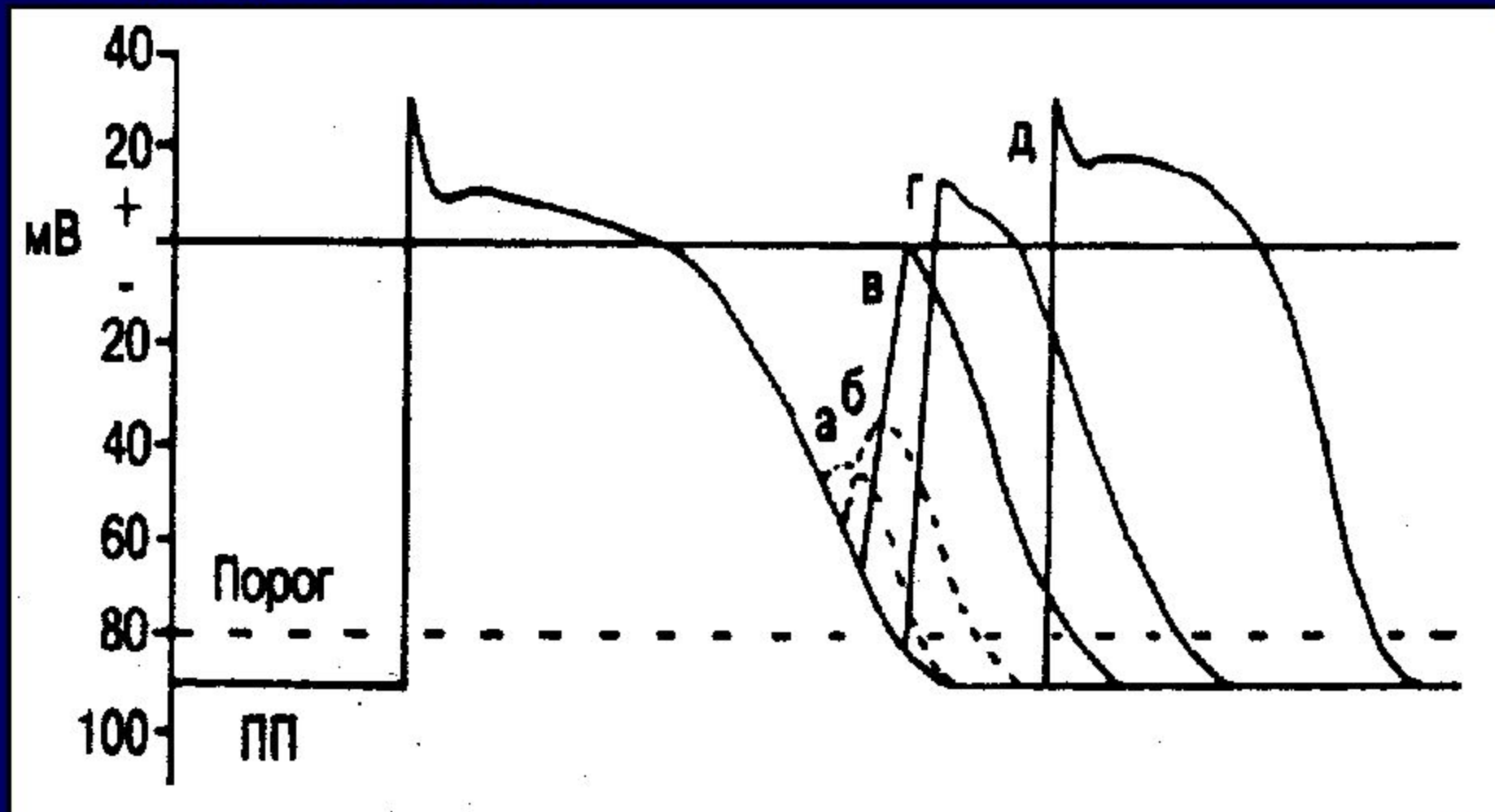
иллюстрируют переход пороговой деполяризации в регенеративную в волокнах с медленным ответом, который формируется кальциевыми токами. В норме для развития периодики Венкебаха достаточно повышение ритма предсердий.



А - кривые мембранных потенциалов атрио-вентрикулярного узла ( I ) и пучка Гиса ( II ) сердца кролика, показывающие изменения активности узла, связанные с развитием периодики Венкебаха. Видно постепенное увеличение длительности начального зубца на кривой потенциала узла, постепенное увеличение интервала между раздражением предсердия ( стрелки ) и реакцией пучка Гиса и укорочение этого интервала после прекращения проведения в узле. Б – изменение электрической активности одиночного волокна атрио-вентрикулярного узла сердца кролика в течение одного периода Венкебаха. ( в центре рисунка показаны калибровка - 15 мВ, отметка времени – 25 мсек. )

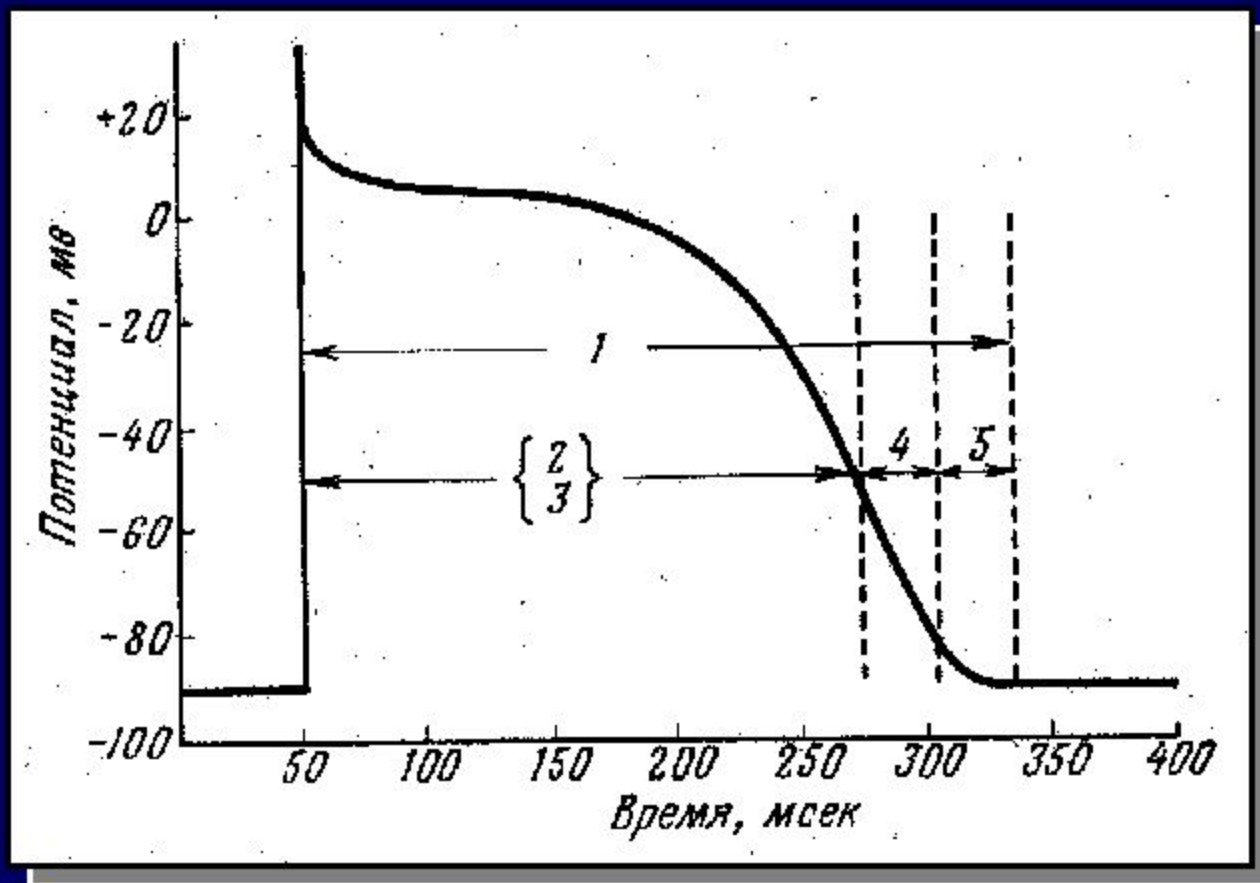
Ответ кардиомиоцита на пороговый стимул, нанесенный в различные моменты конечных фаз реполяризации потенциала действия.

Стимулы в моменты а и б вызывают местные ответы, стимулы в моменты в, г, д вызывают регенеративные ответы.





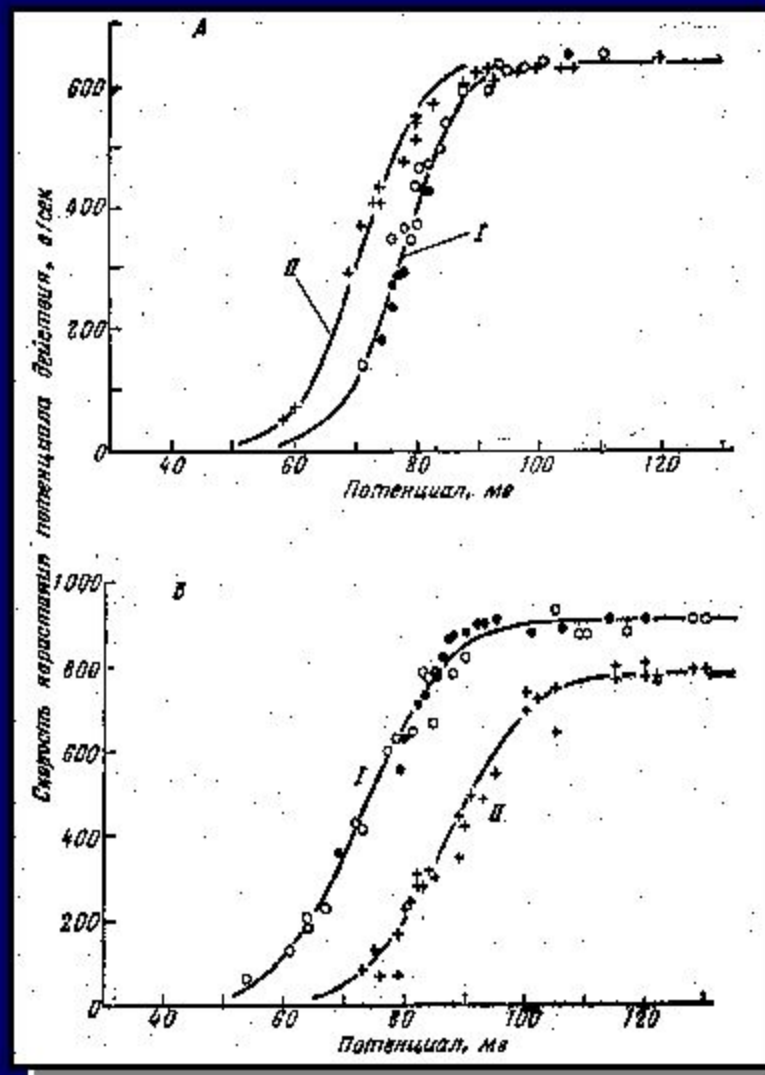
# Схема нормальных соотношений между потенциалом действия и возбудимостью при раздражении катодом.



## Обозначения:

- 1 – период полного восстановления;
- 2 – абсолютный рефрактерный период;
- 3 – эффективный рефрактерный период;
- 4 – относительный рефрактерный период;
- 5 – период супернормальности.

# Соотношение между уровнем потенциала покоя волокна Пуркинье и скоростью нарастания потенциала действия.



А – влияние кальция.

I – нормальный р-р Тироде;

II – р-р Тироде с концентрацией кальция в 4 раза выше нормальной.

Б – влияние кокаина.

I – нормальный р-р Тироде;

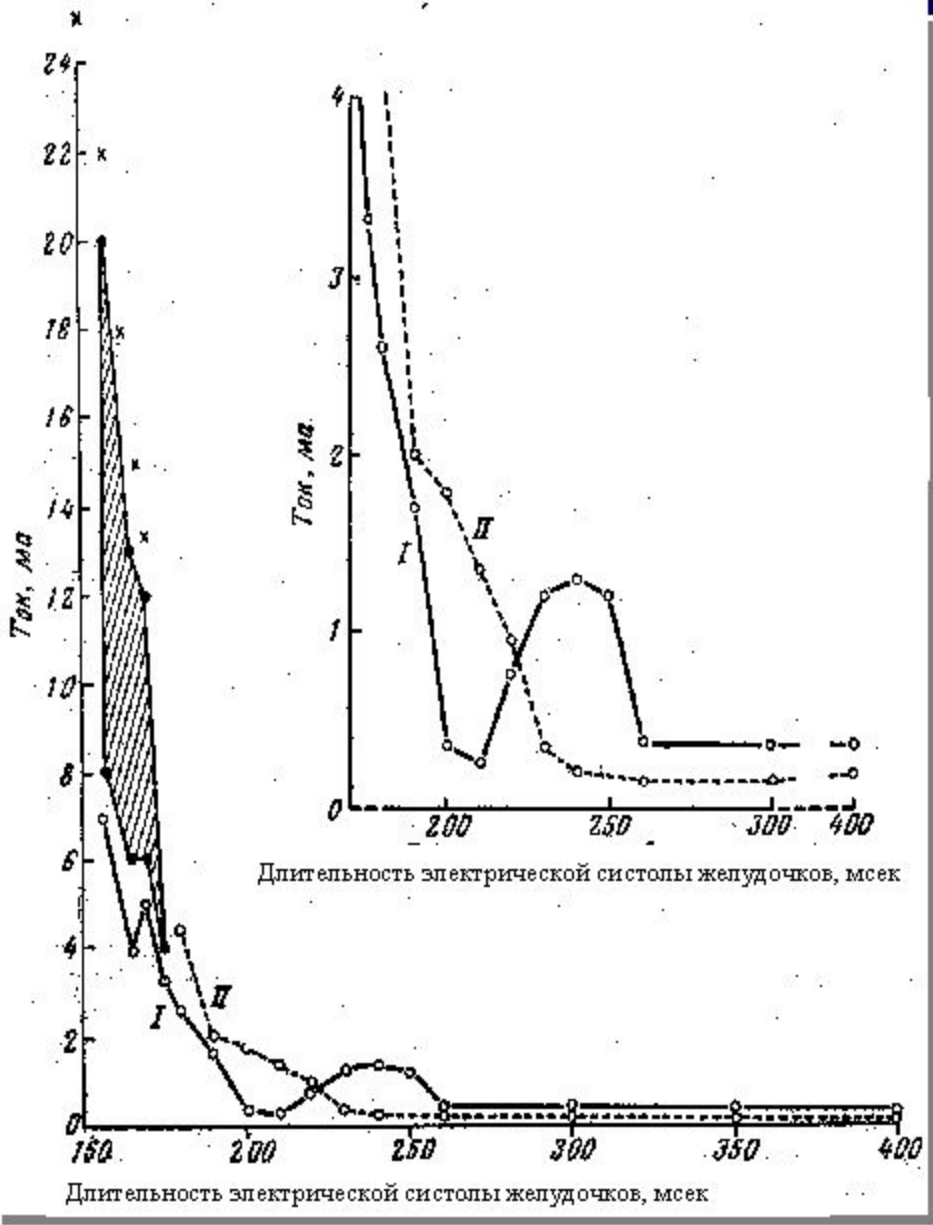
II – р-р Тироде с кокаином.

Уровень потенциала покоя изменяли путем поляризации анодом.

$dV_{max} / dt$  – мера максимальной натриевой проводимости.

Зависимость скорости нарастания потенциала действия ( $dV_{max} / dt$  – В/сек) от уровня потенциала имеет вид сигмообразной кривой, которая смещается влево (А) при повышении кальция в растворе, и эта кривая смещается вправо (Б) при действии кокаина, а также хинидина (не показано) и других так называемых мембраностабилизирующих веществ. Кроме того, замедление и блок проведения при раздражении сердца в разные периоды относительной рефрактерности объясняется рассмотренными соотношениями между  $dV/dt$  и уровнем потенциала.

# Кривая «сила — длительность цикла» для желудочка собаки.

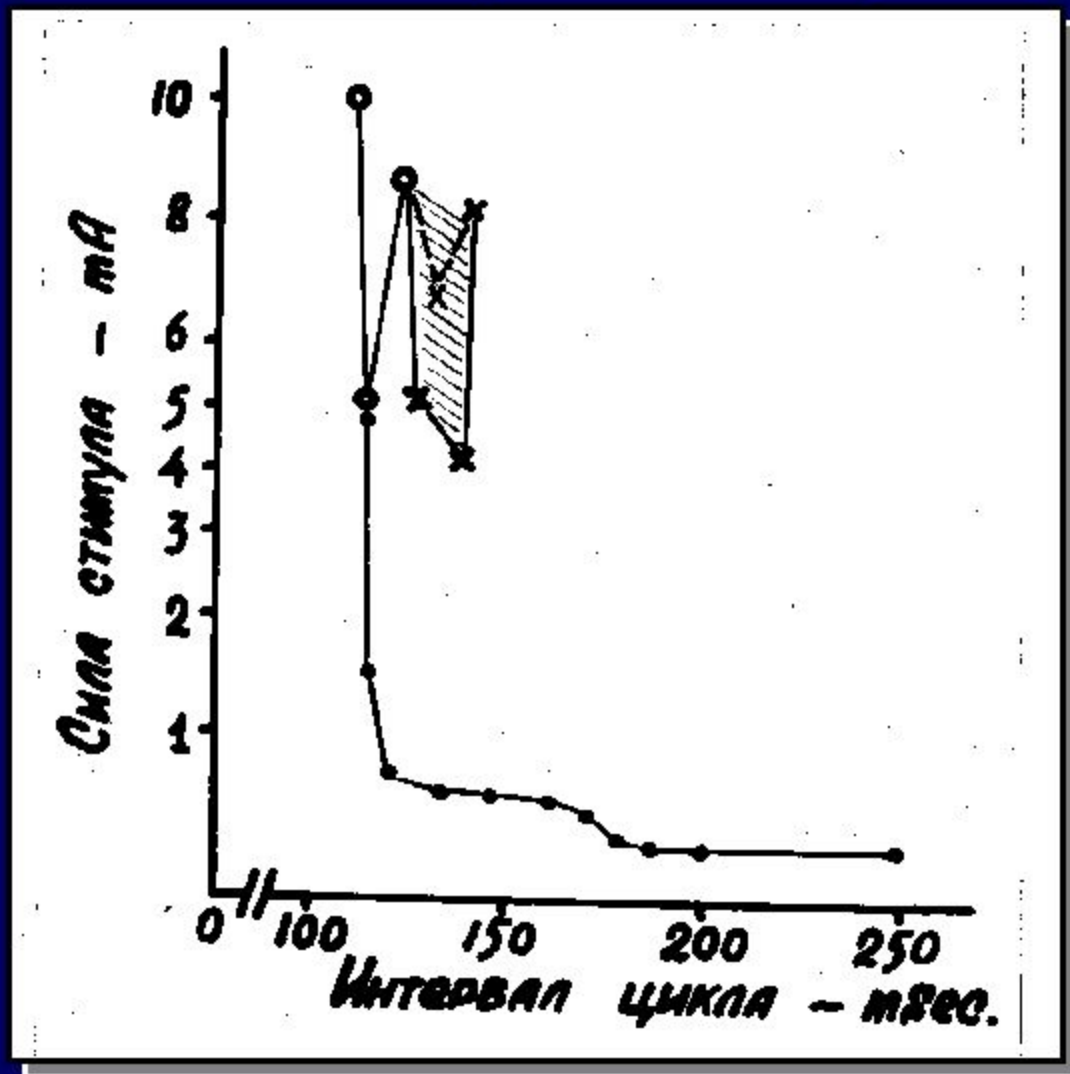


I – величина порога раздражения анодом;

II – величина порога раздражения катодом;

Вверху справа -участок кривой с «западением», представлен в более крупном масштабе. Заштрихованная область -область отсутствия ответа. X – возбуждение неизвестного происхождения с более высоким порогом.

# Кривая «сила – длительность цикла» (интервал Q-T), полученная на предсердии кошки.

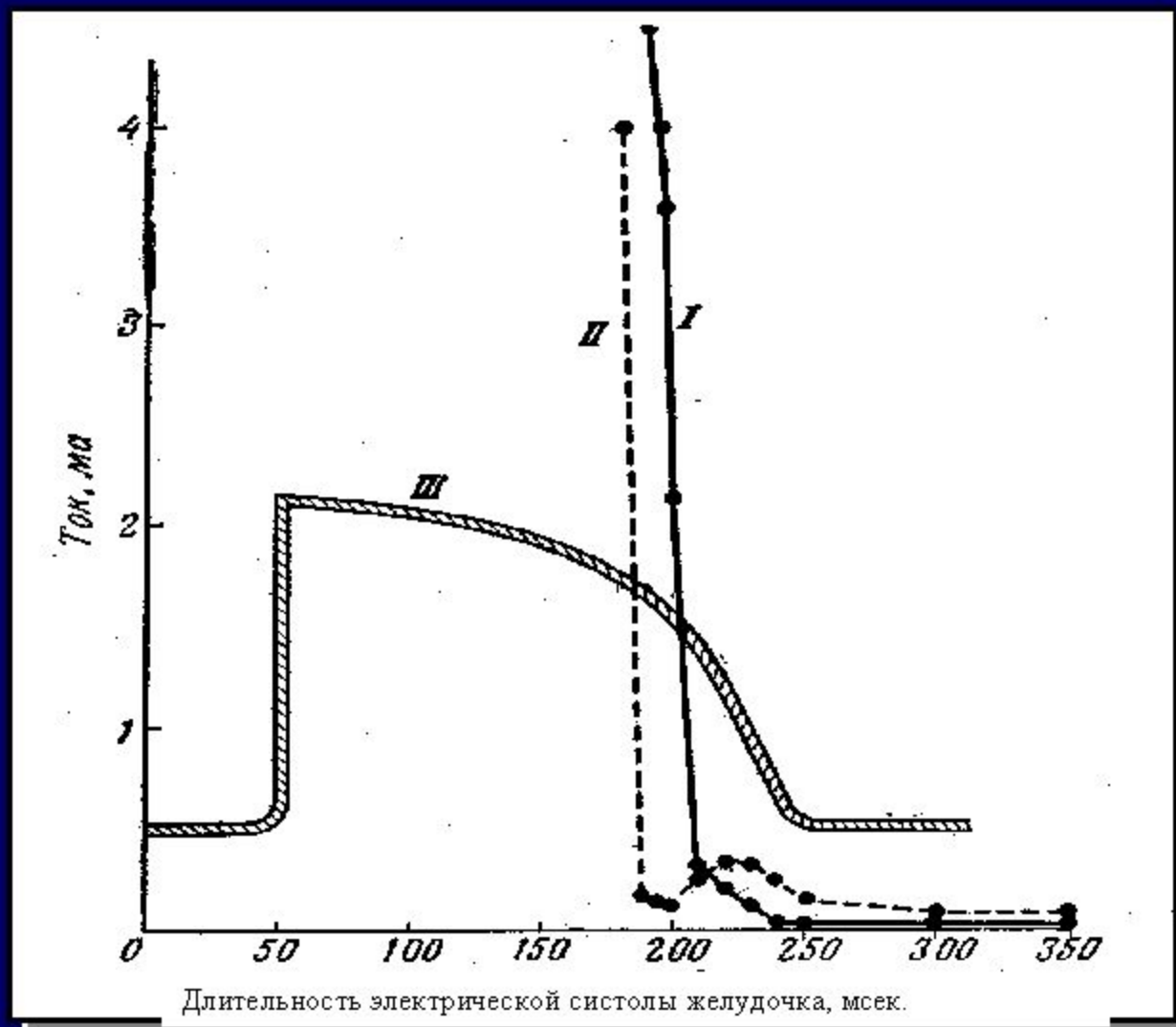


Обозначения: ( x - x ) - порог для множественных экстрасистол;  
( x--x ) - порог фибрилляции,  
( 0 - 0 ) – период отсутствия ответа.

Заштрихованная область показывает «уязвимый период», в течение которого раздражение приводит к фибрилляции.

# Кривая «сила – длительность цикла» для желудочка собаки.

Показаны различия в возбудимости при раздражении катодом ( I ) и раздражение анодом ( II ), III – монофазный потенциал действия.



## Ионные токи кардиомиоцита:

39. Потенциал действия ( ПД ) и ионные токи кардиомиоцита.
40. ПД, ионные токи и гены  $\alpha$ -субъединиц каналов.
41. Ионные токи волокна сино-атриального узла.
42. Натриевый ток кардиомиоцита.
43. Рецепторные места на натриевом канале.
44. Структура субъединиц натриевого канала.
45. Кальциевый ток кардиомиоцита.
46. Взаимозависимость отдельных компонентов ПД.

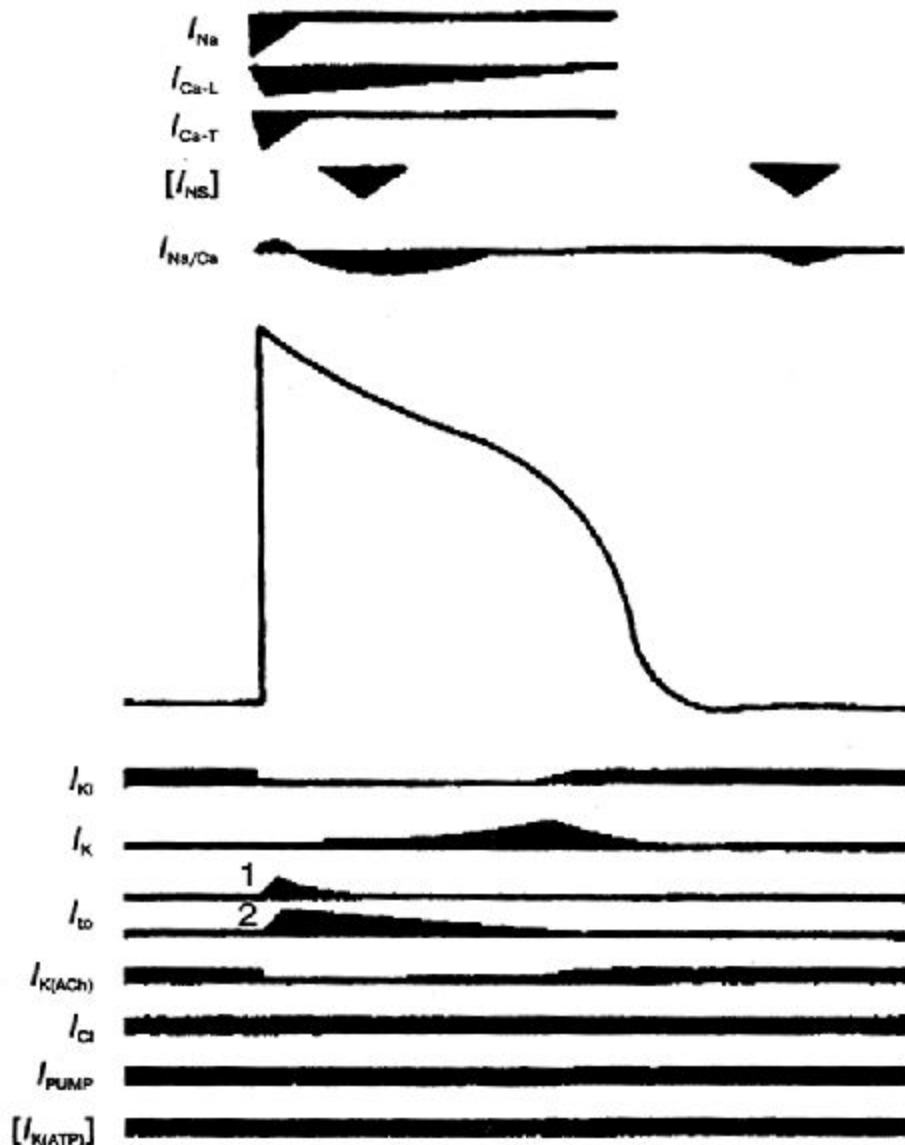


# Ионные токи кардиомиоцита.

( данные 1990 г.)

В верхней части рис. показаны токи входящего направления, которые деполяризуют клеточную мембрану.

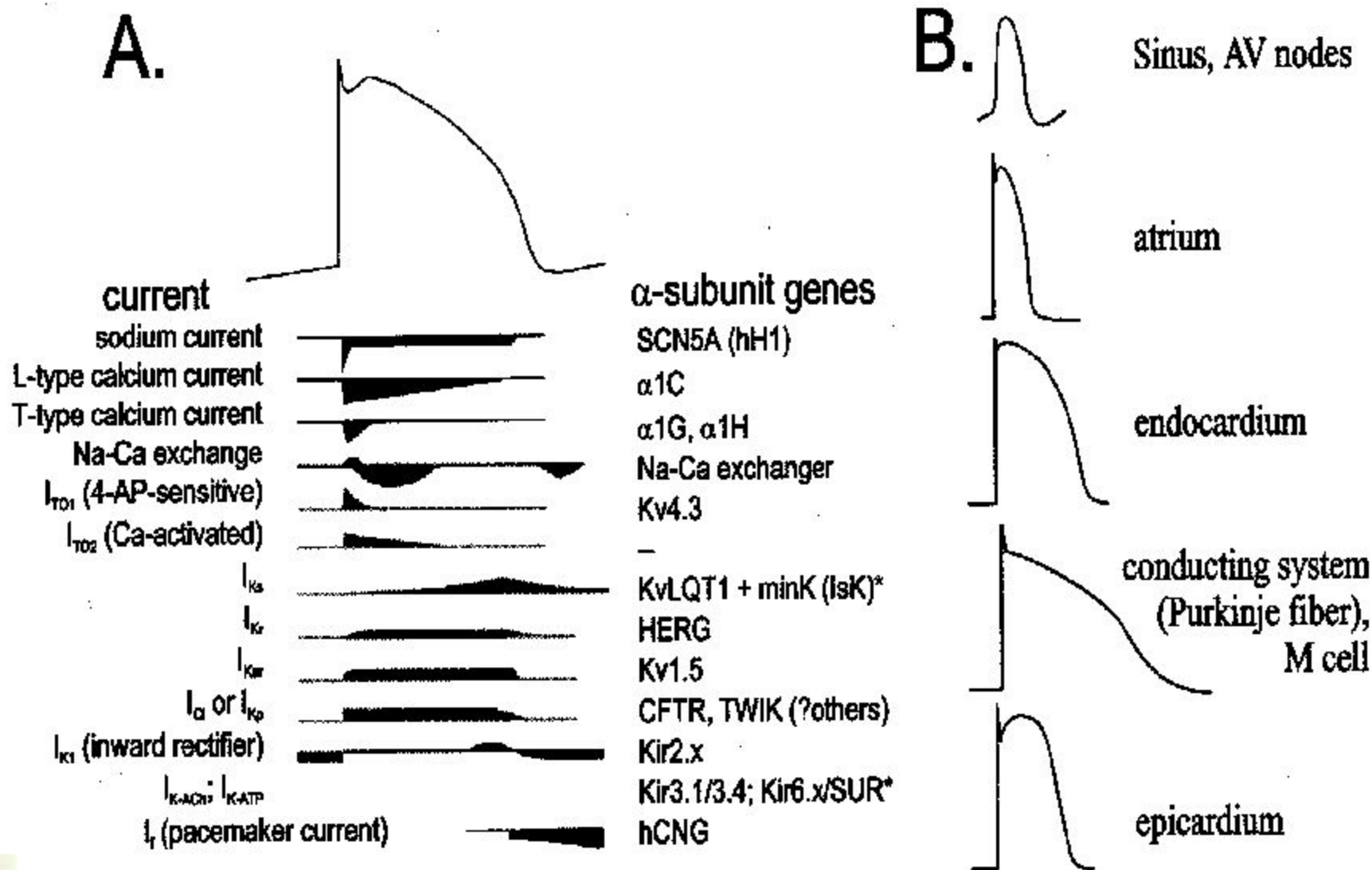
В нижней части рис. показаны токи выходящего направления, которые реполяризуют клеточную мембрану.



Каждый ионный ток переносится по каналам, со специфической проницаемостью для соответствующего иона.

# Потенциалы действия, ионные токи и гены $\alpha$ -субъединиц.

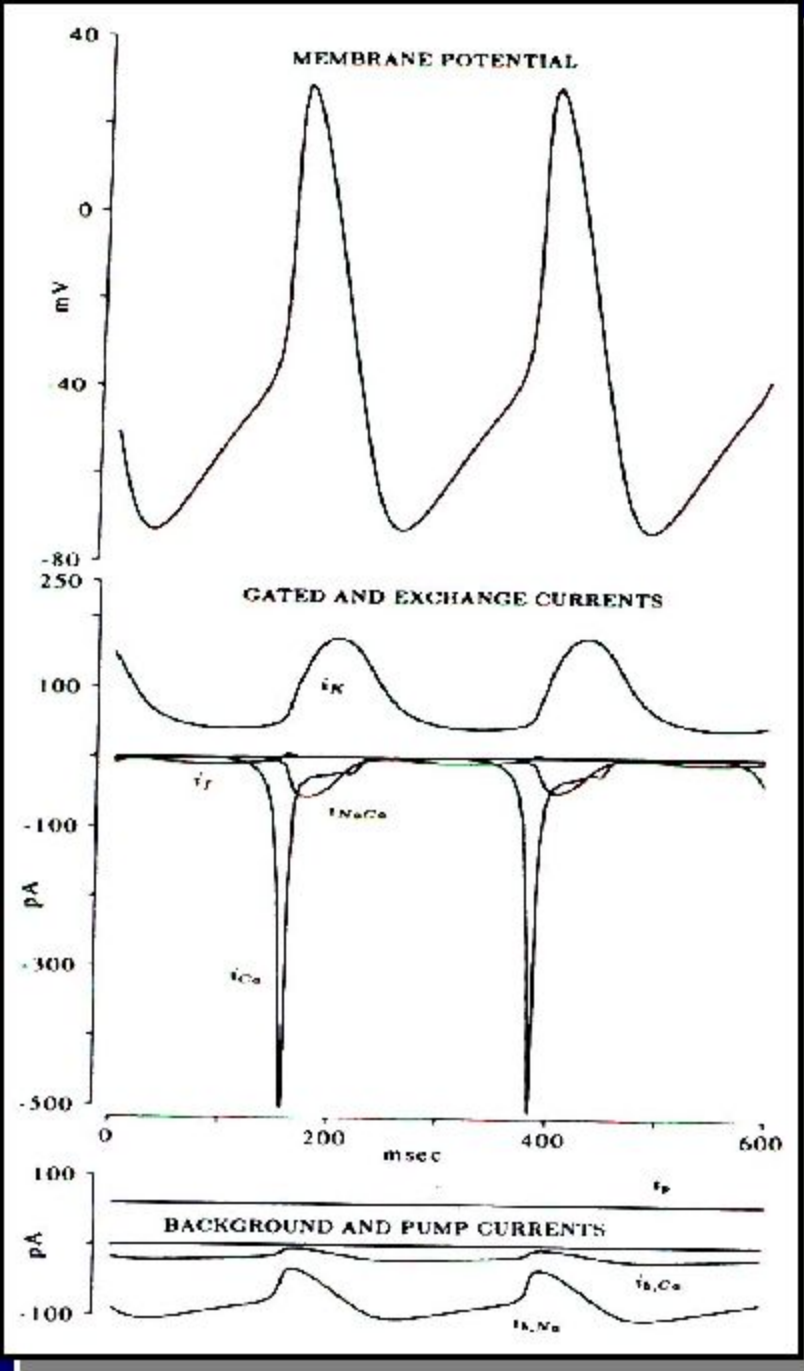
( данные 2001 г. )

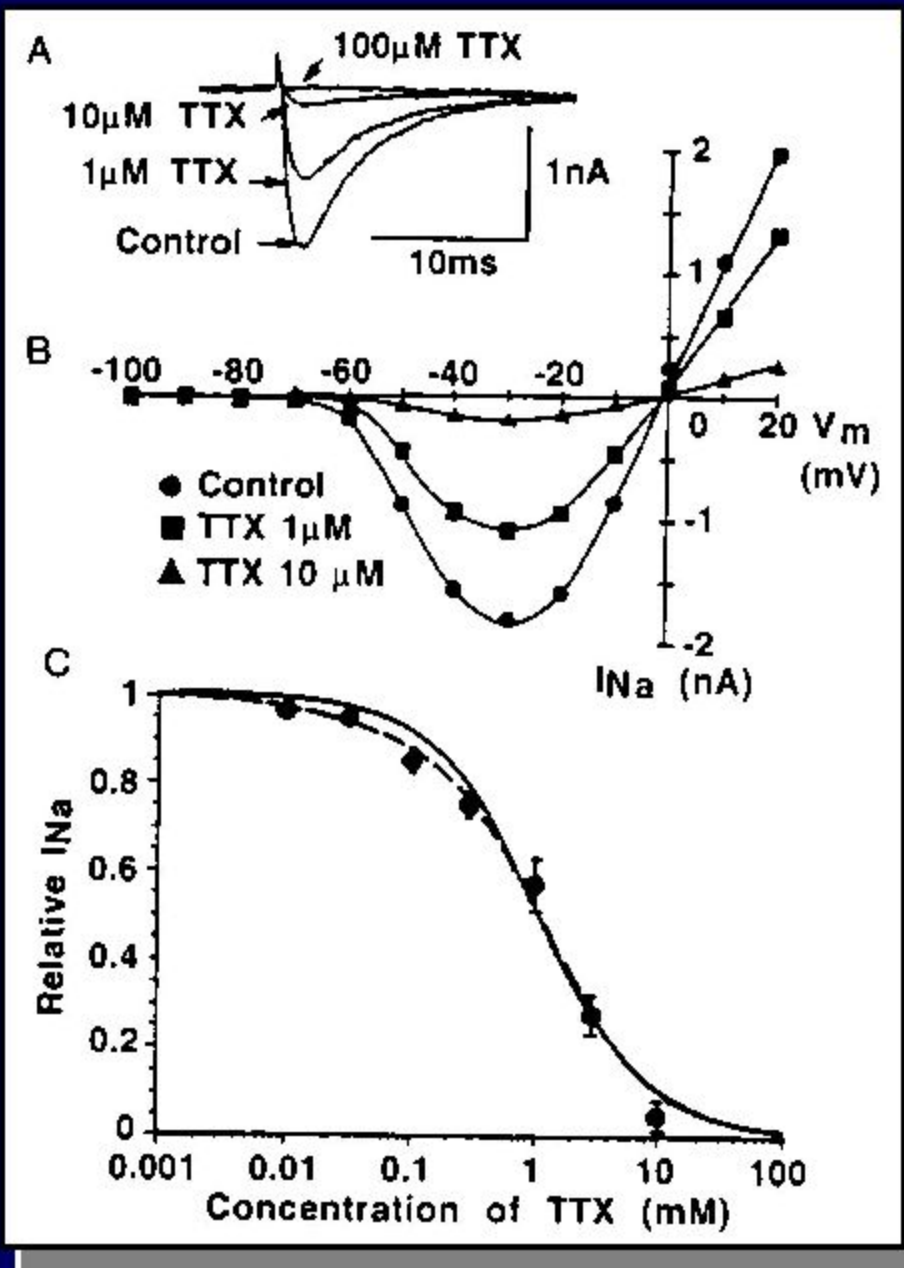




# Активность клетки сино-атриального узла, рассчитанная на математической модели D.Noble et.al.\*

Верхняя регистрация-изменения  
мембранного  
потенциала; средняя регистрация – токи  
каналов и Na-Ca  
обмена. Нижние регистрации - токи  
утечки и токи насосов ( $i_{b,Na}$   $i_{b,Ca}$  ).





## Натриевый ток ( $I_{Na}$ ) одионочного кардиомиоцита предсердия человека, эффект ТТХ.\*

А – записи тока получены при деполяризации от  $-140$  до  $-20$  мВ в контрольных условиях и при действии 1, 10 и 100 мкМ ТТХ.

В – вольт-амперная кривая в контроле и при действии 1 и 10 мкМ ТТХ.

ТТХ не изменял порогового потенциала, максимального значения потенциала и реверсного потенциала.

С - дозо-зависимое действие ТТХ на  $I_{Na}$  по восьми экспериментам. Сплошная линия показывает расчеты на модели с одним местом связывания ТТХ, прерывистая линия – расчеты на модели с двумя местами связывания. Кружки – данные, полученные экспериментально.

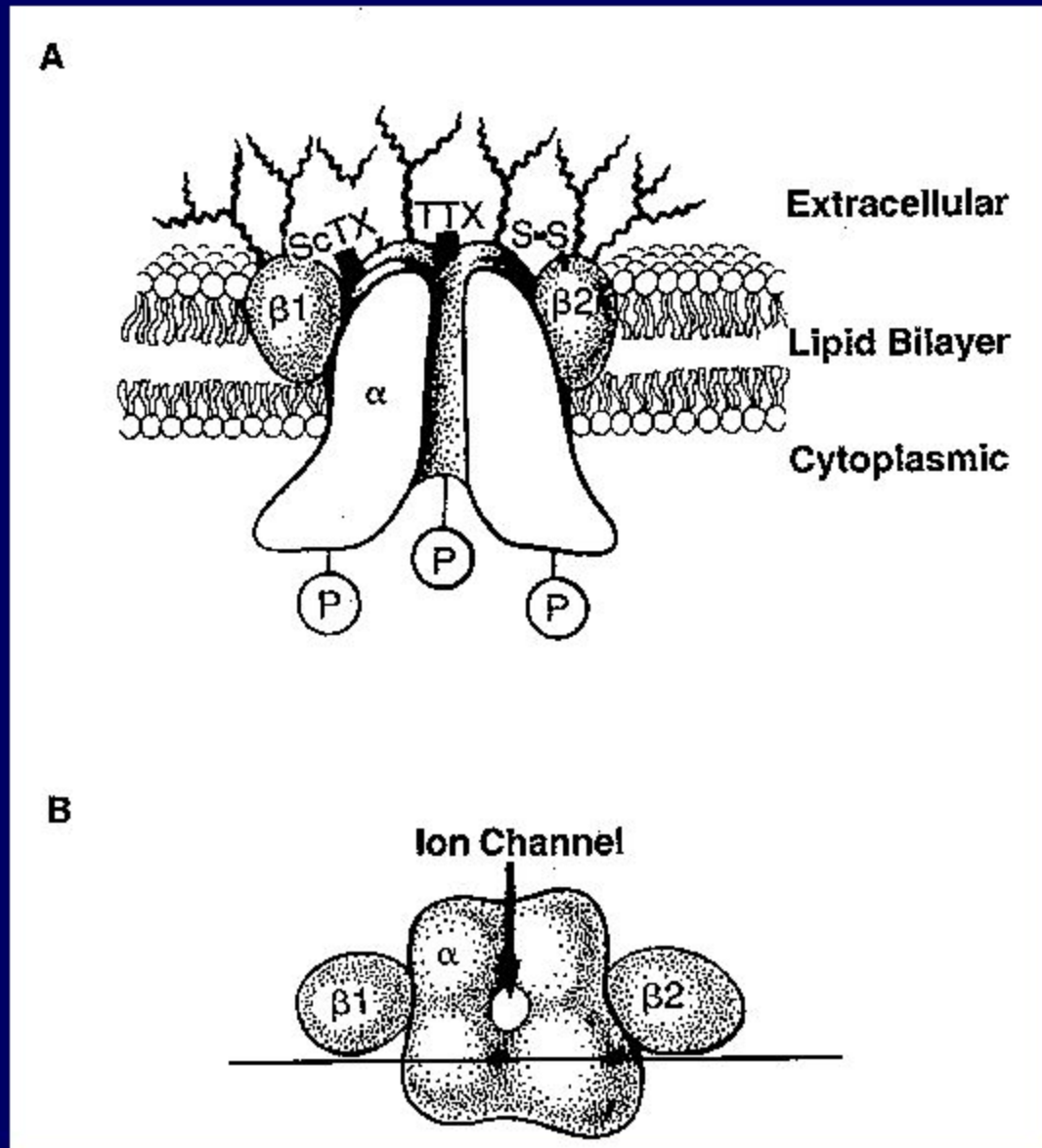
\* ТТХ – специфический блокатор натриевых каналов.



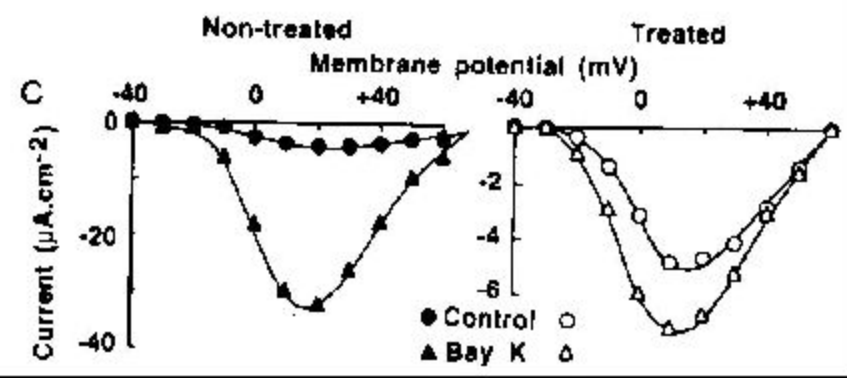
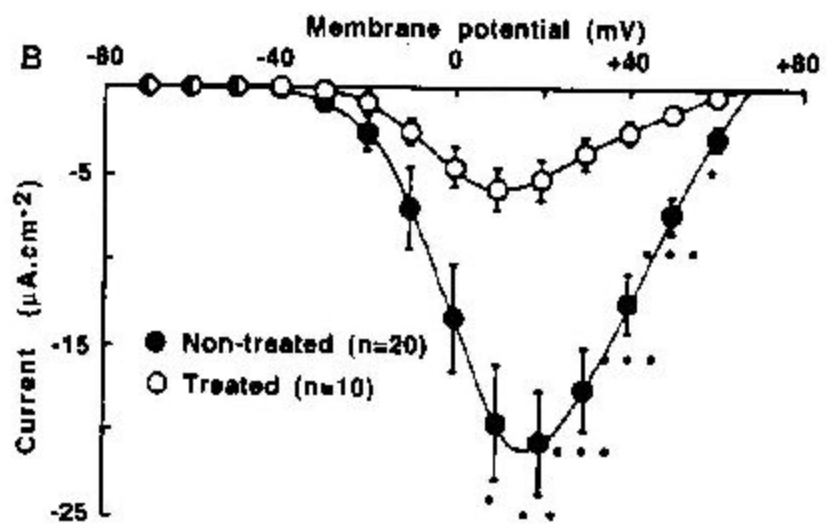
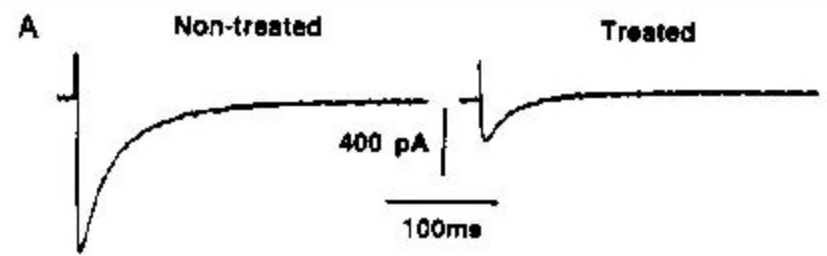
# Рецепторные места для нейротоксинов на натриевом канале.

<u>Место</u>	<u>Токсин</u>	<u>Эффект</u>
1.	Тетродотоксин Сакситоксин $\mu$ -конотоксины	Торможение ионной проводимости
2.	Вератридин Батрахотоксин Аконитин Grayanotoxin	Устойчивая активация
3.	$\alpha$ -токсины скорпиона	Торможение инактивации, устойчивая активация
4.	$\beta$ -токсины скорпиона	Сдвиг потенциал-зависимой активации
5.	Brevetoxins Ciguatoxins	Повторные разряды, сдвиг потенциал-зависимой активации.

# Структура субъединиц натриевого канала.



# Угнетение $I_{Ca}$ в изолированном предсердном кардиомиоците человека при хроническом лечении кальциевым антагонистом.

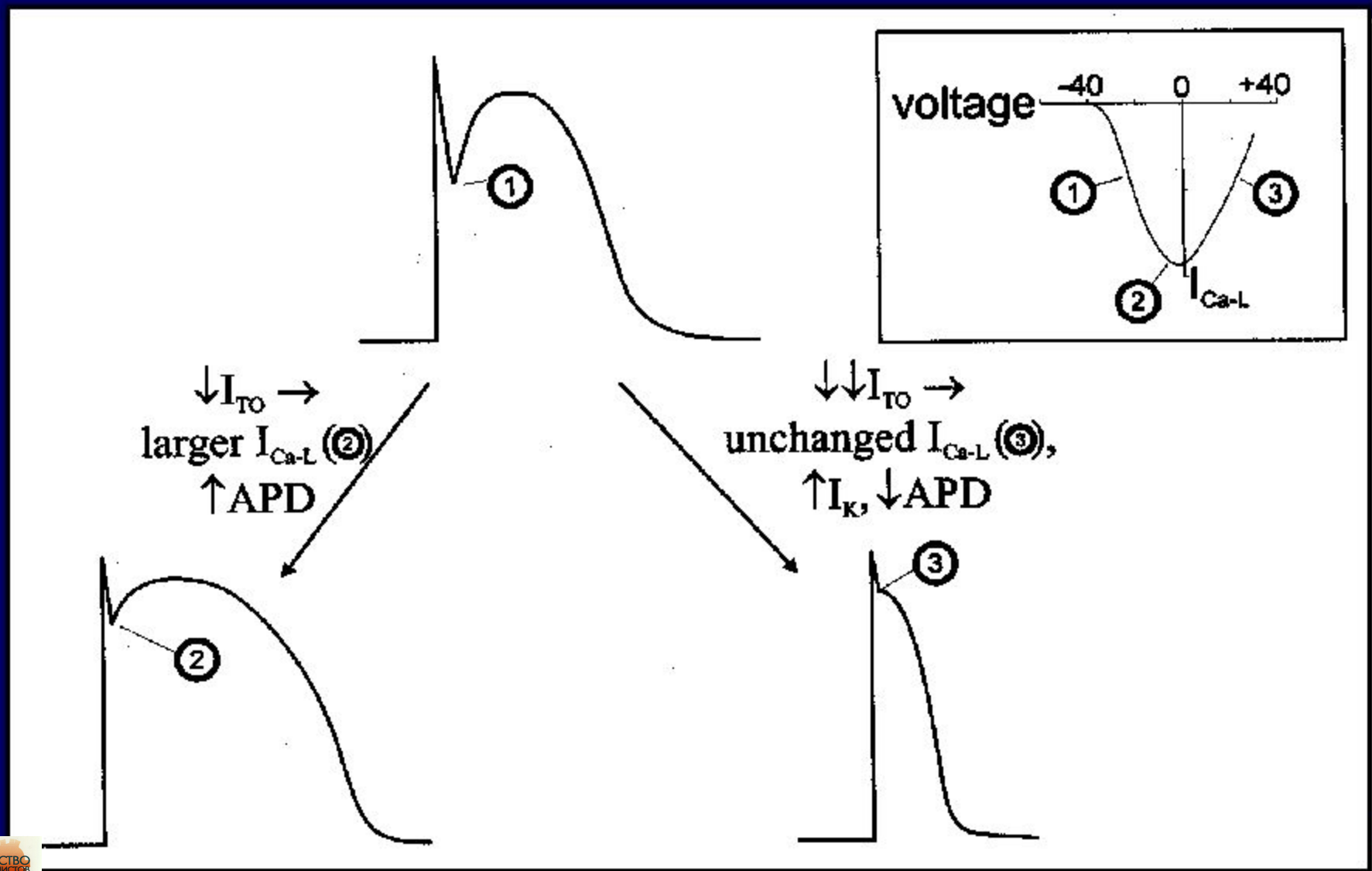


**A-** кальциевые токи, вызванные ступенькой деполяризации 350 мс длительности и потенциалом от -80 мВ до +10 мВ в необработанных и обработанных клетках.

**B-** вольт-амперная кривая в клетках контроля ( n=20, темные кружки ) и в группе обработанных клеток ( n=10, светлые кружки ).

**C-** влияние 1 мкМ Bay K 8644\* на вольт-амперные кривые необработанных клеток (темные символы ) и группы обработанных клеток – светлые символы

# Взаимозависимость отдельных компонент потенциалов действия.

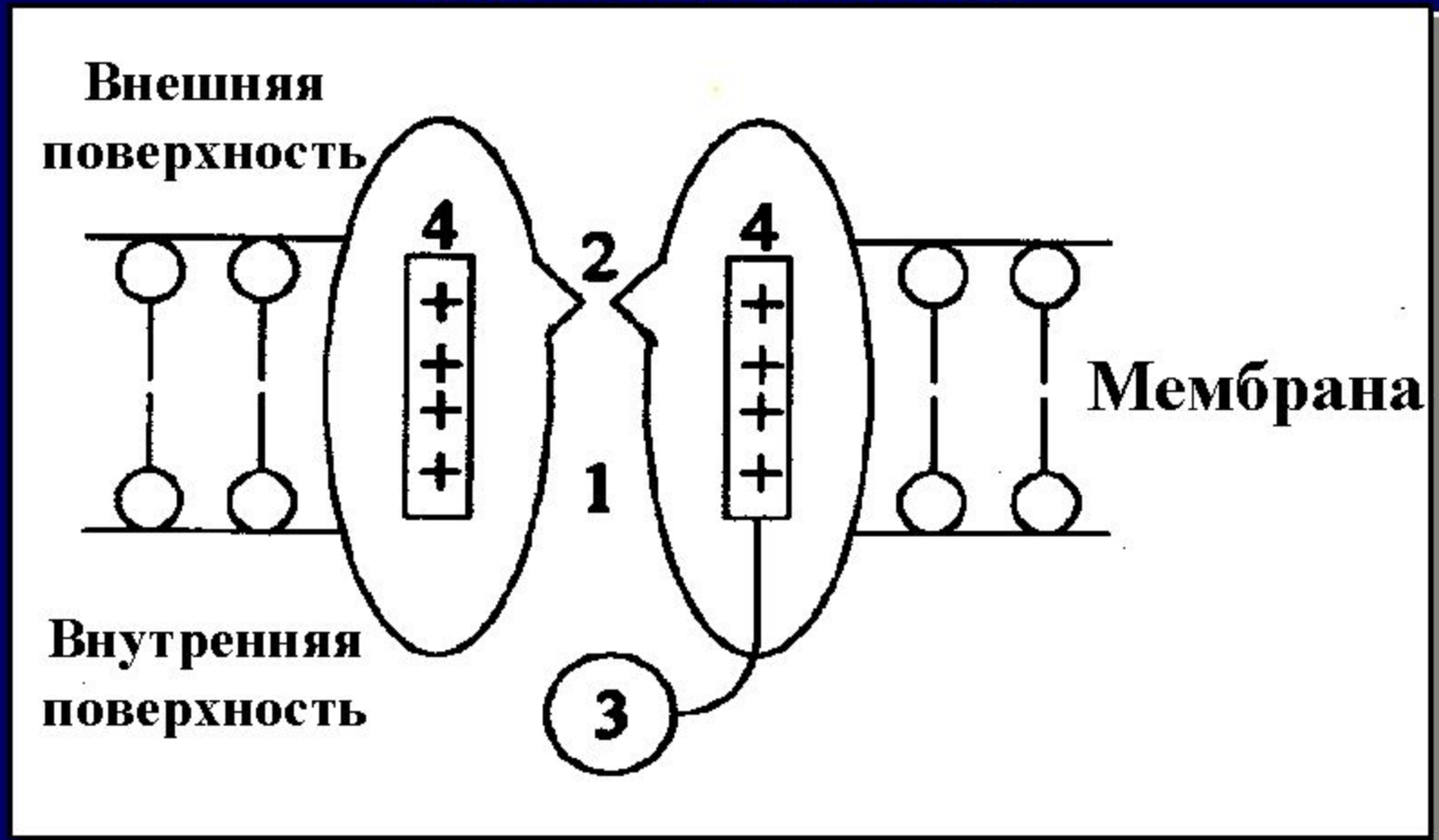


# Ионные каналы : структура и функция.

48. Биофизическая концепция ионного канала.
49. Три типа состояния ворот каналов.
50. Внутренняя структура натриевого канала.
51. Кинетические свойства L-типа Ca канала.
52. Потенциал-управляемые ионные каналы и места связывания веществ.
53. Субъединицы потенциал -управляемого Ca канала.
54. Свойства потенциал -управляемых Ca каналов в сердце.
55. Локализация, лиганды, физиол. роль Ca каналов.
56. Внутриклеточный контроль ионов кальция.
57. Пути клеточной регуляции кальция.
58. Токи сердечного волокна, субъединиц каналов и гены.
59. Схема калиевого канала по данным рентгено -структурного анализа.

## Биофизическая концепция ионного канала.

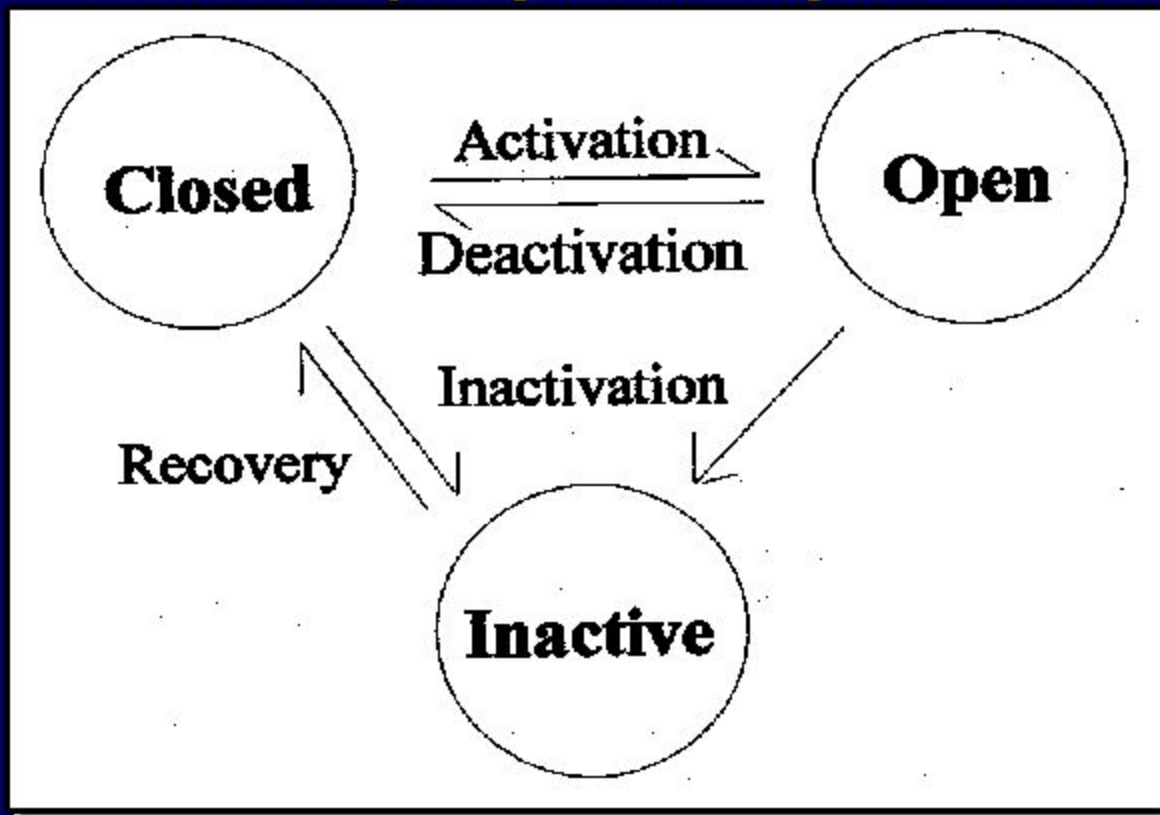
Мембранный белок формирует пору для прохождения ионов через липидный барьер ( 1 ). Узкая область в поре ( 2 ) является селективным фильтром. Канал имеет открывающиеся и закрывающиеся ворота ( 3 ), показанные в виде шара. Ворота активируются мембранным потенциалом или связыванием лиганда . Потенциал чувствительный сенсор показан как заряженные структуры белка ( 4 ).





## Три типа состояния ворот ионных каналов.

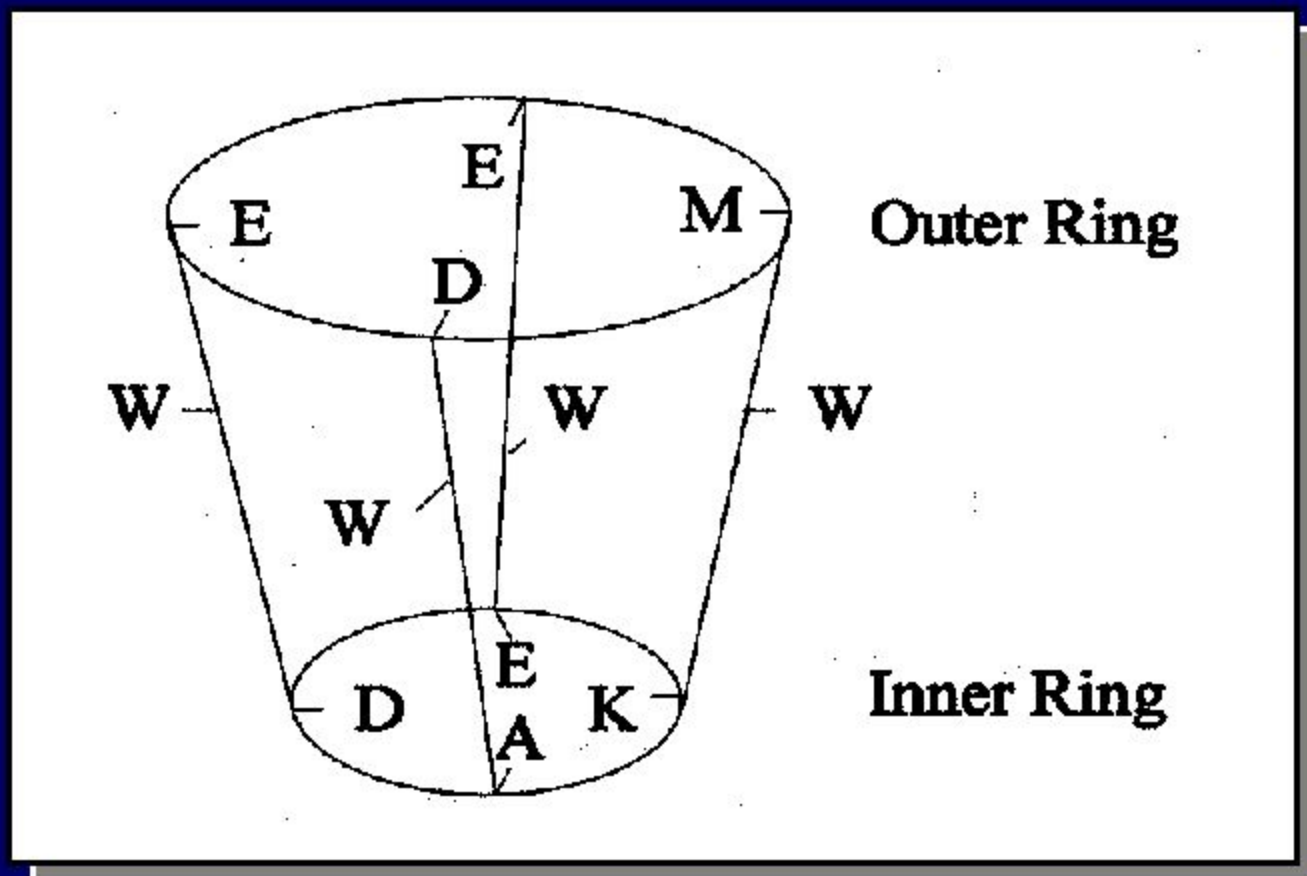
При активации либо мембранным потенциалом или в результате связывания с лигандом, канал может быть активирован ( Open ) и ионы будут поступать через канал по электрохимическому градиенту. Из открытого состояния канал может деактивироваться и перейти в закрытое состояние ( Closed ), из которого он может быть снова открыт. Частые переходы канала из открытого в закрытое состояние происходят во время одного и того же стимула. Кроме того, открытый канал может инактивироваться ( Inactive ).



В этом состоянии он пребывает до тех пор, пока не восстановится что требует изменения потенциала или диссоциации лиганда. В инактивированное состояние канал может перейти из закрытого состояния. Биофизическая схема переходов состояний каналов является упрощенной и предполагает, что каждое состояние канала отражает специфическую конформацию канальных белков.

## Внутренняя структура натриевого канала.

Внутреннее кольцо (Inner Ring) имеет диаметр около  $3 \times 5 \text{ \AA}$  и построено из 4 аминокислотных цепей: Asp (D), Glu (E), Lys (K) и Ala (A) – DEKA мотив селективного фильтра. Внешнее кольцо (Outer Ring) –  $12 \text{ \AA}$  в диаметре, сформировано четырьмя аминокислотными цепями: Glu (E), Glu (E), Met (M), и Asp (D). Каждый P элемент имеет один Trp (W), который, возможно, стабилизирует пору, взаимодействуя с белком канала.

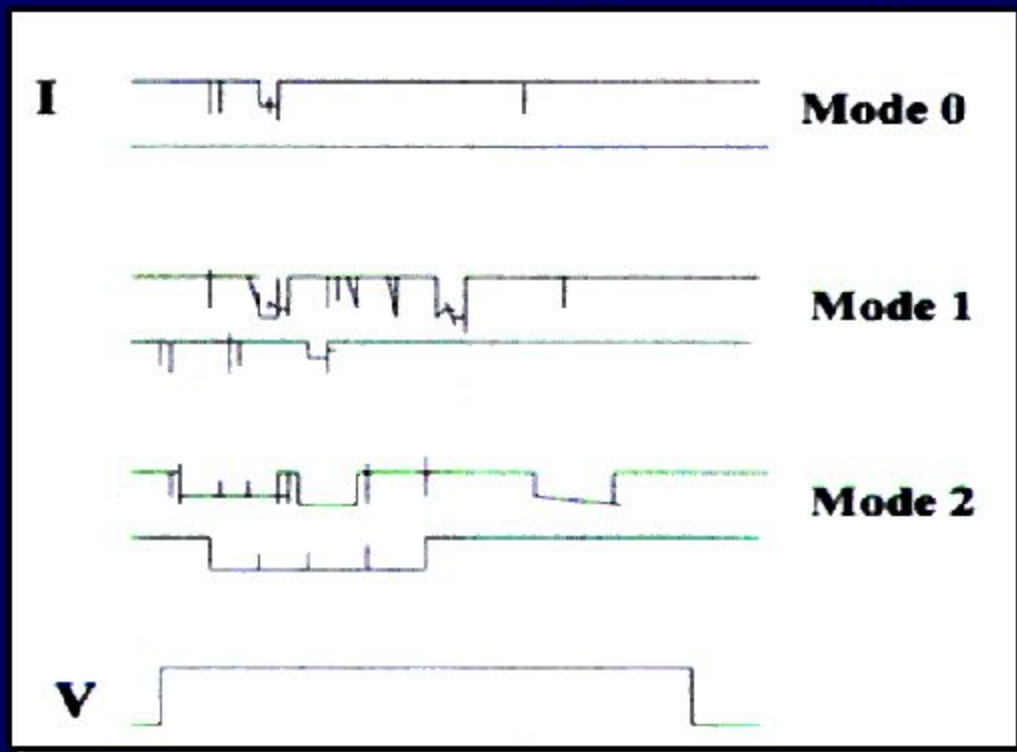


## Кинетические свойства L-типа Ca каналов.

В ответ на деполяризацию (нижняя запись) L-тип каналов открывается.

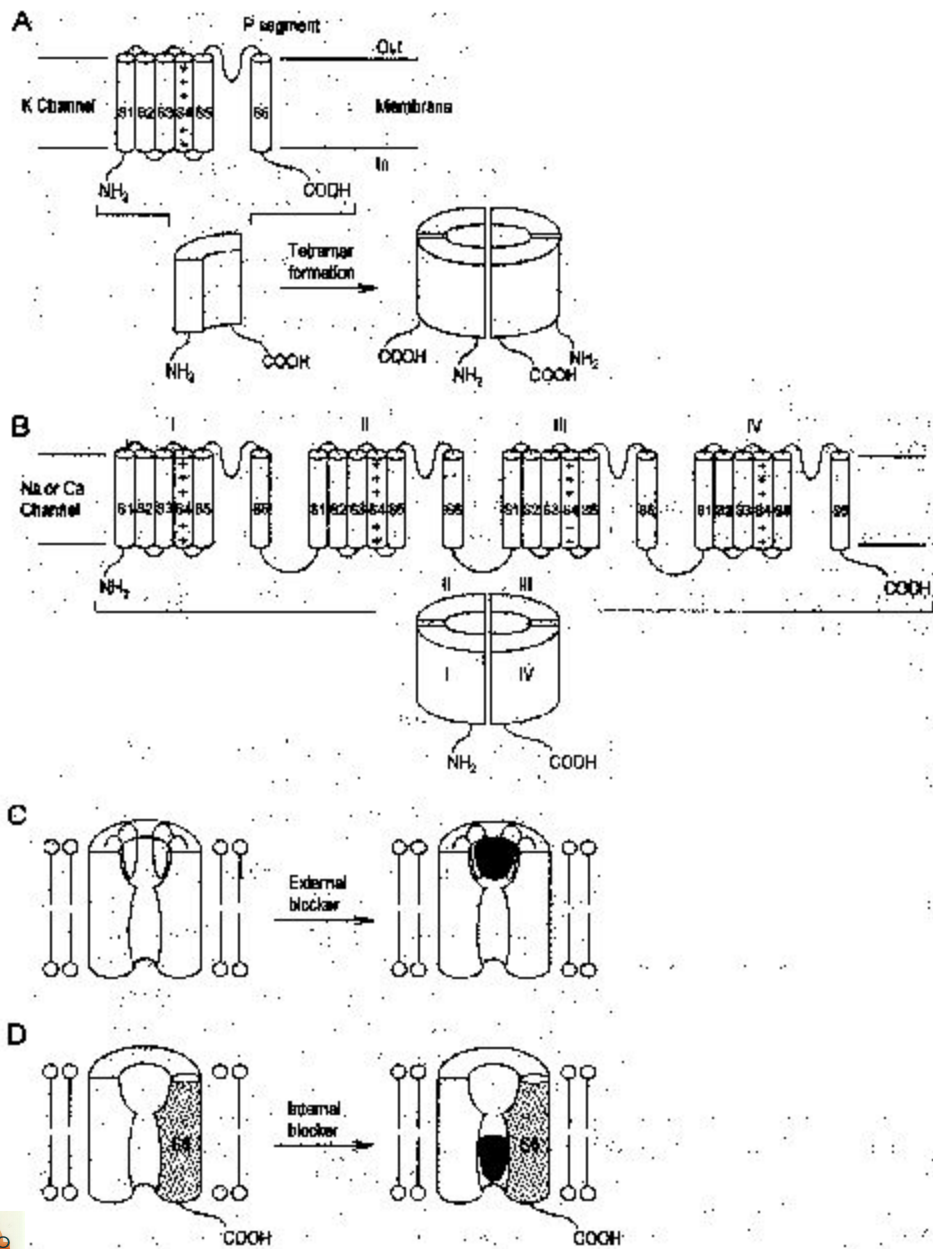
Не фосфорилированные каналы ( Mode 0 ) – вероятность открывания канала очень низка

Умеренное фосфорилирование, характерное для  $\beta$ -стимуляции, увеличивает вероятность открывания каналов после деполяризации ( Mode 1 ). Более интенсивное фосфорилирование приводит к Mode 2, при которой увеличивается открывание каналов и значительно увеличивается ток. Mode 0 характерна при действии Ca-антагонистов, Mode 2 наблюдается при действии BayK 8644.



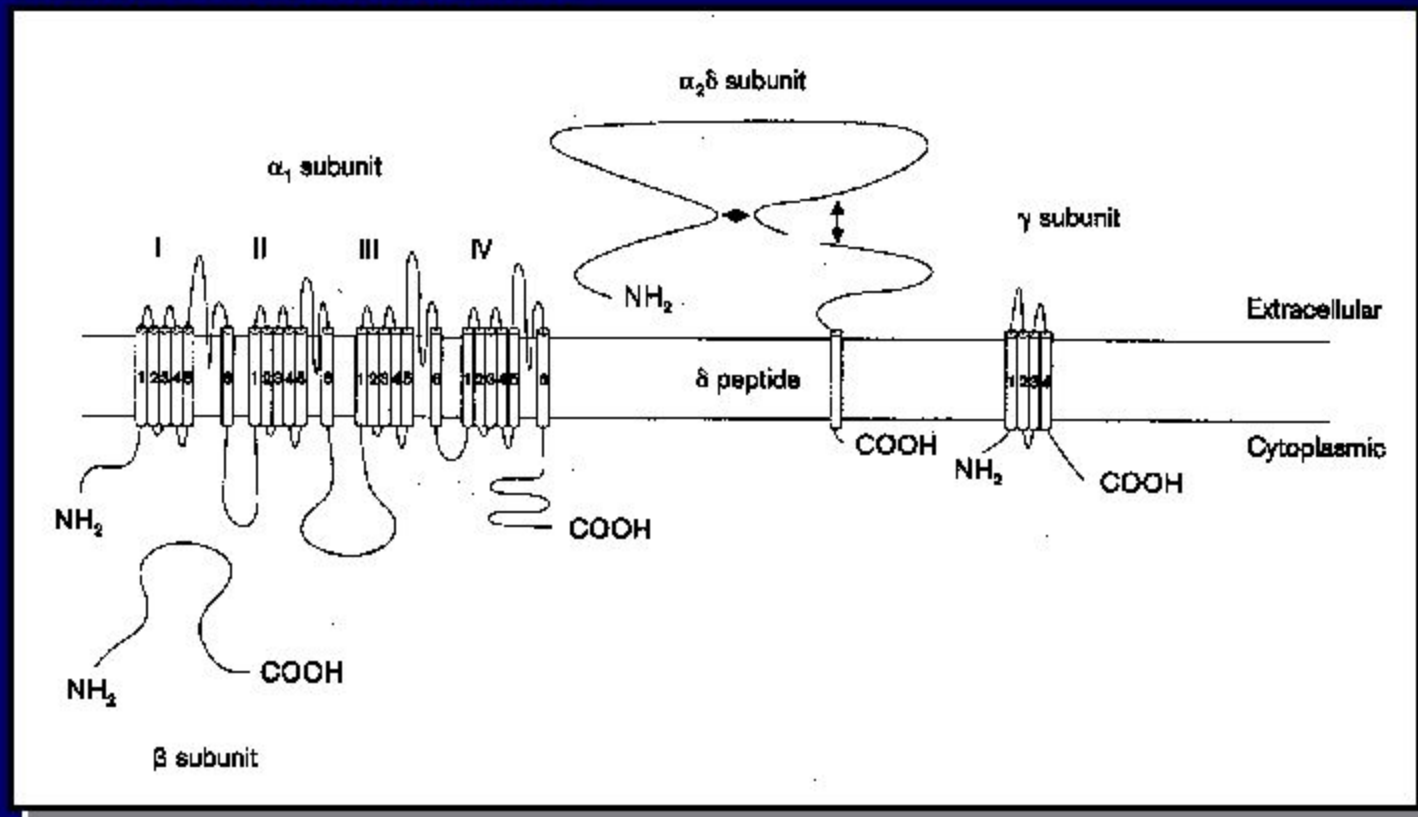
## Потенциал-управляемые катионные каналы и места связывания в них веществ.

(А) На верхней части рисунка - линейная структура  $\alpha$ -субъединицы калиевого канала. Каждая  $\alpha$ -субъединица состоит из 6 трансмембранных сегментов. Четвертый сегмент (S4) содержит положительно заряженный аргинин и лизин, которые формируют потенциал-чувствительный сенсор. Петля белка между S5 и S6 (P сегмент) глубоко погружена в сторону мембраны и формирует пору. Четыре таких  $\alpha$ -субъединицы формируют функциональный канал в форме тетрамера (продолжение см. ниже).



## Организация субъединиц потенциал-управляемого кальциевого канала.

Канал содержит следующие субъединицы:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\delta$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Субъединица  $\alpha_1$  является доминирующей и кодируется несколькими генами: S, A, B, C, D и E. Трансмембранно располагаются 4 гомологичных домена, каждый из которых содержит 6 сегментов (S1-S6), S5 и S6 и область между ними



формируют пору канала; сегмент S4 несет положительные заряды и чувствителен к потенциалу. Субъединица  $\beta$  модифицирует функциональные свойства  $\alpha_1$ , увеличивая ее экспрессию, изменяя кинетику ее активации и инактивации, сдвигая активационную зависимость от потенциала в сторону гиперполяризации. T-тип каналов меньше изучен.

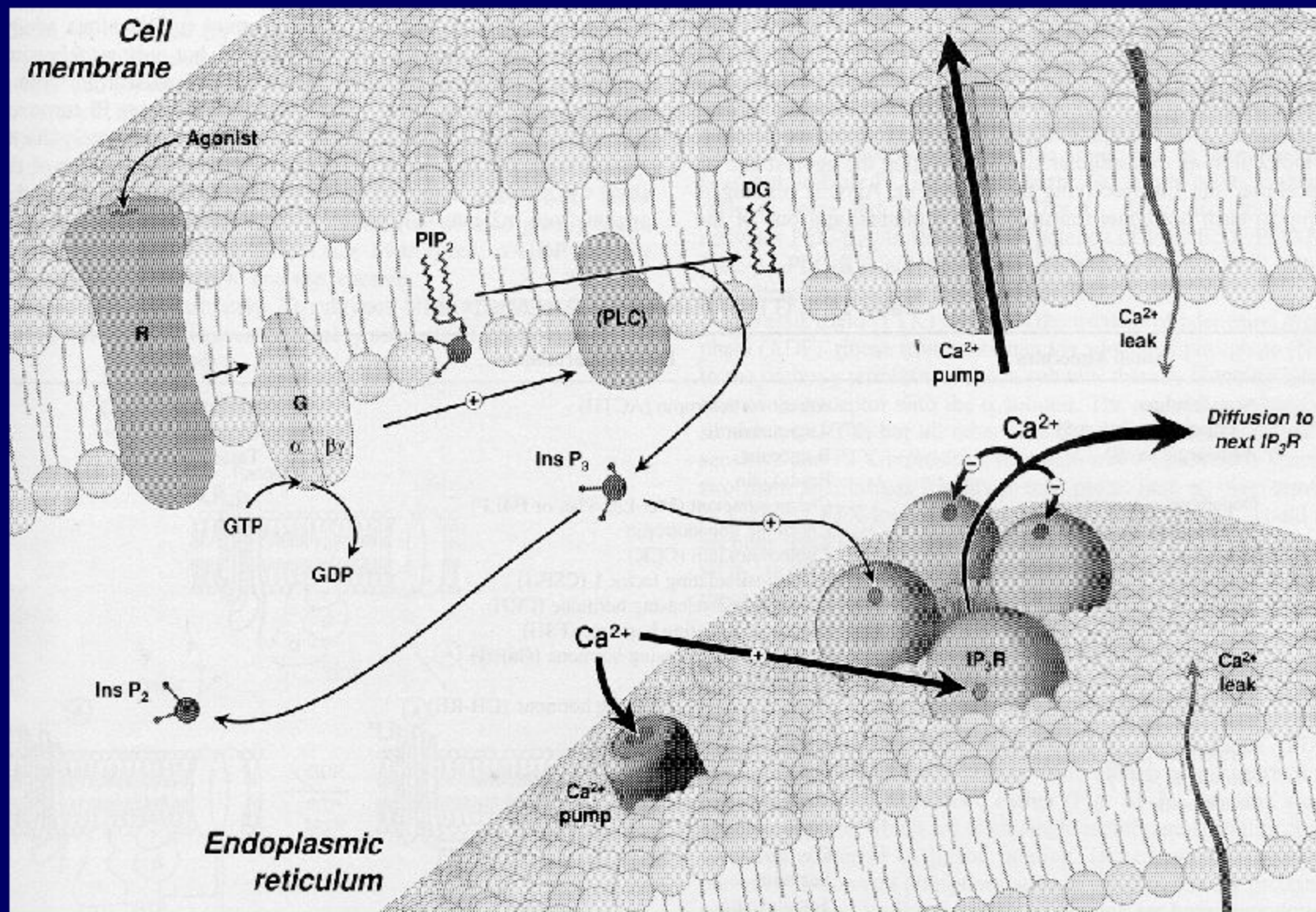
# Потенциал управляемые кальциевые каналы в сердце.

<u>Свойства</u>	<u>T-тип</u>	<u>L-тип</u>
Проводимость (pS)	7 – 10	11 – 25
Порог активации (мВ)	низкий (> - 70 )	высокий (> -30 )
Скорость инактивации	быстрая	медленная
Проводимость	$Va^{2+} = Ca^{2+}$	$Va^{2+} > Ca^{2+}$
Локализация	синусовые клетки	повсеместно
Функция	автоматия	электро-мех. сопряжение, ПД медленного проведения.
<b>Фармакология</b>		
Нифедипин	-	+
Верапамил	-	+
Дилтиазем	-	+
$Cd^{2+}$	-	+
$Ni^{2+}$	+	-
<b>Мибефрадил</b>	+	+

# Локализация, лиганды и физиологическая роль кальциевых каналов.

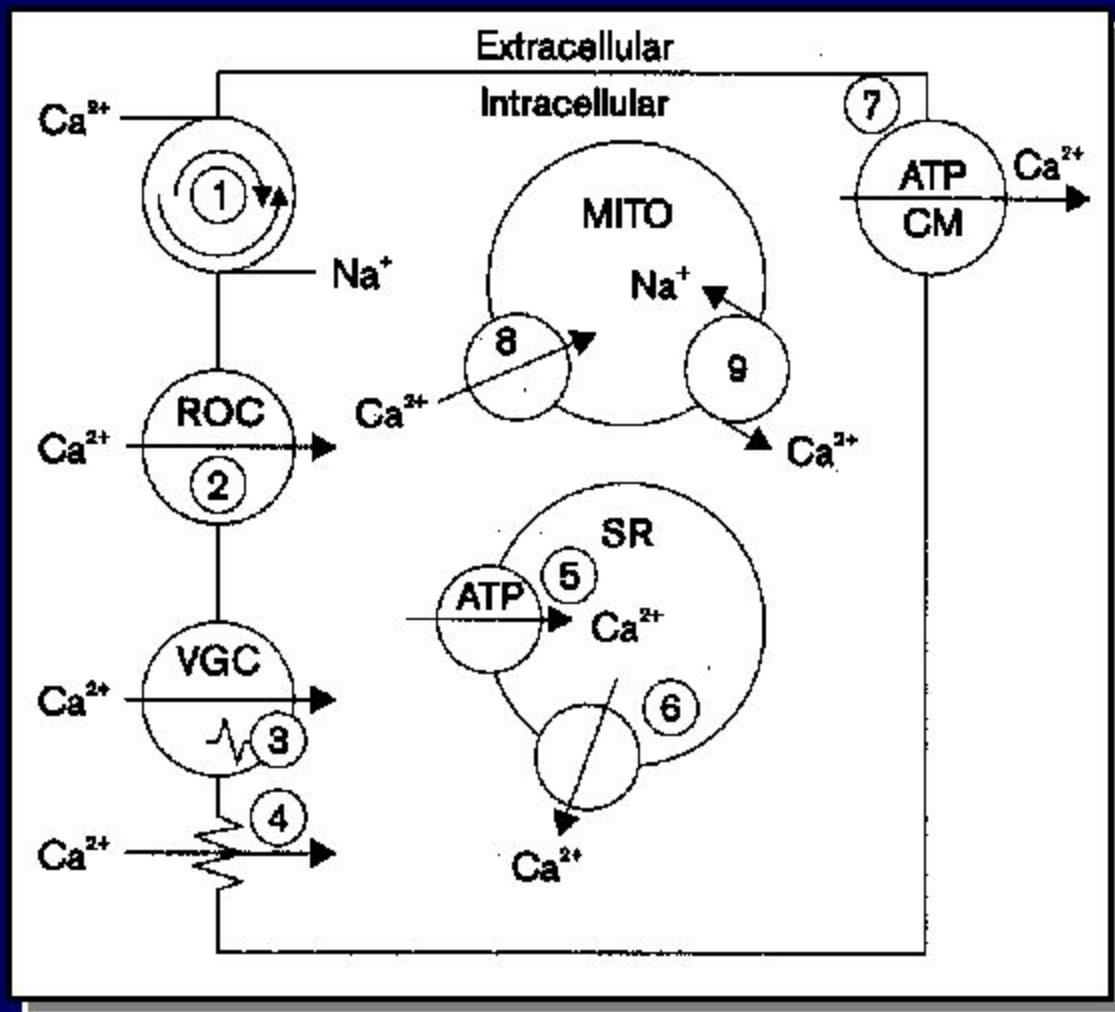
<u>Каналы</u>	<u>Локализация</u>	<u>Лиганды</u>	<u>Физиол. роль.</u>
L-тип	Сарколемма	Дигидропиридины Бензотиазепины Фенилалкиламины	A-B узловое проведение Медленный фронт ПД Электро-механ. сопряж. Фаза плато ПД
T-тип	Сарколемма	Специфического нет	Деполаризация пейсмекера
Каналы, освобождающие Ca (рианодиновый рецептор)	Саркоплазмат. ретикулум	Рианодин	Освобождение Ca из SR
IP 3 рецептор	Саркоплазмат. ретикулум	Инозитол три фосфат	Модуляция освобождения Ca из SR ? другие функции

# Внутриклеточный контроль ионов кальция.





# Пути клеточной регуляции кальция.



1. –  $\text{Na}^+$  -  $\text{Ca}^{2+}$  обмен.

2. – рецептор-оперируемый канал (ROC).

3. - потенциал-управляемый канал (VGC).

4. - путь «утечки».

5,6 -  $\text{Ca}^{2+}$  насос, освобождение кальция из саркоплазм. ретикулума (SR).

7. - плазмалемальный  $\text{Ca}^{2+}$  насос (CM, кальмодулин)

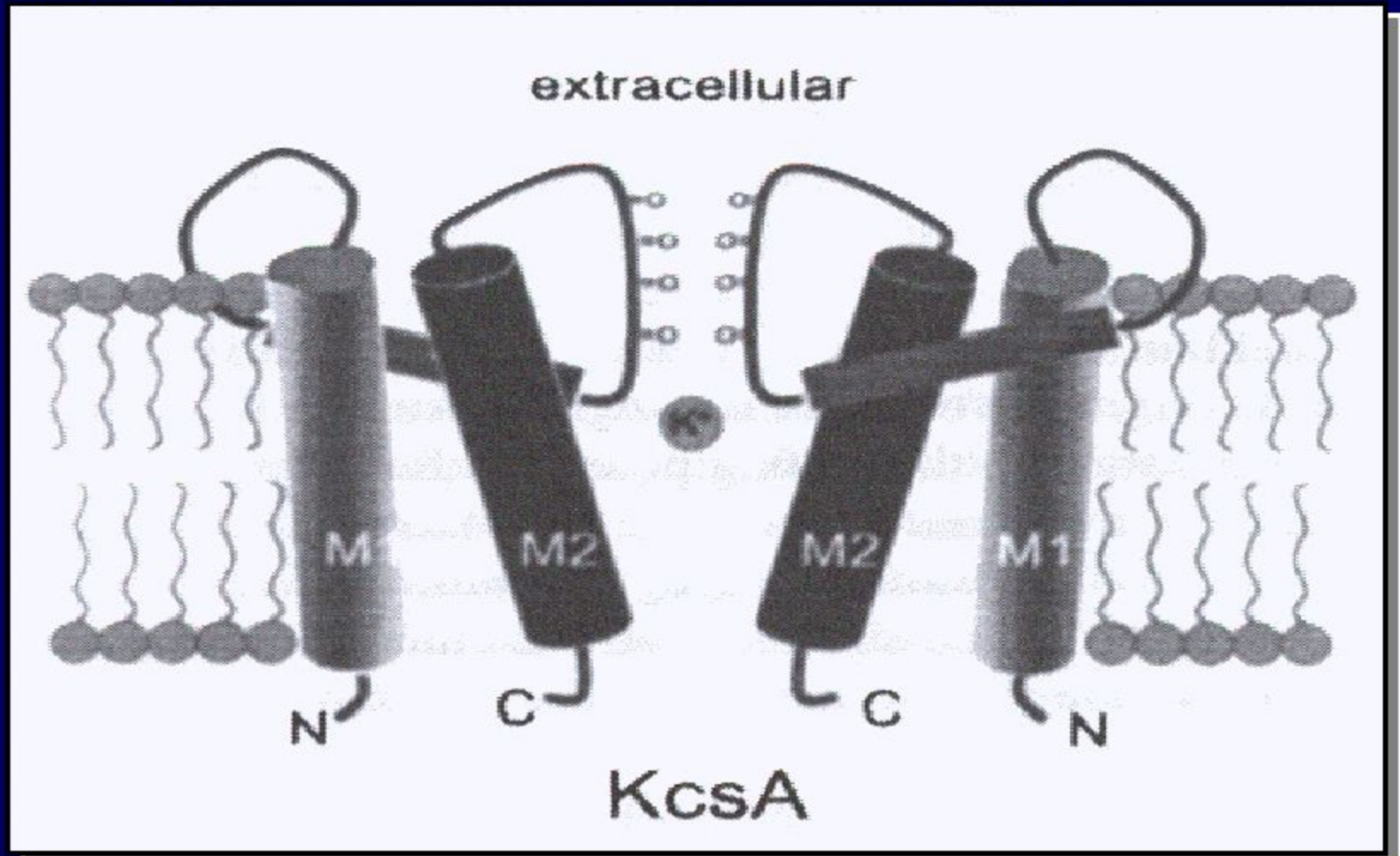
8,9. – процессы захвата и освобождения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями (MITO).

## Ионные токи сердечного волокна, субъединицы каналов и гены.

Токи	Субъединицы каналов	Гены
$I_{Na}$	$\alpha$ -субъединицы $\beta$ -субъединицы	SCN5A SCN5B
$I_{Ca,L}$	$\alpha1$ -субъединицы $\alpha2/\beta$ -субъединицы $\beta2$ - субъединицы	CACNA1C CACNA2 CACNB2
$I_{Ca,T}$	$\alpha1H$ (CAvT.2) $\alpha$ -субъединицы	CACNA1H
$I_{to-epi}$	Kv4.2 $\alpha$ -субъединицы Kv4.3 $\alpha$ -субъединицы	KCND2 KCND3
$I_{to-endo}$	Kv 1.4 $\alpha$ -субъединицы Kv $\beta1.2$ $\beta$ -субъединицы	KCND4 KCNA1
$I_{Kr}$	HERG1 $\alpha$ -субъединицы HERG1B $\alpha$ -субъединицы MiRP1	KCNH2 KCNH2 KCNE2
$I_{Ks}$	KvLQT1 $\alpha$ -субъединицы minK	KCNQ1 KCNE1
$I_{Kur}$	Kv1.5 $\alpha$ -субъединицы	KCNA5
$I_f$	HACNG1 $\alpha$ -субъединицы HACNG2 $\alpha$ -субъединицы HACNG4 $\alpha$ -субъединицы	HCN1 HCN2 HCN4

## Схематическое представление одного из калиевых каналов ( KcsA канала) по данным рентгено-структурного анализа.

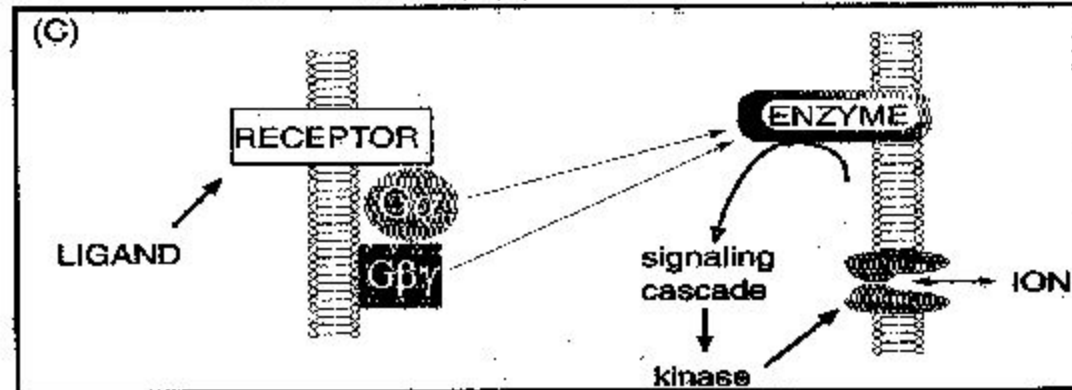
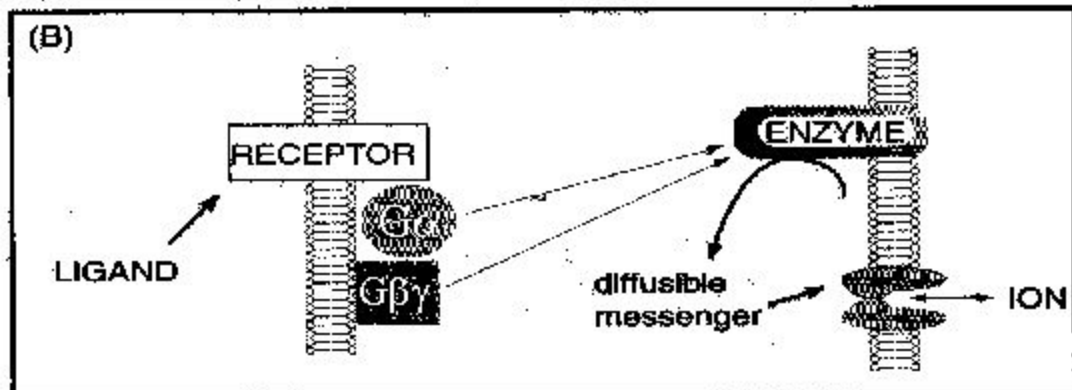
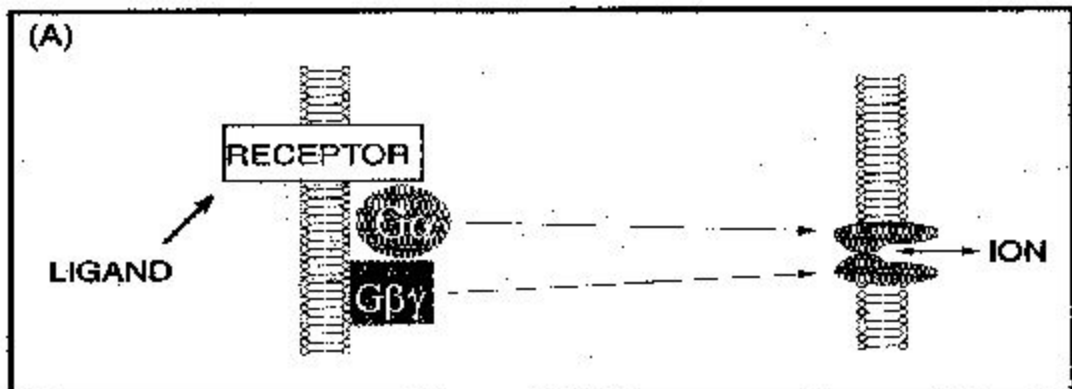
Показаны только две из четырех субъединиц. N и C терминали расположены с внутренней стороны мембраны. Видно два трансмембранных  $\alpha$ -элемента, M1 и M2. Пора формируется M2 элементом вместе с M1, который тесно примыкает к фосфолипидному бислою. Селективный фильтр формируется с помощью основной цепи карбонил кислородных функций P петли.



# Рецепторы кардиомиоцита и ионные каналы:

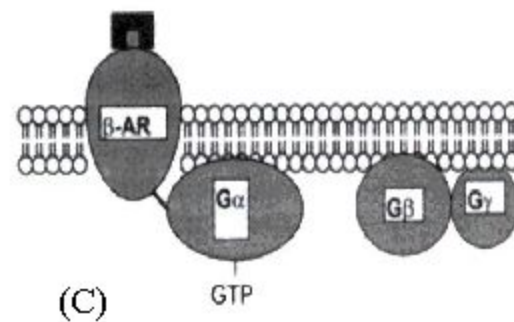
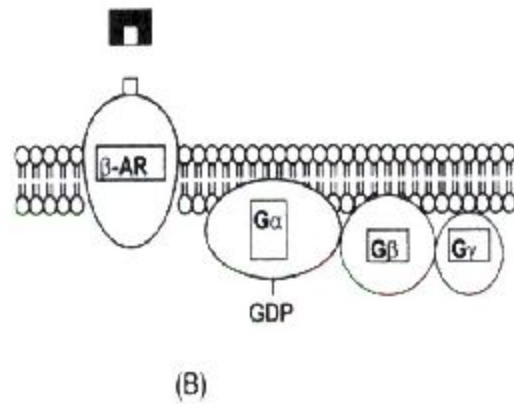
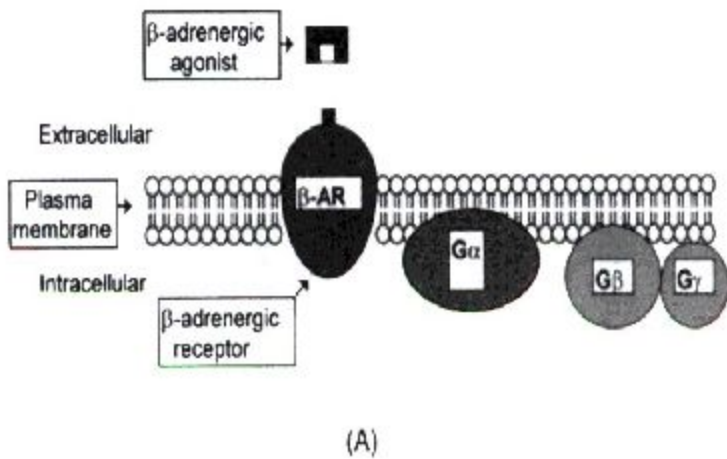
61. Регуляция ионных каналов G-белками.
62. Передача сигналов, связанных с G-белками.
63. Механизмы действия G-белков в кардиомиоцитах.
64. G-белки и фосфорилирование.
65. Передача сигналов с помощью фосфолипаз.
66. Функциональная роль инозитол-три-фосфата и диацилглицерола.
67. Субъединицы G-белков.
68. Подтипы рецепторов для норэпинефрина.
69. Примеры регуляции ионных каналов адренорецепторами.

# Основные механизмы регуляции ионных каналов в сердце с помощью G-белков.



(A) ионный канал может регулироваться путем влияния  $\alpha$ - и  $\beta\gamma$ -субъединиц G-белков. (B) обе  $\alpha$ - и  $\beta\gamma$ -субъединицы могут активировать ферменты, такие как аденилатциклаза и фосфолипаза C, которые вызывают диффузию мессенджеров и они прямо регулируют каналы. (C) вторичные мессенджеры, активированные в (B) могут стимулировать киназы, которые регулируют канал путем его фосфорилирования.

## Передача сигналов, связанных с G-белками.

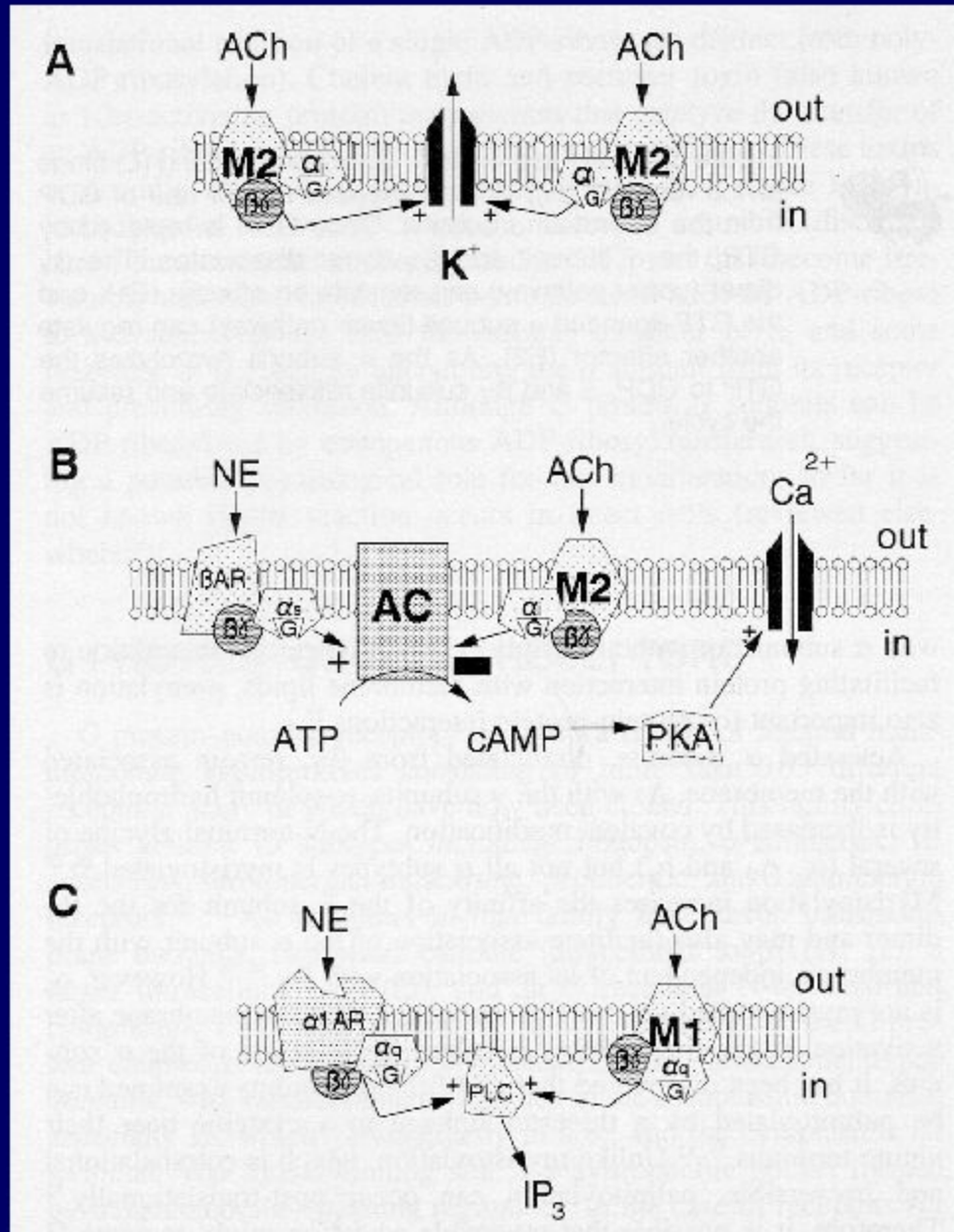


(А)-четыре белка передают сигнал от  $\beta$ -адренергического агониста:  $\beta$ -адренорецептор и три компонента G-белков ( $G\alpha$ ,  $G\beta$  и  $G\gamma$ ).

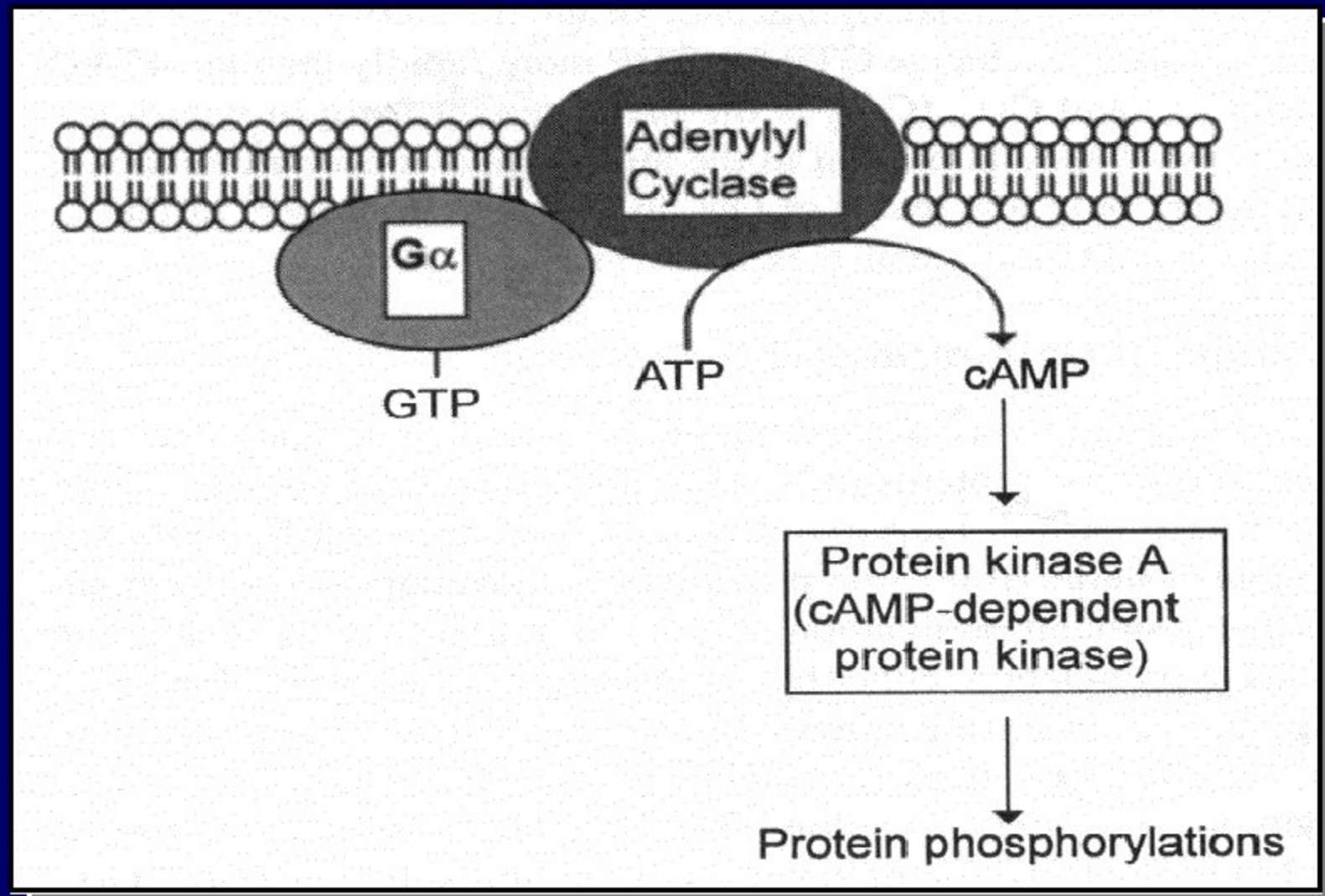
(В) В инактивированной системе, когда рецептор не связан с агонистом,  $G\gamma$  связан с GDP и с  $G\beta$ - $G\gamma$  комплексом. В этом состоянии рецептор и все его G-белки являются неактивными (не заштриховано).

(С) – связывание агониста с рецептором активирует последний, связываясь с  $G\alpha$ ; это приводит к замещению связывания GDP с GTP и диссоциации  $G\beta$ - $G\gamma$  комплекса от  $G\alpha$ -комплекса. В результате все три компонента становятся активными (затенено).

# Механизмы действия G – белков в кардиомиоцитах.



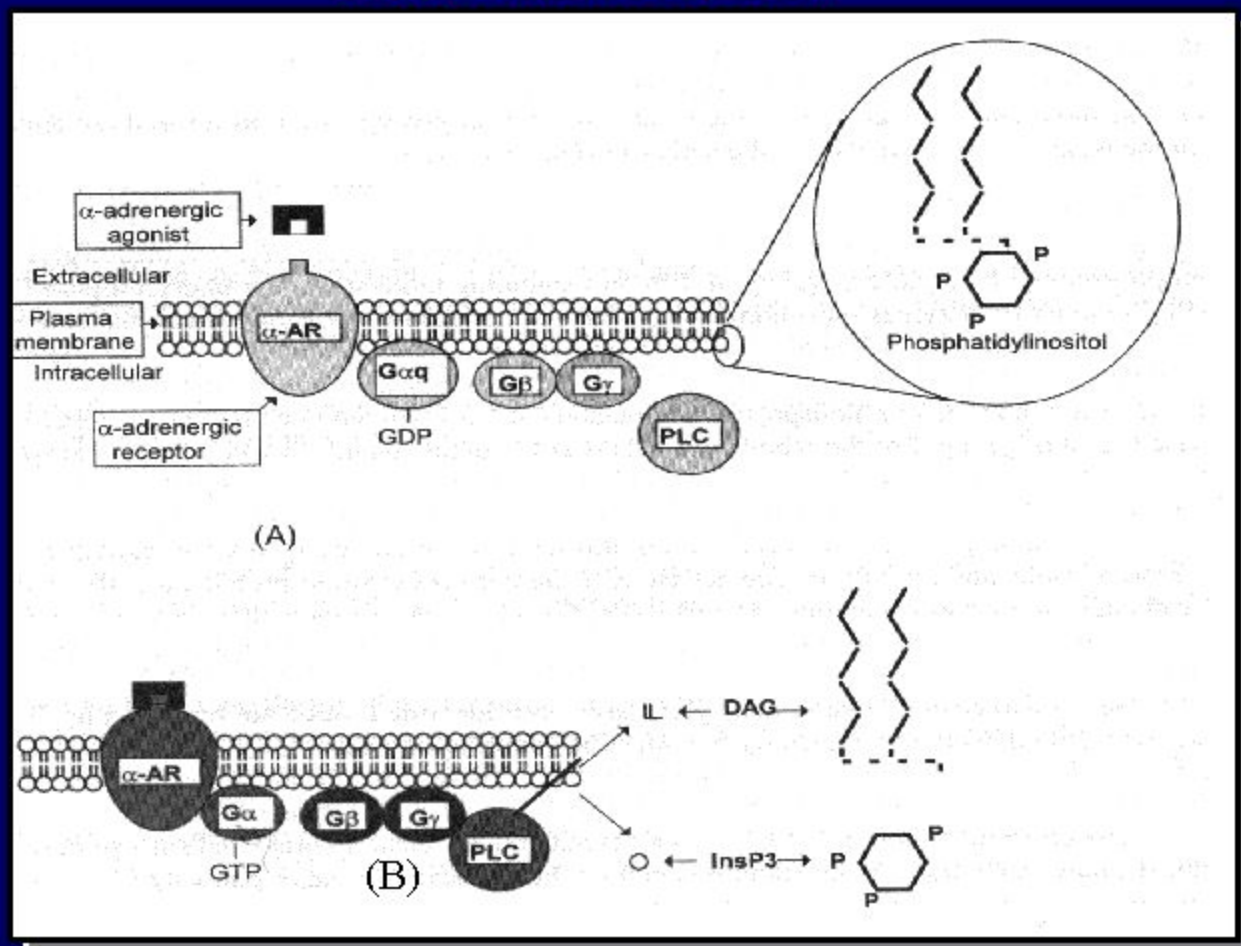
**Gas** , активируя аденилициклазу, образует cAMP из АТФ.  
Эта, активируемая нуклеотидом, cAMP-зависимая киназа фосфорилирует различные белки цитозола.





## Передача сигналов с помощью фосфолипазы (сверху).

Пять белков могут передавать сигнал таких внеклеточных мессенджеров как, ангиотензин II и  $\alpha$ -адреноагонисты: эти рецепторы обозначены здесь как  $\alpha$ -адренорецептор ( $\alpha$ -AR),  $G\alpha$ ,  $G\beta\gamma$  комплекс и липолитический фермент фосфолипаза C (PLC).



# Инозитол-три-фосфат



**Освобождение кальция  
из внутриклеточных  
запасников**

# Диацилглицерол



**Активация  
протеинкиназы С**

## Субъединицы G-белков.

<u>G<math>\alpha</math> (45-55 kD)</u>	<u>G<math>\beta</math> (35-36 kD)</u>	<u>G<math>\gamma</math> (8-10 kD)</u>
G $\alpha_{s(s)}$	$\beta_1$	$\gamma_1$
$\alpha_{s(s)}$ СТХ-чувствит	$\beta_2$	$\gamma_2$
$\alpha_{s(L)}$ СТХ-чувствит	$\beta_3$	$\gamma_3$
$\alpha_{olf}$	$\beta_4$	$\gamma_4$
G $\alpha_i$		$\gamma_5$
$\alpha_{i1,2,3}$ РТХ-чувствит		$\gamma_6$
$\alpha_{OA,OB}$ РТХ-чувствит		$\gamma_7$
$\alpha_{t1,t2}$ СТХ, РТХ		
$\alpha_g$		
$\alpha_z$		
G $\alpha_q$		
$\alpha_q$		
$\alpha_{11}; \alpha_{14}; \alpha_{15}; \alpha_{16}$		
G $\alpha_{12}$		
$\alpha_{12}$		
$\alpha_{13}$		

### Обозначения:

СТХ - ХОЛЕРНЫЙ ТОКСИН

РТХ - ПЕРТУСИСТОКСИН



РКНПК



Мос.квз

# Основные подтипы рецепторов, которые передают действие норэпинефрина.

## $\alpha_1$ - адренорецепторы

сокращение гладких мышц – вазоконстрикция  
натрий в почках  
положительный ( $\alpha 1A$ ) или отрицательный ( $\alpha 1B$ ) хронотропный эффект в сердце

## $\alpha_2$ – адренорецепторы

центральное торможение симпатической активности  
вазодилатация  
торможение сердца

## $\beta_1$ - адренорецепторы

Основной эффект: расслабление гладкой мышцы – вазодилатация  
Умеренный эффект: стимуляция сердца – позитивная инотропия и хронотропия

## $\beta_2$ – адренорецепторы

Стимуляция сердца – положительная инотропия и хронотропия



# Примеры регуляции ионных каналов $\beta$ -адренорецепторами в сердце.

<u>Ионный канал</u>	<u>Сигнал</u>	<u>Эффект</u>
Быстрый Na канал	c-АМФ зависимое фосфорилирование	Сдвиг зависимости от V Изменение в ионной избират.
L-тип Ca канала	c-АМФ зависимое фосфорилирование	Увелич. доступности канала Увеличение $P_0$
K канал задержанного выпрямления	c-АМФ зависимое фосфорилирование	Увеличение максимального тока.
Активация гиперполяризацией ( в пейсмекерах )	прямой эффект c-АМФ, c-АМФ зависимое фосфорилирование	Сдвиг кривой активации к более позитивным потенциалам.
Хлорный ток (CFTR)	прямой эффект c-АМФ	c-АМФ управляемый канал

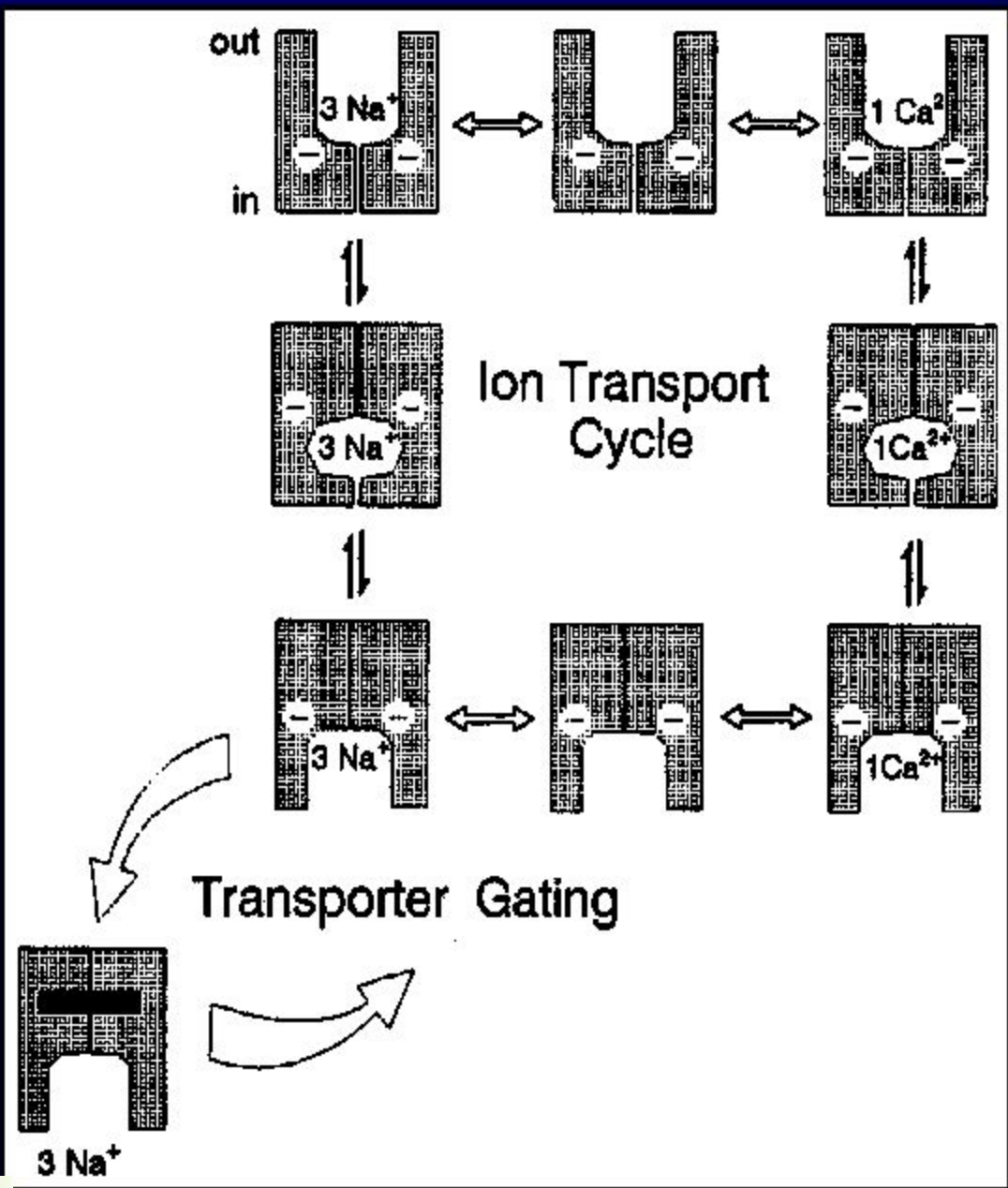
# Ионно-обменные механизмы:

71. Схема натрий-кальциевого обмена.

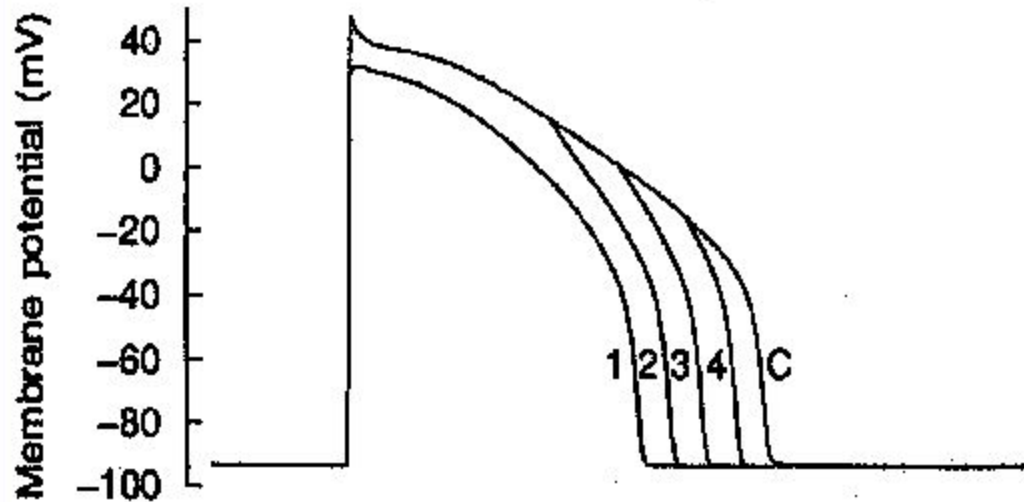
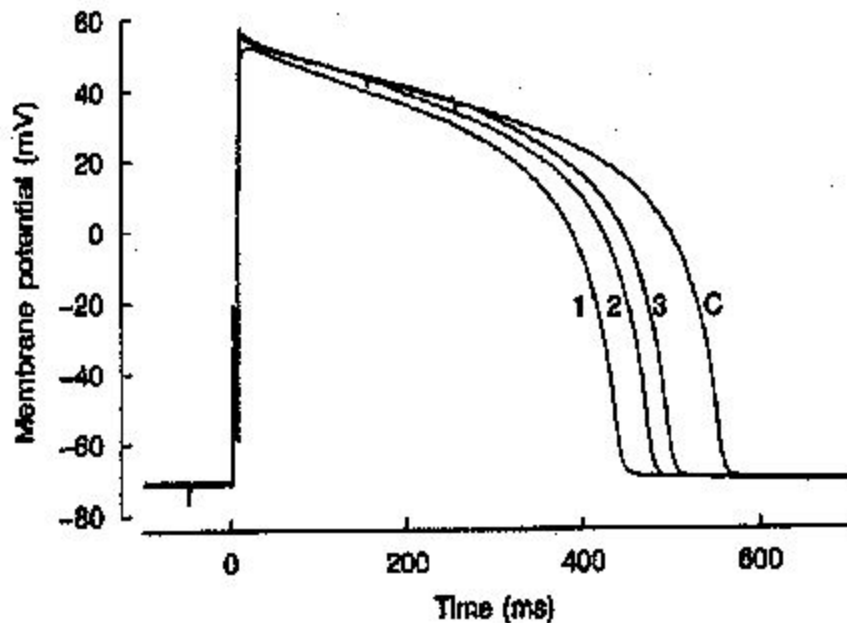
72. Вклад натрий-кальциевого обмена в ПД.

73. Топологическая модель натрий-кальциевого обменника.

74. Схема действия дигиталиса.



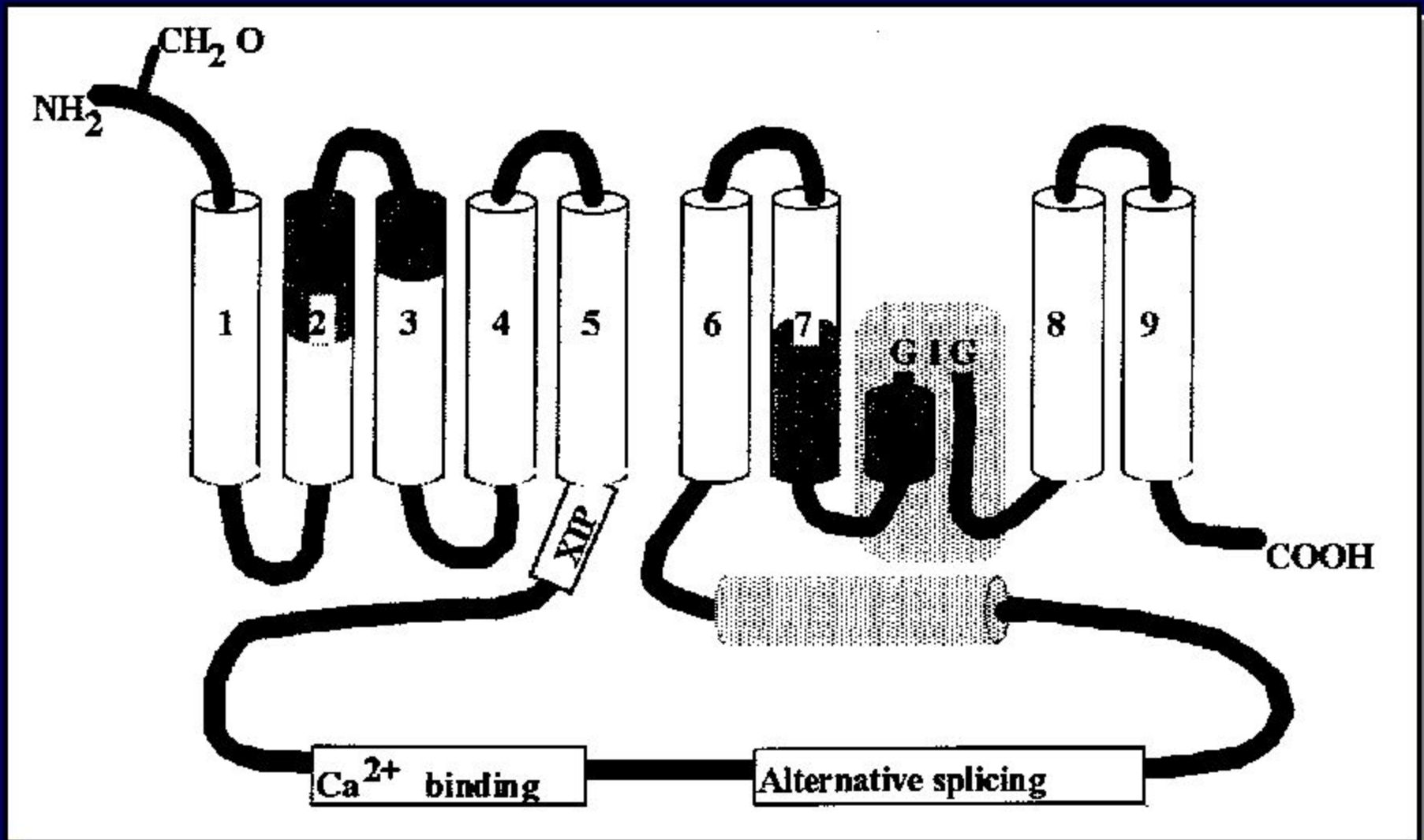
**Минимальный транспорт ионов при натрий-кальциевом обмене.**



**Экспериментальные  
и теоретические  
доказательства  
активности натрий-  
кальциевого обмена  
во время фазы плато  
потенциала  
действия  
желудочковых  
клеток.**



# Модель натрий - кальциевого обменника, состоящего из 9 трансмембранных сегментов.



## Механизм действия дигиталиса.

$DIG + NKA \rightarrow Dig.NKA \rightarrow \underline{Na^+} \rightarrow \underline{Ca^{2+}} \rightarrow PIA \rightarrow Toxic\ effect$

↓  
**Торможение нейротрансмиттерами и т.п.**

↓  
DIG=дигиталис

NKA=Na/K АТФ-за

PIA=полож.инотр. эффект

**Требуемый эффект**

## Рекомендованная литература:

**Гоффман Б., Крейнфилд П. Электрофизиология сердца. Изд. ИЛ Москва, 1962.**

**Розенштраух Л.В.**

гл. «Распространение возбуждения по различным структурам сердца».

гл. «Электрическая структура миокардиальной ткани».

В книге: Руководство по физиологии. Физиология кровообращения.

Физиология сердца. Ленинград «Наука» стр.92-134, 1980.

**Беркенблит М.Б., Розенштраух Л.В.**

гл. «Электрофизиология сердца». В книге: Болезни сердца и сосудов. Т.1.

Под ред. Е.И.Чазова, Москва «Медицина», стр.18-33, 1992.

**Пидопличко В.И., Верхратский А.Н.**

Электрофизиологические исследования одиночных клеток мышцы сердца.

Киев, «Наукова Думка», 1989.

**Физиология и патофизиология сердца. Под редакцией Н. Сперелакиса,**

т.1, т.2. Москва, «Медицина», 1996.

**Cardiac Electrophysiology: A Textbook. In Rosen MR, Janse MJ, Wit AL, eds. Mount Kisco, NY:**

**Futura Publishing Company, Inc.,1990.**

**Cardiac Electrophysiology. From Cell to Bedside. Second Edition.**

Edited by Douglas P. Zipes and Jose´ Jalife. W.B.Saunders Company. 1995.

**Foundation of Cardiac Arrhythmias. Basic Concepts and Clinical Approaches.**

Edited by Peter M. Spooner and Michael R. Rosen.

Marcel Dekker, Inc., New York – Basel. 2001.