

# Цикл лекций по физиологии нервной системы

2012-2013 г.г.

Профессор Лев Гиршевич Магазаник,  
Профессор Николай Петрович Веселкин  
Медицинский факультет СПбГУ

## Лекция 1



- Электрогенез клетки. Мембранный потенциал
- Электрические сигналы, (локальный потенциал и потенциал действия)
- Ионные каналы и рецепторы

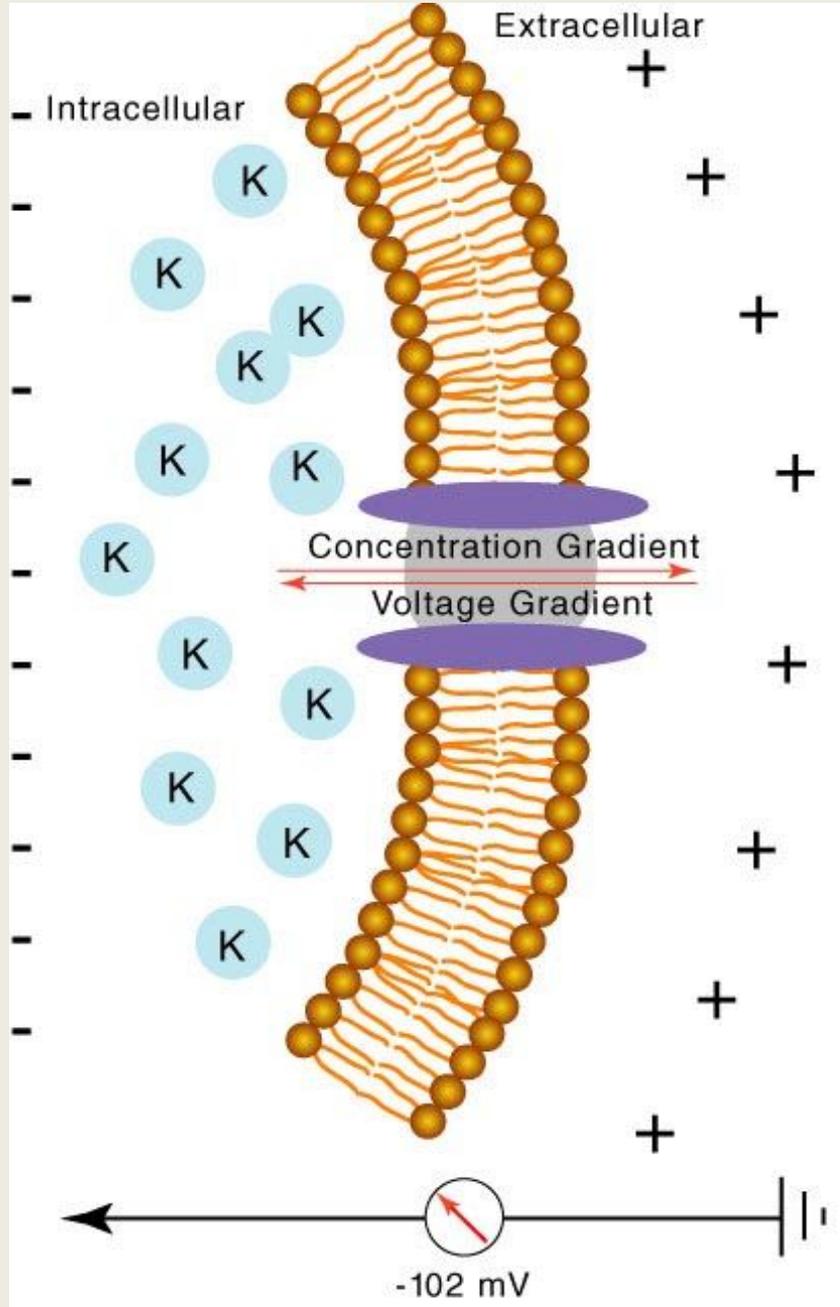
# 1. Электрогенез клетки





- **Frederick George Donnan (September 6, 1870 – December 16, 1956) was an Irish physical chemist who is known for his work on membrane equilibria, and commemorated in the Donnan equilibrium describing ionic transport in cells. He spent most of his career at University College London.**

FIGURE 3 The equilibrium potential is influenced by the concentration gradient and the voltage difference across the membrane. Neurons actively concentrate  $K^+$  inside the cell. These  $K^+$  ions tend to flow down their concentration gradient from inside to outside the cell. However, the negative membrane potential inside the cell provides an attraction for  $K^+$  ions to enter or remain within the cell. These two factors balance one another at the equilibrium potential, which in a typical mammalian neuron is  $-102$  mV for  $K^+$ .



# Равновесие Доннана

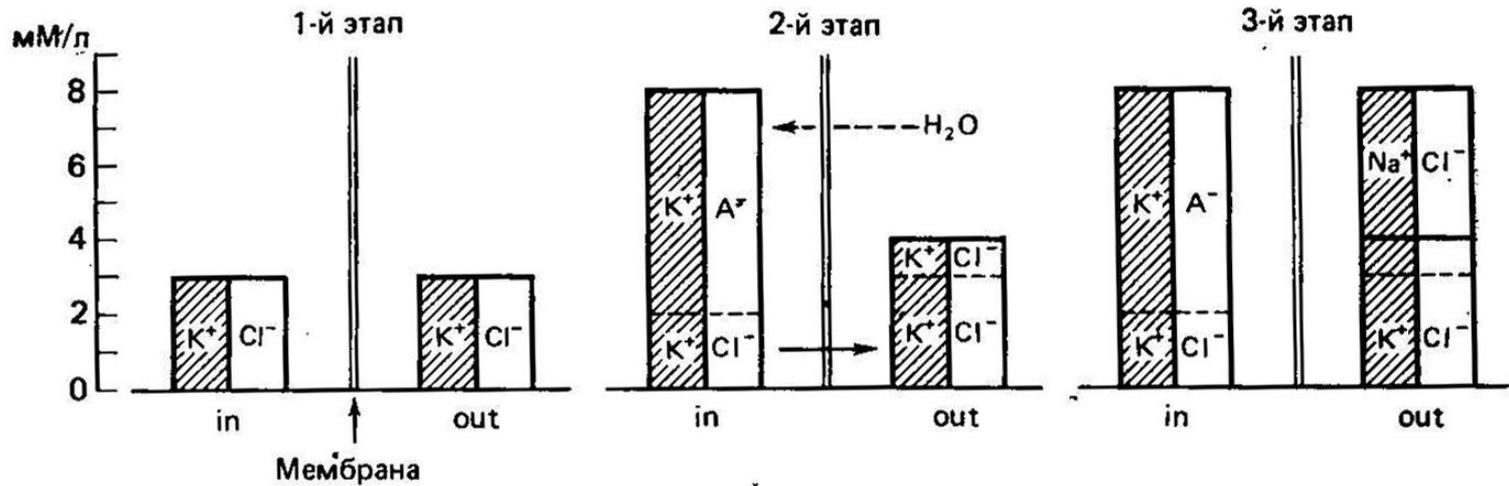


Рис. 6.3. Этапы установления равновесия Доннана (описание см. в тексте).

$$\frac{[K^+]_{out}}{[K^+]_{in}} = \frac{[Cl^-]_{in}}{[Cl^-]_{out}}$$

# Концентрация ионов снаружи и внутри клетки, мМ/л

Ионы	Аксон кальмара		Мышечное волокно (лягушка)	
	внутри клетки	снаружи клетки	внутри клетки	снаружи клетки
$K^+$	397	20	124	2.2
$Na^+$	50	437	4	109
$Cl^-$	40	556	1.5	77

# Концентрация ионов в цитозоле и внеклеточной среде нейрона млекопитающего (в мМ/л)

	Плазма крови	Интерстициальная жидкость	Цитозоль
•[Na <sup>+</sup> ]	142	142	14
•[K <sup>+</sup> ]	4,5	4	140
•[Ca <sup>2+</sup> ]	2,5	2,5	50 нмоль/л
[Mg <sup>2+</sup> ]	0,6	0,55	1
•[Cl <sup>-</sup> ]	126	120	8
•[HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]	20	24	10
Органические анионы	15	11	137
<b>pH</b>	7,4	7,4	7,2
<b>Осмолярность, мОсм/л</b>	292	292	292

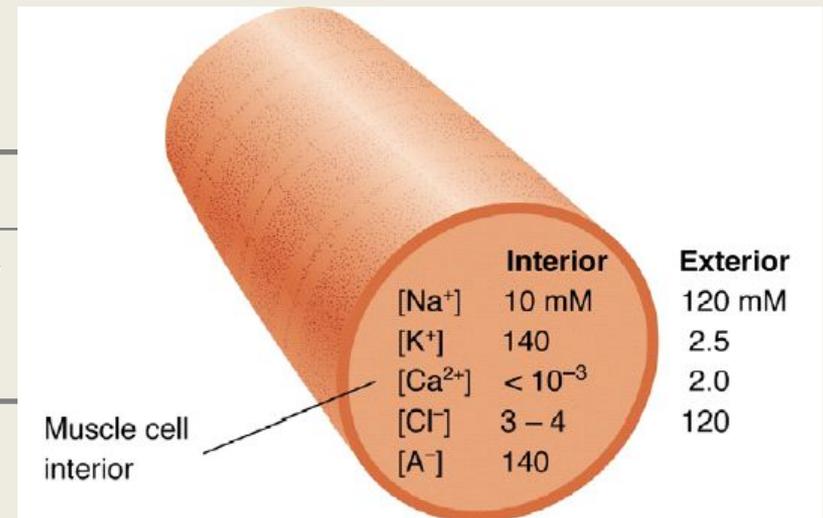
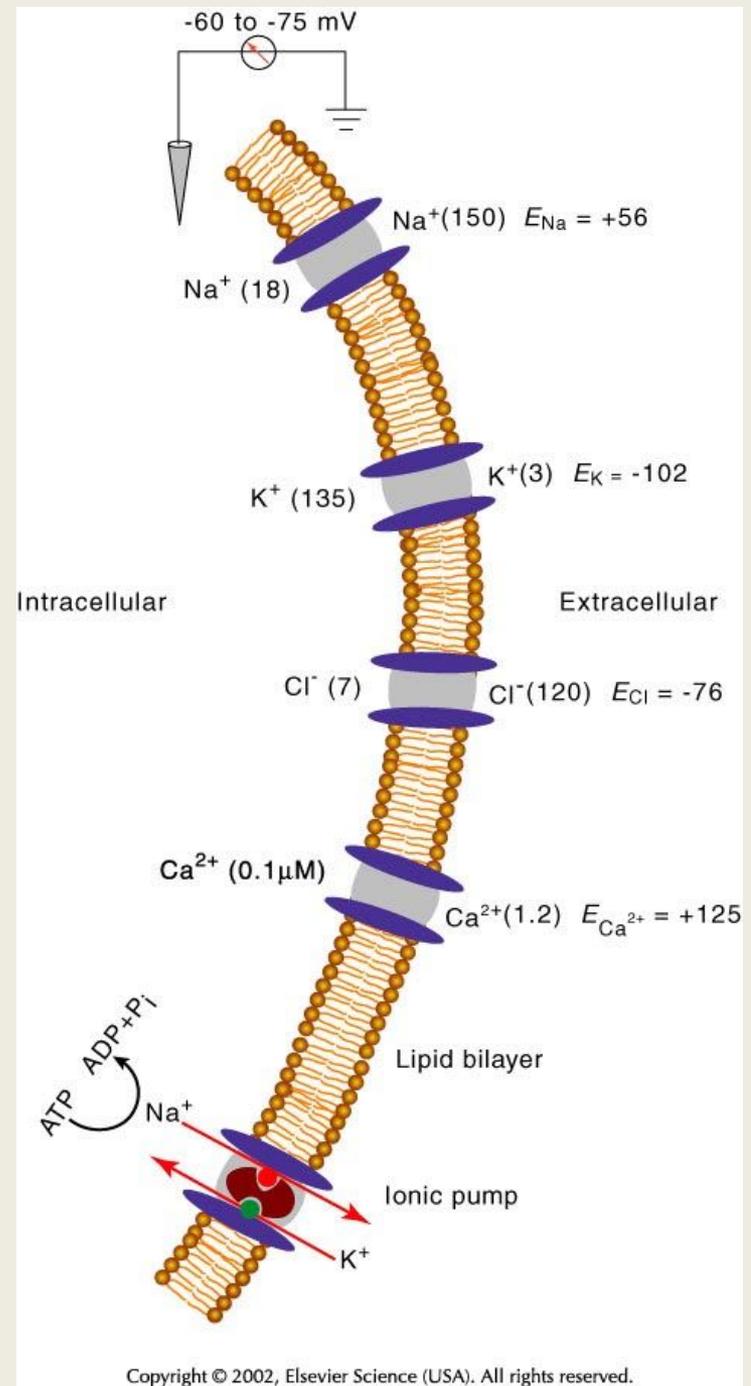


FIGURE 2 Differential distribution of ions inside and outside plasma membrane of neurons and neuronal processes, showing ionic channels for  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , and  $\text{Ca}^{2+}$ , as well as an electrogenic  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ionic pump (also known as  $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATPase}$ ). Concentrations (in millimoles except that for intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ ) of the ions are given in parentheses; their equilibrium potentials (E) for a typical mammalian neuron are indicated.



(b)

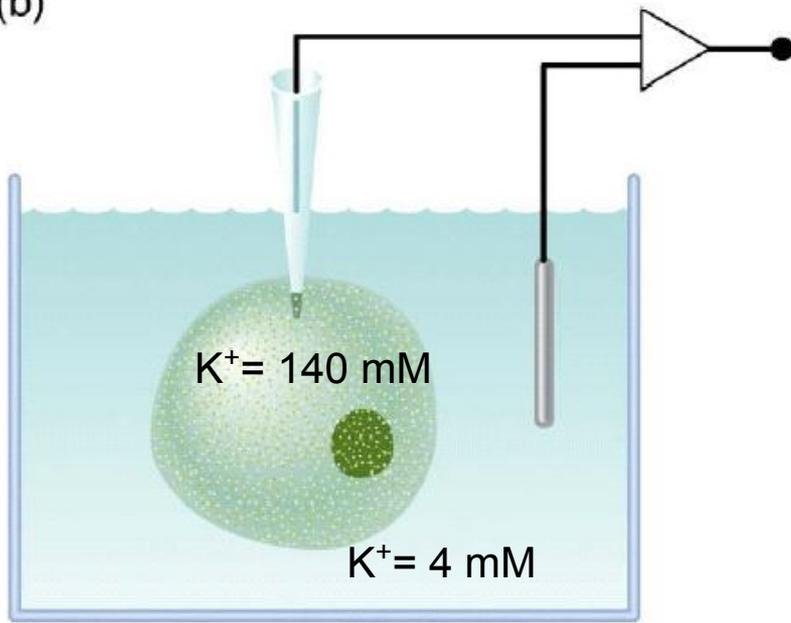
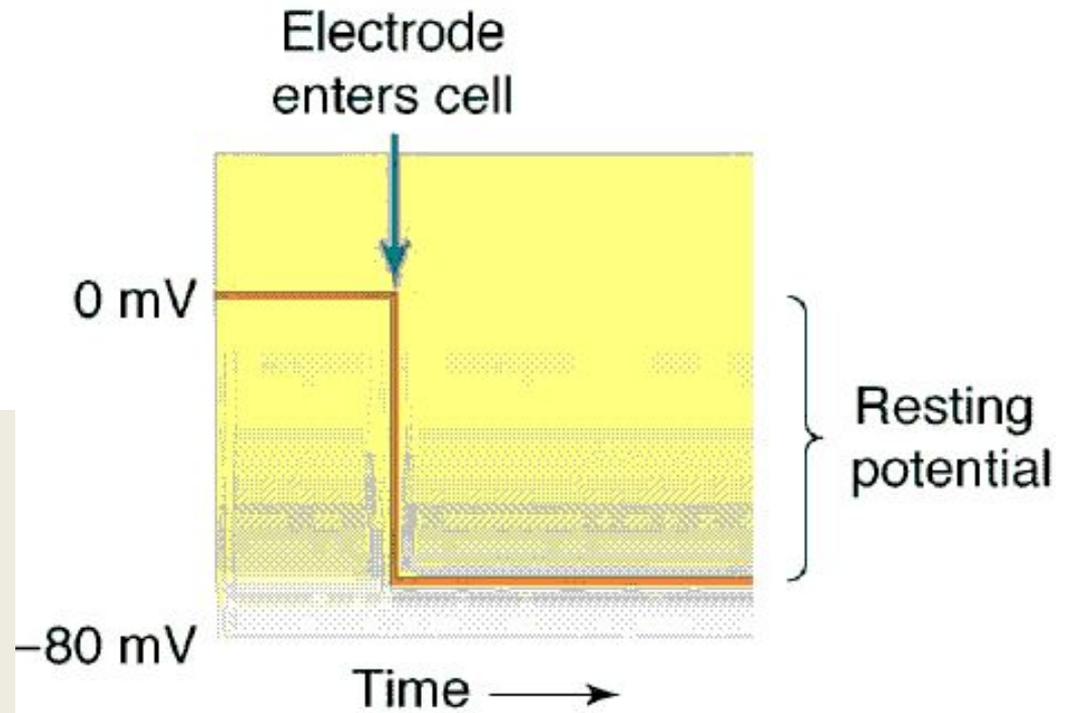


Схема опыта по измерению мембранного потенциала клетки

Уравнение Нернста

$$E_K = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K]_o}{[K]_i} = 58 \log \frac{[K]_o}{[K]_i}$$



«Если при изучении нейробиологии вам удастся запомнить хотя бы одно уравнение, то пусть это будет уравнение Нернста!» (Г.Шеперд)

Вальтер Герман Нернст —  
немецкий химик, лауреат  
Нобелевской премии по  
химии в 1920 году «в  
признание его работ по  
термодинамике».



# Ионные потоки через мембрану клетки

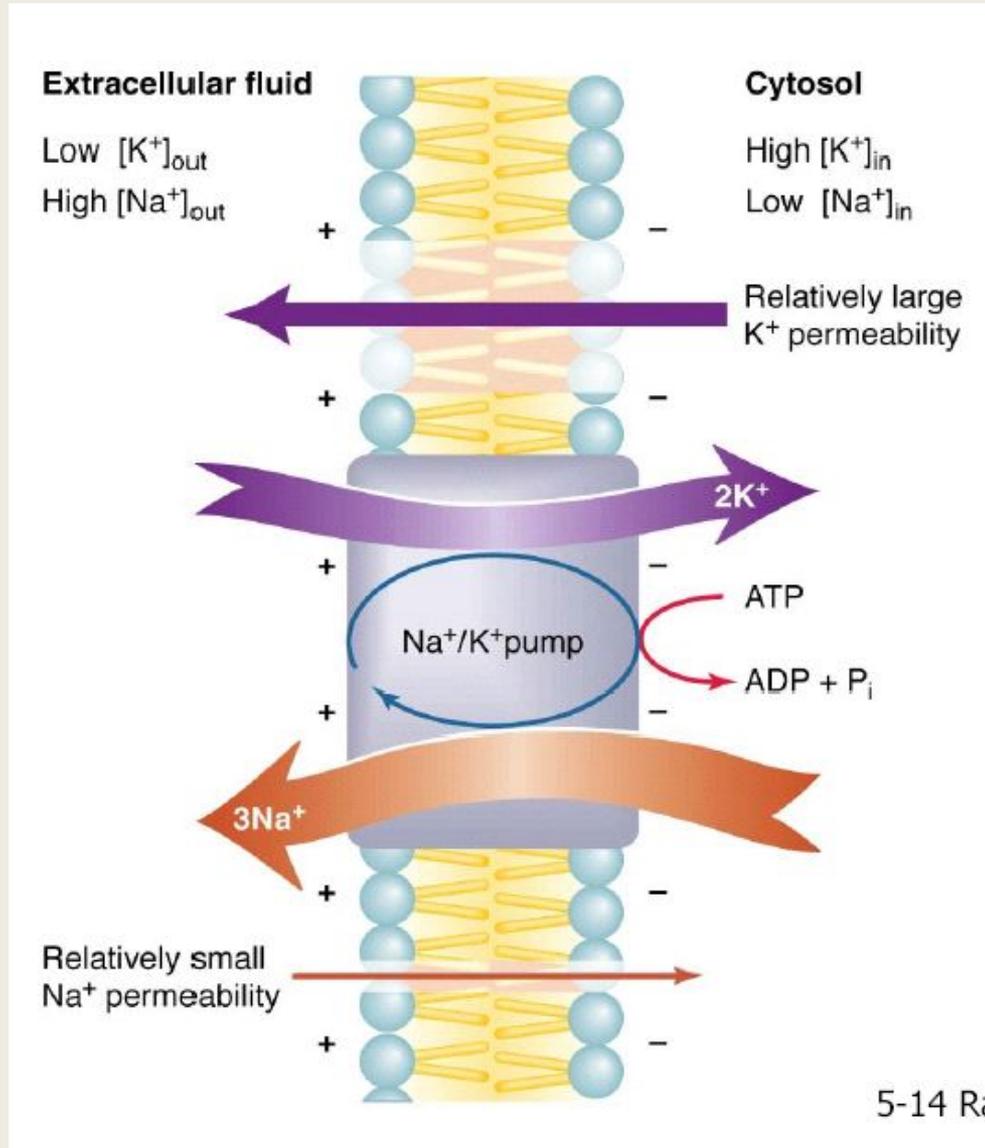
## Снаружи

Мало калия

Много натрия

Активный транспорт калия внутрь и натрия наружу

Низкая натриевая проницаемость



## Внутри

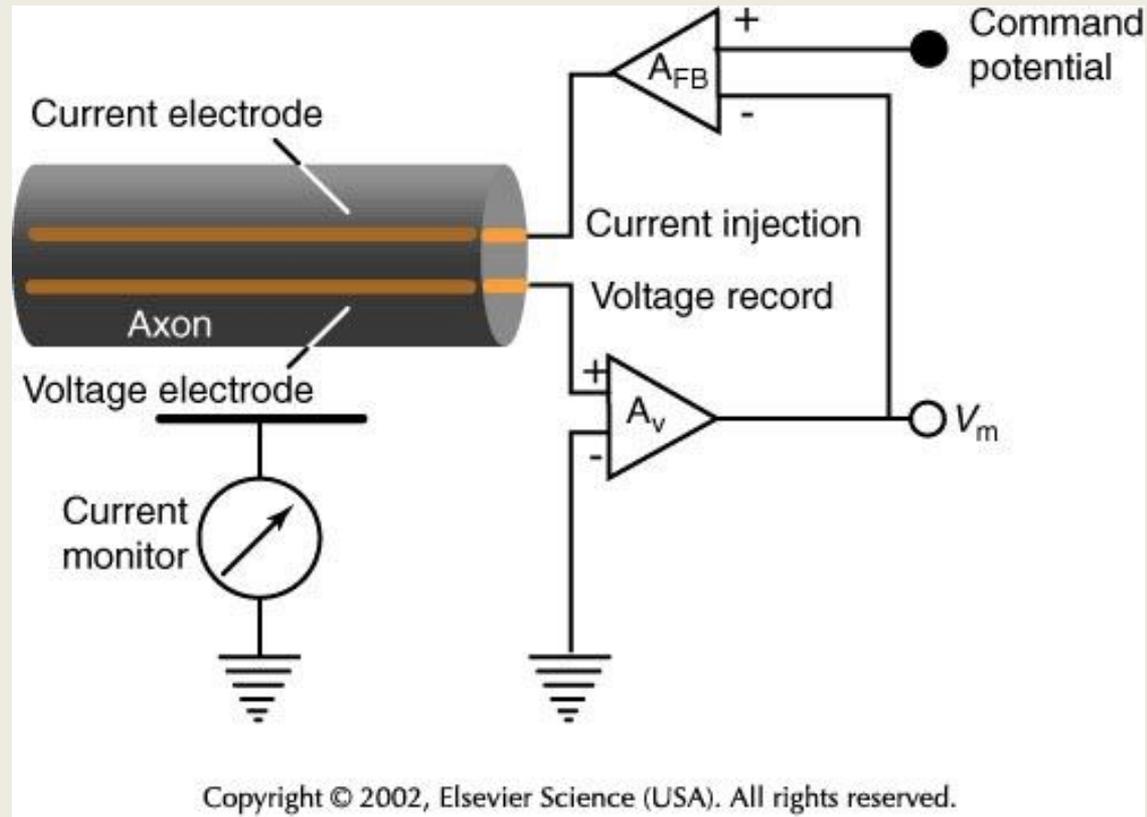
Много калия

Мало натрия

Высокая калиевая проницаемость

FIGURE 5 The voltage-clamp technique keeps the voltage across the membrane constant so that the amplitude and time course of ionic currents can be measured.

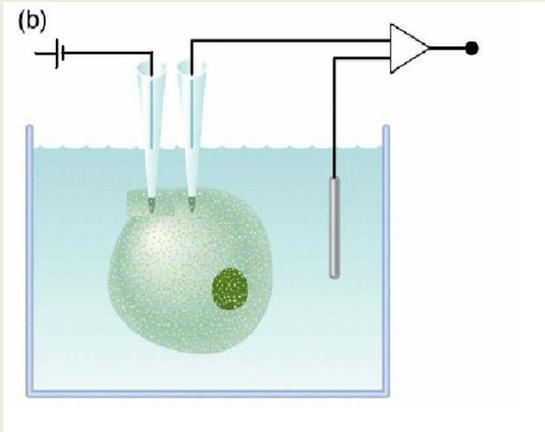
In the two-electrode voltage-clamp technique, one electrode measures the voltage across the membrane while the other injects current into the cell to keep the voltage constant. The experimenter sets a voltage to which the axon or neuron is to be stepped (the command potential)



2. Электрические сигналы,  
возникающие в нервной клетке  
(локальный потенциал и  
потенциал действия)

*Что вызывает  
локальные потенциалы?*

# Типы локальных потенциалов



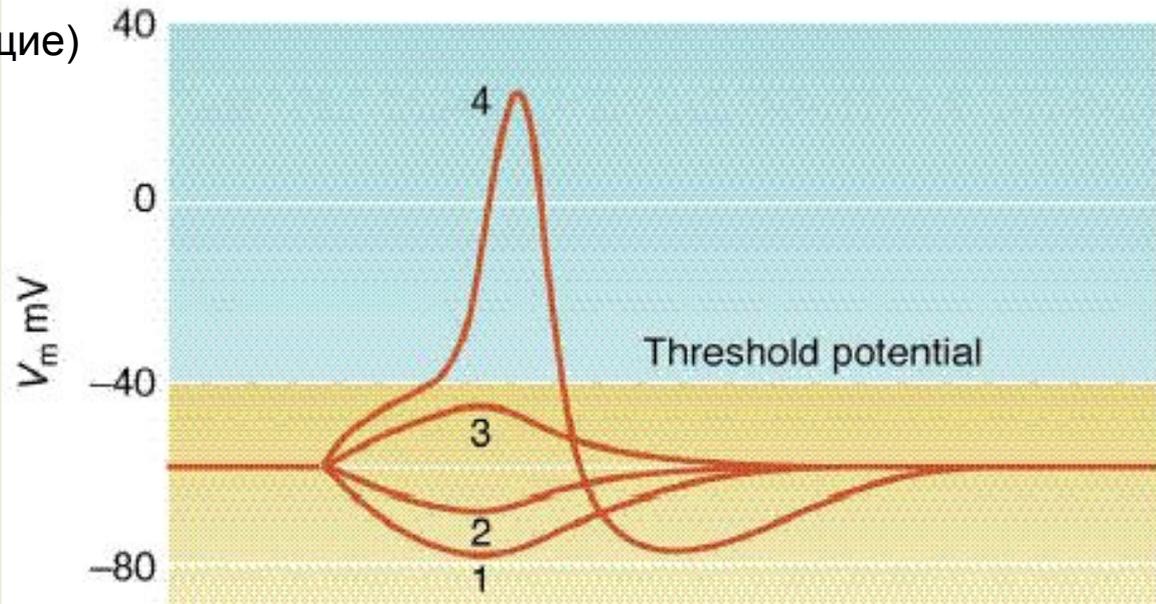
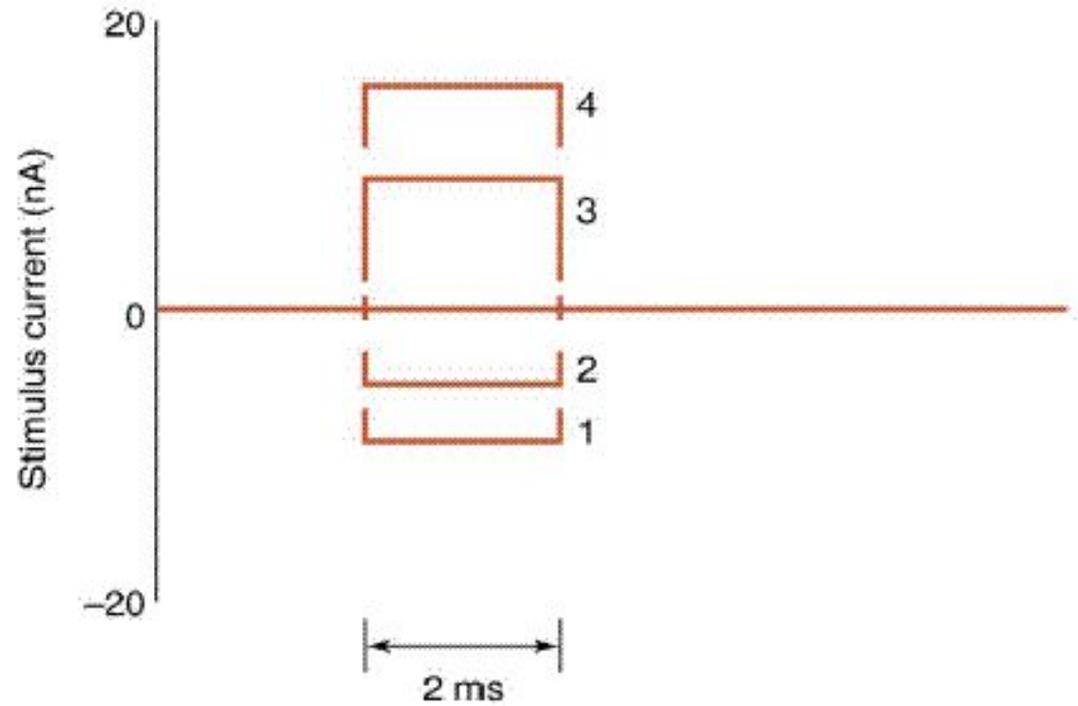
Локальные потенциалы градуальны:

1 и 2 гиперполяризующие (тормозящие)

3 деполяризующий (возбуждающий)

4 если амплитуда возбуждающего потенциала достигает уровня порога (порогового потенциала), возникает потенциал действия

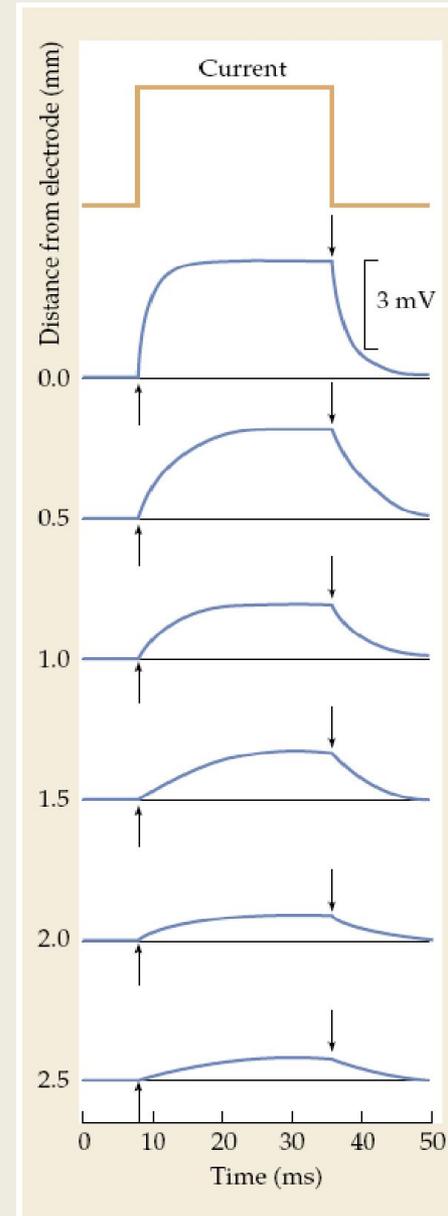
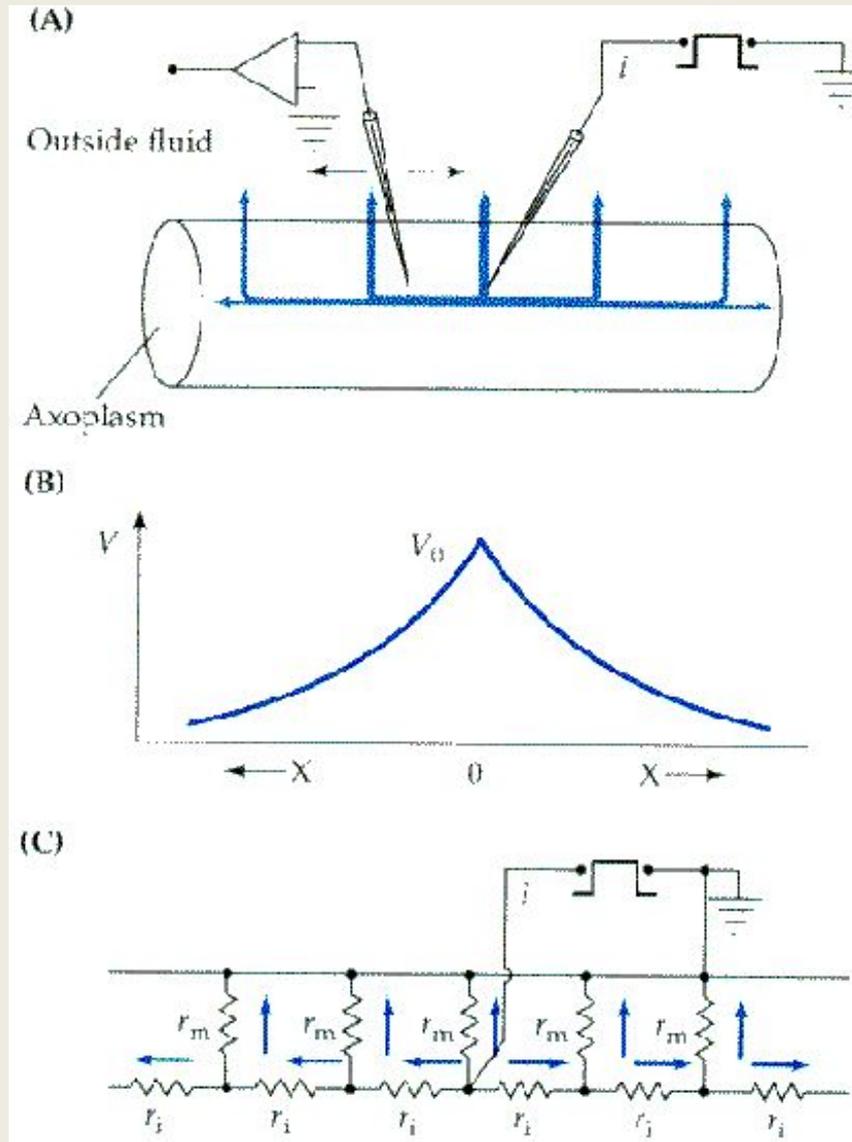
Потенциал действия имеет стандартную амплитуду:



# Локальные потенциалы

Пассивное распространение электротонического потенциала вдоль нервного проводника (с декрементом, т.е. затуханием)

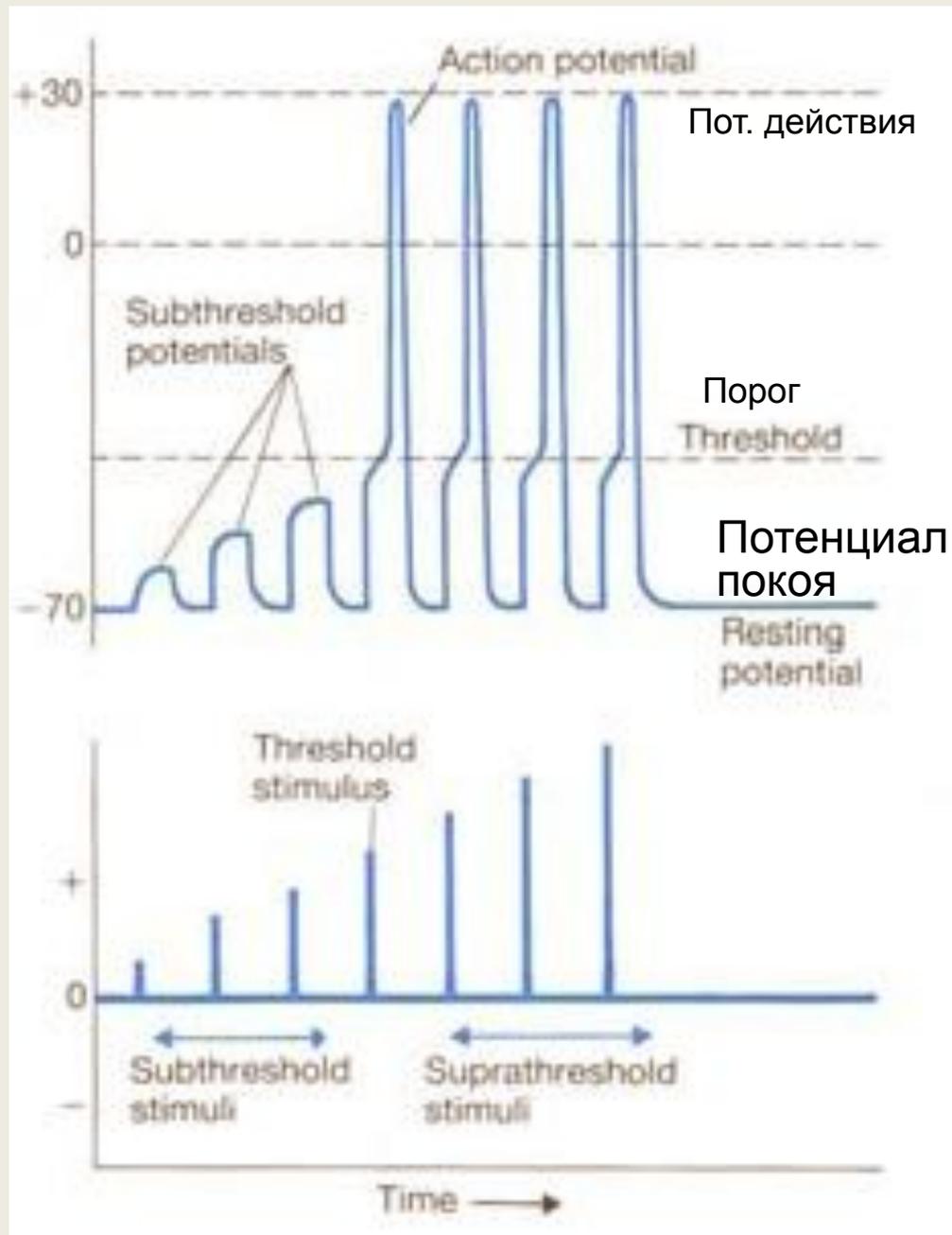
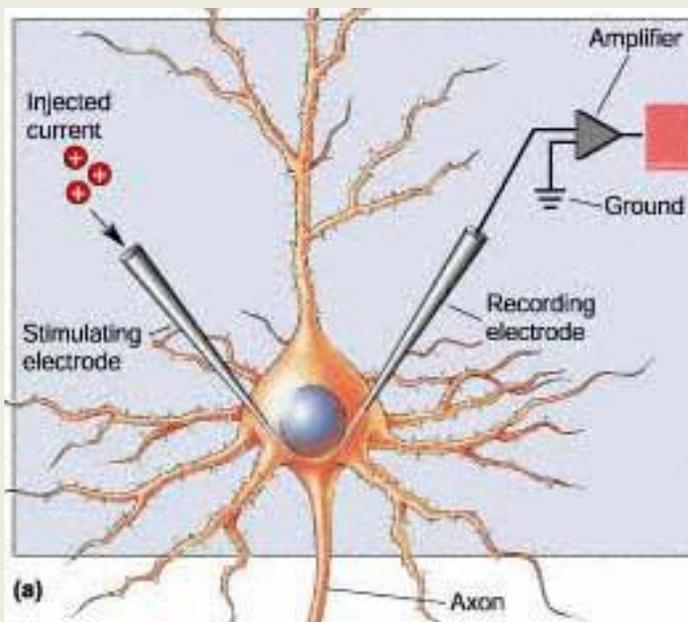
Большинство нервных сигналов локальны, т.е. эффективны только вблизи места их генерации



# Локальный потенциал

- - локальный ответ распространяется декрементно, т. е. по мере удаления от места раздражения его величина постепенно уменьшается до нуля,
  - - он подчиняется закону градуальности: чем больше величина подпорогового раздражителя, тем выраженнее локальный ответ (деполяризация),
  - - локальный ответ не имеет периода рефрактерности (невозбудимости);
  - - локальный ответ способен суммироваться.
- 
- **НЕ ПУТАТЬ** распространение с проведением потенциала действия по волокну !

Если локальный деполярирующий стимул достиг уровня порога, то появляются условия для генерации потенциала действия

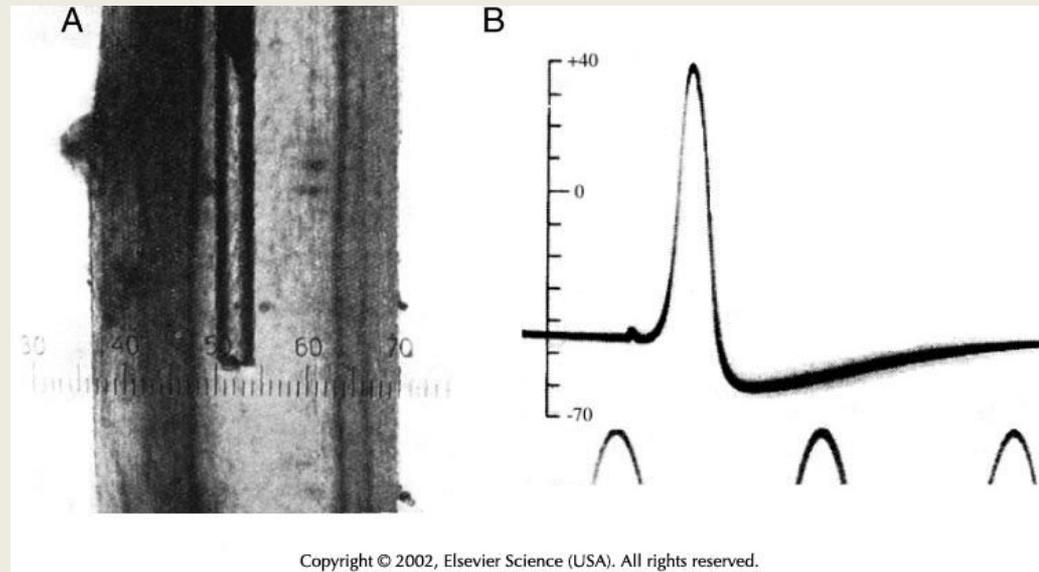


# Потенциал действия

FIGURE 1 Intracellular recording of the membrane potential and action potential generation in the squid giant axon.

(A) A glass micropipette, about 100  $\mu\text{m}$  in diameter, was filled with seawater and lowered into the giant axon of the squid after it had been dissected free. The axon is about 1 mm in diameter and is transilluminated from behind.

(B) One action potential recorded between the inside and the outside of the axon. Peaks of a sine wave at the bottom provided a scale for timing, with 2 ms between peaks. From Hodgkin and Huxley (1939).

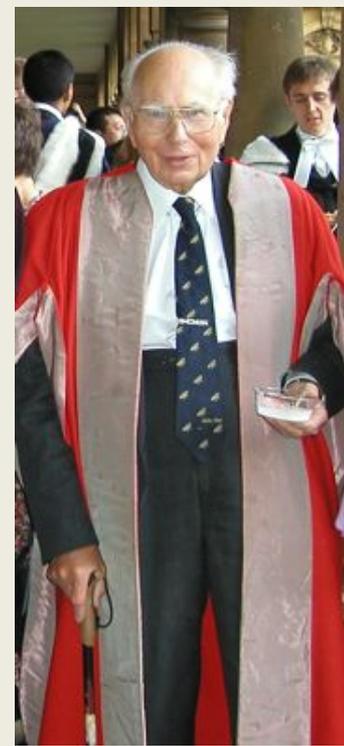


Обладает относительно постоянной амплитудой, подчиняется закону «все или ничего», воспроизводится по мере распространения по нерву. Поэтому нервный импульс может передаваться на большие расстояния

# Алан Ходжкин



**Родился: 5 февраля 1914 г.,  
Банбери, Великобритания  
Умер: 20 декабря 1998 г.,  
Кембридж, Великобритания**



**Эндрю Филдинг Хаксли**  
*Andrew Fielding Huxley*

выдающийся нейрофизиолог и биофизик,  
лауреат Нобелевской премии по физиологии и  
медицине (1963)

**Дата рождения: 22 ноября 1917**

**Место рождения: Лондон, Англия**

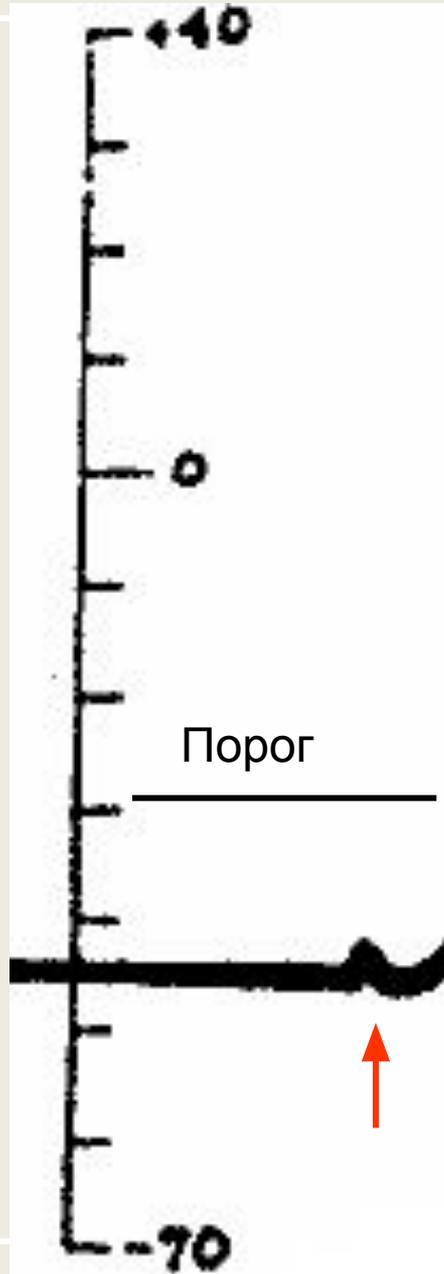
**Дата смерти: 30 мая 2012 (94 года)**

# Мембранный потенциал и потенциал действия



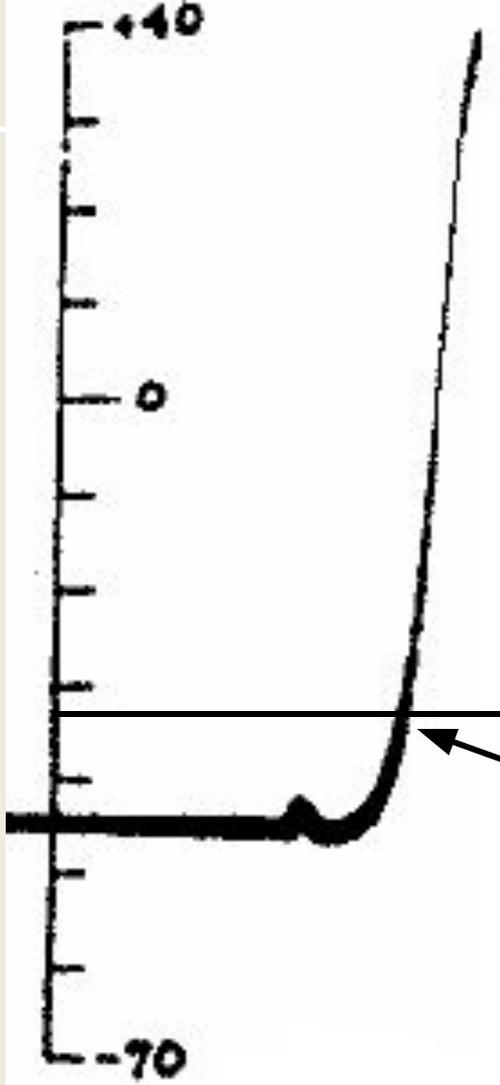
## Начальный этап генерации потенциала действия

Все начинается с появления локального потенциала. Если его амплитуда достигает определенного уровня (порогового), происходит переход к следующему этапу ...



Локальный потенциал

Возбуждающий стимул

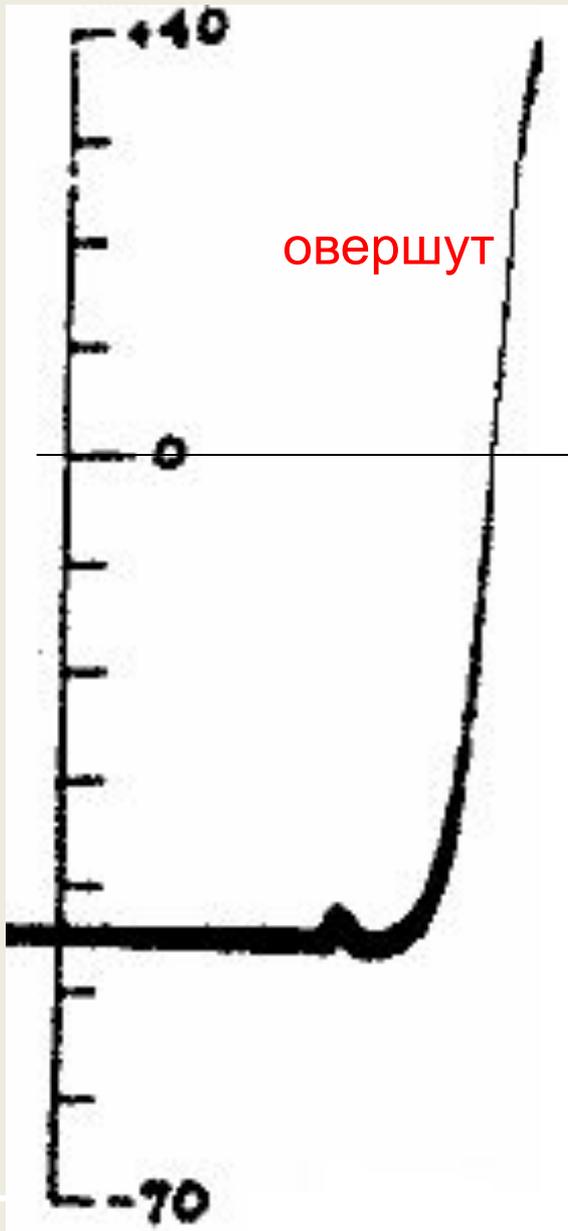


Локальный потенциал активирует сначала небольшое число самых чувствительных Na-каналов, но входящий через них  $\text{Na}^+$  дополнительно деполаризует мембрану, что при достижении порога вызывает лавинообразное открытие большинства Na-каналов и тем самым глубокую деполаризацию мембраны

Порог генерации потенциала действия

**Положительная обратная связь**



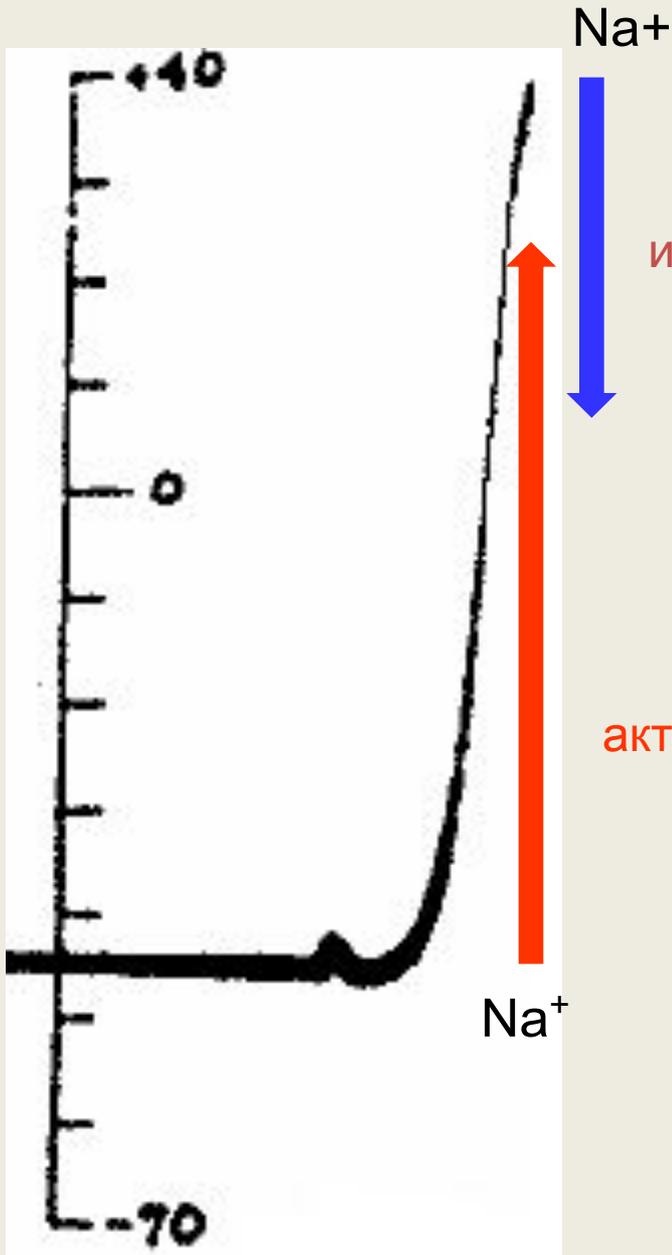


## Пик потенциала действия (ПД)

Когда большинство натриевых каналов открыты – потенциал на мембране во время пика достигает уровень натриевого равновесного потенциала  $E_{Na}$

При этом разность потенциалов на мембране начинает превышать исходный (в покое). Происходит на короткое время смена знака зарядов на поверхности мембраны -

**овершут**



## Начало спада потенциала действия

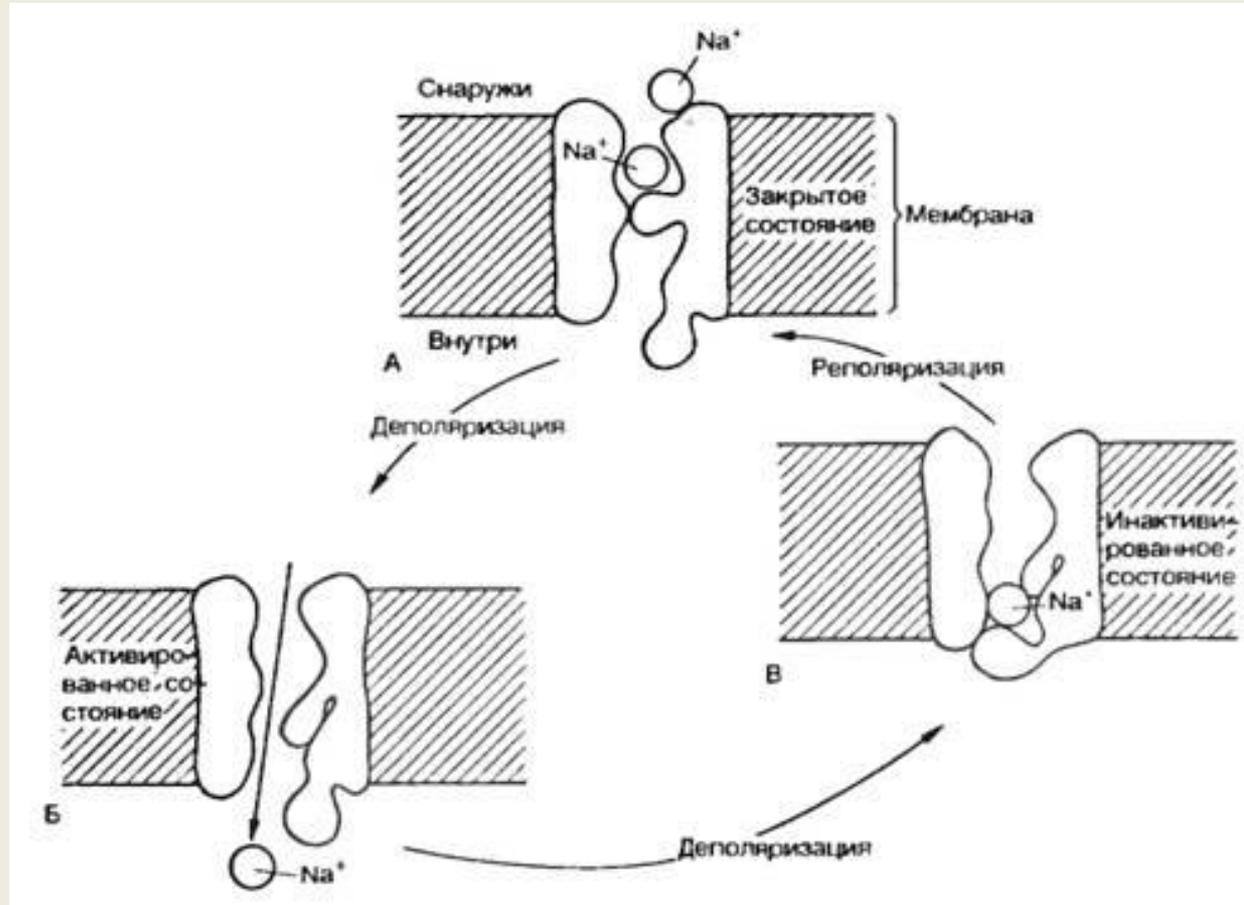
инактивация

Натриевые каналы могут находиться в открытом состоянии в течение короткого периода – происходит их инактивация

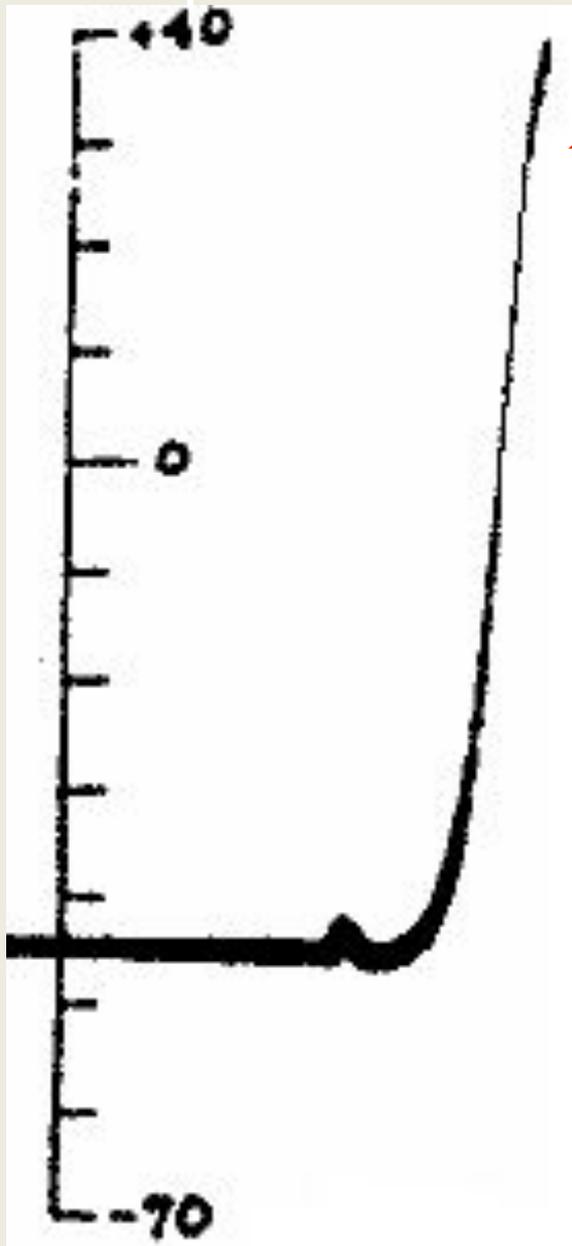
активация

По мере достижения максимума входящего тока натриевые каналы начинают закрываться. Происходит переход к следующей фазе – спаду потенциала действия

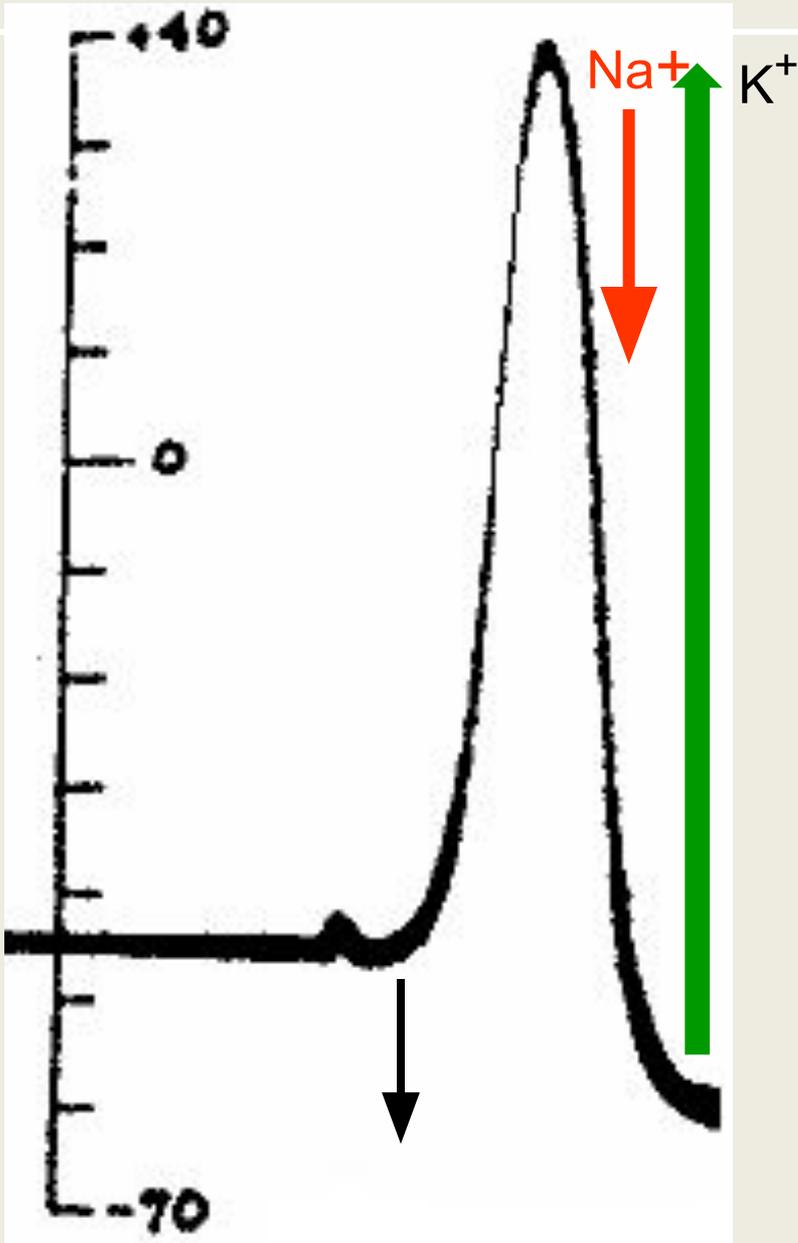
# Работа натриевых каналов и «воротных» механизмов.



- А — в покое m-активационные ворота («m-ворота») закрыты;  
Б — при возбуждении «m-ворота» открыты;  
В — закрытие «h-ворот» (инактивация) при деполаризации.



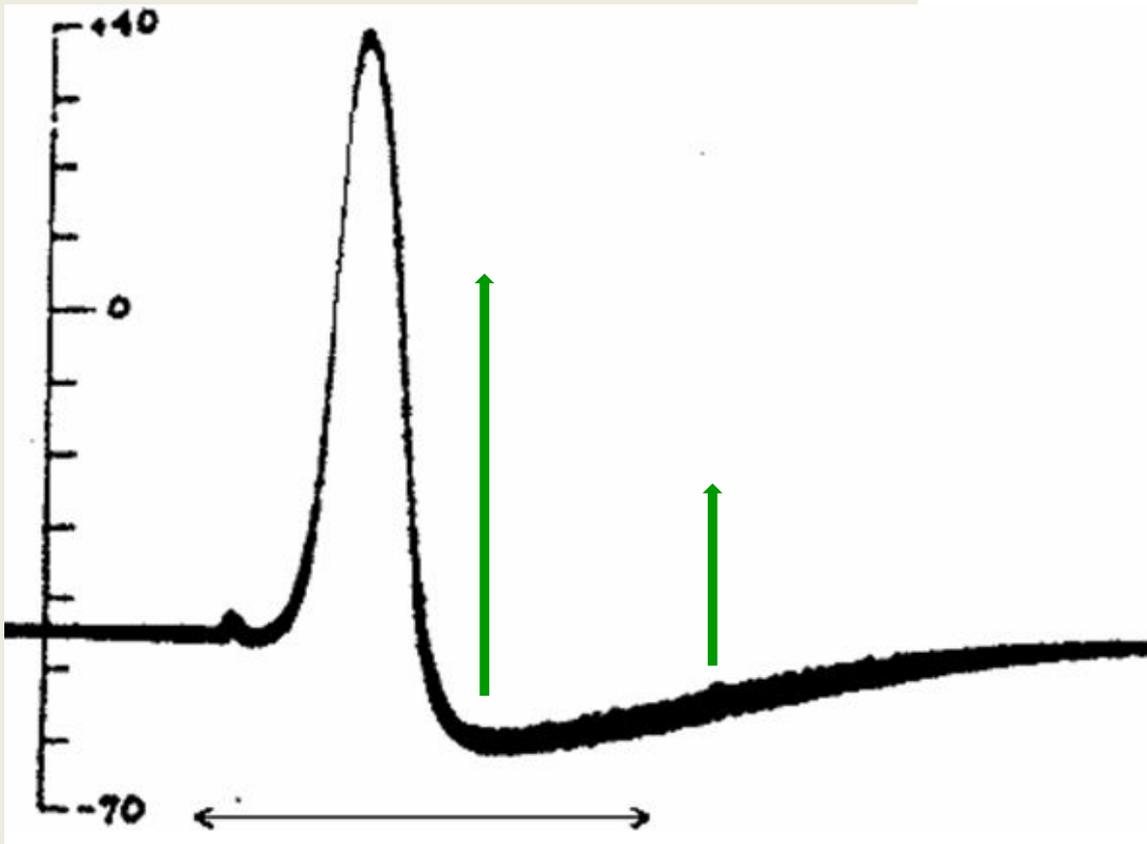
Уже в фазу роста ПД по мере **быстро нарастающего натриевого** тока начинают **медленно открываться калиевые** каналы, что ускоряет спад входящего тока через мембрану



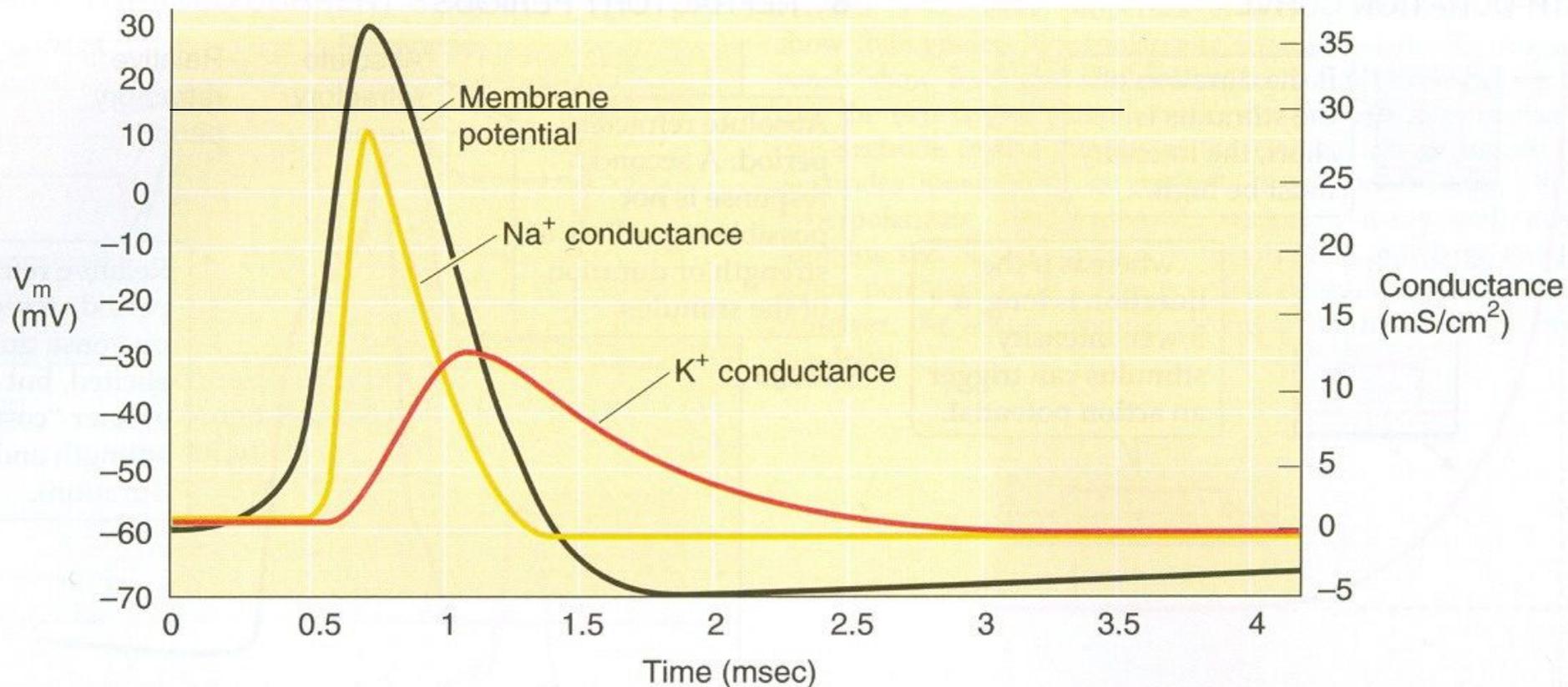
Ток через открытые калиевые каналы сдвигает мембранный потенциал к уровню калиевого равновесного потенциала (следовая гиперполяризация)

## Конечный этап генерации потенциала действия

Часть **калиевых** каналов закрывается и мембранный потенциал медленно возвращается к исходному уровню покоя



**Потенциал действия** – результат суммирования разнонаправленных (**натриевый ток внутрь, калиевый ток наружу**) и сдвинутых по временной шкале ионных токов через соответствующие потенциалзависимые натриевые и калиевые каналы.



# Последовательность открывания-закрывания натриевых и калиевых каналов во время генерации потенциала действия

## ► Opening and Closing of Voltage-Activated Sodium and Potassium Channels

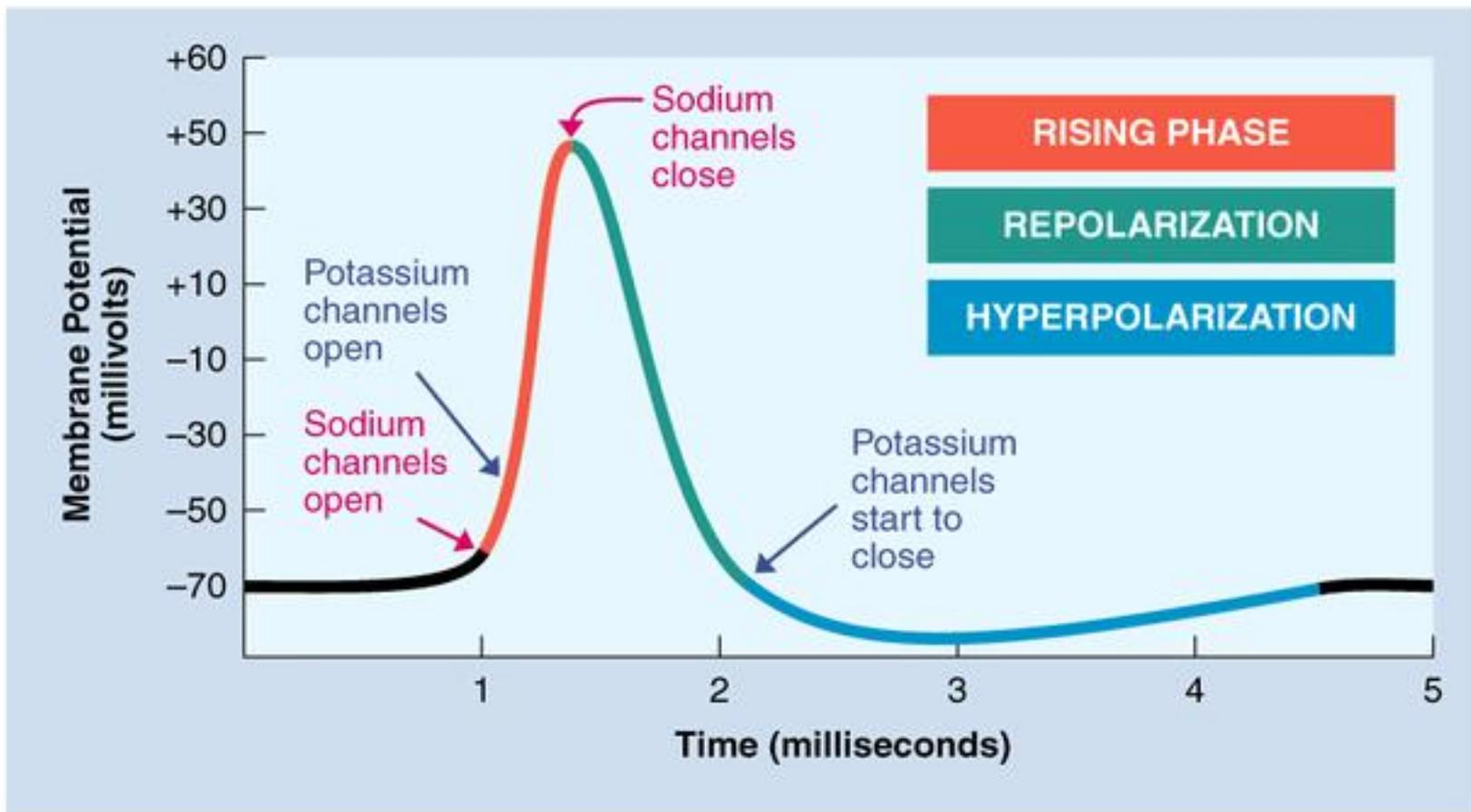
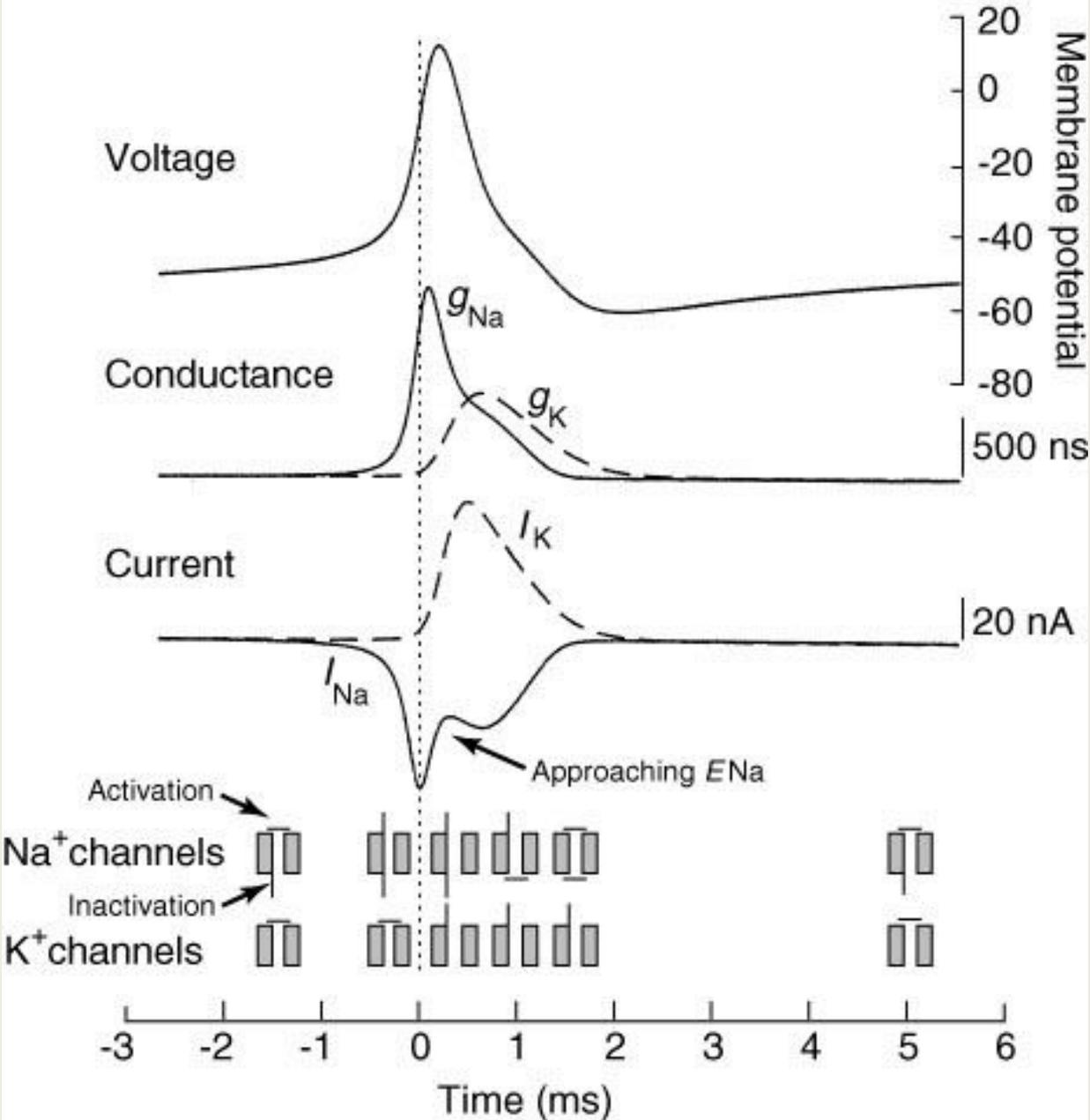
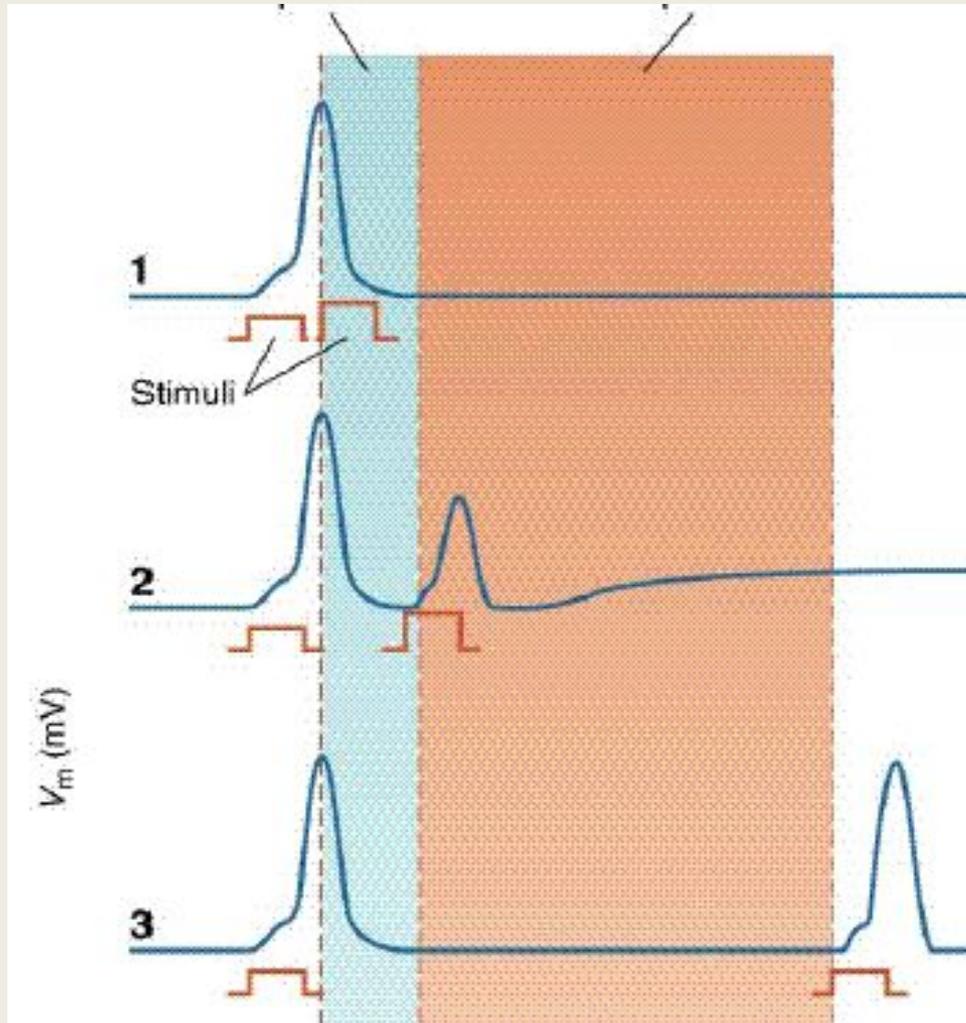


FIGURE 7 Generation of the action potential is associated with an increase in membrane Na<sup>+</sup> conductance and Na<sup>+</sup> current followed by an increase in K<sup>+</sup> conductance and K<sup>+</sup> current. Before action potential generation, Na<sup>+</sup> channels are neither activated nor inactivated (illustrated at the bottom of the figure). Activation of Na<sup>+</sup> channels allows Na<sup>+</sup> ions to enter the cell, depolarizing the membrane potential. This depolarization also activates K<sup>+</sup> channels. After activation and depolarization, the inactivation particle on the Na<sup>+</sup> channels closes and the membrane potential repolarizes. The persistence of the activation of K<sup>+</sup> channels (and other membrane properties) generates an afterhyperpolarization. During this period, the inactivation particle of the Na<sup>+</sup> channel is removed and the K<sup>+</sup> channels close.



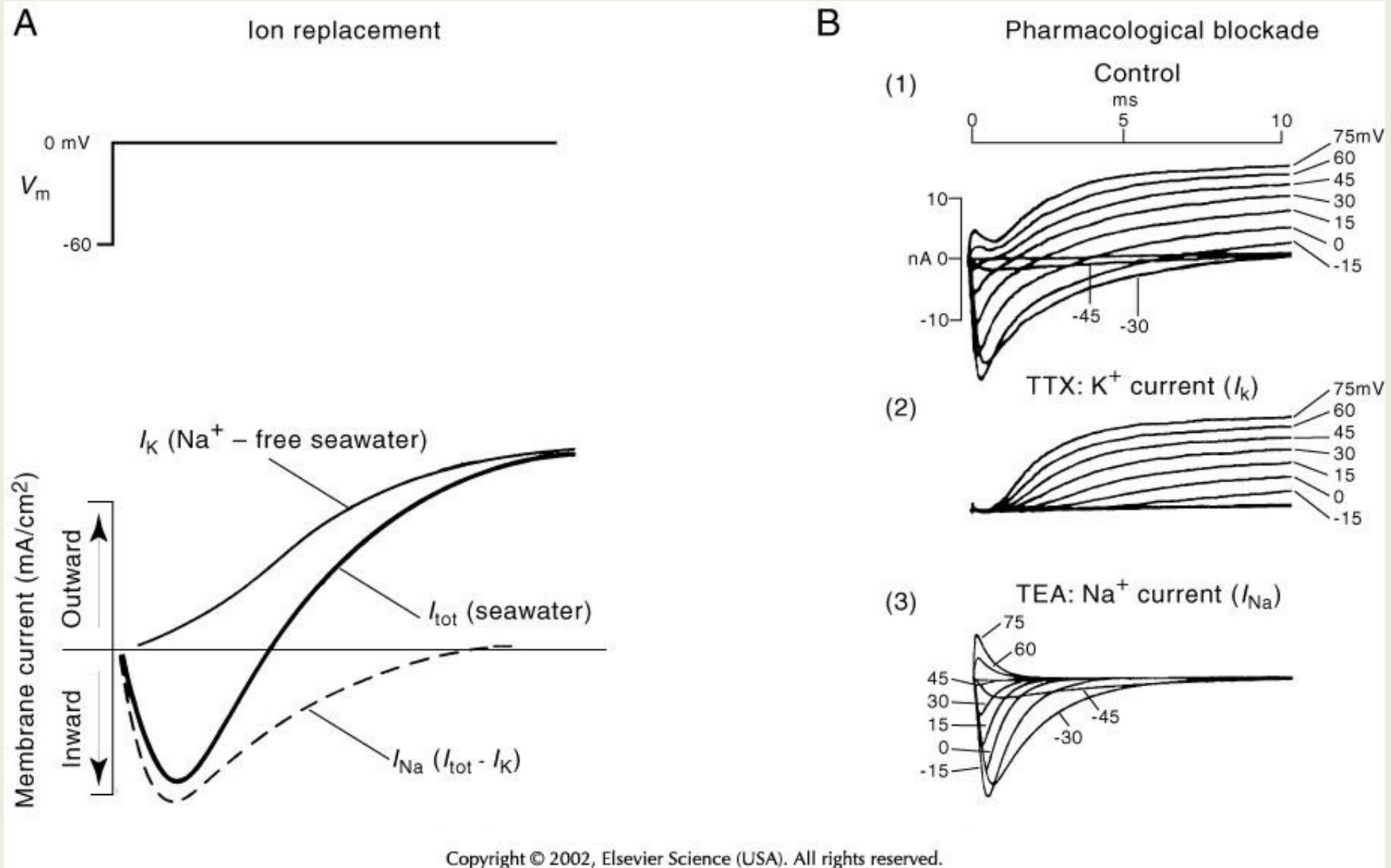
# Различия в кинетике процессов активации и инактивации натриевых и калиевых каналов определяют феномен существования рефрактерных периодов

абсолютный      относительный



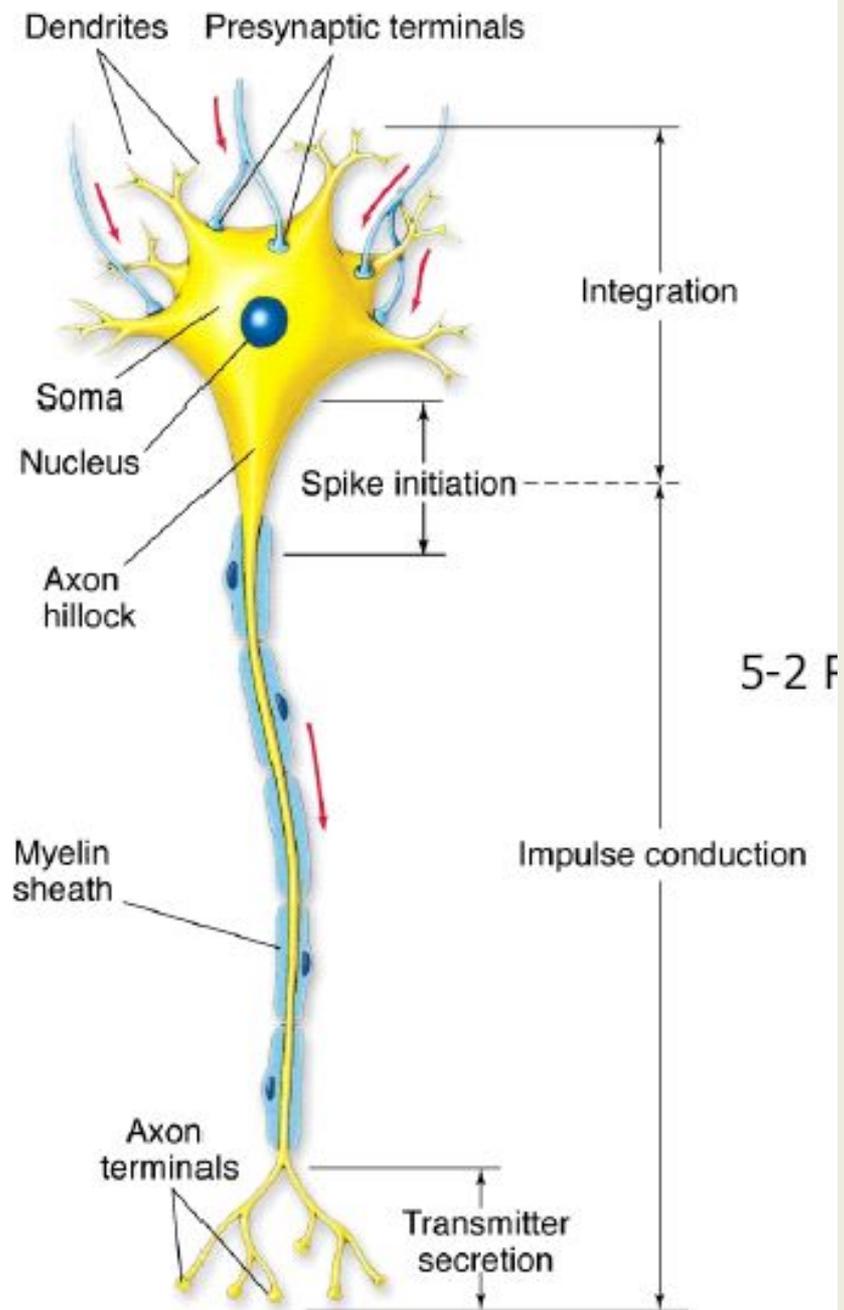
Рефрактерные периоды ограничивают максимальную частоту следования потенциалов действия

# FIGURE 6 Voltage-clamp analysis reveals ionic currents underlying action potential generation



- 3. Проведение нервного импульса по аксону

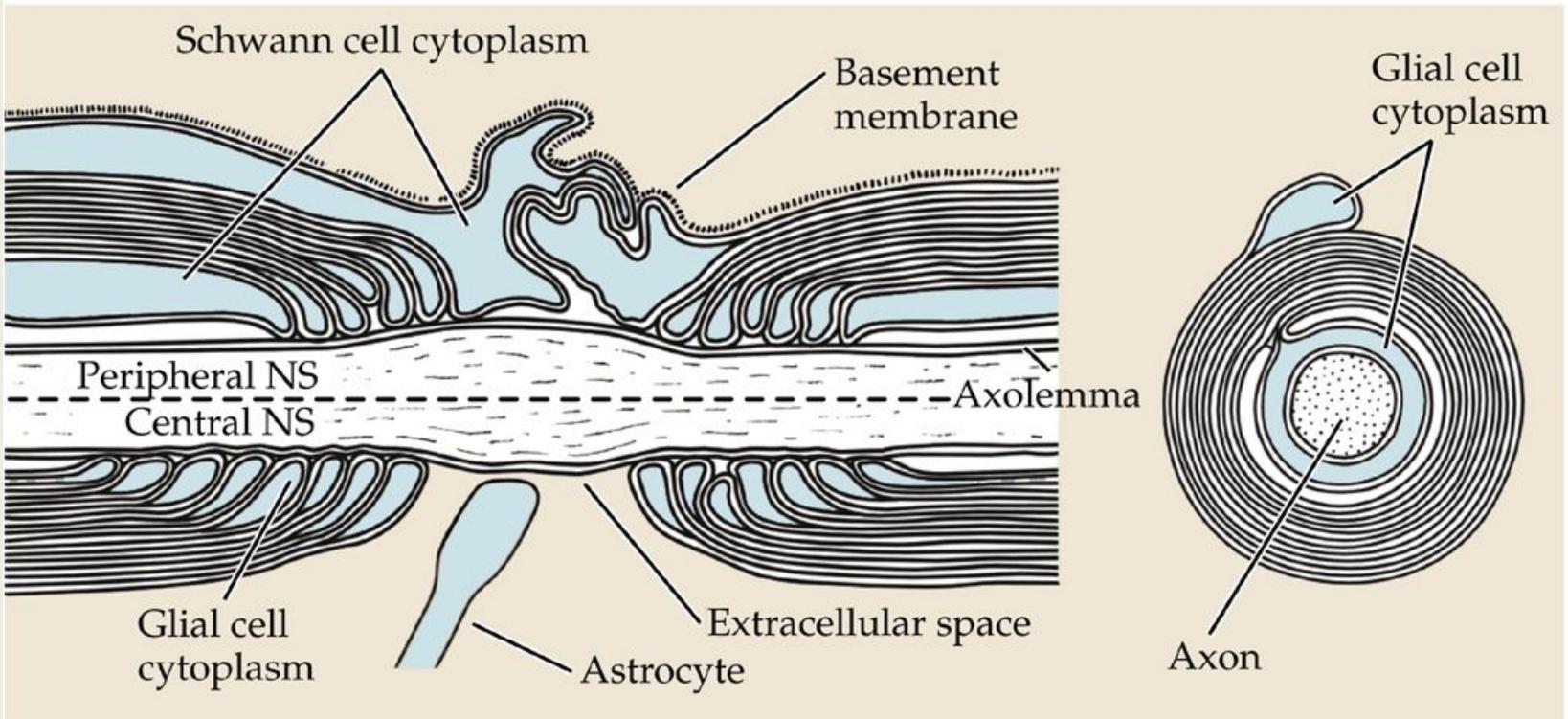
## Структура нейрона

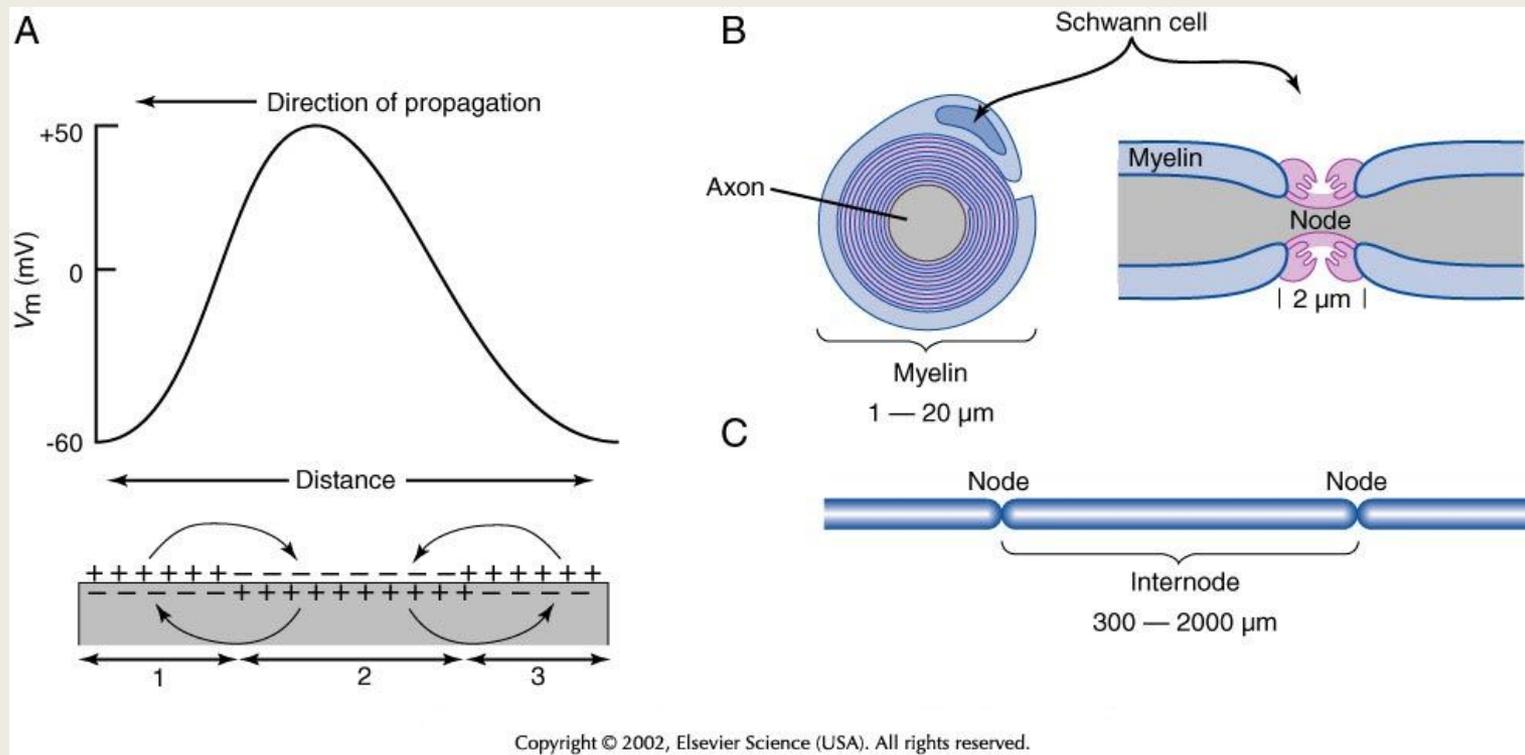


Почему у беспозвоночных  
есть гигантские аксоны?

# Миелинизированный (мякотный) нерв

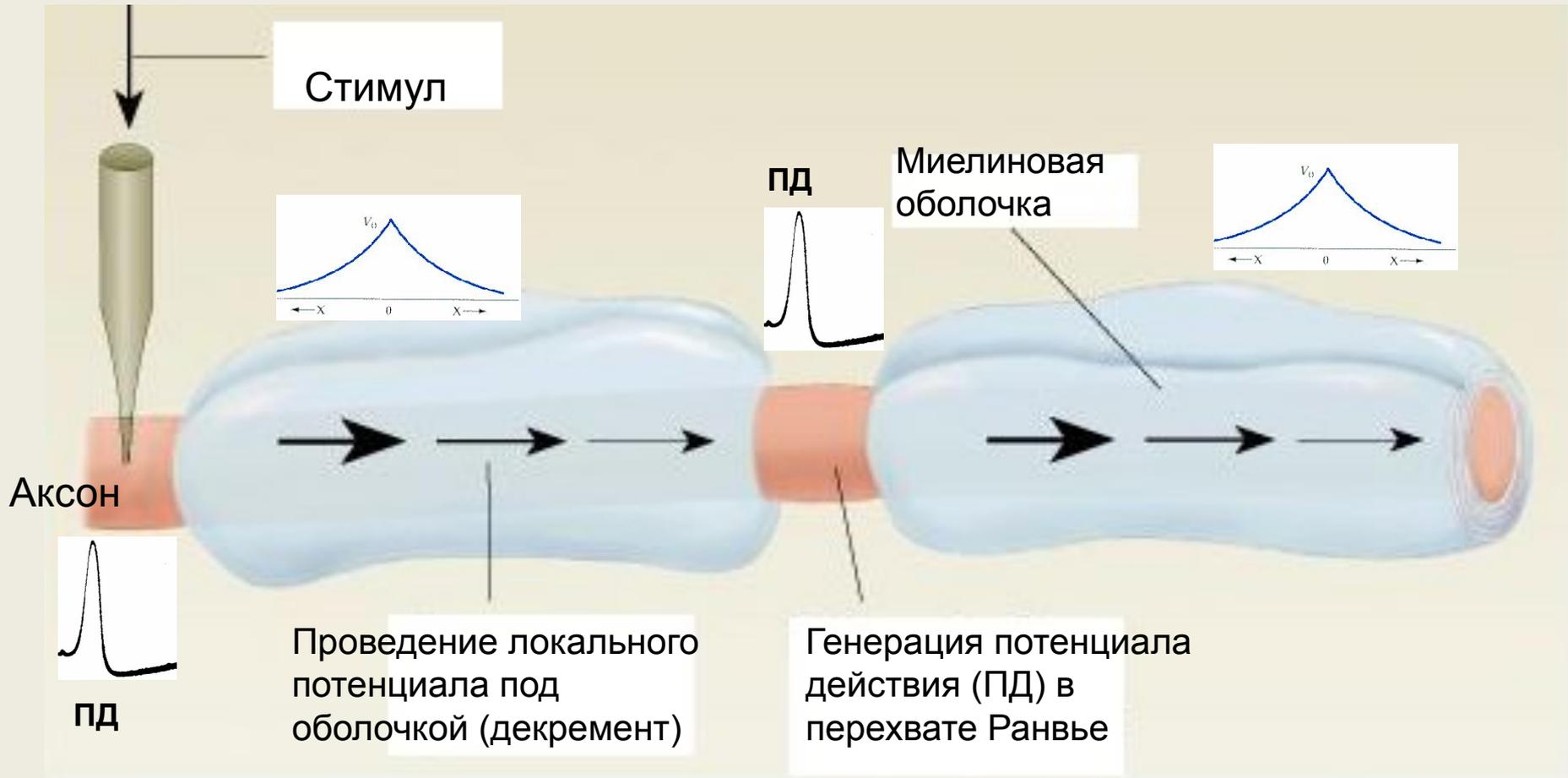
(A) Schematic diagram of arrangement of myelin





**FIGURE 8** Propagation of the action potential in unmyelinated and myelinated axons. (A) Action potentials propagate in unmyelinated axons through the depolarization of adjacent regions of membrane. In the illustrated axon, region 2 is undergoing depolarization during the generation of the action potential, whereas region 3 has already generated the action potential and is now hyperpolarized. The action potential will propagate further by depolarizing region 1. (B) Vertebrate myelinated axons have a specialized Schwann cell that wraps around them in many spiral turns. The axon is exposed to the external medium at the nodes of Ranvier (Node). (C) Action potentials in myelinated fibers are regenerated at the nodes of Ranvier, where there is a high density of  $\text{Na}^+$  channels. Action potentials are induced at each node through the depolarizing influence of the generation of an action potential at an adjacent node, thereby increasing conduction velocity.

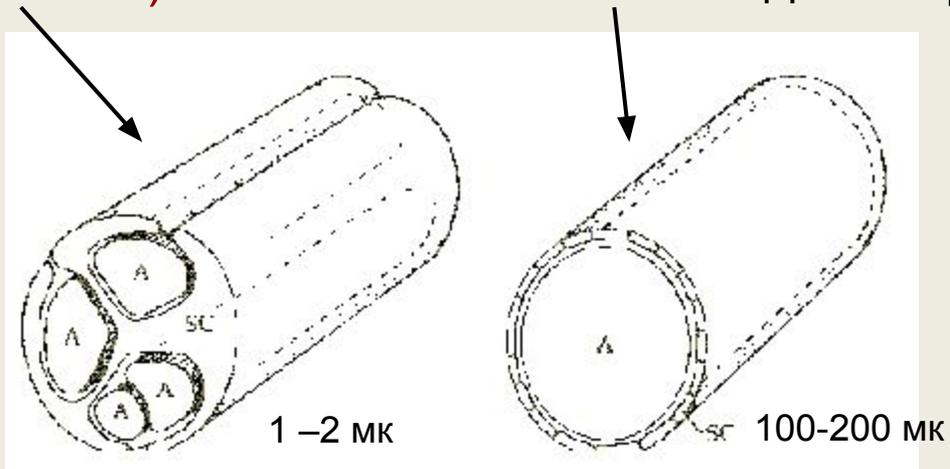
# Сальтаторное проведение по нерву



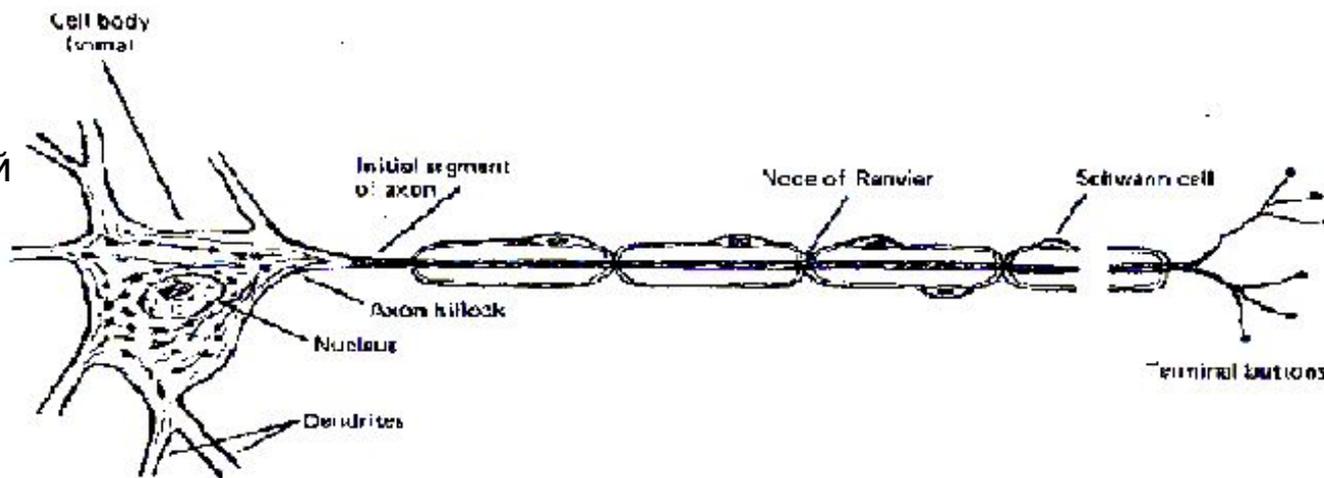
Потенциал действия будет распространяться по нерву быстро и без потерь на значительные расстояния, если

Нерв окутан изоляцией  
(оболочкой из миелина)

Нерв имеет достаточно  
большой диаметр



Миелинизированный  
двигательный нерв  
позвоночных

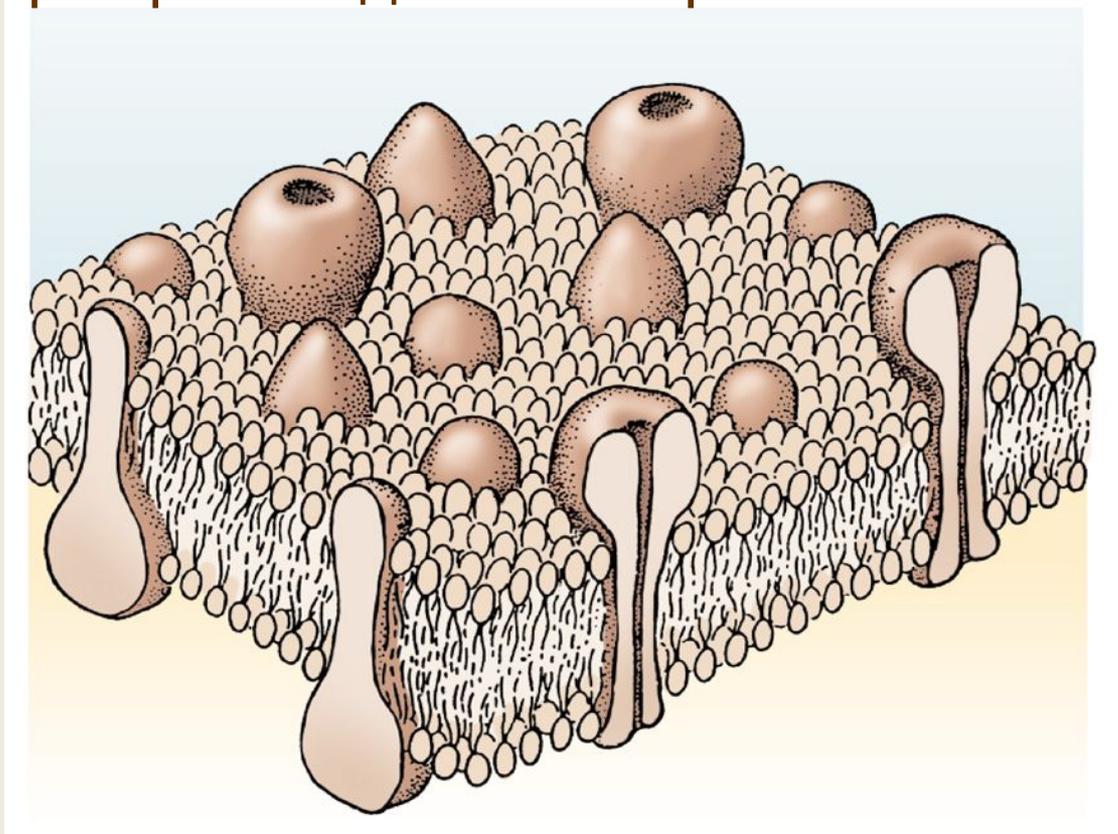


# Сравнение локального потенциала и потенциала действия

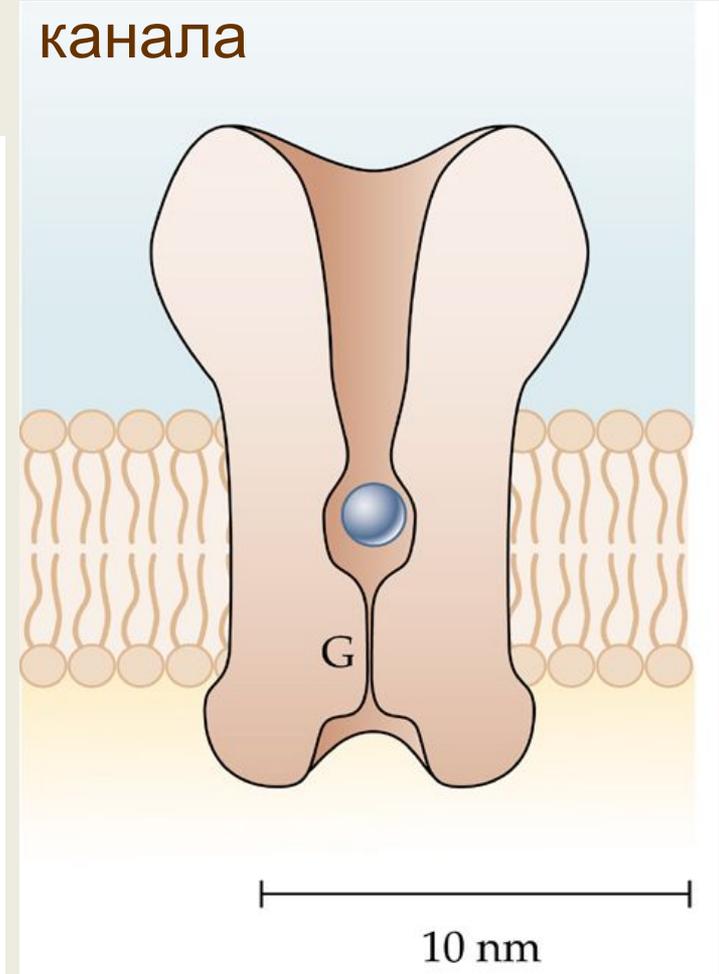
	Локальный потенциал	Потенциал действия
Тип сигнала	Местный, при распространении быстро затухает	Распространяющийся регенеративный сигнал
Где возникает ?	Обычно дендриты и тело нейрона	Триггерная зона нейрона и по ходу аксона
Типы каналов, участвующих в генерации	Механо-, хемочувствительные	Обычно потенциалозависимые натриевые и калиевые
Ионы, переносящие токи	Обычно Na, Cl, Ca	Na, K, (Ca)
Тип сигнала	Деполаризующий (вход Na) или гиперполярирующий (вход Cl)	Деполаризующий
Амплитуда сигнала	Зависит от амплитуды стимула, может суммироваться	Относительно постоянная по принципу «все или ничего», не суммируется
Что инициирует сигнал?	Вход ионов через открываемые стимулом каналы	Локальный потенциал, амплитуда которого достигла порога
Особые отличия	Не требуется достижения минимального уровня, два близких по времени стимула дают суммарный ответ	Существует рефрактерный период, близкие по времени стимулы не суммируются

4. Ионные каналы и рецепторы –  
молекулярная основа генерации  
клеточных сигналов

# Ионные каналы и другие интегральные белки в фосфолипидной мембране

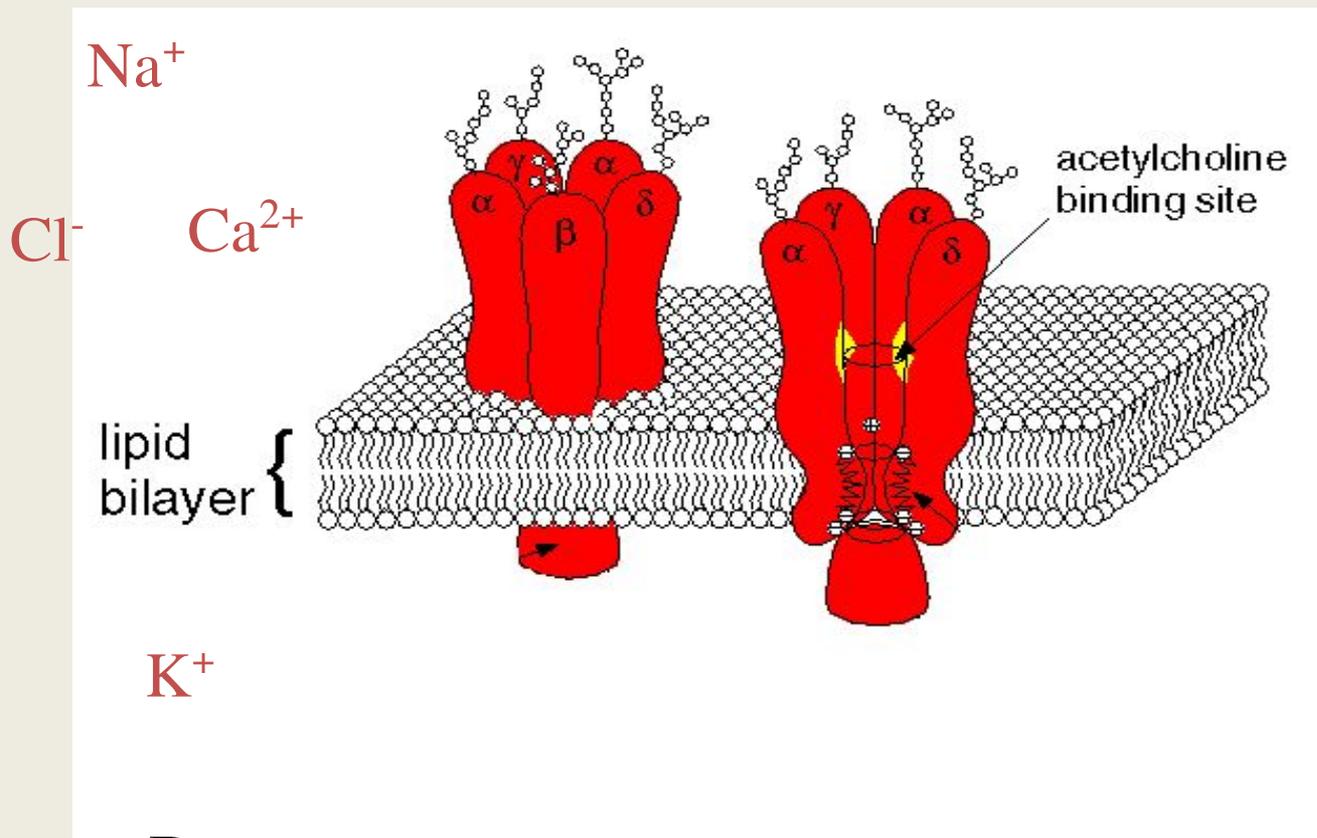


# Общая схема строения ионного канала



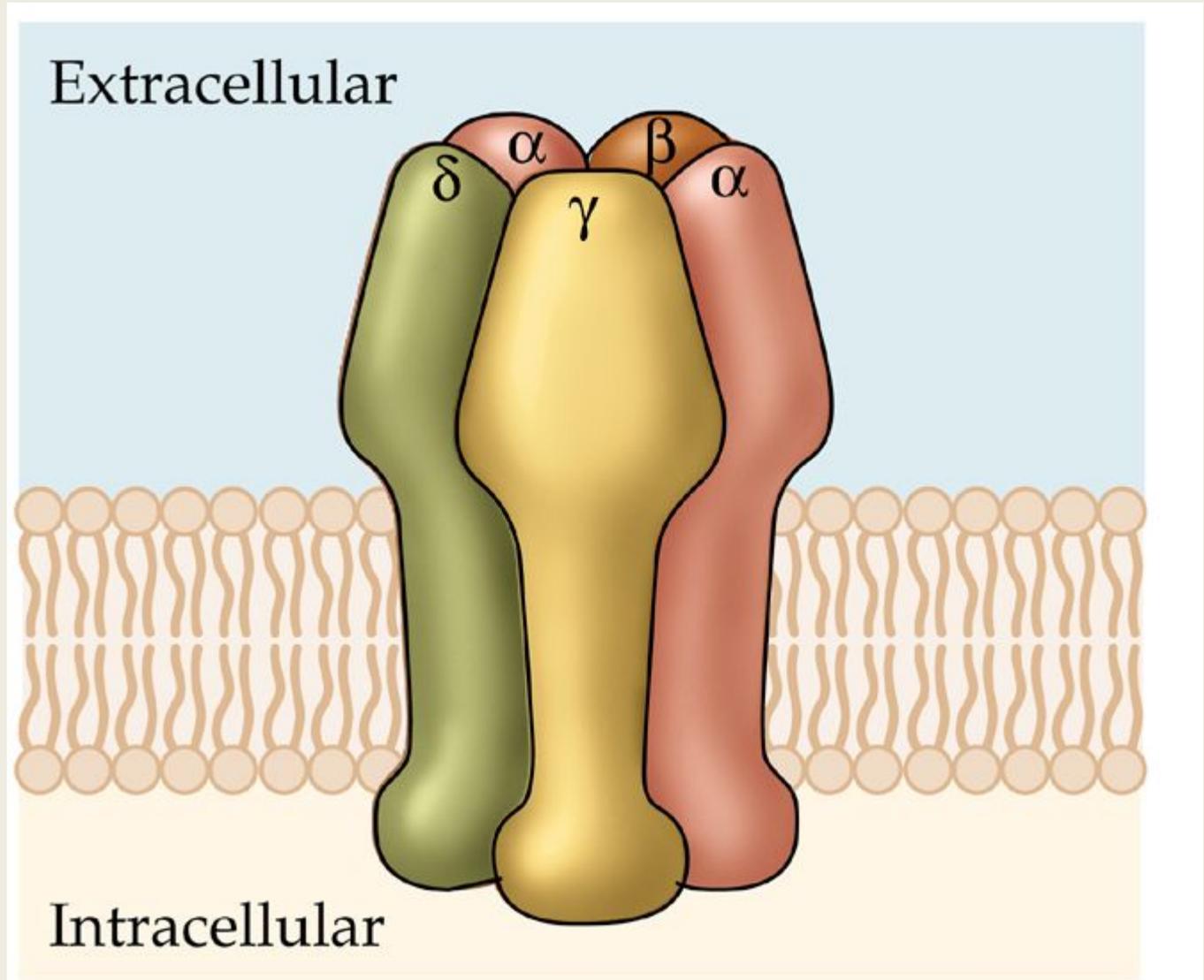
# Ацетилхолиновый рецептор в липидном бислое мембраны

Снаружи клетки



Внутри клетки

# Субъединичное строение ацетилхолинового рецептора



# Основные типы ионных каналов

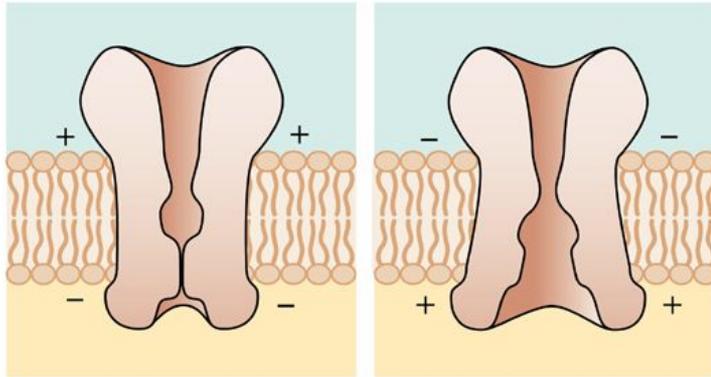
Потенциалозависимые

Закрытый

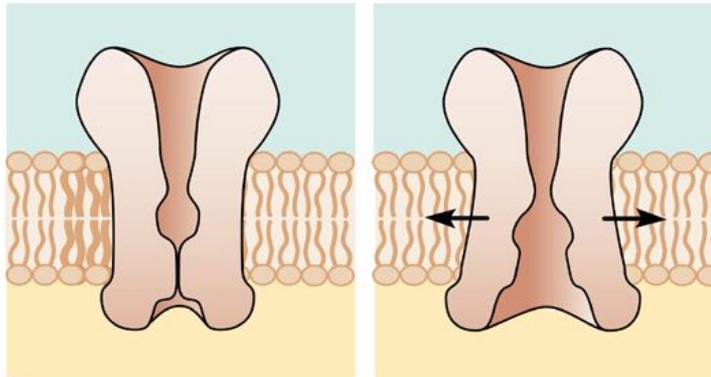
Открытый

Лигандуправляемые

(A) Channels activated by physical changes in the cell membrane

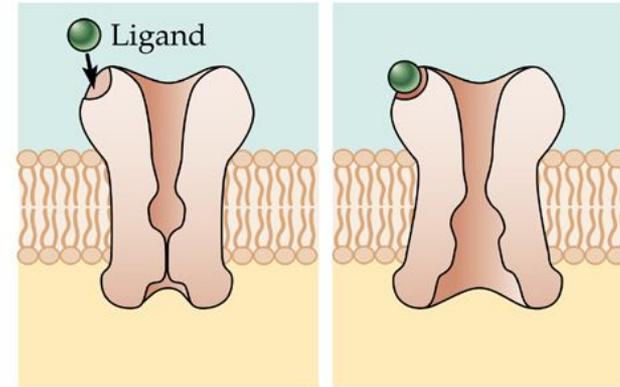


Voltage-activated

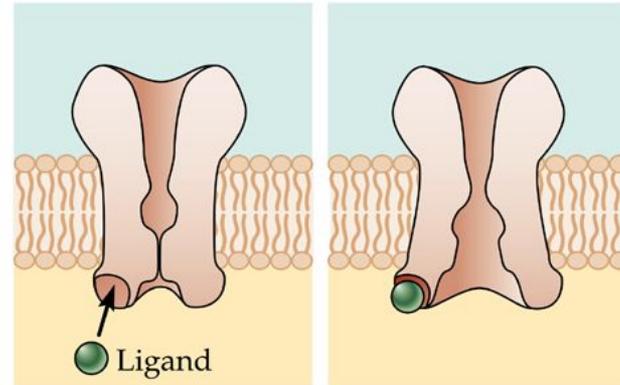


Stretch-activated

(B) Channels activated by ligands



Extracellular activation



Intracellular activation

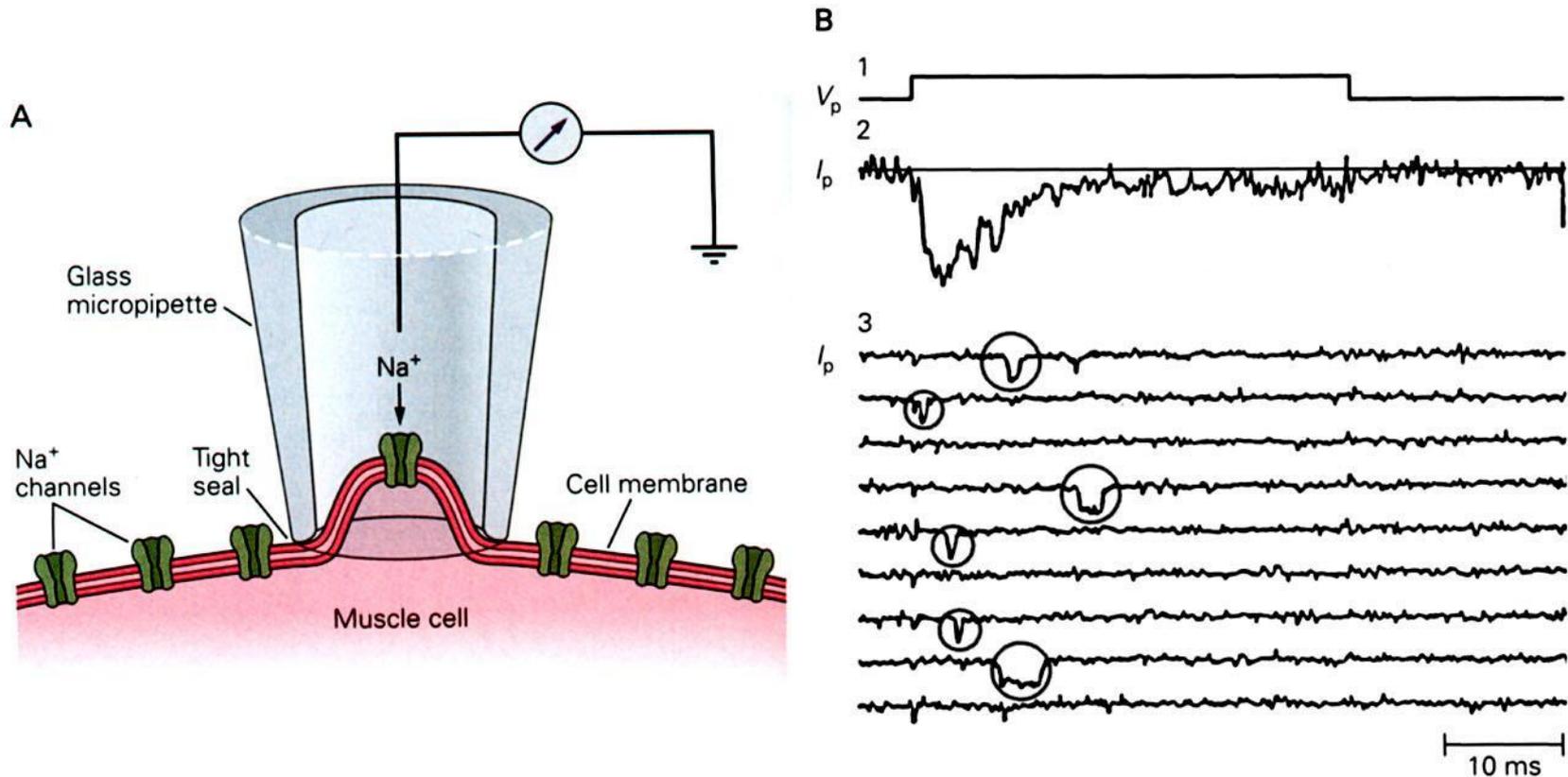
Снаружи

Изнутри

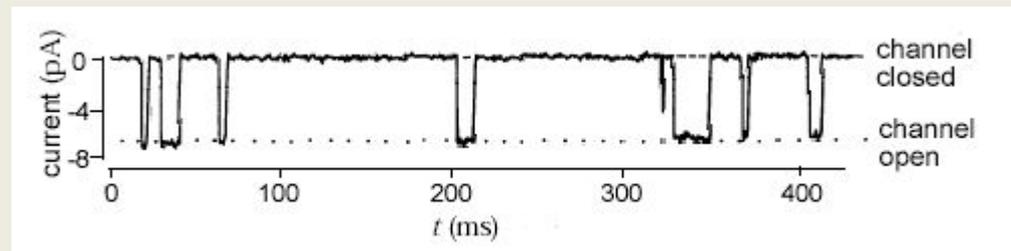
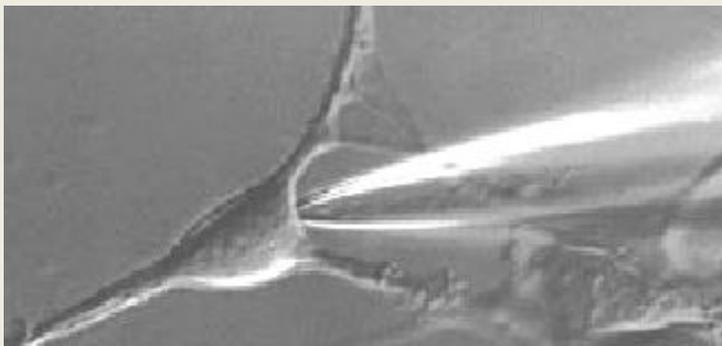
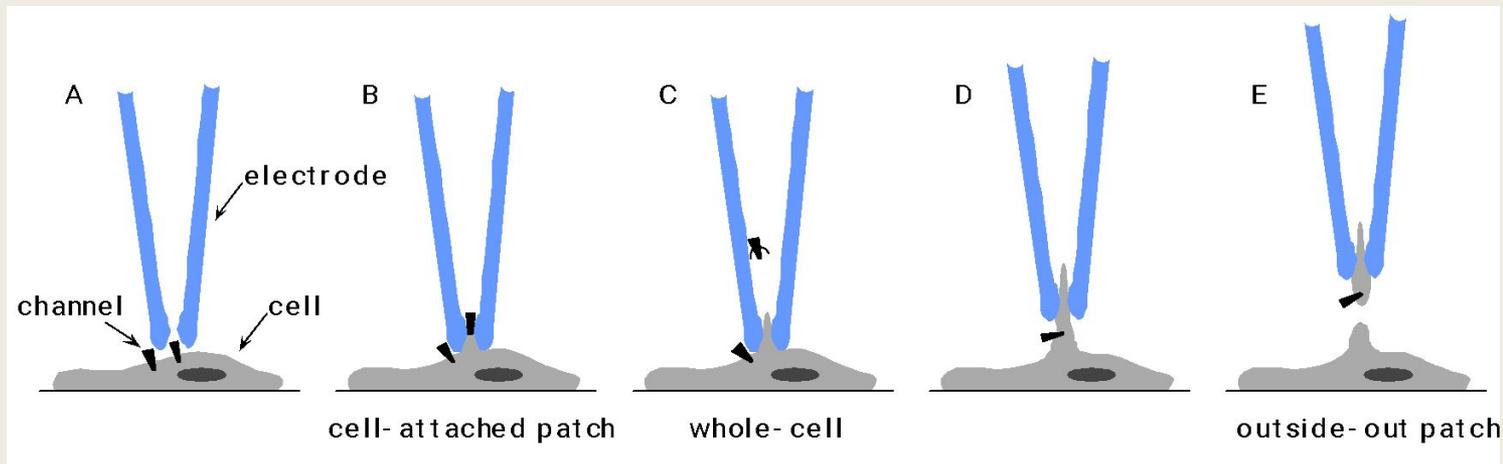
Механочувствительные

# Регистрация одиночных ионных каналов (patch clamp)

Fig. 15

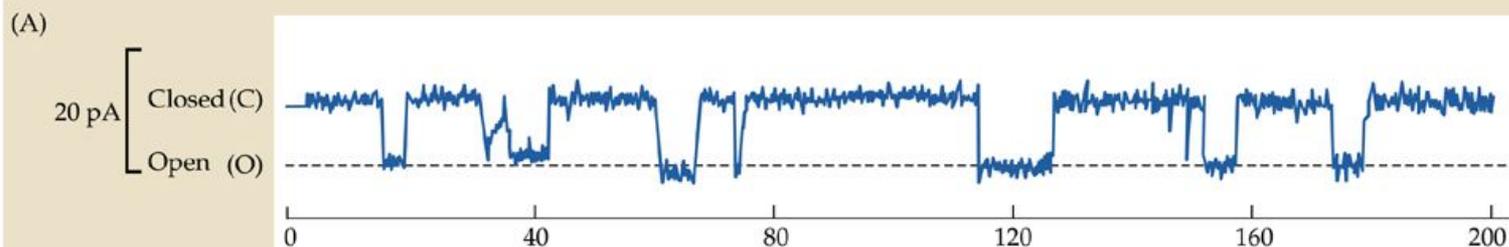


# Регистрация одиночных ионных каналов (patch clamp)

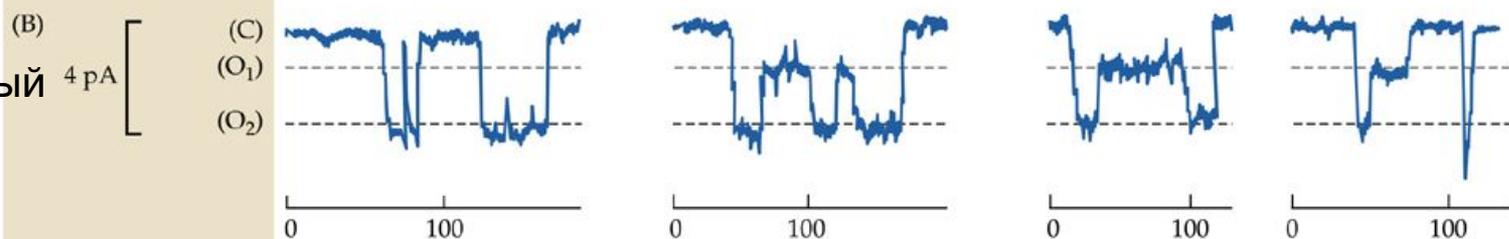


# Примеры одиночных ионных каналов, зарегистрированных методом пЭТЧ-клемп

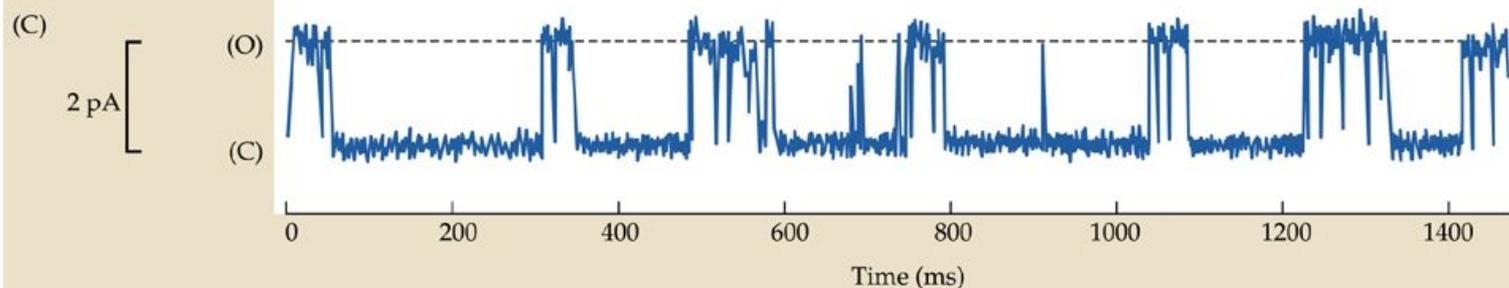
Глутаматный рецептор



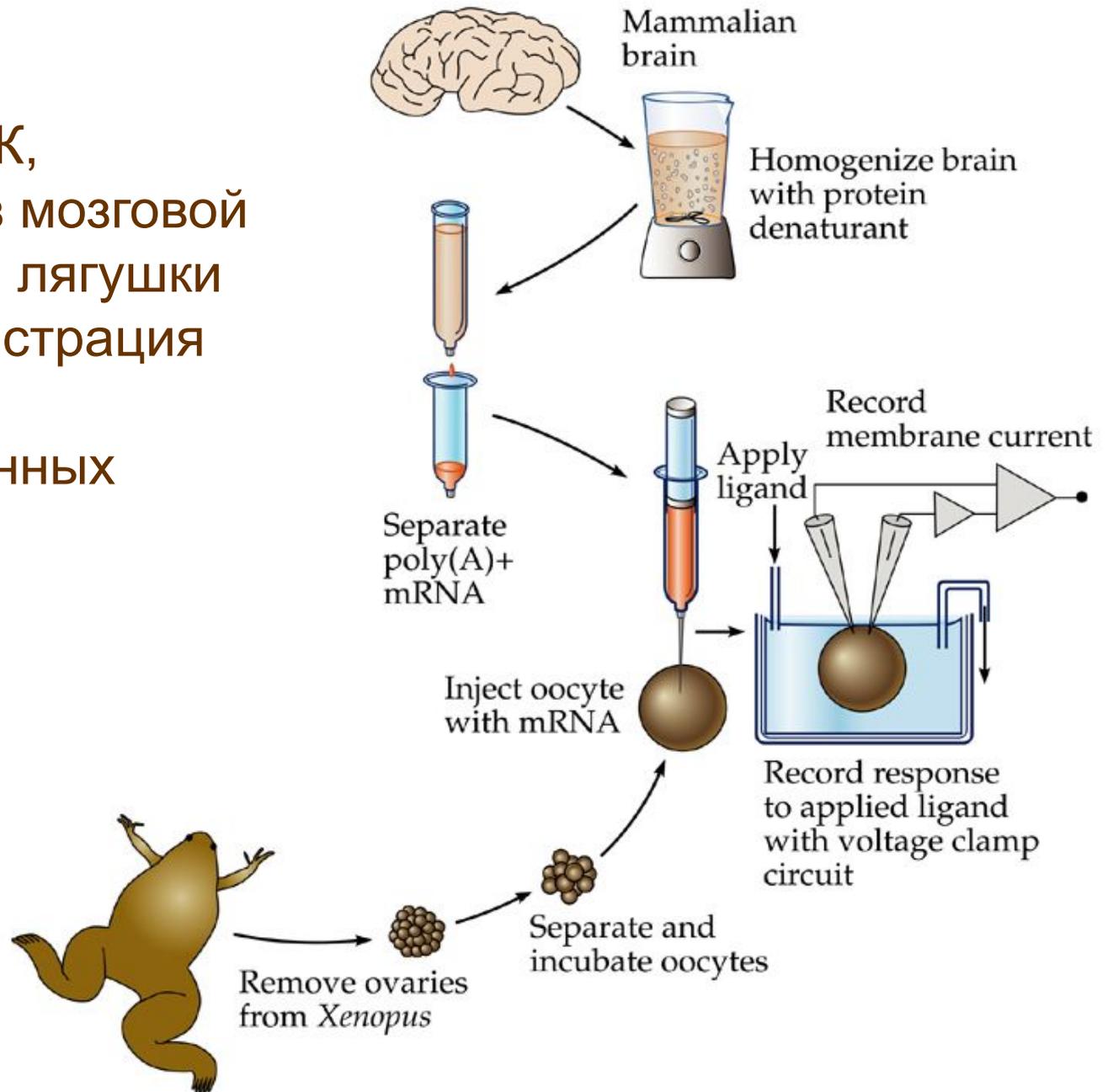
Ацетилхолиновый рецептор



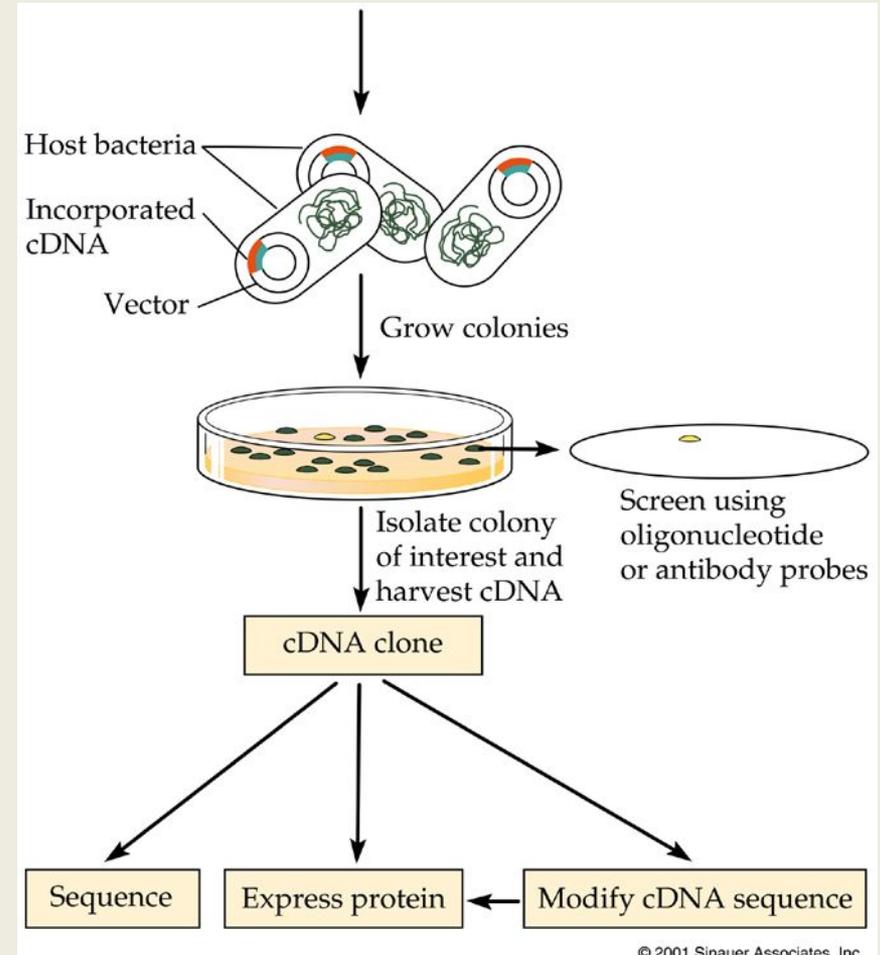
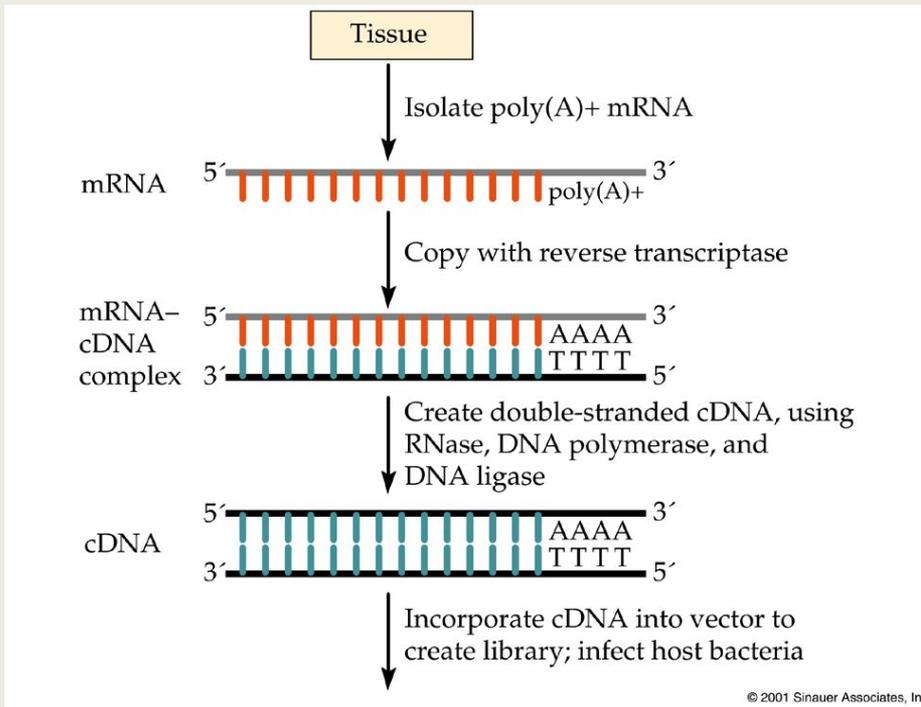
Глициновый рецептор



Инъекция мРНК,  
выделяемой из мозговой  
ткани в ооциты лягушки  
*Xenopus* и регистрация  
ответов  
экспрессированных  
рецепторов

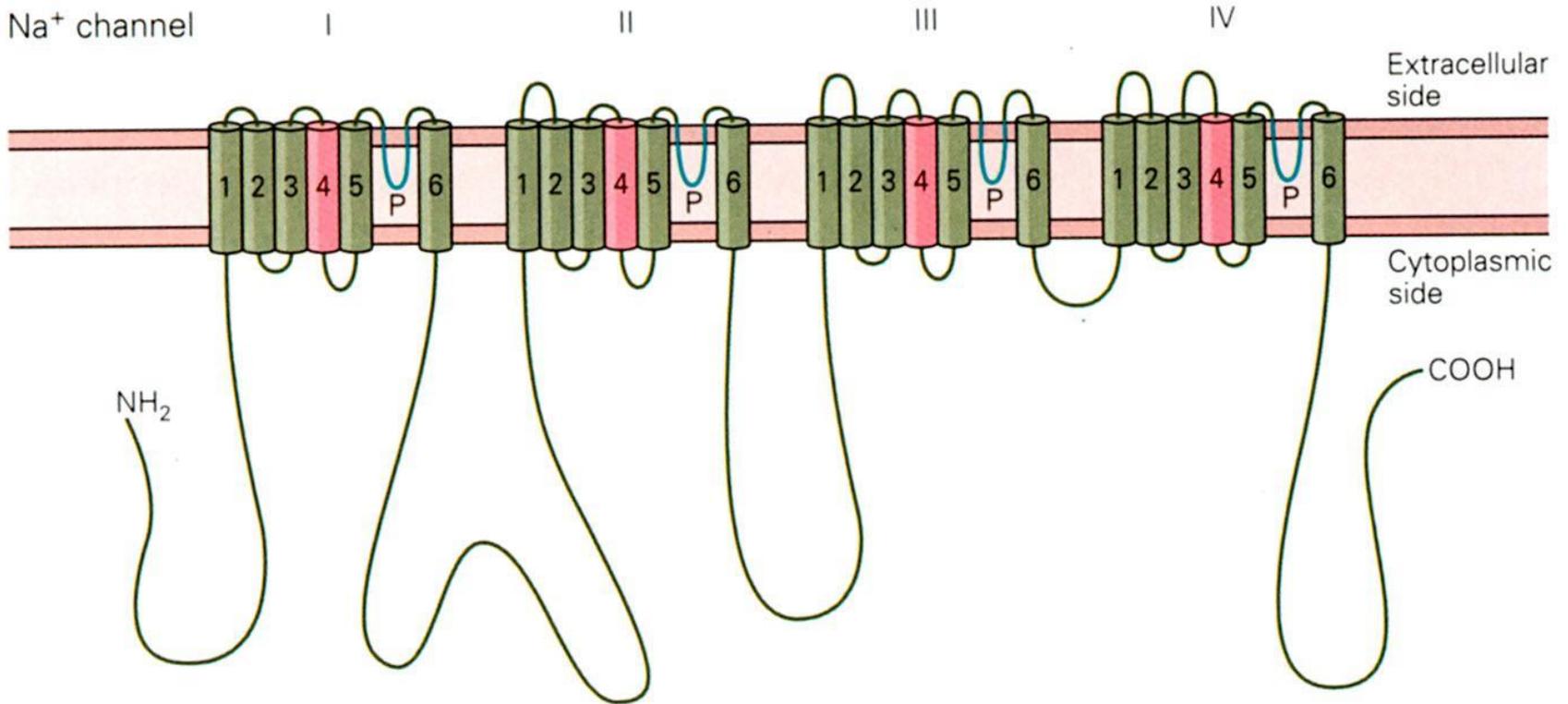


# Клонирование генов определенных каналов и рецепторов, создание библиотек генов и последующее их использование



# Ионные каналы клонированы, изучены аминокислотные последовательности их полипептидных цепей и топография в мембране

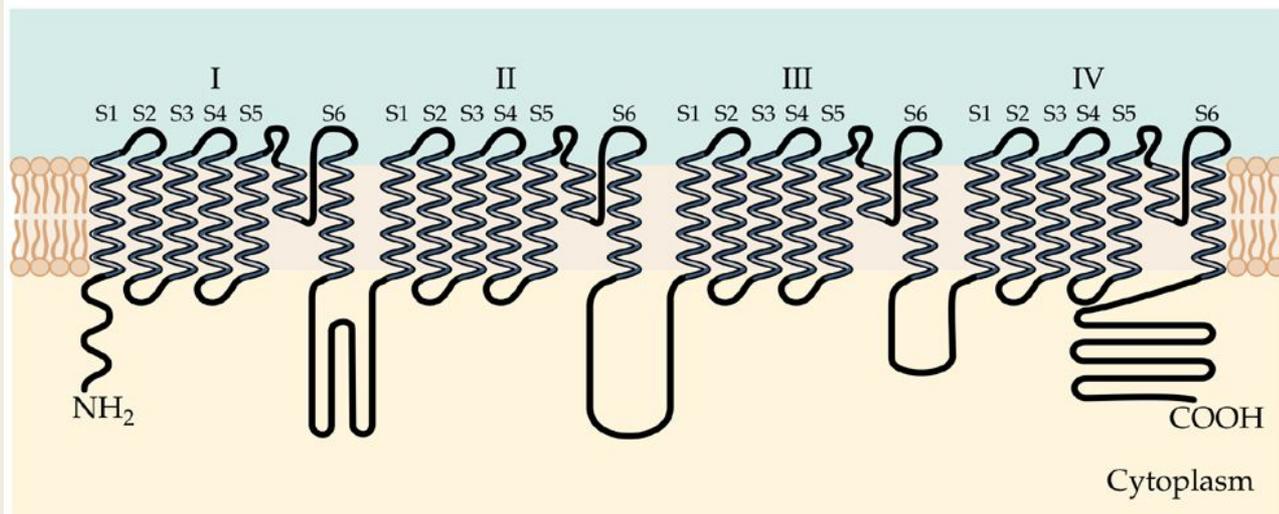
**Fig. 11**



# Структура потенциалзависимых натриевых и кальциевых каналов

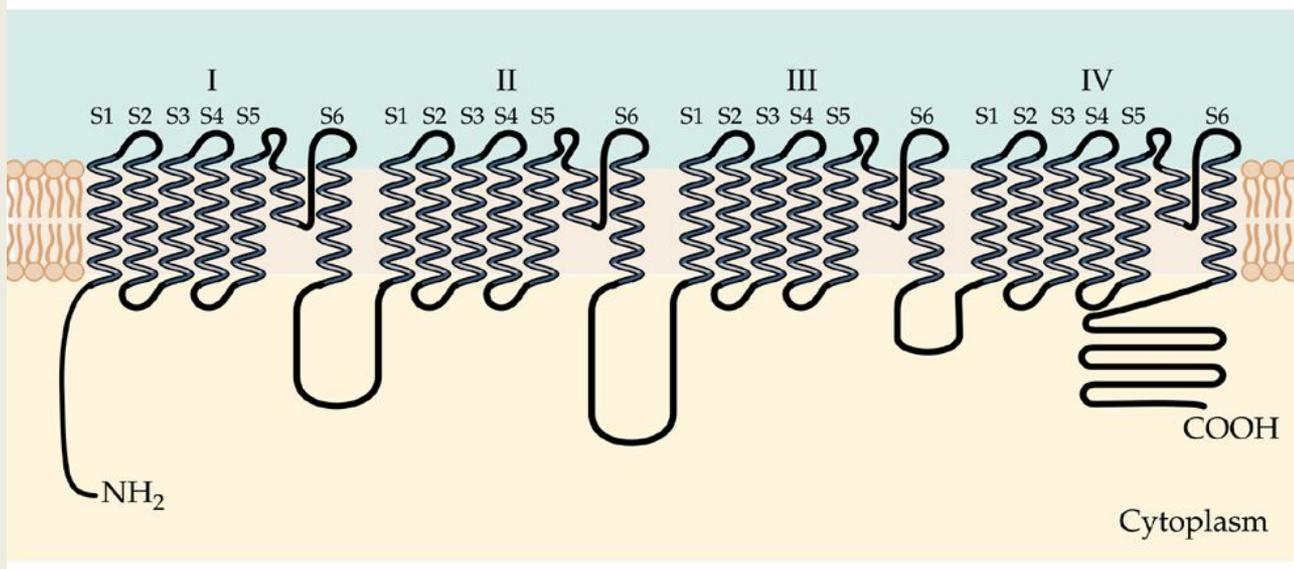
**Натриевый канал** – одна полипептидная цепь с четырьмя доменами, соединенными внутриклеточными петлями

(A) Sodium channel



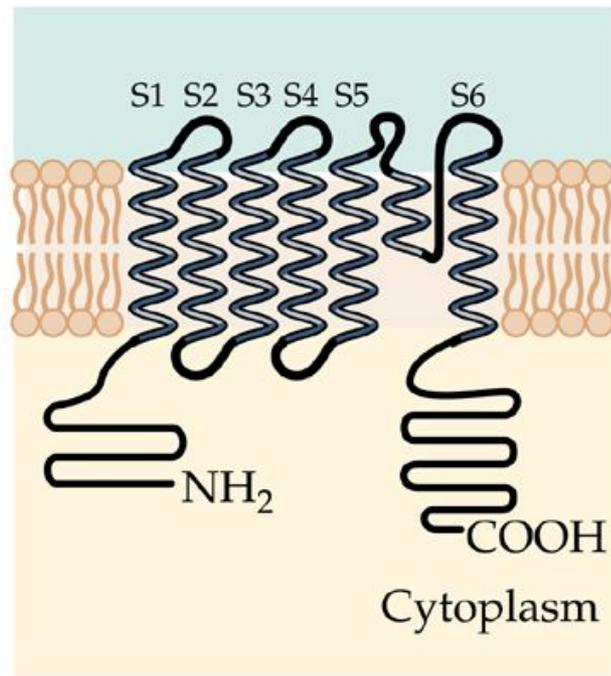
**Кальциевый канал** – аналогичен по строению

(B) Calcium channel



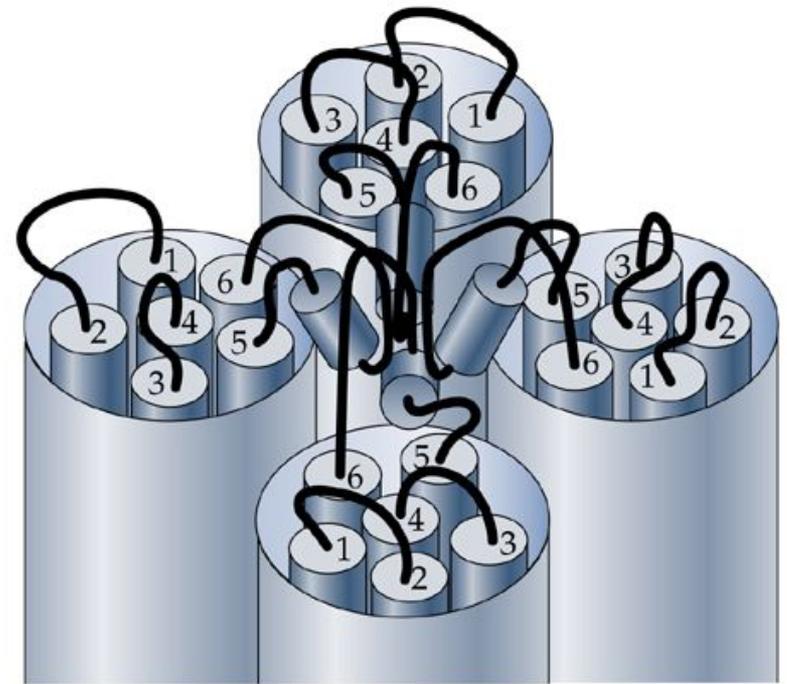
# Структура потенциалзависимого калиевого канала

(C) Potassium channel



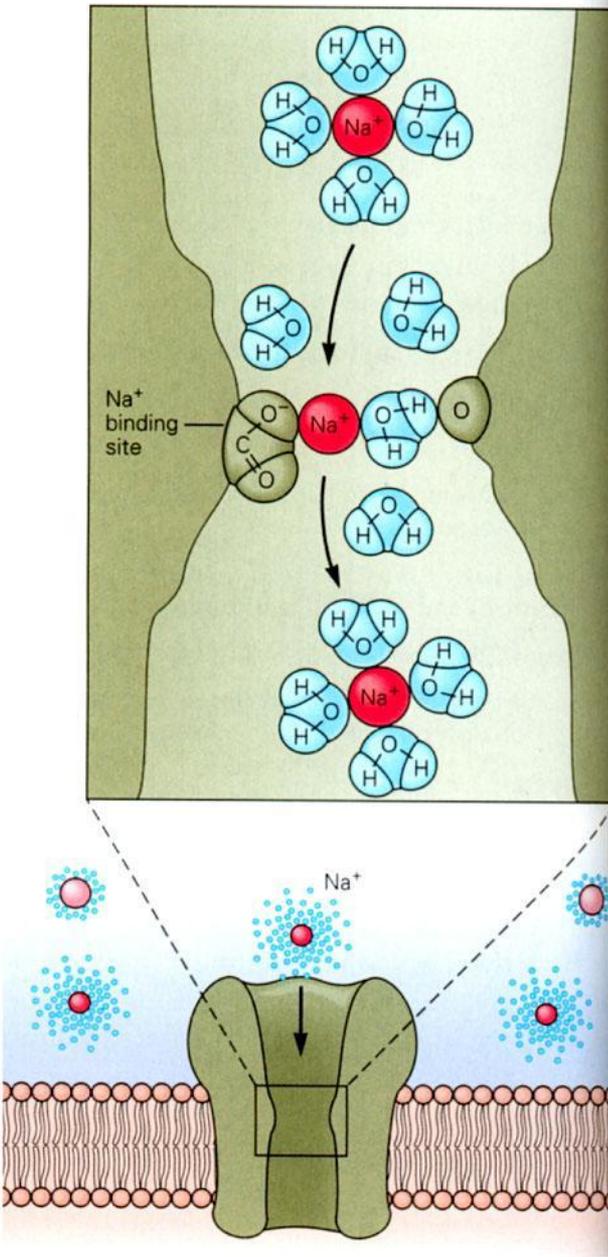
Субъединица калиевого канала похожа на домен натриевого канала

(D)



Трехмерная структура калиевого канала

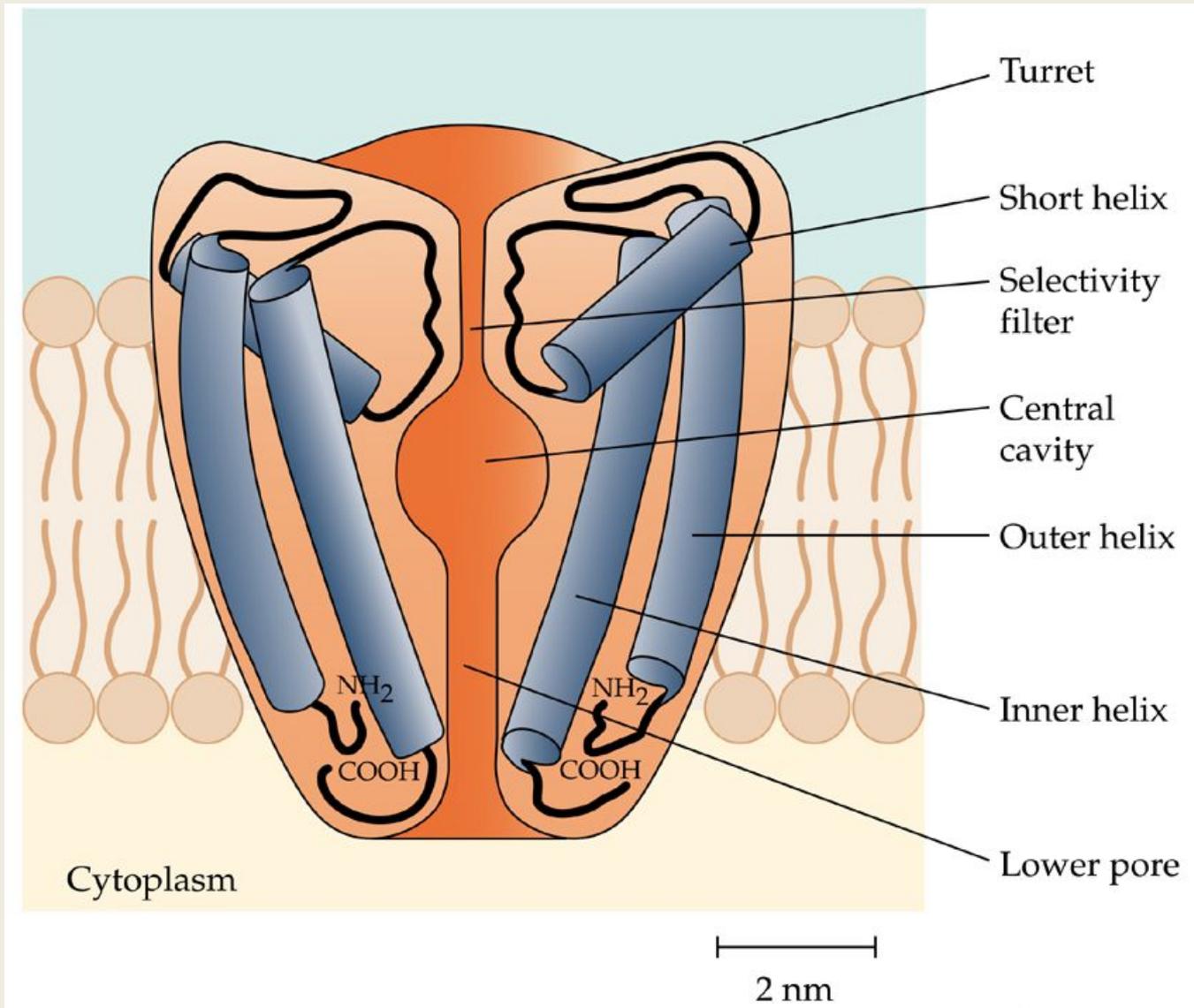
Fig. 14



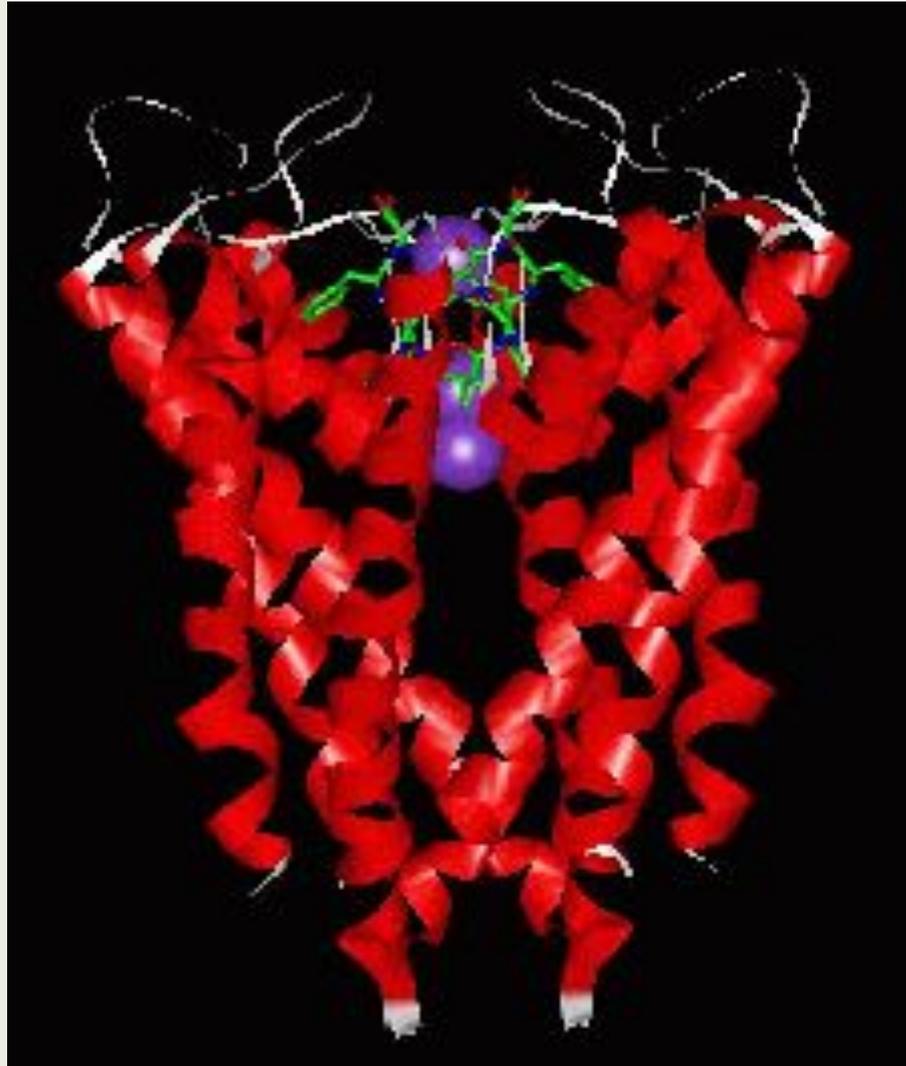
Селективный фильтр  
Na<sup>+</sup> канала

Узкий участок водной поры канала, определяющий тип иона, способного пройти через канал, когда он открыт. Здесь же ион натрия теряет свою водную «шубу».

# Поперечный срез трехмерной структуры калиевого канала

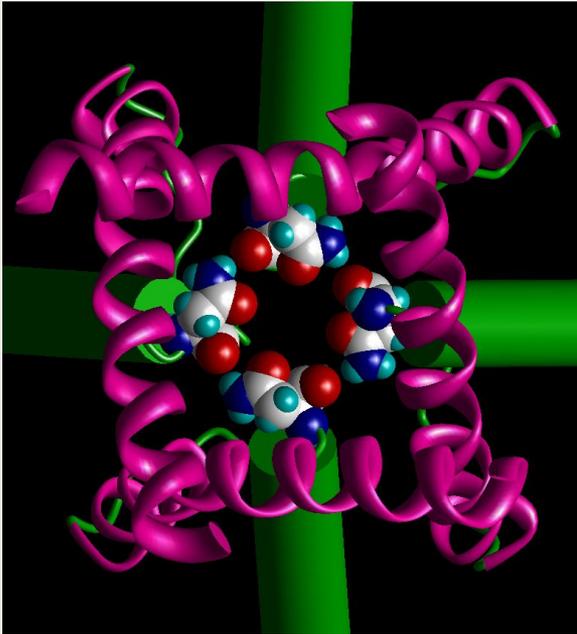


# $K^+$ канал в мембране бактерии (структура по данным кристаллографии)

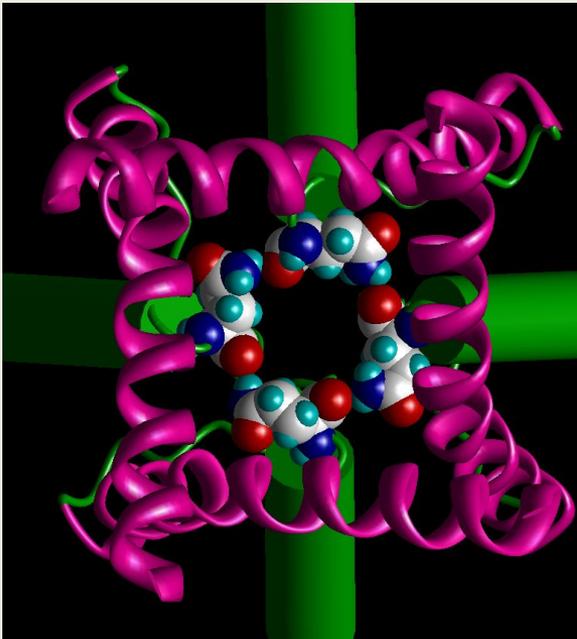


Doyle et al, 1998

# Молекулярные модели селективных фильтров открытых каналов глутаматных рецепторов **NMDA** и **AMPA** типов



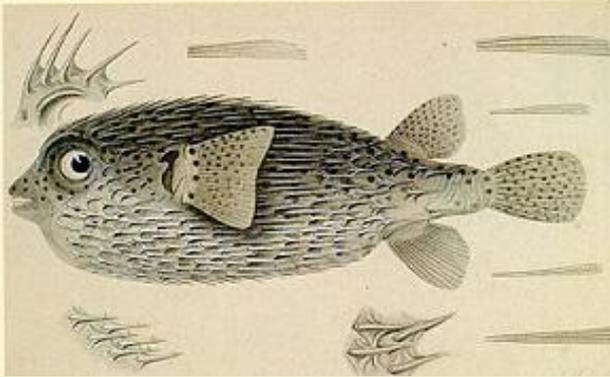
**NMDA**  
рецептор



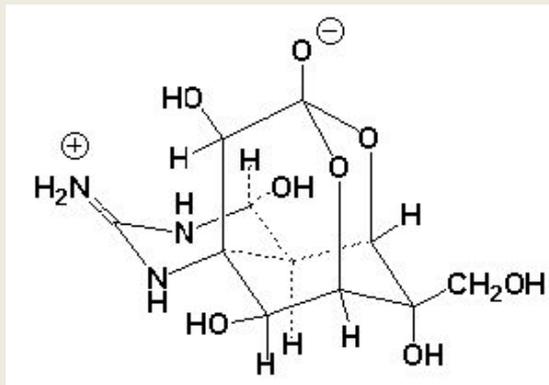
**AMPA**  
рецептор

Первые, помимо природного медиатора глутамата, могут активироваться его синтетическим аналогом – N-метил-D-аспартатом (НМДА), а вторые –  $\alpha$ -амино-3-метил-4-изоксазол-пропионовой кислотой (АМПА), каиновой и квискваловой кислотами.

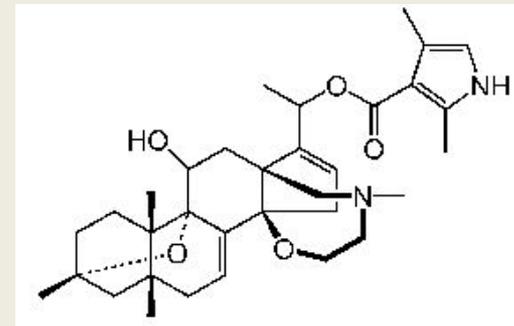
# Токсины, действующие на $\text{Na}^+$ канал



Рыба кузовок содержит **tetrodotoxin**, сильнейший яд.



**Batrachotoxin** содержится в коже колумбийских лягушек. Яд в 250 раз сильнее стрихнина.

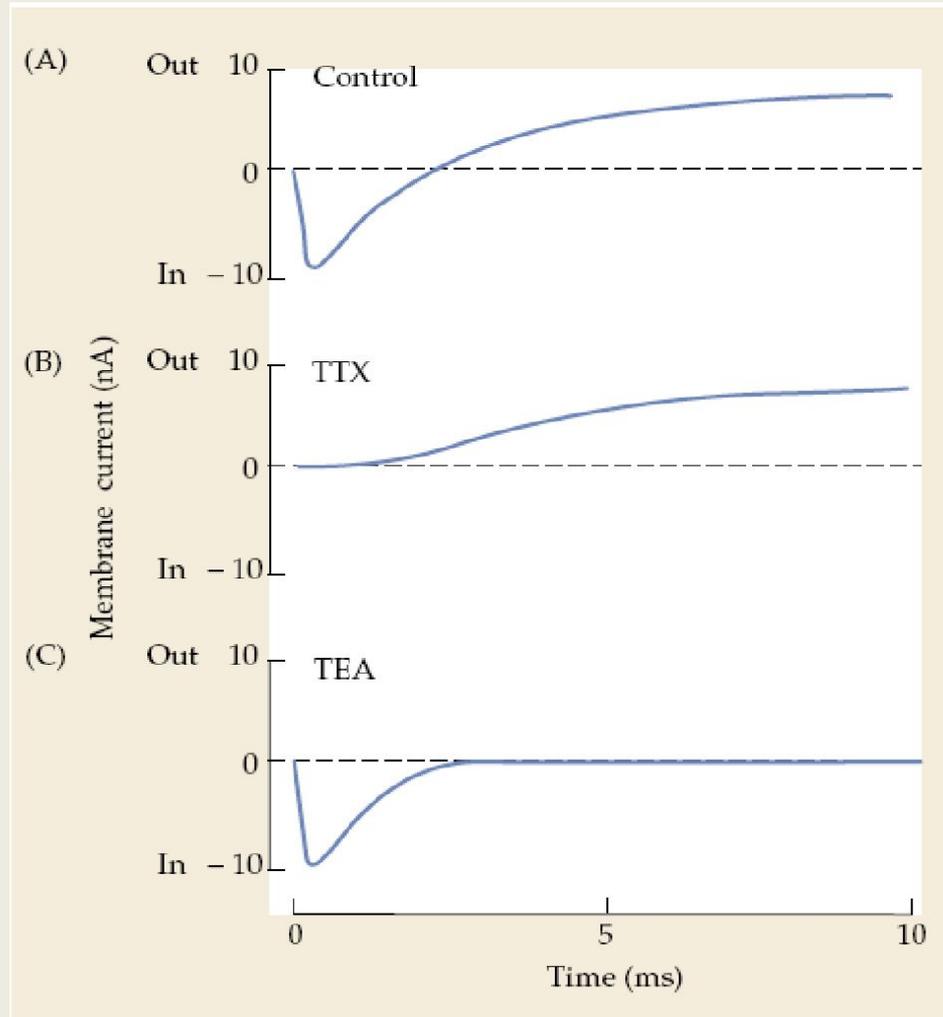


# Разделение **натриевых** и **калиевых** токов, лежащих в основе потенциала действия

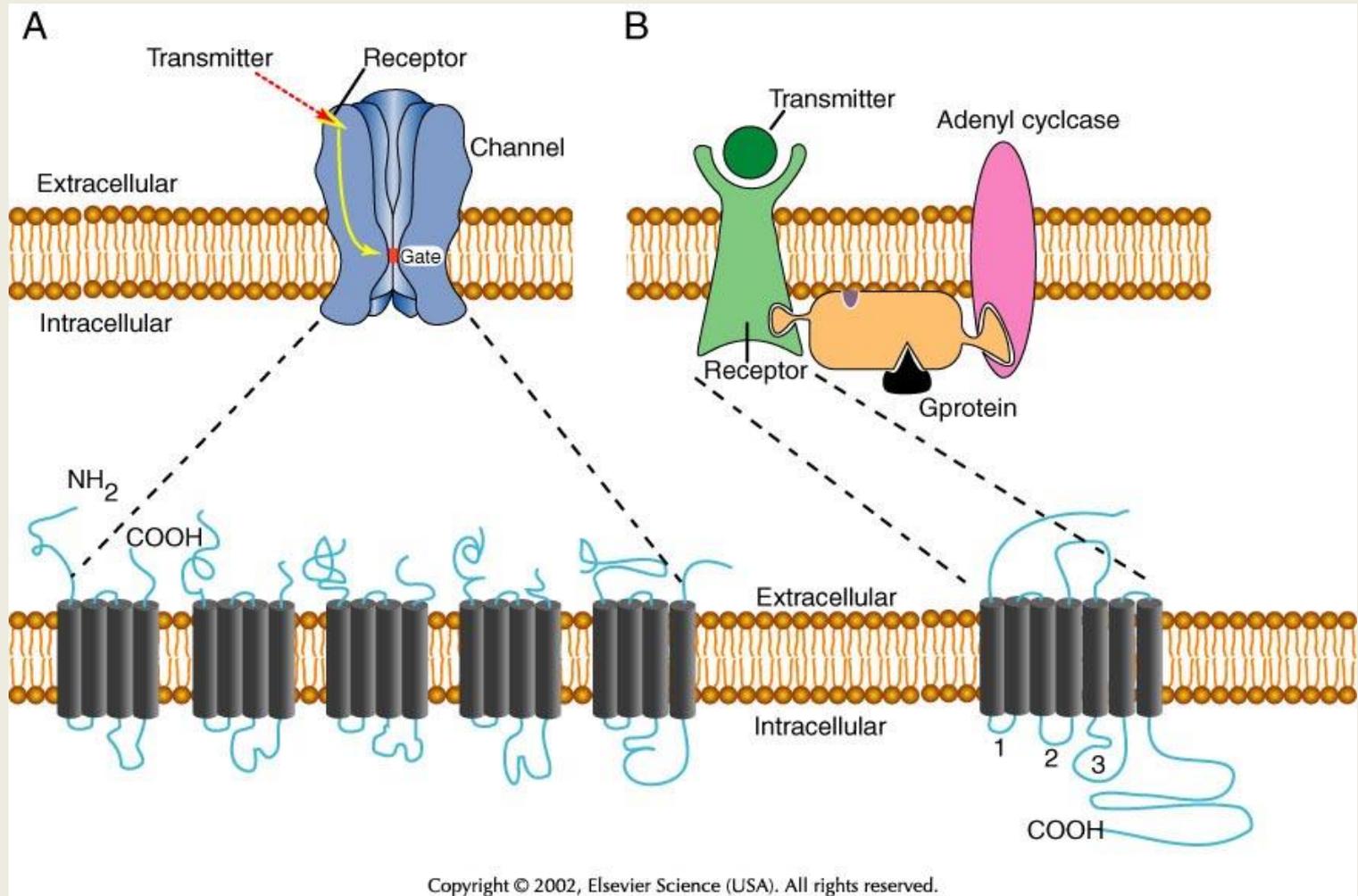
## Суммарный ток

Натриевые каналы  
заблокированы,  
регистрируется  
медленный,  
выходящий  
**калиевый ток**

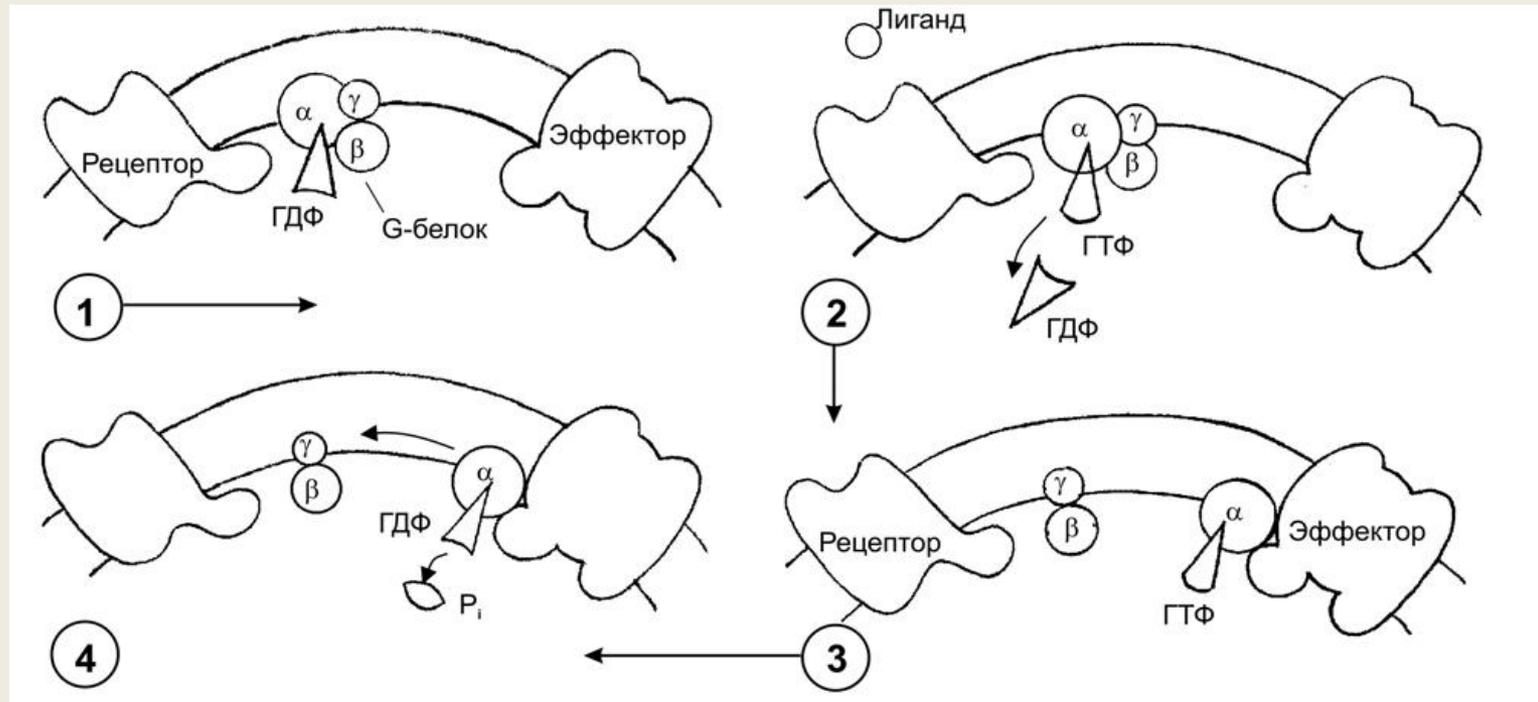
Калиевые каналы  
заблокированы,  
регистрируется  
быстрый входящий  
**натриевый ток**



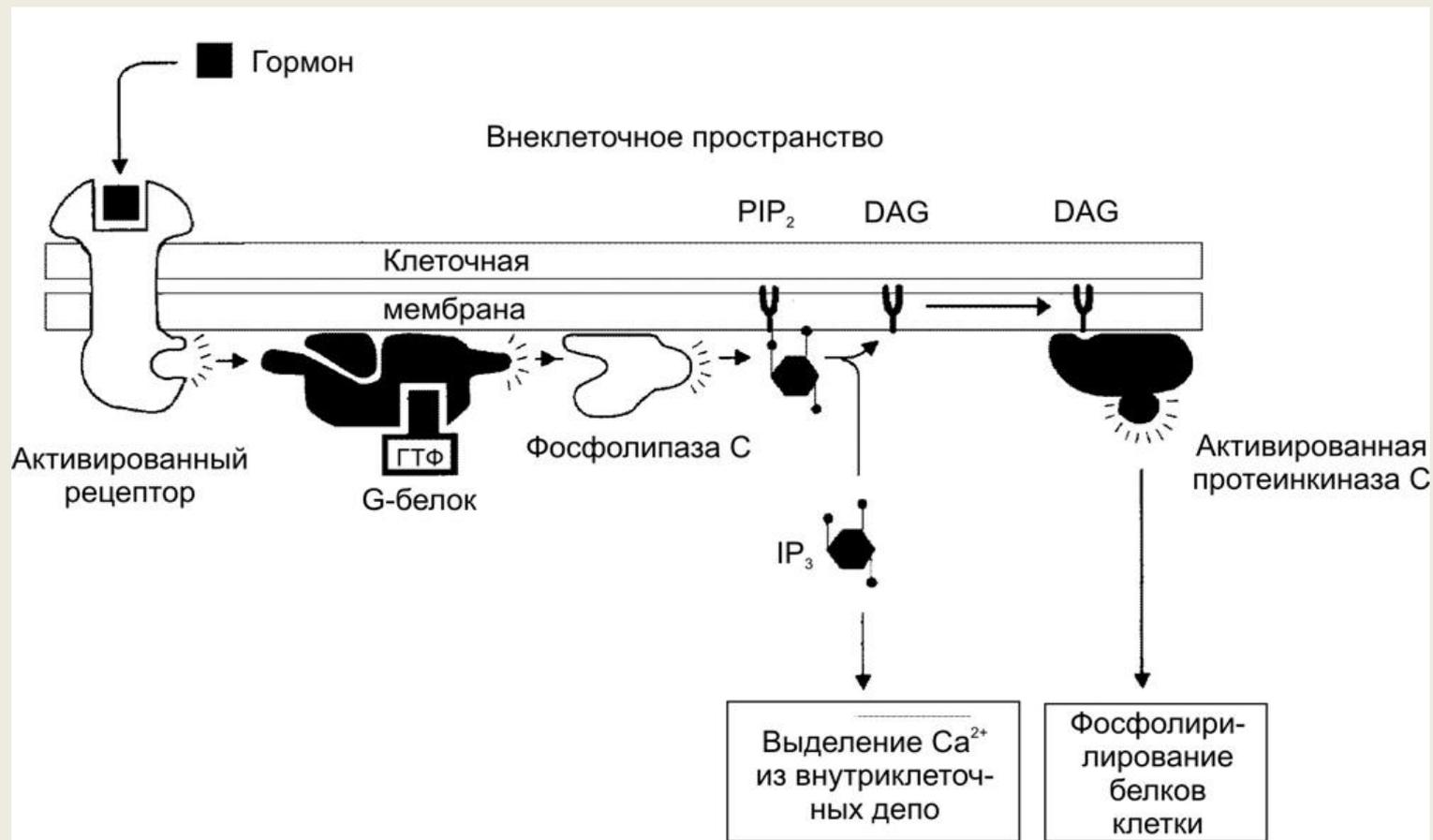
# Ионотропные и метаботропные рецепторы



# G-белок



**1. Выключенное** состояние:  $\alpha$ -СЕ связана с гуанозиндифосфатом (ГДФ) и не контактирует с рецептором; **2.** При взаимодействии лиганда с рецептором ГДФ заменяется на ГТФ, G-белок *активируется*; **3.** G-белок диссоциирует, несущая ГТФ  $\alpha$ -СЕ перемещается в мембране, связывается с эффектором и активирует его; **4.**  $\alpha$ -СЕ превращает ГТФ в ГДФ, инактивируется и объединяется с другими СЕ G-белка.



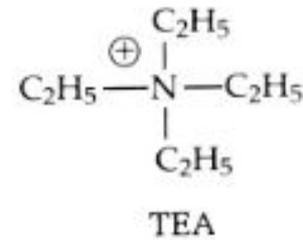
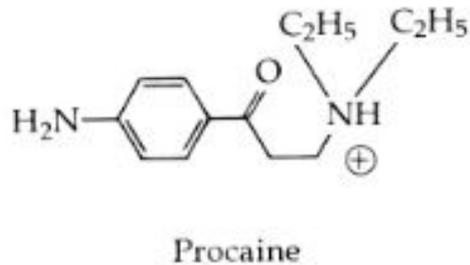
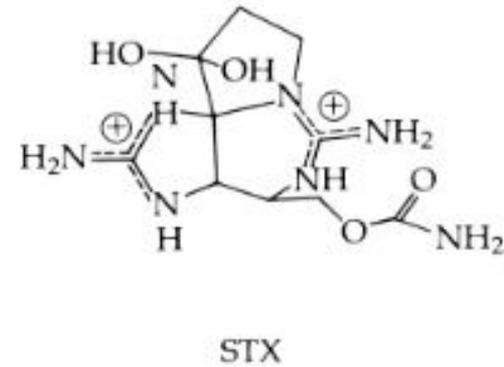
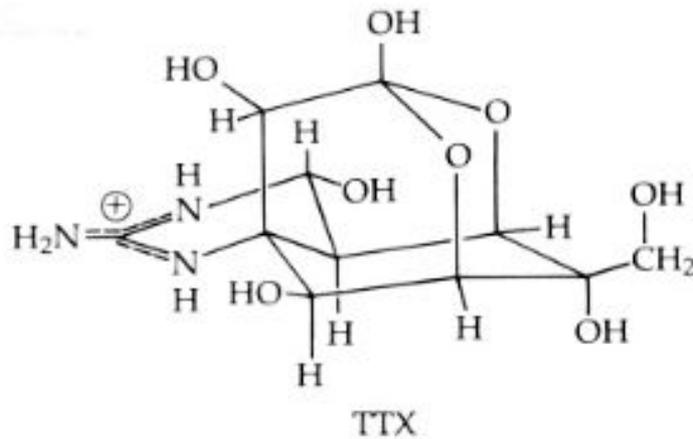
**Роль инозитолтрифосфата и диацилглицерола в реализации эффекта лигандов на клетку-мишень [11].** Образование комплекса лиганда с рецептором стимулирует G-белок, который активирует фосфолипазу C. Фосфолипаза C катализирует расщепление инозитол-4,5-бифосфата (PIP<sub>2</sub>) на инозитол-1,4,5-трифосфат (IP<sub>3</sub>) и диацилглицерол (DAG). Инозитолтрифосфат (IP<sub>3</sub>) вызывает освобождение Ca<sup>2+</sup> из внутриклеточных депо кальция. Ca<sup>2+</sup>-зависимая протеинкиназа C, активированная диацилглицеролом (DAG), фосфорилирует белки клетки.

Вопросы?



Химические структуры веществ, блокирующих натриевые (ТТХ, procaine) и калиевые (ТЕА) каналы возбудимой мембраны.

С их помощью удастся разделить натриевые и калиевые токи, порождающие потенциал действия

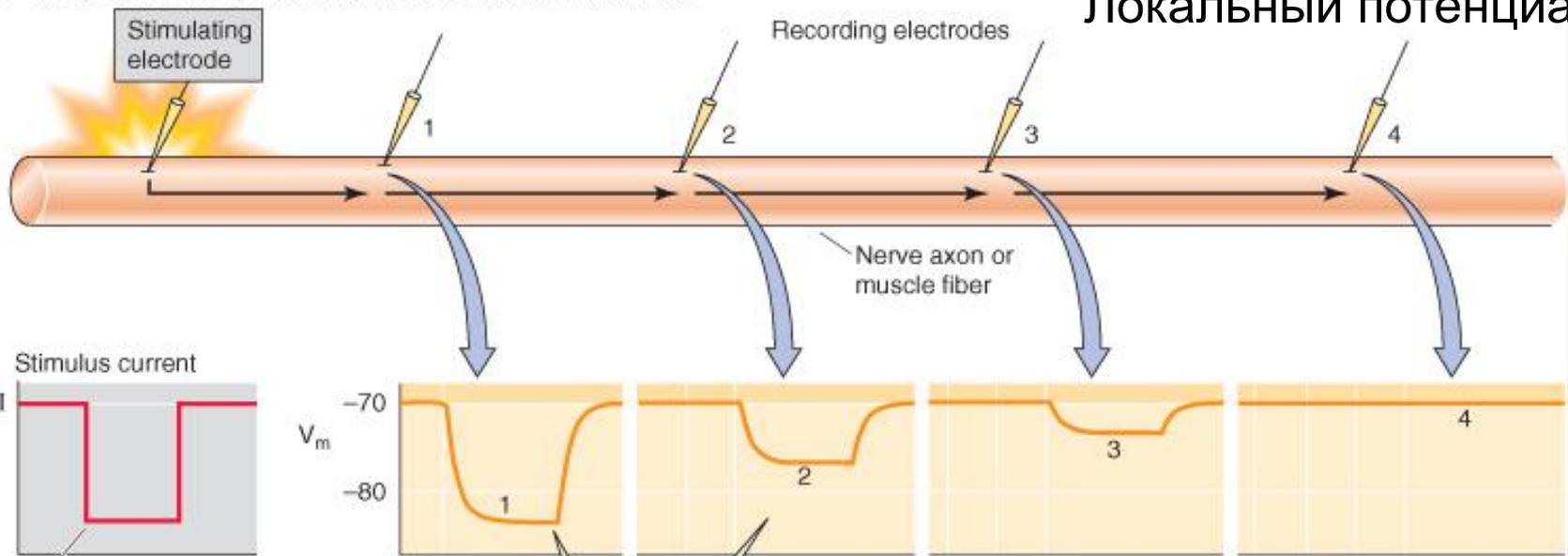


## 1 CHEMICAL STRUCTURES OF CHANNEL BLOCKERS

# Сравнение локального потенциала и потенциала действия

**B** RESPONSE TO STIMULI AS A FUNCTION OF DISTANCE

Локальный потенциал



The electrotonic potential decays as a function of the distance from the stimulus.

Потенциал действия

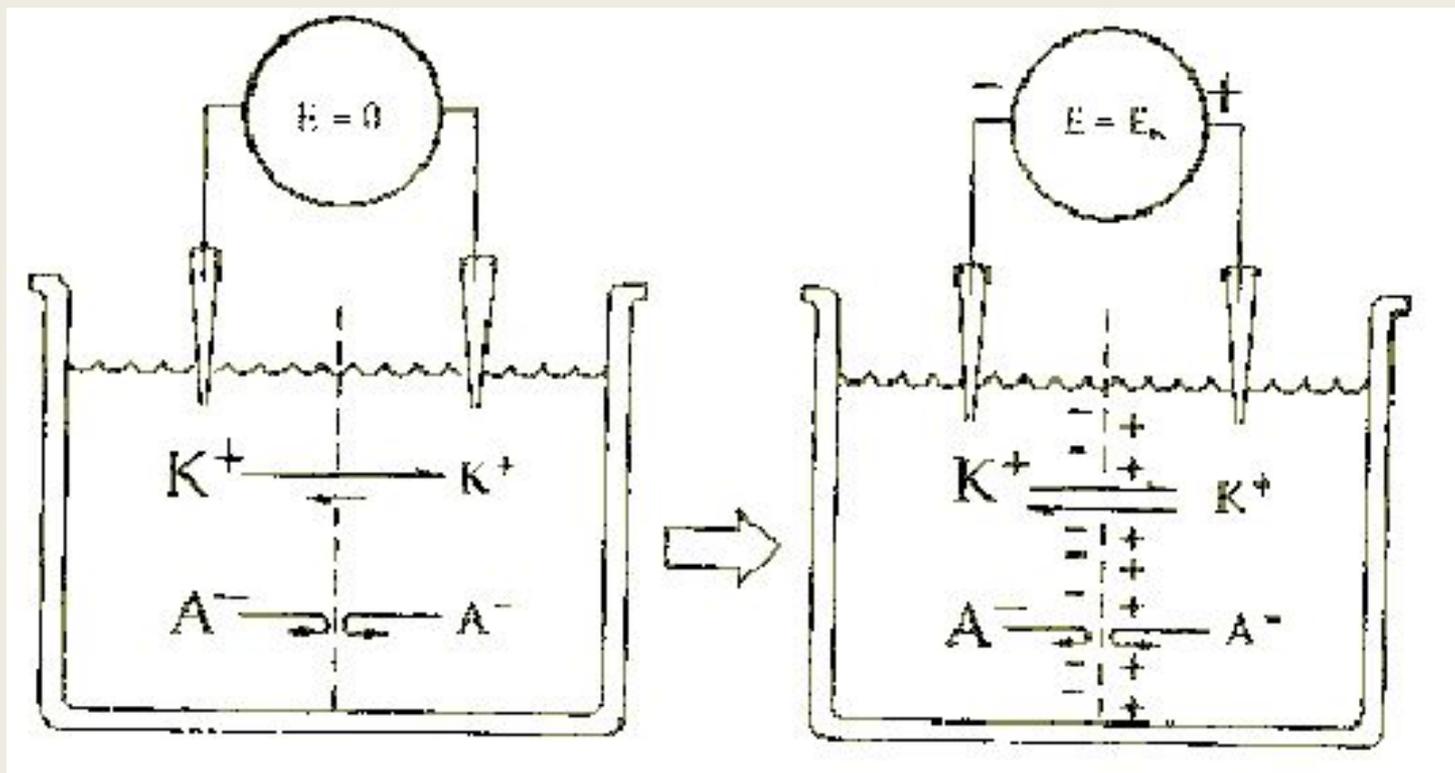
The action potential remains constant in magnitude and shape...

...but the delay between stimulus and response increases with distance.

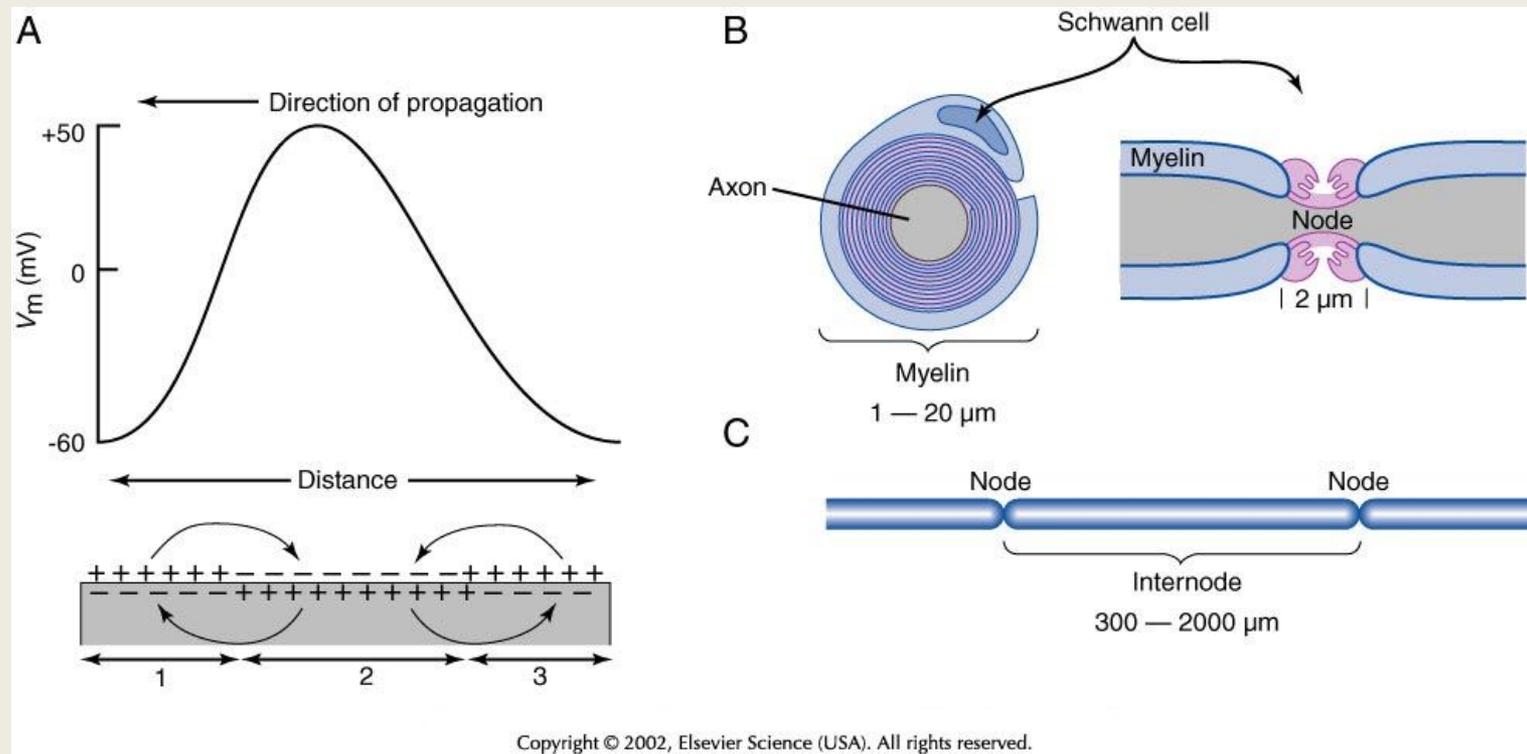
Диффузионный потенциал, создаваемый разностью концентраций ионов калия ( $K^+$ ) в сосудах, разделенных полупроницаемой перегородкой, пропускающей катионы ( $A^-$ )

Начальный момент

Установилось равновесие

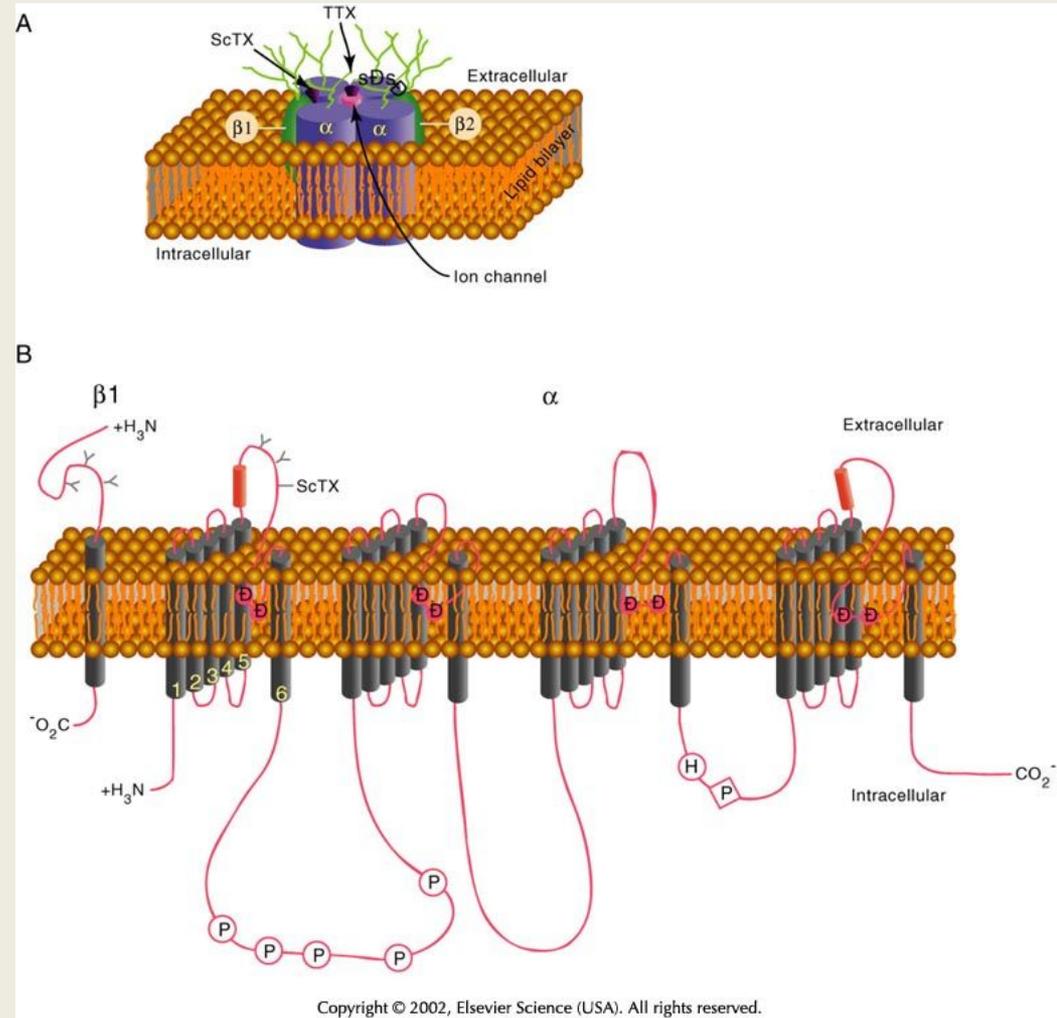


$KCl > KCl$



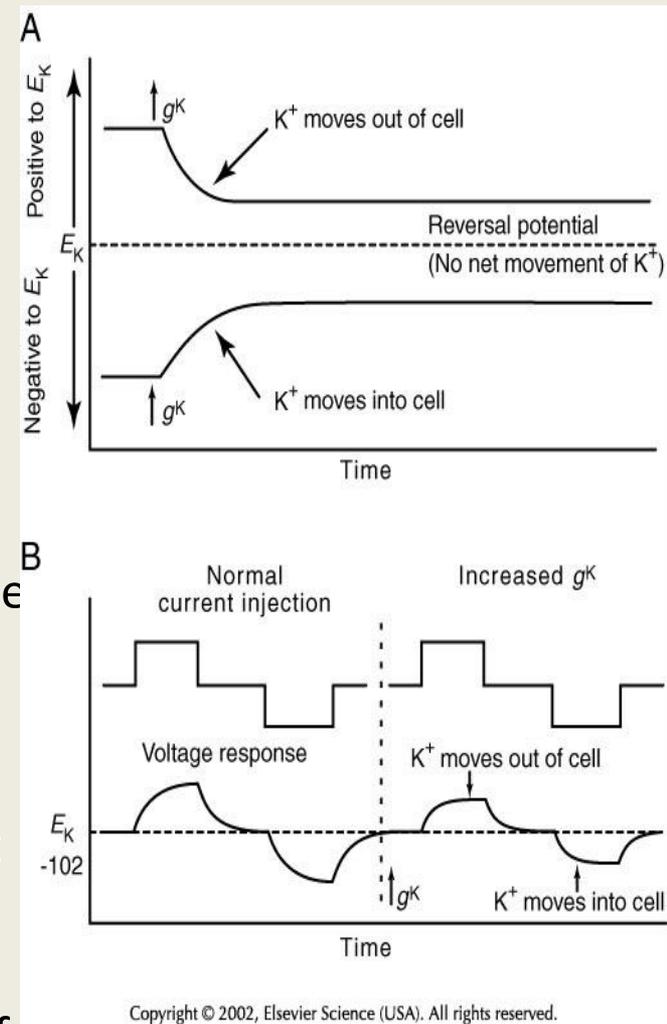
**FIGURE 8** Propagation of the action potential in unmyelinated and myelinated axons. (A) Action potentials propagate in unmyelinated axons through the depolarization of adjacent regions of membrane. In the illustrated axon, region 2 is undergoing depolarization during the generation of the action potential, whereas region 3 has already generated the action potential and is now hyperpolarized. The action potential will propagate further by depolarizing region 1. (B) Vertebrate myelinated axons have a specialized Schwann cell that wraps around them in many spiral turns. The axon is exposed to the external medium at the nodes of Ranvier (Node). (C) Action potentials in myelinated fibers are regenerated at the nodes of Ranvier, where there is a high density of  $\text{Na}^+$  channels. Action potentials are induced at each node through the depolarizing influence of the generation of an action potential at an adjacent node, thereby increasing conduction velocity.

FIGURE 9 Structure of the sodium channel. (A) Cross section of a hypothetical sodium channel consisting of a single transmembrane  $\alpha$  subunit in association with a  $\beta 1$  subunit and a  $\beta 2$  subunit. The  $\alpha$  subunit has receptor sites for  $\alpha$ -scorpion toxins (ScTX) and tetrodotoxin (TTX). (B) Primary structures of  $\alpha$  and  $\beta 1$  subunits of sodium channel illustrated as transmembrane-folding diagrams. Cylinders represent probable transmembrane  $\alpha$ -helices.



- Ионные каналы и рецепторы

FIGURE 4 Increases in  $K^+$  conductance can result in hyperpolarization, depolarization, or no change in membrane potential. (A) Opening  $K^+$  channels increases the conductance of the membrane to  $K^+$ , denoted  $g_K$ . If the membrane potential is positive to the equilibrium potential (also known as the reversal potential) for  $K^+$ , then increasing  $g_K$  will cause some  $K^+$  ions to leave the cell, and the cell will become hyperpolarized. If the membrane potential is negative to  $E_K$  when  $g_K$  is increased, then  $K^+$  ions will enter the cell, therefore making the inside more positive (more depolarized). If the membrane potential is exactly  $E_K$  when  $g_K$  is increased, then there will be no net movement of  $K^+$  ions. (B) Opening  $K^+$  channels when the membrane potential is at  $E_K$  does not change the membrane potential; however, it reduces the ability of other ionic currents to move the membrane potential away from  $E_K$ . For example, a comparison of the ability of the injection of two pulses of current, one depolarizing and one hyperpolarizing, to change the membrane potential before and after opening  $K^+$  channels reveals that increases in  $g_K$  decrease the responses of the cell noticeably.



# Блокирование распространения потенциала действия охлаждением участка нерва

До этого охлажденного места доходит постоянный по амплитуде потенциал действия

А дальше он преформируется в локальный потенциал (с декрементом!)

