

КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

О.В. Яковлева, А.В. Яковлев, Г.Ф. Ситдикова

Физиология возбудимых систем

Учебно-методическое пособие



Казань
2021

УДК 612.813
ББК 28.7

*Рекомендовано к изданию
Редакционно-издательского совета
ФГАОУВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
учебно-методической комиссией Института фундаментальной медицины
и биологии
протокол № 3 от 17 апреля 2019 г.
заседанием кафедры физиологии человека и животных
протокол № 8 от 1 марта 2019 г.*

Рецензенты:

канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных КФУ

Розенталь Светлана Геннадьевна

канд. биол. наук, м.н.с. лаборатории биофизики синаптических процессов

КИББОСП ФГБУН «ФИЦ КазНЦ РАН»

Тяпкина Оксана Викторовна

Яковлева О.В., Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф.

Физиология возбудимых систем Часть 2: учебно-методическое пособие /
Яковлева О.В., Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф. – Казань: _____, 2021. -
77 с.

В настоящее учебно-методическое пособие включены теоретические материалы и лабораторные работы по физиологии возбудимых систем. Работы рассчитаны на самостоятельное выполнение их студентами. Каждая лабораторная работа включает в себя методические указания и практические задачи. Часть работ выполняется с использованием электрофизиологического учебного аппарата Вiorac (США). Учебно-методическое пособие предназначено для бакалавров, магистров, обучающихся на биологических и медицинских специальностях вузов при изучении таких курсов как физиология, биофизика, физиология возбудимых систем, нейрофизиология и др.

УДК 612.813
ББК 28.7

Яковлева О.В., Яковлев А.В., Ситдикова Г.Ф., 2021

Оглавление

Введение	5
Глава 1 Механизмы транспорта ионов и веществ через мембрану	7
Лабораторная работа № 1 Изучение активного транспорта ионов натрия через кожу лягушки	9
Лабораторная работа № 2 Исследование односторонней проницаемости кожи лягушки или иной живой ткани для метиленового синего	11
Лабораторная работа № 3 Исследование влияния рН на проницаемость кожи лягушки	13
Глава 2 Потенциал покоя	16
Лабораторная работа № 4 Зависимость величины потенциала покоя мышцы лягушки от точки приложения электродов к поперечному разрезу и продольной поверхности	17
Лабораторная работа № 5 Потенциал покоя мышцы лягушки, изменение во времени, явление освежевания разреза	17
Лабораторная работа № 6 Влияние ионов калия на потенциал покоя мышцы	19
Лабораторная работа № 7 Потенциал покоя слизистой языка лягушки	20
Лабораторная работа № 8 Измерение мембранного потенциала диафрагмальной мышцы мыши	21
Глава 3 Потенциал действия	23
Лабораторная работа № 9 Исследование потенциала действия нервной цепочки дождевого червя	30
Лабораторная работа № 10 Регистрация потенциала действия от брюшного нервного ганглия мадагаскарского таракана	33
Лабораторная работа № 11 Потенциал действия седалищного нерва лягушки	35
Лабораторная работа № 12 Проведение потенциала действия по нервным волокнам	37
Лабораторная работа № 13 Особенности ритмического возбуждения нервных волокон	38
Лабораторная работа № 14 Оценка порогов раздражения в различных двигательных точках у различных испытуемых	39
Лабораторная работа № 15 Исследование зависимости между силой раздражителя и его длительностью	41
Глава 4 Физиология мышц	43
Лабораторная работа № 16. Регистрация одиночного мышечного сокращения и его анализ	56

Лабораторная работа № 17. Прямое и непрямое раздражение мышцы	57
Лабораторная работа № 18. Суммация мышечных раздражений, тетанус, контрактура	58
Лабораторная работа № 19. Регистрация движений пальца кисти у человека: работа с использованием датчика силы	58
Лабораторная работа № 20. Зависимость работы изолированной мышцы от нагрузки и определение мышечной работы	60
Лабораторная работа № 21. Регистрация миниатюрных токов концевой пластинки диафрагмальной мышцы мыши	61
Лабораторная работа № 22. Сокращения гладкой мышцы желудка лягушки	62
Лабораторная работа № 23. Влияние катехоламинов на тонус гладкой мышцы	63
Лабораторная работа № 24. Влияние физиологически активных веществ на спонтанную активность кишечника крысы	63
Лабораторная работа № 25. Запись электрогастрограммы у человека	64
Глава 5 Нервно-мышечная передача	69
Лабораторная работа № 26. Локализация утомления в нервно-мышечном соединении	72
Лабораторная работа № 27. Влияние фармакологических агентов на нервно-мышечную передачу	73
Лабораторная работа № 28. Регистрация токов концевой пластинки диафрагмальной мышцы мыши	73
Лабораторная работа № 29. Исследование морфологического строения синапса холоднокровных животных с помощью прижизненного флуоресцентного красителя FM 1-43	74
Лабораторная работа № 30. Исследование морфологического строения синапса теплокровных животных с помощью прижизненного флуоресцентного красителя FM 1-43	75
Список используемой литературы	77

Введение

Возбудимыми называют ткани клетки, которых, обладают возбудимостью – способностью отвечать на раздражение переходом из состояния функционального покоя в состояние физиологической активности. К ним относятся нервные, мышечные и некоторые секреторные клетки.

Возбуждение – это процесс перехода живой клетки из состояния покоя в состояние активности, с появлением в клетке высокоамплитудного, электрического сигнала - потенциала действия или, как его иногда называют, нервного импульса. **Раздражение**, это процесс действия раздражителя – фактора внешней или внутренней среды, который, действуя на возбудимую клетку, вызывает возбуждение. **Раздражитель** вызывает возбуждение только тогда, когда его сила равна или превышает определенную величину – **порог раздражения**. Поэтому способность возбуждаться (**возбудимость**) обратно пропорциональна порогу раздражения. В основе свойств возбудимых тканей лежат особенности строения мембран, обеспечивающие избирательную проницаемость для ионов и веществ, градиент концентраций ионов, создание мембранного потенциала покоя и генерацию потенциала действия.

Взаимодействие человека с окружающей средой невозможно представить без его мышечной системы. Производимые движения скелетной мускулатуры необходимы как для выполнения простейших перемещений тела в пространстве, сложных манипуляций хирурга, стоматолога, выражения самых тонких чувств и мыслей с помощью речи, мимики, жестов. Работа сердца обеспечивает кровоснабжение всех органов, работа гладких мышц создает условия для нормального осуществления физиологических процессов, обеспечивающих гомеостаз, практически во всех системах: гастроинтестинальной, сердечно-сосудистой, выделительной, репродуктивной, дыхательной. В естественных условиях возбуждение мышечного волокна (или нескольких мышечных волокон, составляющих мышцу) возникает в результате передачи возбуждения с нервного волокна на мембрану мышечного в местах контакта нерва и мышцы: нервно-мышечных синапсах.

Каждая глава учебного пособия содержит теоретический материал по соответствующей тематике. Лабораторные работы подробно описаны, даны порядок выполнения работы и при необходимости инструкции для экспериментатора. Для проверки осознанности выполнения работ и уровня освоения практических знаний в конце каждого раздела имеются контрольные вопросы.

Требования к оформлению и оценке лабораторных работ

Лабораторные работы оформляются в отдельной тетради для протоколов исследования, по следующему плану:

- 1) Дата занятия
- 2) Название раздела курса.
- 3) Название и номер лабораторной работы.
- 4) Краткая теоретическая справка.
- 5) Цель работы.
- 6) Ход работы (краткое описание выполнения работы).
- 7) Результаты эксперимента, представленные в виде таблиц, графиков, формулы расчетов, рисунков и проч.
- 8) Вывод (не повторяет полученные результаты, а содержит элементы обсуждения, сравнения полученных результатов с теоретическими данными).

Глава 1. Механизмы транспорта ионов и веществ через мембрану

Мембраны клеток ответственны за выполнение многих важнейших функций живой клетки. Их главная роль - служить барьером и поддерживать неравновесную концентрацию веществ в цитоплазме. В возбудимых клетках особенности строения мембран лежат в основе формирования потенциалов в живой ткани. Мембраны способны избирательно пропускать заряженные частицы - ионы и электроны. Этот селективный транспорт делает возможным генерацию и распространение нервного импульса. В мембранах расположены многочисленные рецепторы, которые поддерживают контакты клетки с окружающей средой. В мембране непрерывно идут разнообразные биохимические реакции. Мембрана для клетки является основой ее существования. Клеточные мембраны состоят из липидов и встроенных в липиды белковых молекул. Молекулы липидов организованы в двухслойную мембрану (бислой) толщиной около 6 нм. Полярные гидрофильные головки липидов обращены к поверхностям мембраны, а гидрофобные хвосты вытянуты к середине бислоя. Липиды очень плотно упакованы, поэтому мембрана плохо пропускает воду, практически непроницаема для ионов, не говоря уже о других крупных молекулах. Белковые молекулы частично погружены в слой липидов либо с внеклеточной, либо с цитоплазматической стороны. Некоторые белки целиком пронизывают мембрану. Именно пронизывающие мембрану трансмембранные белки образуют структуры, обеспечивающие движение ионов через мембрану (переносчики и ионные каналы). По весу примерно половина бислоя приходится на различные фосфолипиды, половина - на белки. Белки значительно крупнее, их молекулярный вес в среднем на два порядка больше, чем у липидов. Это значит, что концентрация белков на два порядка ниже, чем концентрация липидов. Снаружи мембрана, как правило, имеет слой гликокаликса, а изнутри она связана с мембранным или цито-скелетом.

Существует два принципиальных механизма перемещения веществ через мембрану – посредством **простой диффузии** и при помощи специфических переносчиков, встроенных в мембрану и представляющих собой трансмембранные интегральные белки. К последнему относят **облегченную диффузию** и **активный транспорт** (первично активный и вторично активный). С помощью простой диффузии через мембрану перемещаются водонерастворимые соединения непосредственно через липидный бислой мембраны, ионы по градиенту концентрации через ионные каналы и молекулы воды (осмос). Несмотря на то, что молекулы воды являются полярными, они диффундируют через липидный бислой

очень быстро, что связано с наличием специфических трансмембранных белков – **аквапоринов**, формирующих каналы для воды.

Рассмотрим более подробно строение и функции **ионных каналов**. Ионный канал - это крупный белок, образующий центральную водную пору, которая сообщает наружную и внутреннюю среду клетки. Канал имеет наружное устье, обращенное в сторону межклеточной среды, и внутреннее, которое обращено в сторону цитоплазмы. Кроме этого канал имеет ворота - специальный участок, который может конформационно меняться и перекрывать водную пору. При помощи этого воротного механизма канал может открываться и закрываться. Существуют несколько классификаций каналов, которые в разных соотношениях учитывают свойства и характеристики работы каналов, молекулярную организацию и гены, кодирующие, структуру каналов, участие в определенной клеточной функции, регуляцию, чувствительность к химическим блокаторам и др.. Все каналы возбудимых клеток можно разделить **на два основных типа**. Первый тип – это **каналы покоя**, которые спонтанно открываются и закрываются без всяких внешних воздействий. Они важны для генерации МП покоя. Второй тип - это, так называемые, **gate-каналы, воротные каналы** (gate - ворота). В покое эти каналы закрыты и могут открываться под действием тех или иных раздражителей. Раздражители могут действовать непосредственно на канал или опосредовано через систему вторичных посредников. Некоторые разновидности таких каналов принимают участие в генерации электрических сигналов возбудимых клеток (ПД, синаптических и рецепторных потенциалов) .

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

Простая диффузия не подходит для молекул (например, для аминокислот, глюкозы и ряда других), которые слишком полярны, чтобы проходить через бислой, и слишком велики, чтобы проникать через ионные каналы. Эти молекулы, а также ионы могут переходить через мембрану посредством **облегченной диффузии**, с помощью трансмембранных интегральных белков-переносчиков по градиенту

концентрации. В мембранах существует много типов переносчиков, каждый из которых имеет специфические места связывания, специфичные для определенных веществ либо классов связываемых соединений. Например, хотя и аминокислоты, и сахар подвергаются переносу с помощью переносчика, белок, транспортирующий аминокислоты, не транспортирует сахар, и наоборот. Мембраны различных клеток содержат различные типы переносчиков и, таким образом, отличаются по типам транспортируемых веществ и скорости их транспорта.

Активный транспорт опосредован переносчиком, потребляющим энергию, чтобы переместить вещество против электрохимического градиента. При **первично активном** транспорте переносчик прямо использует энергию АТФ, а при **вторично активном** - разницу концентрации ионов относительно мембраны, на создание и поддержание которой была ранее затрачена энергия АТФ. Поскольку эти переносчики перемещают вещество против градиента концентрации, они называются «насосами». Примерами переносчиков, обеспечивающих первично активный транспорт являются Са-АТФаза и Na/K-АТФаза. Первая поддерживает низкую внутриклеточную концентрацию Са, вторая - низкую концентрацию ионов Na и высокую концентрацию ионов K внутри клетки.

Во вторично активном транспорте движение натрия всегда идет по градиенту концентрации, в то время как движение активно транспортируемого вещества на том же самом транспортном белке всегда осуществляется против градиента концентрации. Движение активно транспортируемого вещества при вторично активном транспорте может быть или в клетку (в том же самом направлении, как натрий), тогда этот процесс называется **симпортом** или из клетки (против направления движения натрия), тогда это называется **антипортом**. Например, в большинстве клеток аминокислоты активно транспортируются в клетку симпортом с ионами натрия, повышая внутриклеточную концентрацию от 2 до 20 раз по сравнению с внеклеточным раствором.

Лабораторная работа №1. Изучение активного транспорта ионов натрия через кожу лягушки.

Клетка постоянно осуществляет обмен с окружающей средой. Такой обмен возможен благодаря способности клетки пропускать различные вещества через свою оболочку. Эта способность называется **проницаемостью**. На примере кожи лягушки можно убедиться, что в организме совершается ряд процессов, связанных с активным переносом веществ, в частности, ионов натрия, против концентрационного градиента.

Возникающая при этом разность потенциалов между поверхностями кожи может быть скомпенсирована внешней электродвижущей силой (ЭДС). При этом перенос ионов через кожу под влиянием полей невозможен, так же, как и путем диффузии, если растворы по обе стороны кожи идентичны. Между тем однонаправленный поток ионов натрия продолжает осуществляться; о его величине можно судить по току компенсационной цепи. Активный перенос ионов связан с обменом веществ. Метаболические яды приводят к существенному снижению или прекращению переноса ионов натрия и исчезновению разности потенциалов.

Цель работы: изучить активный транспорт ионов натрия через кожу лягушки.

Для работы необходимо: экспериментальная камера, иономер, микроамперметр, батарея, потенциометр, раствор Рингера для холоднокровных животных.

Ход работы:

1. Поместить кожу лягушки на предварительно смазанное вазелином резиновое уплотнение одной из половин камеры. Затем смазать вазелином уплотнение второй половины и соединить камеру, вставляя шпильку в отверстие и плотно затягивая клеммами.

В рабочие отделения камеры залить раствор Рингера для холоднокровных животных.

Подключить приборы по схеме (рис. 1). Источник напряжения подключить так, чтобы его ЭДС была противоположной ЭДС кожи лягушки (регулировать потенциометром, пока показания микроамперметра не будут равны 0).

4. Измерить разность потенциалов на коже лягушки и регистрировать ее динамику в течение 15 минут.

5. Включив компенсационную цепь и, постепенно увеличивая напряжение, компенсировать разность потенциалов на коже, добиваясь нулевого показания иономера. Величина тока в цепи позволит рассчитать поток ионов натрия и константу проницаемости для активного транспорта (число переноса). Ток в цепи равен:

$$I = e S p ,$$

где e - заряд электрона $1,6 \times 10^{-19}$ К, S - площадь поверхности кожи лягушки, через которую протекает ток (см^2), p - число ионов, проходящих через единицу площади кожи лягушки в единицу времени (число переноса).

6. Измерить ток в цепи компенсации в начале опыта, через 10, 20 и 30 мин.; установить, изменилось ли число переноса.

1. Такие же измерения провести на коже лягушки, обработанной

спиртом или эфиром. Сравнить полученные результаты. Построить график изменения числа переноса во времени.

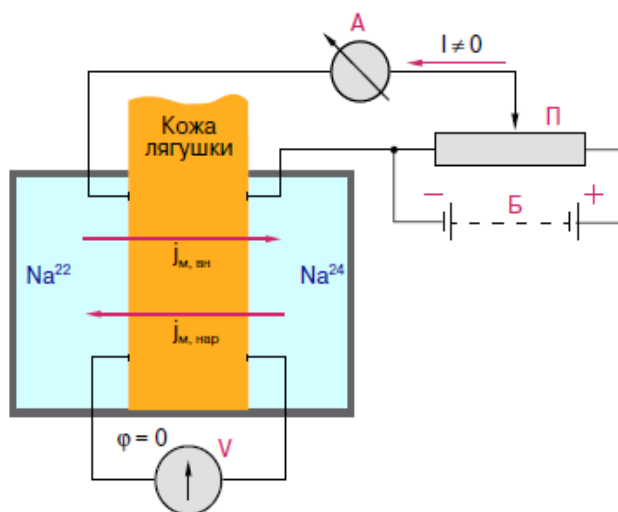


Рисунок 1. Схема измерения тока ионов через кожу лягушки:
 П - иономер, потенциометр, А - микроамперметр, V- вольтметр,
 Б - батарея

Лабораторная работа № 2 Исследование односторонней проницаемости кожи лягушки или иной живой ткани для метиленового синего.

Проницаемостью называется способность клеток и тканей пропускать газы, воду и растворы различных веществ. В основе проницаемости лежит явление диффузии, которое описывается законом Фика:

$$dm/dt = - DS dc/dx ,$$

где m – количество вещества, г; t – время, сек; D – коэффициент диффузии, $см^2 \cdot сек^{-1}$; S – площадь поверхности, перпендикулярной направлению диффузии, $см^2$; c – концентрация вещества, $г/см^3$; x – расстояние от исходной точки диффузии, см.

Как видно из приведенной формулы, скорость диффузии dm/dt прямо пропорциональна площади поверхности, через которую происходит диффузия, концентрационному градиенту и обратно пропорциональна расстоянию.

Для определения скорости проникновения вещества в клетку из межклеточного пространства используется формула

$$dm/dt = - PS (c - ct) ,$$

где P – константа проницаемости; S – площадь поверхности клетки; c – начальная концентрация вещества; ct – концентрация вещества в момент

наступления диффузионного равновесия.

Поскольку диффузия представляет собой пассивный процесс, она осуществляется в обоих направлениях, и со временем происходит выравнивание встречных диффузионных потоков. Кроме того, как видно из вышеприведенных формул, скорость диффузии и проникновения вещества в клетку будет снижаться с уменьшением концентрационного градиента во времени. В живых системах, которые характеризуются определенной интенсивностью обмена веществ, имеют место односторонние потоки, базирующиеся на механизмах активного транспорта, осуществляемого против концентрационного градиента. Кроме того, односторонняя проницаемость биологических мембран определяется:

а) физико-химической асимметрией, обусловленной многослойностью тканевых мембран,

б) способностью разных слоев в различной степени адсорбировать молекулы растворенных веществ,

в) различным сродством слоев к веществам, имеющим разную рН,

г) асимметрией белковых молекул переносчиков в мембране

Классической моделью биологической мембраны, обладающей односторонней проницаемостью, является кожа лягушки. Она состоит из двух слоев: соединительно-тканного и эпителиального. Эпителиальный слой лучше адсорбирует молекулы таких красителей, как метиленовый синий, толуидиновый синий, тионин и др. Адсорбционная способность соединительно-тканного слоя хуже. Поэтому молекулы красителей группы тиазонов перемещаются в направлении от соединительной ткани к эпителию.

Цель работы: изучить проницаемость кожи лягушки для красителей в зависимости от точки их приложения и влияния различных химических факторов.

Для работы необходимо: физиологический раствор хлорида натрия, 0.1% и 0.01% растворы метиленового синего на физиологическом растворе, набор препаровальных инструментов, стеклянные трубки различных диаметров с оплавленными концами, маленькие стеклянные стаканчики, широкие резиновые кольца или лента из тонкой резины, нитки, проволочные рамки, термостат, фотоэлектроколориметр, лягушка.

Ход работы

1. Приготавливают препарат кожного мешка. Для этого лягушку обездвигивают, делают кольцевые надрезы кожи на уровне головки бедренной кости и снимают “чулком” кожу с задних конечностей. Во избежание подсыхания получившиеся кожные трубки смачивают водой снаружи и физиологическим раствором изнутри. Готовят два варианта

кожных мешков: в нормальном положении – эпителием наружу и в вывернутом – эпителием внутрь. Широкой частью натягивают их на стеклянные трубки подходящего диаметра и укрепляют при помощи прочных ниток. С целью проверки герметичности кожные мешки заполняют физиологическим раствором.

1. Заменить растворы Рингера на равные объемы раствора метиленового синего 0.1% и погрузить цилиндры в стаканчики с 10 мл раствора Рингера. Следить, чтобы уровни раствора красителя в цилиндрах и раствора Рингера в стаканчиках совпадали.

3. Стаканчики с цилиндрами поместить на 1 час в термостат, при температуре 22° С.

1. По истечении указанного срока препараты кожных мешков удаляют, а содержимое стаканчиков колориметрируют, используя в качестве контрольного раствора 0.01 % раствор метиленового синего.

5. Аналогичные опыты провести с кожей лягушки, предварительно помещенной на 30 мин.: а) в дистиллированную воду или б) в 0.125 М раствор КСl.

6. Результаты опытов заносят в табл. 1.

Таблица 1

Образец оформления результатов эксперимента

Количество прошедшего красителя	Исследуемый в физиологическом растворе	после обработки H ₂ O	после обработки КСl	после обработки 70° этанолом
объект				
Нормальный мешок				
Вывернутый мешок				

Лабораторная работа № 3 Исследование влияния рН на проницаемость кожи лягушки.

Цель работы: изучить проницаемость кожи лягушки для красителей в зависимости от рН.

Для работы необходимо: физиологический раствор хлорида натрия, 0.125% раствор нейтрального красного на физиологическом растворе, набор препаровальных инструментов, стеклянные трубки различных диаметров с оплавленными концами, маленькие стеклянные стаканчики,

широкие резиновые кольца или лента из тонкой резины, нитки, проволочные рамки, термостат, фотоэлектроколориметр, лягушка, буферные растворы по Серенсену.

Ход работы

1. Приготавливают препарат кожного мешка как описано в предыдущей работе. Широкой частью натягивают их на стеклянные трубки подходящего диаметра и укрепляют при помощи прочных ниток. С целью проверки герметичности кожные мешки заполняют физиологическим раствором.

2. Для исследования влияния рН на одностороннюю проницаемость кожи лягушки для основного индикатора готовят буферные растворы по Серенсену. Буферные растворы представляют собой фосфатные смеси, приготовленные путем смешивания в различных пропорциях 1/15М раствора Na_2HPO_4 и 1/15 М раствора KH_2PO_4 . Варьируя соотношение исходных компонентов, получают фосфатные смеси (табл. 2).

Таблица 2

Фосфатная смесь Серенсена.

рН	1/15М Na_2HPO_4 , мл	1/15 М раствора KH_2PO_4 .
5,28	0,25	9,75
7,73	9,0	1,0

1. В качестве основного красителя используется 0.125% раствор нейтрального красного, который перед заполнением кожных мешков предварительно забуферивают фосфатной смесью из расчета 1 объем буферного раствора на 2 объема раствора индикатора. Физиологический раствор перед заполнением стаканчиков забуферивают в том же соотношении.

2. Используют следующие сочетания рН буфеных растворов для приготовления наружного раствора и раствора индикатора (табл. 3).

Таблица 3

рН фосфатной смеси для наружного раствора	рН фосфатной смеси для индикатора	T, %
5,28	5,28	
5,28	7,73	
7,73	5,28	
7,73	7,73	

5. Заменить растворы Рингера на равные объемы раствора нейтрального красного и погрузить цилиндры в стаканчики с 10 мл раствора Рингера. Термостатирование кожных мешков производят 1 час в термостате, при 22° С.

6. Перед колориметрированием содержимое стаканчиков подкисляют одной каплей 2% раствора серной кислоты. В качестве контроля используйте подкисленный 0,01 % раствор нейтрального красного.

Полученные результаты внесите в сводную таблицу 3.

Сделайте выводы.

Контрольные вопросы

1. Что называют раздражимостью и возбудимостью?
2. Какие ткани в физиологии называют возбудимыми, какие-невозбудимыми?
3. Дайте определение понятию "раздражитель".
4. Каким образом можно экспериментально доказать существование активного транспорта натрия?
5. Что понимают под проницаемостью клеточной мембраны? От чего она зависит?
6. Что понимают под проводимостью ионов в электрофизиологии? От чего она зависит?
7. Проницаемость клеточной мембраны для калия или для натрия в состоянии покоя больше?
8. От чего зависит проводимость ионов через клеточную мембрану?
9. Какой опыт доказывает основную роль ионов калия в обеспечении существования потенциала покоя? Опишите его сущность.
10. Назовите виды ионного транспорта через клеточную мембрану. Поясните их сущность.

Глава 2 Потенциал покоя

Мембранный потенциал покоя это результат разделения зарядов относительно клеточной мембраны. При этом положительные заряды концентрируются на наружной поверхности мембраны, а отрицательные заряды - на внутренней поверхности. Мембранно-ионную теорию происхождения мембранного потенциала покоя предложил Юлиус Бернштейн, ученик Дюбуа-Реймона, в начале прошлого века (1902 г). Мембранный потенциал покоя широко колеблется в различных клетках (от -5 до -100 мВ). Наибольшие значения мембранного потенциала покоя зарегистрированы в возбудимых клетках - нервных, мышечных и секреторных, в которых его величина составляет от -60 до -90 мВ.

Формирование мембранного потенциала происходит в результате движения ионов по концентрационному градиенту через каналы, открывающиеся в покое. Возникновение мембранного потенциала является пассивным процессом, который не требует затрат энергии. Однако, энергия нужна на этапе создания градиента концентрации для ионов при работе транспортных систем. В различных живых клетках мембранного потенциала покоя формируется по-разному. В глиальных клетках в его формировании принимают участие только ионы К, которые двигаются через К-каналы утечки.

В большинстве нервных клеток мембранный потенциал возникает при движении ионов К и Na. Очень редко в формировании мембранного потенциала покоя принимают участие и ионы Cl. В глиальных клетках в состоянии покоя открыты только **К-каналы утечки**. В этом случае, ионы К двигаются благодаря химической движущей силе из цитоплазмы в окружающую среду и концентрируются около наружной поверхности мембраны, формируя положительный заряд. Внутри отрицательный заряд формируется вследствие потери клеткой ионов К, за счет внутриклеточных органических анионов, непроникающих через мембрану, и за счет приближения ионов Cl к внутренней поверхности мембраны.

Как только сформировался заряд на мембране, появляется электрическая движущая сила, заставляющая ионы К входить внутрь клетки. В конце концов, устанавливается равновесие этих сил, и ток ионов К через каналы прекращается. Возникающий мембранный потенциал будет соответствовать калиевому равновесному потенциалу (примерно -80 мВ). К-ток через мембрану можно представить следующим образом: $I_K = g_K(V_m - E_K)$, где V_m - мембранный потенциал, g_K - проводимость мембраны для ионов К (сумма проводимостей всех открытых К-каналов), E_K - равновесный потенциал для иона К. Поскольку в условиях равновесия К-ток равен нулю, то $V_m = E_K$.

В нервных клетках в состоянии покоя мембрана хорошо проницаема для К и в небольшой степени – для Na, поэтому в формировании мембранного потенциала покоя оказывают вклад ионы Na. Поскольку на мембране имеется значительный концентрационный градиент для ионов Na и уже существует разность потенциалов, возникают химическая и электрическая движущие силы направленные внутрь, заставляющие ионы Na входить в клетку, то есть появляется входящий Na-ток через открытые Na-каналы. В результате через мембрану начинают течь два разнонаправленных тока – входящий, деполаризирующий, натриевый $I_{Na}=g_{Na}(V_m-E_{Na})$ и выходящий, гиперполяризирующий, калиевый $I_K=g_K(V_m-E_K)$, где g_K и g_{Na} - проводимости мембраны для ионов К и Na, E_{Na} и E_K – равновесные потенциалы для иона К и Na. В конечном итоге, возникнет равновесие, когда эти два тока становятся равны и противоположны по направлению $I_K = -I_{Na}$. При этом установится новое значение мембранного потенциала покоя (V_m) на более низком уровне:

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

Отсюда, в нервных клетках, по сравнению с глиальными, мембранный потенциал покоя несколько ниже (примерно, -60 мВ) и меньше калиевого равновесного потенциала.

Роль ионов Cl в формировании мембранного потенциала покоя неоднозначна в различных клетках. В большинстве клеток ионы хлора пассивно распределяются по обе стороны мембраны, токи через Cl-каналы в покое отсутствуют, а имеющийся мембранный потенциал равен потенциалу равновесия для хлора. Если же ионы Cl активно транспортируются из клетки, то появление Cl-тока через потенциал-активируемые Cl-каналы делает мембранный потенциал покоя более негативным:

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

Кроме этого, в величину мембранного потенциала покоя вносит свой вклад Na/K насос. Насос является электрогенным, так как при каждом цикле работы насоса три иона Na выводятся из клетки и два иона К поступают в клетку. Клетка постоянно теряет положительные заряды и разность потенциалов на мембране увеличивается на 6-12 мВ.

Итак, мембранный потенциал покоя представляет собой разность потенциалов между наружной и внутренней поверхностью мембраны клетки. Он является результатом разделения зарядов относительно клеточной мембраны, которое возникает за счет движения заряженных ионов по концентрационным градиентам через ионные каналы, открывающиеся в покое. Наличие потенциала на мембране возбудимой

клетки лежит в основе механизмов возникновения в ней электрических распространяющихся сигналов – ПД.

Лабораторная работа № 4 Зависимость величины потенциала покоя мышцы лягушки от точки приложения электродов к поперечному разрезу и продольной поверхности

Цель: определить величину потенциала покоя мышцы и продемонстрировать, что когда используется прибор, работающий по току, изменение сопротивления между отводимыми точками самого объекта существенно меняют показания прибора.

Для работы необходимо: изолированная икроножная мышца лягушки, гальванометр, препаровальный набор, фильтровальная бумага.

Ход эксперимента: На свежем препарате икроножная мышца лягушки производят поперечный разрез мышечных волокон и измеряют потенциал покоя мышцы при расположении первого электрода в центре поперечного разреза, второго - на поверхности у края разреза. Далее электрод поверхности отодвигают от разреза на 2 мм и вновь измеряют потенциал покоя, еще раз отодвигают на 2 мм и вновь замеряют потенциал покоя и так до тех пор, пока два последних замера не дадут одинаковый результат (15-20 мм).

Установив электрод поверхности в точке наибольшего потенциала, а электрод разреза — в центре последнего вновь определяют потенциал покоя. Затем электрод разреза перемещают к краю шагом по 2 мм. Все измерения производятся как можно быстрее, одно за другим.

Оформление результатов Полученные результаты фиксируются в протоколе. По ним следует построить два графика: график зависимости потенциала покоя от перемещения электрода поверхности, и график изменения потенциал покоя при перемещении электрода разреза.

Лабораторная работа № 5 Потенциал покоя мышцы лягушки, изменение во времени, явление освеживания разреза

Цель: определить величину потенциала покоя скелетной мышцы лягушки и наблюдать постепенное падение его в результате отмирания поврежденных мышечных волокон. Неполное восстановление исходного потенциала покоя при освежении разреза свидетельствует об ухудшении функционального состояния и неповрежденных ранее волокон изолированной мышцы.

Для работы необходимо: изолированная икроножная мышца лягушки, гальванометр, препаровальный набор, фильтровальная бумага.

Ход работы

1. Первое измерение потенциал покоя производится тотчас по нанесении поперечного разреза мышце, затем измерения повторяют через каждые 10 минут в течение 30-60 мин. Отметив существенное снижение потенциала покоя, делают новый разрез мышцы на расстоянии 1-2 мм от первого в плоскости ему параллельной. Тотчас вновь замеряют потенциал покоя и далее, через каждые 10 минут до отчетливого снижения величины потенциала.

2 Ход эксперимента фиксируют в протоколе, где отмечают время измерения потенциал покоя (часы, минуты), величину потенциал покоя (с точностью до 0.1 мВ), все произведенные в ходе работы манипуляции — увлажнение препарата, освежение разреза, устранение неполадок и т. д.

Оформление результатов Результаты опыта выражают в виде графика, где по оси абсцисс откладывается время в минутах, а по оси ординат - величины потенциал покоя в мВ.

Лабораторная работа № 6 Влияние ионов калия на потенциал покоя мышцы

Цель: определить величину потенциал покоя скелетной мышцы лягушки, исследовать влияние ионов калия на потенциал покоя скелетной мышцы.

Для работы необходимо: изолированная икроножная мышца лягушки, гальванометр, препаровальный набор, фильтровальная бумага.

Ход работы

Первое измерение потенциал покоя производится тотчас по нанесении поперечного разреза на мышце, затем измерения повторяют через каждые 5 минут в течении 30 минут. Затем на неповрежденный участок мышцы (под вторым электродом) поместить ватку, смоченную изотоническим раствором хлористого калия. Измерения проводить до тех пор, пока разность потенциалов не упадет до нескольких мВ.

Оформление результатов Ход эксперимента фиксируют в протоколе, где отмечают время измерения потенциал покоя (часы, минуты), величину потенциал покоя (с точностью до 0.1 мВ), все произведенные в ходе работы манипуляции — увлажнение препарата, освежение разреза, устранение неполадок и т.д.

Результаты опыта выражают в виде графика, где по оси абсцисс откладывается время в минутах, а по оси ординат - величины потенциал покоя в мВ, указать время действия хлористого калия.

Лабораторная работа № 7 Потенциал покоя слизистой языка лягушки

Слизистая языка лягушки содержит большое количество одноклеточных желез, одинаково ориентированных по отношению к поверхности. Поэтому имеется довольно значительный потенциал, который отводится или от языка целой кураризированной лягушки или от языка изолированного вместе с нижней челюстью, почти полностью может быть отнесен именно за счет железистых клеток, что и демонстрирует данный опыт.

Цель: Регистрация разности потенциалов с поверхности языка лягушки.

Для работы необходимо: неповрежденный язык лягушки, фиксированный на стеклянной пластинке, гальванометр, препаративный набор, фильтровальная бумага, раствор Рингера, дистиллированная вода, концентрированный раствор хлорида натрия 2%, лед.

Ход эксперимента: Прежде всего, убедитесь, что наружная поверхность языка электроотрицательна по отношению к нижней челюсти. Затем измерить величину потенциала, которая может составлять 50-100 мВ. Положив на язык рядом с отводящим электродом кусок льда, убедитесь, что потенциал не только падает, но и может сменить знак. Исследуйте влияние дистиллированной воды и концентрированных растворов солей (NaCl 2%) на исходный потенциал. Все эти измерения обратимы и могут быть продемонстрированы на одном препарате.

Оформление результатов:

Занести полученные результаты в таблицу № 4 и сделать выводы.

Таблица 4

Условия эксперимента	Величина потенциал языка лягушки		
	Измерение №1	Измерение №2	Измерение №3
Без воздействий			
Воздействие холода			
Влияние дистиллированной воды			
Влияние концентрированного раствора NaCl			

Лабораторная работа № 8 Измерение мембранного потенциала диафрагмальной мышцы мыши.

Цель: с помощью микроэлектродного метода измерить мембранный потенциал мышцы.

Для работа необходимо: диафрагмальная мышца мыши, электрофизиологическая установка, раствор Кребса для теплокровных животных, 2М КСl, стеклянные микроэлектроды, ванночка.

Ход работы:

1. Приготовить раствор Кребса для теплокровных, перфузировать карбогеном 20 мин, затем рН раствора довести до значений 7.3-7.4.

2. Приготовить препарат диафрагмальной мышцы мыши. Расположить препарат в стеклянной ванночке, растянув на 110-115 % от начальной длины.

3. Установить ванночку с препаратом в установке, закрепить заземляющий электрод.

4. Заполнить регистрирующий электрод 2М КСl, установить его в манипуляторе и опустить в омывающий раствор. Включить усилитель и предусилитель. К регистрирующему электроду дополнительно подключить вольтметр.

5. Подвести регистрирующий электрод к поверхности мышцы под микроскопом. В момент прокола мембраны зарегистрировать изменение мембранного потенциала на вольтметре, затем наблюдения повторяют через каждые 5 минут в течение 30 минут.

6. Через 30 минут электрод перемещают в другую часть мышцы, замеряют мембранный потенциал и добавляют в перфузионный раствор 2 мл концентрированного раствора хлористого калия, наблюдают изменения мембранного потенциала.

Оформление результатов: Ход эксперимента фиксируют в протоколе, где отмечают время измерения потенциал покоя (часы, минуты), величину потенциал покоя (с точностью до 0.1 мВ), все произведенные в ходе работы манипуляции. Результаты опыта выражают в виде графика, где по оси абсцисс откладывается время в минутах, а по оси ординат - величины потенциал покоя в мВ, указать время действия хлористого калия.

Контрольные вопросы

1. Назовите непосредственную причину наличия потенциала покоя, следствием чего она является?

2. Что называют мембранным потенциалом (потенциалом покоя)? Какова его величина?

3. Нарисуйте схему (график) мембранного потенциала покоя возбудимой клетки.

4. Где преимущественно находятся (в межклеточной жидкости или в цитоплазме) ионы натрия, калия и хлора? Положительно или отрицательно заряжены внутренняя и наружная среды клетки относительно друг друга?

5. Напишите уравнение Нернста, по которому можно рассчитать величину равновесного потенциала для отдельных ионов.

6. Что такое калиевый равновесный потенциал?

7. Что является источником энергии для работы ионных насосов? За счет каких двух путей этот источник энергии восстанавливается?

8. Опишите структурно-функциональную организацию ионного потенциало-зависимого канала.

9. Как экспериментально доказать существование различных типов ионных каналов?

10. Приведите классификацию ионных каналов.

Глава 3 Потенциал действия

Потенциал действия (ПД) – универсальный, высокоамплитудный, быстро распространяющийся по мембране нервной клетки сигнал, обеспечивающий передачу информации в центральной и периферической нервной системе (от рецептора к телу нейрона, от нейрона к нейрону или от нейрона к мышечной или секреторной клетке). ПД возникают в мышечных клетках (поперечно-полосатые, гладкомышечные клетки и кардиомиоциты), где обеспечивают связь возбуждения и сокращения, а также в некоторых ненейрональных клетках. ПД представляет собой быстрое колебание мембранного потенциала клетки в ответ на раздражение, сопровождающееся изменением знака заряда на мембране и возникающее в результате открытия потенциал-активируемых ионных каналов и появления трансмембранных ионных токов. На рис. 2 представлен ПД нервной клетки, зарегистрированный с помощью внутриклеточного электрода.

При малых толчках раздражающего тока, возникают пассивные деполяризационные изменения мембранного потенциала (МП) – электротонические потенциалы, амплитуда которых зависит от силы раздражения. Когда сила раздражения достигает пороговой величины, в клетке возникает быстрое кратковременное и значительное по величине колебание МП, которое и является ПД. Уменьшение МП носит название **фазы деполяризации** ПД, а возвращение МП к исходному состоянию – **фазы реполяризации**. Кратковременная перезарядка мембраны носит название – **овершут**, при этом МП достигает положительных значений (+50 мВ). Иногда в конце ПД наблюдаются **следовые** деполяризационные или гиперполяризационные **потенциалы**. Фаза деполяризации ПД формируется за счет быстро развивающегося входящего Na-тока, который быстро инактивируется. Фаза реполяризации обеспечивается медленно нарастающим выходящим K-током. Естественно, вход ионов Na и выход ионов K во время ПД приводит к изменению концентрации этих ионов в цитоплазме (концентрация ионов K уменьшается, а ионов Na – возрастает). Расчеты показали, что величина этих изменений зависит от размеров клетки и составляет от тысячных до десятых долей процента. В то же время, повышение внутриклеточной концентрации ионов Na увеличивает активность Na/K насоса так, что внутриклеточные концентрации ионов быстро возвращаются к начальному уровню. Инактивация Na-каналов во время ПД приводит к развитию **рефрактерности** – невозбудимости клетки. Поэтому во время ПД клетка теряет способность возбуждаться в течение всей фазы деполяризации и части фазы реполяризации – состояние **абсолютной рефрактерности**.



Рисунок 2. Потенциал действия

ПД можно зарегистрировать, внутриклеточное отведение. При этом один внутриклеточный отводящий микроэлектрод регистрирует мембранный потенциал (-70 мВ). Другой внутриклеточный микроэлектрод служит для раздражения постепенно нарастающими по силе толчками тока (показаны внизу). При слабых толчках раздражающего тока (тонкие линии) регистрируются небольшие деполяризационные электротонические потенциалы. Если амплитуда электротонического потенциала достигает определенной величины (порогового потенциала), а величина деполяризации критического уровня деполяризации в клетке возникает быстрое колебание мембранного - ПД. Подробнее в тексте. Двойными стрелками показаны исходные значения порогового потенциала и его изменения во время следовой деполяризации и гиперполяризации.

Постепенно Na-каналы выходят из состояния инактивации, и возбудимость нервной клетки медленно восстанавливается. Но для того, чтобы возбудить клетку в этот период, необходима более значительная, чем в норме сила раздражения. Этот период времени носит название **относительной рефрактерности**.

Итак, мерой возбудимости можно считать порог раздражения, хотя этот показатель возбудимости ткани относится к характеристике раздражителя, а не возбудимой системы. Но для характеристики возбудимости тканей важно учитывать не только пороговую силу раздражителя, но и время действия раздражителя на ткань. Существует определенная зависимость между временем действия раздражителя и его силой. Эта зависимость для электрического тока в графическом

удвоенной реобазы (отрезок AF), чтобы вызвать возбуждение. Использование этого критерия позволяет точно измерить временные характеристики возбудимых структур, поскольку измерение происходит на крутом изгибе гиперболы. Чем меньше хронаксия, тем больше возбудимость. Например, хронаксия нервных волокон ниже, чем мышечных. **Хронаксиметрия** используется при оценке функционального состояния нервно-мышечной системы у человека (в случае повреждения нерва и его перерождения определяют истинную хронаксию мышцы, которая намного превышает таковую до травмы), в частности челюстно-лицевой области. Показатели хронаксии и реобазы могут значительно меняться при невритах и невралгиях тройничного и лицевого нервов, миозитах мимической и жевательной мускулатуры. Таким образом, количественная оценка физиологических свойств возбудимых биосистем в клинической практике производится опосредованно по характеристикам раздражителя.

Третьим параметром раздражителя является **градиент нарастания силы во времени**. Обычно при физиологических методах исследования применяют прямоугольные импульсы. Однако есть экспоненциальные импульсы (например, переменный ток), фронт подъема которых обладает определенной крутизной. Клетки по-разному реагируют на эту крутизну (рис.). Чем меньше крутизна, тем выше критический уровень деполяризации (E_k) и меньше амплитуда ПД. В этом и заключается **закон градиента нарастания силы во времени**.

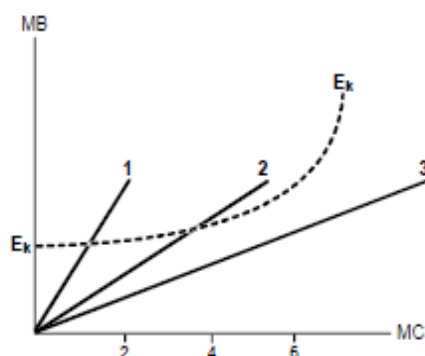


Рисунок 4. Изменение критического уровня деполяризации при медленном нарастании силы раздражителя во времени.

При подпороговом минимальном градиенте ПД – нет ответа, при поровом – минимальная амплитуда ПД, при сверхпороговом градиенте (максимальной крутизне при прямоугольном импульсе) – максимальная амплитуда ПД. Понижение возбудимости ткани и амплитуды ПД вплоть до

полного его отсутствия при медленно нарастающем стимуле (малой крутизне) называется **аккомодацией**. В основе аккомодации лежат инактивация натриевой и повышение калиевой проводимости, развивающиеся во время медленно нарастающей деполяризации мембраны. Раздражитель неизменной величины (например, постоянный ток между моментами включения и выключения) вообще не вызывает возбуждения.

***Распространение потенциала действия.** В нервной системе передача информации на длинные расстояния возможна благодаря тому, что ПД распространяется вдоль аксона нервной клетки равномерно и без потери амплитуды. При этом в соседних (неактивных) от места возникновения ПД участках нервного или мышечного волокна возникают локальные выходящие токи, вызывающие перераспределение зарядов на мембране и деполяризацию в этих участках. Как только деполяризация в неактивных участках достигает порогового уровня, в них открываются потенциал-активируемые Na-каналы, ПД возникает по соседству от первоначального места возникновения, и волна возбуждения продвигается дальше. Другими словами, проведение ПД связано с его постоянным возникновением в соседних участках мембраны. В естественных условиях ПД распространяется по нервным волокнам только в одном направлении: от рецептора по дендриту к телу чувствительного нейрона и от тела нервной клетки по аксону к другой возбудимой клетке. Это связано с тем, что участки, расположенные сзади от продвигающегося ПД, находятся в состоянии рефрактерности, и локальные токи не способны вызвать в них возбуждение.*

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

Миелиновая оболочка, образуемая глиальными клетками, увеличивает скорость распространения ПД. Мембрана клетки многократно наматывается на аксон и образует сегмент миелина длиной 1-1.5 мм.

Между соседними сегментами миелина имеются короткие безмиелиновые участки мембраны аксона, носящие название перехватов Ранвье. Сегменты миелина обладают изолирующими свойствами, а мембрана нервного волокна под ними практически не имеет проводимости и почти полностью лишена Na-каналов. Области перехватов Ранвье, наоборот, имеют очень высокую плотность Na-каналов. Поэтому локальные токи могут течь только от одного перехвата к другому, что позволяет деполяризовать мембрану на более длительные расстояния, вызывая в соседних перехватах Ранвье ПД. В миелинизированных аксонах млекопитающих с диаметром всего 10-20 мкм скорость распространения равна 70-120 м/с. Такой способ проведения ПД называется **сальтаторным проведением** и включает «прыжки» ПД через миелиновые сегменты от перехвата к перехвату, что резко ускоряет продвижение ПД по нервным волокнам.

Лабильность как одно из общих свойств возбудимых систем

Впервые понятие **лабильности** как функциональной подвижности возбудимых тканей ввел русский физиолог **Н.Е. Введенский**. На современном этапе развития физиологии **лабильность** рассматривается как способность биосистемы в течение времени разворачивать одиночный процесс возбуждения. Мерой лабильности является максимальное число возбуждений или ПД, которое способна генерировать возбудимая биосистема за единицу времени в связи с навязанным ритмом возбуждения. Лабильность нервного волокна – 1000 имп/с, мышцы – 200 имп/с. Лабильность возбудимых биосистем практически обусловлена длительностью фазы абсолютной рефрактерности. Так, фаза абсолютной рефрактерности нервного волокна равна в среднем 1 мс, то есть в 1 секунду при ритмическом раздражении с частотой 1000 Гц нерв может воспроизвести 1000 импульсов. Фаза абсолютной рефрактерности у мышцы – 5 мс, то есть в 1 секунду мышца может воспроизвести 200 возбуждений. Лабильность также является мерой возбудимости.

Протекание процесса возбуждения во времени характеризует в возбудимых тканях и лабильность, и хронаксия. Какой из этих показателей дает более полную характеристику процесса возбуждения? Хронаксия – это время, в течение которого должен действовать ток, силой в 2 реобазы, чтобы вызвать возбуждение. В таком случае, хронаксия характеризует только начальную стадию – возникновение импульса возбуждения, а лабильность – протекание всего импульса. Кроме того, хронаксия связана с одиночным возбуждением, а лабильность – с множеством импульсов возбуждения, взаимодействующих друг с другом. Поэтому лабильность более полно характеризует протекание возбуждения во времени.

Итак, общими свойствами возбудимых биосистем являются:

1. Возбудимость
2. Лабильность
3. Проводимость

При этом мерой возбудимости могут служить:

- а) Порог раздражения (характеристика раздражителя)
- б) Хронаксия (характеристика раздражителя)
- в) Пороговый потенциал (характеристика мембраны)
- г) Лабильность (характеристика мембраны)

Законы проведения возбуждения в нервных волокнах

1. **Закон двустороннего проведения** - возбуждение, возникающее в одном участке нерва, распространяется в обе стороны от места своего возникновения. В организме возбуждение всегда распространяется по аксону от тела клетки (ортодромно).

2. **Закон анатомической и физиологической целостности** - возбуждение может распространяться по нервному волокну только в случае его морфологической и функциональной целостности. Различные факторы, воздействующие на нервное волокно (наркотические вещества, охлаждение, перевязка и т. д.) приводят к нарушению физиологической целостности, т. е. к нарушению механизмов передачи возбуждения.

Несмотря на сохранение его анатомической целостности, проведение возбуждения в таких условиях нарушается. Н. Е. Введенский обнаружил, что если участок нерва подвергнуть альтерации (т. е. воздействию повреждающего агента) посредством, например, отравления или повреждения, то лабильность такого участка резко снижается. Восстановление исходного состояния нервного волокна после каждого потенциала действия в поврежденном участке происходит медленно. При действии на этот участок частых раздражителей он не в состоянии воспроизвести заданный ритм раздражения, и поэтому проведение импульсов блокируется. Такое состояние пониженной лабильности было названо Н. Е. Введенским **парабиозом**. Явление парабиоза лежит в основе медикаментозного локального обезболивания. Влияние анестезирующих веществ также связано с понижением лабильности и нарушением механизма проведения возбуждения по нервным волокнам. Парабиоз - явление обратимое. Если парабиотическое вещество действует недолго, то после прекращения его действия нерв выходит из состояния парабиоза через те же фазы, но в обратной последовательности. Механизм развития парабиотического состояния сводится к следующему. При воздействии на нервное волокно парабиотического фактора нарушается способность

мембраны увеличивать натриевую проницаемость в ответ на раздражение. В участке альтерации инактивация натриевых каналов, вызванная повреждающим агентом, суммируется с инактивацией, вызываемой нервным импульсом, и возбудимость снижается настолько, что проведение следующего импульса блокируется.

3. Закон изолированного проведения - возбуждение, распространяющееся по волокну, входящему в состав нерва, не передается на соседние нервные волокна. Способность нервного волокна к изолированному проведению возбуждения обусловлена наличием оболочек, а также тем, что сопротивление жидкости, заполняющей межволоконные пространства, значительно ниже, чем сопротивления мембраны волокна. Поэтому ток, выйдя из возбужденного волокна, шунтируется в жидкости и оказывается слабым для возбуждения соседних волокон. Основная часть тока, возникающего между возбужденным и невозбужденным участками нервного волокна, проходит по межклеточным щелям, не действуя на рядом расположенные нервные волокна. Изолированное проведение возбуждения имеет важное значение. Нерв содержит большое количество нервных волокон (чувствительных, двигательных, вегетативных), которые иннервируют различные по структуре и функциям эффекторы (клетки, ткани, органы). Если бы возбуждение внутри нерва распространялось с одного нервного волокна на другое, то нормальное функционирование органов было бы невозможно.

4. Закон бездекрементного проведения - амплитуда потенциала действия не изменяется с увеличением расстояния от места его возникновения.

Лабораторная работа № 9 Исследование потенциала действия нервной цепочки дождевого червя

Цель работы: зарегистрировать ПД нервной цепочки дождевого червя, определить скорость проведения по нерву и выявить зависимость зависимости между временем действия раздражителя и его силой.

Для работы необходимо: дождевые черви, раствор Рингера для холоднокровных (6 мг натрий хлорид, 0.12 мг калий хлорид, 0.20 мг кальций хлорид, 0.10 мг натрий бикарбонат на литр дист. воды), лед, препаративный набор, спиртовой раствор 10%, бинокляр, ванночка для регистрации, преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A или BSLCBL4B.

Ход работы:

6 Приготовить раствор Рингера для червей.

7 Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе ванночку через канал 2, расположив электроды так, как показано на рисунке 5.

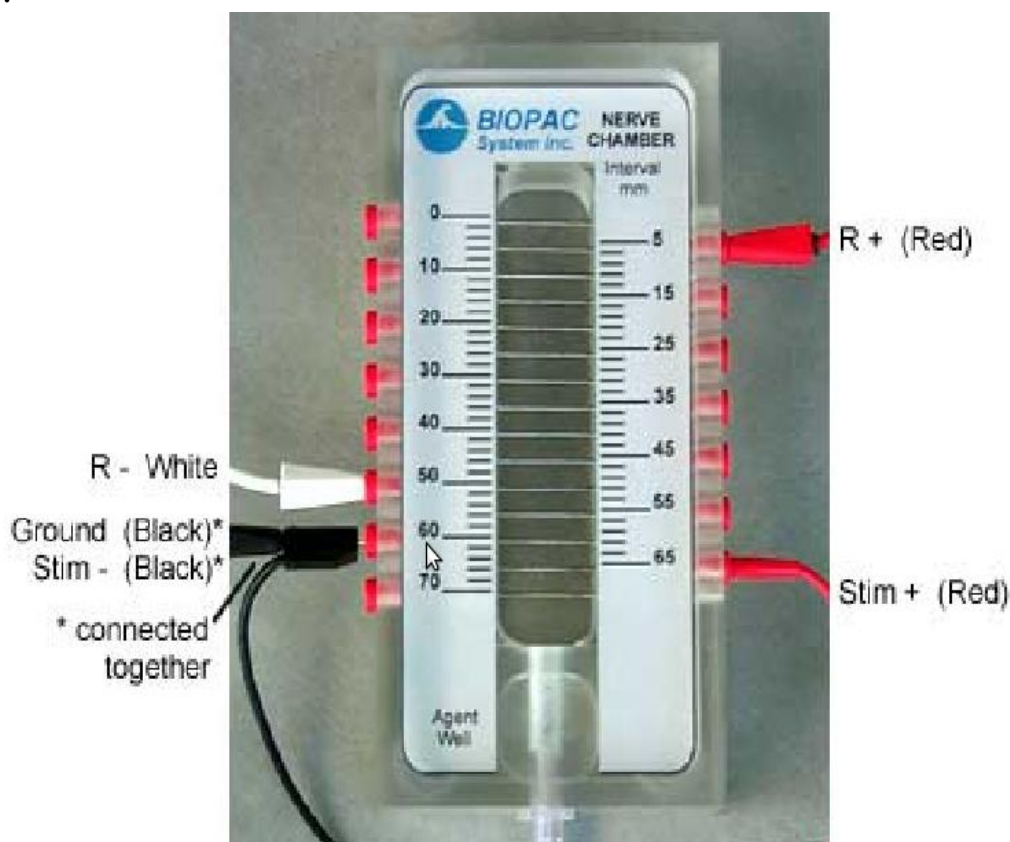


Рисунок 5. Расположение электродов BSLCBLAB на ванночке.

*R - регистрирующие электроды: красный (R+), белый (R-).
Stim – стимулирующие электроды: красный (+) и черный (-).
Ground — индифферентный электрод (черный, подключается совместно со стимулирующим).*

8 Включите на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

9 Преступите к препаровке червя. Червя необходимо помыть, положить в чашку Петри со спиртовым раствором для анестезии на 5-10 минут. Прикрепить червя спинной стороной к препаровальной доске иголочками.

Надрезать червя посередине длиной 6-8 см. С использованием иголочек развернуть червя, вычистить нервную цепочку убрав органы.

Аккуратно поместить червя в ванночке, как показано на рисунке 6.

5. Создайте в программе новый файл, назвав его «№ группы, день».

Выставьте «0» на стимуляторе.

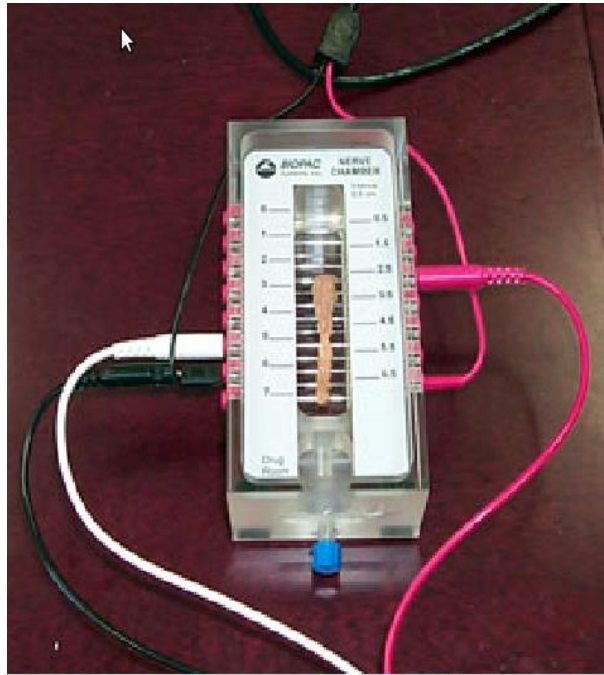


Рисунок 6 . Расположение дождевого червя в ванночке.

В окне MP35 канал 1 должен отражать стимулятор, канал 2 - регистрацию ПД. В окне стимулятора выбрать частоту стимуляции - 1 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

6. Для регистрации скорости проведения по нервной цепочке установите стимулирующий и отводящий электроды на расстоянии 1 см. Стимулируйте нервную цепочку, постепенно повышая амплитуду стимуляции. Запишите пороговое значение.

Запишите ПД нервной цепочки червя в ответ на сверхпороговые стимулы с расстояниями между электродами 1 см.

Запишите ПД с расстояниями между электродами 2 и 3 см.

7. Прделайте те же действия что в пункте 6, расположив на нервной цепочке червя кусок льда.

8. Для анализа полученной записи необходимо выделить участок от начала стимула до начала ПД как показано на примере. Выберите параметр «delta T» и запишите время в мсек. Рассчитайте скорость проведения ПД по нервной цепочке.

9. Для определения зависимости длительности стимула от его силы установите на стимуляторе силу «0 В», длительность импульса 0.1 мсек, частоту стимуляции 1 Гц.

Увеличивайте амплитуду стимуляции до пороговых значений и стабилизации амплитуды ПД.

Затем измените длительность импульса до 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 и 2 мсек

и повторите действия.

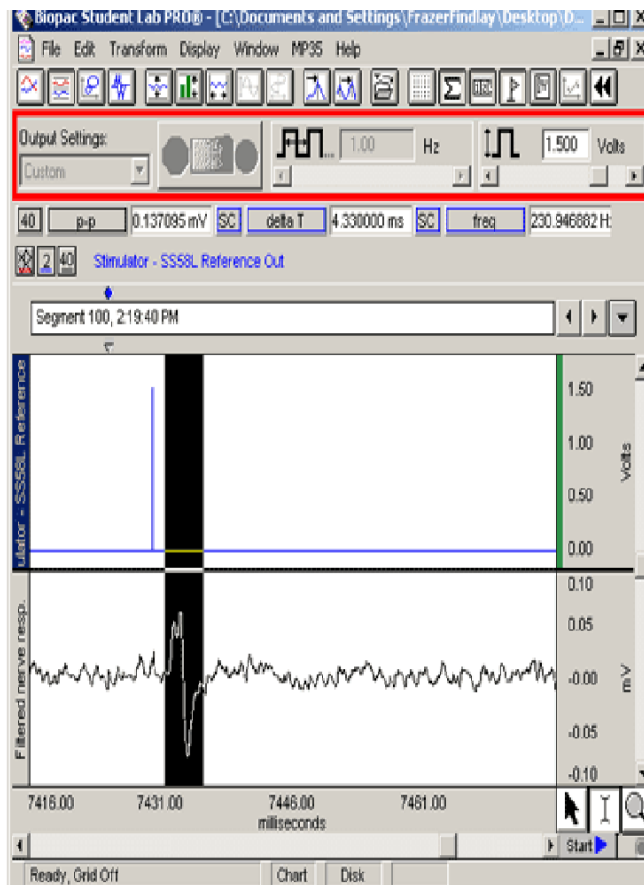


Рисунок 7. Пример обработки параметров потенциалов действия.

Для анализа выделите минимальные ПД как показано на примере для каждой длительности и выберите параметр «Мах» - максимальная амплитуда, запишите амплитуду ПД в мВ. То же проделайте для определения максимальных величин ПД.

Постройте график зависимости амплитуды от длительности стимула. Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 10. Регистрация потенциала действия от брюшного нервного ганглия мадагаскарского таракана.

Для того чтоб вызвать ПД в брюшном ганглии таракана необходимо стимулировать «анальные церки», которые содержат механорецепторы. Даже маленькие отклонения церок при касании или движением воздуха ведут к генерации ПД в брюшном ганглии.

Цели работы:

10 Записать ответы брюшного ганглия при стимуляции церок

воздухом и прикосновением.

11 Сравнить ответы от церок с правой и левой стороны.

Для работы необходимо: декапитированный мадагаскарский таракан, раствор Рингера для насекомых (на литр дистиллированной воды), препаровальный набор, микроманипулятор, пипетка Пастера, преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL8, EL452.

Ход работы:

1. Приготовьте раствор Рингера для насекомых (NaCl 0,650 % KCl 0,025 % CaCl_2 0,025 % NaHCO_3 0,025 %).

2. Соедините компьютер и преобразователь сигналов BSL MP35 между собой через USB. Подключить к системе металлические электроды через канал 1.

3. Включите на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

4. Преступите к препаровке таракана.

Таракана положите в чашку Петри или стакан с эфиром для анестезии на 5-10 минут. Прикрепите спинной стороной к препаровальной доске иголочками. Вскройте таракана, вычистите брюшной узел (рисунок 8). Установите электроды.

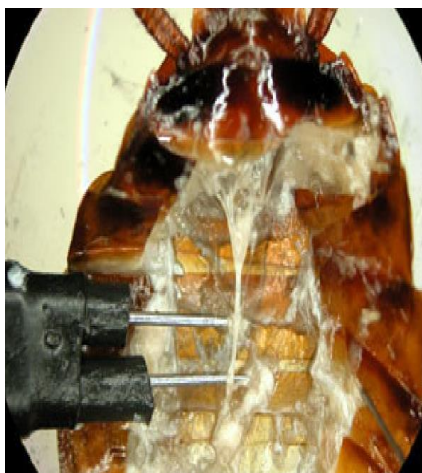


Рисунок 8. Расположение электродов на брюшном узле мадагаскарского таракана.

5. Создайте в программе новый файл, назвав его «№ группы, день».

В окне MP35 канал 1 должен отражать регистрацию ПД мадагаскарского таракана. Выставить скорость протяжки 2 сек.

▲ Перед началом стимуляции проведите запись спонтанной активности брюшного узла таракана. Определите среднее значение базовой активности.

▲ Затем проведите стимуляцию левой церки воздухом, затем через 10-15 секунд, не прекращая записи стимулируйте правую церку.

Для анализа выделите участки длительностью 1 сек и рассчитайте максимальные величины ПД (выберите параметр «Мах» - максимальная амплитуда, в мВ). Сравните результаты.

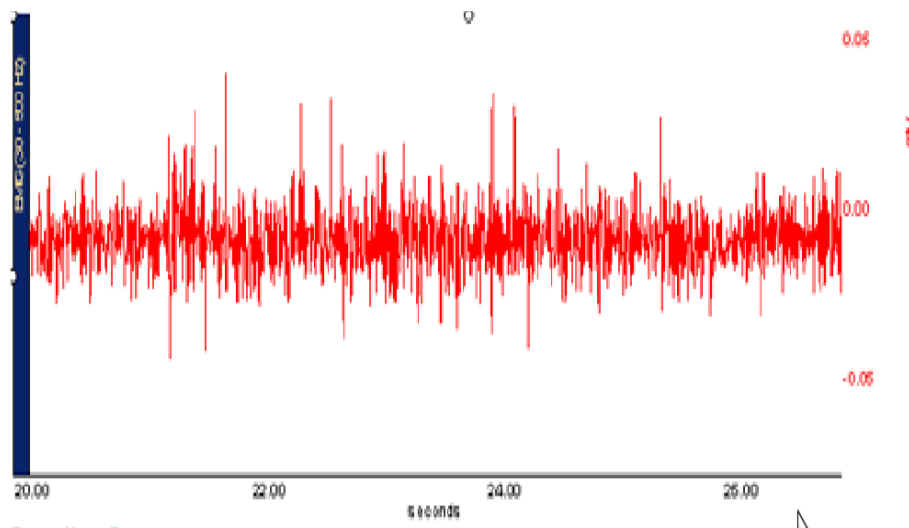


Рисунок 9. Пример записи активности брюшного узла мадагаскарского таракана при стимуляции церок.

7. Проведите стимуляцию церок прикосновением.

Проведите анализ записей (как в пункте б), сравните результаты.

Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 11 Потенциал действия седалищного нерва лягушки.

Цель работы: регистрация потенциала действия седалищного нерва лягушки, выявление роли выходящего калиевого тока в генерации ПД, определение следовых изменений возбудимости и регистрация следового отрицательного потенциала.

Для работы необходимо: лягушка, препаровальный набор, раствор Рингера для холоднокровных животных, ванночка для регистрации преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы:

1. Препарировать седалищный нерв лягушки длиной не менее 4 см. Поместить в ванночку, заполненную раствором Рингера.

2. Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе

ванночку через канал 2, расположив электроды так, как показано на рисунке 5.

3. Включить на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

4. Создать в программе новый файл «№ группы, день».

Выставить «0» на стимуляторе.

В окне MP35 канал 1 должен отражать стимулятор, канал 2 - регистрация ПД. В программе стимулятора выбрать частоту стимуляции - 1 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

5. Определите пороговую и максимальную силы стимула. Для этого постепенно увеличивайте силу стимула на стимуляторе и регистрируйте изменения ПД. Запишите пороговую и максимальную силы стимула. Зарисуйте двухфазный ПД.

6. Для получения монофазного ПД участок нерва под дистальным отводящим электродом необходимо повредить пинцетом. Зарегистрируйте монофазный ПД и определите его параметры: амплитуду, время нарастания, время спада, среднюю скорость нарастания.

Для этого выделите соответствующие участки ПД и выберите параметры для анализа «Мах» - максимальная амплитуда, мВ, «delta T» - время, мсек.

7. Для изучения длительности рефрактерных периодов используют сдвоенные раздражающие стимулы, временной интервал которых можно изменять. Первый стимул называется эталоном, он вызывает нормальный ПД. Второй стимул называется тестирующим, поскольку он помогает определить возбудимость нерва через различные интервалы времени после первого ПД.

Для этого в окне стимулятора необходимо выставите число стимулов — 2, интервал между стимулами — 1 сек. Далее уменьшая интервал между стимулами необходимо определить длительность относительной и абсолютной фазы рефрактерности. Результат запишите.

8. Следовой отрицательный потенциал, сопровождающий ПД нерва лягушки, наблюдается в условиях монофазного отведения при значительном усилении и небольшой скорости развертки. Следовая деполяризация становится более выраженной после длительного выдерживания нерва в растворе Рингера, предварительной тетанизации или после действия некоторых веществ, например вератрина, ионов никеля и кобальта.

Подберите необходимые параметры усиления, проведите стимуляцию нерва в течение 5 сек с частотой 100 Гц, затем поменяйте частоту на 1 Гц и зарегистрируйте следовой отрицательный потенциал нерва. Определите его параметры: амплитуду и длительность. Для этого выделите ПД и выберите параметры для анализа «Мах» - максимальная амплитуда, мВ,

«delta T» - время, мсек.

9. Для выявления роли калиевых каналов апплицируйте на нерв раствор тетраэтиламмония (блокатора потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов) в концентрации 1 мМ. Наблюдайте за изменениями формы ПД, объясните полученные результаты.

Лабораторная работа № 12 Проведение потенциала действия по нервным волокнам

Цель: определение скорости распространения нервного импульса по волокнам разных групп и изучение закономерностей проведения.

Для работы необходимо: лягушка, препаративный набор, раствор Рингера для холоднокровных животных, ванночка для регистрации преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы:

1. Для выполнения работы используют препарат седалищно-малоберцового нерва крупной лягушки, выделенный от позвоночника до стопы. Поместите нерв в ванночку, заполненную раствором Рингера.

2. Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе ванночку через канал 2, расположив электроды так, как показано на рисунке 5. Электроды должны находиться как можно дальше друг от друга.

3. Включить на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

4. Создать в программе новый файл «№ группы, день».

В окне MP35 канал 1 должен отражать стимулятор, канал 2 - регистрацию ПД. В окне стимулятора выберите частоту стимуляции - 1 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

5. При сверхмаксимальной силе раздражения зарегистрируйте картину дисперсии ПД (т.е. разложение его на отдельные пики, соответствующие возбуждению альфа-, бета-, и гамма- волокон группы А). Зная расстояние между раздражающим и отводящим электродами и время латентного периода, рассчитайте скорость проведения (м/с) импульса в разных группах нервных волокон.

2. Условием нормального распространения возбуждения по нервным волокнам является их анатомическая и функциональная целостность. Блокирование проведения ПД вызывают многие вещества, например избыток ионов калия и местные анестетики.

После регистрации ПД с частотой 1 Гц, силой равной 50 % от максимальной в течение 20 секунд, введите в углубление камеры между

раздражающим и отводящим электродами ватный тампон смоченный физиологическим раствором с повышенной концентрацией (в 20 раз) ионов калия или изотоническим раствором КСl. Наблюдайте за изменением проведения импульса по волокнам разных групп, регистрируя амплитуды пиков ПД. После полного блокирования проведения замените раствор на нормальный и наблюдайте восстановление ПД.

3. Прodelайте такой же опыт, используя в качестве блокатора 1% лидокаина или новокаина.

Результаты опытов представьте в виде графиков зависимости амплитуды ПД от времени действия вещества.

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 13 Особенности ритмического возбуждения нервных волокон

Цель: определение лабильности волокон седалищного нерва, устойчивость к длительному ритмическому раздражению, регистрация пост-тетанической гиперполяризации.

Для работы необходимо: лягушка, препаровальный набор, раствор Рингера для холоднокровных, ванночка для регистрации, преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы:

1. Препарировать седалищный нерв лягушки длиной не менее 4 см. Поместить в ванночку заполненную раствором Рингера.

2. Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе ванночку через канал 2, расположив электроды так, как показано на рисунке 5.

3. Включить на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

4. Создать в программе новый файл «№ группы, день».

Выставить «0» на стимуляторе.

В окне MP35 канал 1 должен отражать стимулятор, канал 2 - регистрацию ПД. В окне стимулятора выбрать частоту стимуляции - 10 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

Стимуляцию производим сверхмаксимальной силой стимула. Зарегистрируйте ПД. Постепенно увеличивая частоту раздражения и наблюдая ряд ПД, определите оптимальный ритм (выше которого наблюдается снижение амплитуды ПД) и максимальный ритм (начало «трансформации ритма»). Сопоставьте значения оптимального и максимального ритма с длительностью рефрактерных периодов.

Зарегистрируйте изменение амплитуды ПД в процессе длительного 10 мин ритмического раздражения с частотой соответствующей оптимальному ритму и превышающей его в 2 раза. Покажите изменение амплитуды ПД во времени графически.

Пост-тетаническая гиперполяризация наблюдается после окончания периода ритмического раздражения и отражает активность Na-K насоса.

Выставьте параметры усиления как при регистрации следовой гиперполяризации (см. работу 11). Проведите стимуляцию нерва в течение 5 сек с частотой 100 Гц, затем поменяйте частоту на 1 Гц и зарегистрируйте следовой отрицательный потенциал нерва.

Для исследования зависимости амплитуды и длительности пост-тетанической гиперполяризации от частоты раздражения увеличивайте частоту предварительной стимуляции с 100 Гц до 200 Гц с шагом 20 Гц (длительность раздражения выставить 1 сек). Затем регистрируйте ПД при частоте 1 Гц, проанализируйте параметры следового отрицательного потенциала.

Для исследования зависимости амплитуды и длительности пост-тетанической гиперполяризации от длительности раздражения, установите частоту стимуляции 100 Гц, а длительность раздражения изменяйте от 1 до 10 сек. Затем регистрируйте ПД при частоте 1 Гц проанализируйте параметры следового отрицательного потенциала.

Результаты представьте в виде графиков зависимость параметров пост-тетанической гиперполяризации от длительности и частоты стимуляции. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 14 Оценка порогов раздражения в различных двигательных точках у различных испытуемых

Цель: оценка порогов раздражения у различных испытуемых.

Для работы необходимо: стимулятор ЭС-50-1, физиологический раствор, спирт, вата.

Ход работы: Индифферентный электрод, представляющий собой металлическую пластинку, с помощью жгута закрепите на плече испытуемого, предварительно протерев кожу спиртом и подложив под электрод, смоченный в физиологическом растворе, бинт. Активный электрод покройте небольшим кусочком ваты и увлажните физиологическим раствором. Включите прибор ЭСЛ и подключите электроды к клеммам так, чтобы активный электрод был соединен с катодом. В процессе исследования активный электрод используется для нанесения изолированных раздражений на поверхность тела в так называемых двигательных точках (рисунок 10), соответствующих

наиболее поверхностному прохождению двигательных нервных стволов или местам вхождения в мышцу веточек иннервирующего ее двигательного нерва.

Порядок проведения работы следующий:

- ▲ включив аппарат, установите частоту раздражения в 3 Гц, задержку — 0,5 мс.
- ▲ Длительность импульсов установите равной 100 мс,
- ▲ силу раздражителя предварительно установите на 25 В.

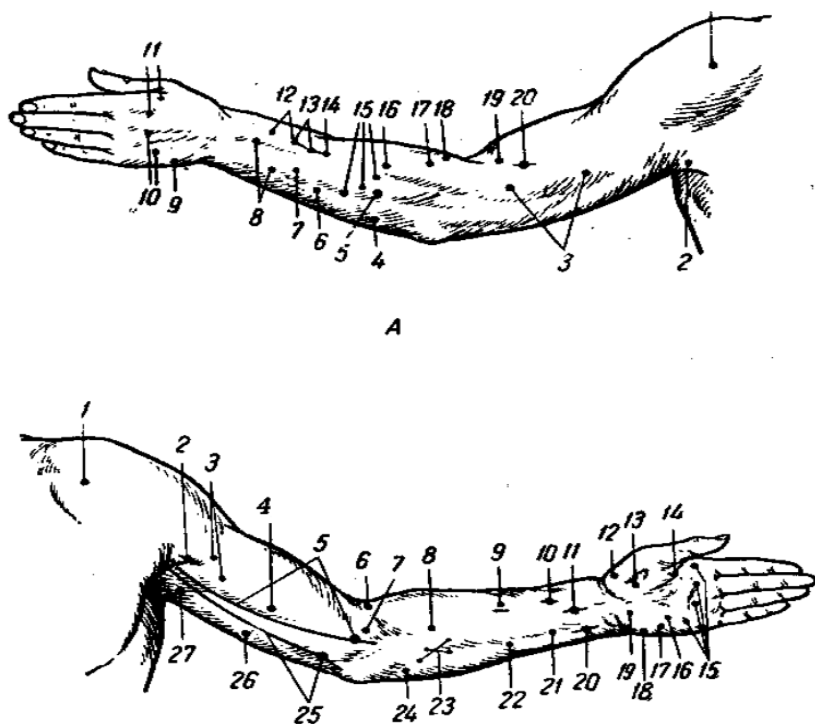


Рисунок 10. Карта Эрба

После подготовки прибора и испытуемого поисковый электрод поместите согласно карте Эрба на точке №14 (рисунок 10). Если испытуемый ощущает пощипывание кожи или сокращение мышц, это означает, что точка найдена. В этом случае электрод уберите и отметьте место положения точки.

На следующем этапе определяется порог раздражения. Для этого напряжение нужно снизить до нуля, установить поисковый электрод на точку, а потом ручкой установки амплитуды стимуляции медленно наращивать напряжение до тех пор, пока испытуемый не ощутит пощипывание или сокращение мышц.

В этот момент наращивание нужно прекратить, снять поисковый электрод, записать показания с табло. Данное значение напряжения является **реобазой**.

Таблица 5

Ф.И.О.	Точка № 14	Точка № 10	Точка № 7	Точка №
Иванов И.И.	1	1	1	1
	2	2	2	2
	3	3	3	3
	средние			
Петров П.П.	1			
	2			
	...			
Средние значения $\pm m$				

Внимание! Поисковый электрод нельзя долго держать в одной и той же точке, иначе произойдет «аккомодация», привыкание, и порог будет расти.

Потом снова установить напряжение на нуль и повторить процедуру. Данные могут немного различаться. Берется среднее значение из трех измерений в одной точке.

Далее соответствующим образом определите пороги раздражения в точках № 7, 11, 24. Зарисуйте схему двигательных точек по Эрбу (рисунок 10). Занесите значения в таблицу, подсчитайте средние значения порогов раздражения в различных точках для группы испытуемых.

Сделайте выводы о значениях реобазы в одной двигательной точке у разных испытуемых и в разных двигательных точках у одного испытуемого.

Лабораторная работа № 15 Исследование зависимости между силой раздражителя и его длительностью

Цель: Определить зависимость силы раздражения от его длительности.

Для работы необходимо: стимулятор ЭС-50-1, физиологический раствор, спирт, вата.

Ход работы: Хронаксия - это время действия одиночного электрического импульса, дающее пороговую реакцию при силе тока, вдвое большей, чем порог гальванической возбудимости, представляющей собой реобазу.

Включив аппарат, установите частоту раздражений в 3 Гц, задержку -

0.5 мс, длительность импульсов - 100 мс, силу раздражения — 25 В. При таких параметрах обнаруживают двигательную точку № 9.

Найдите реобазу, пороговую силу раздражения для данной точки, как описано в предыдущей работе.

Далее определите порог времени при действии пороговой силы. Для этого установите пороговое напряжение и ручкой длительности уменьшите время действия стимула до нуля. Установите поисковый электрод, начинайте увеличивать длительность до появления у испытуемого ответной реакции. Минимальная длительность порогового раздражителя называется «полезным временем». Снимите электрод, зарегистрируйте показания.

Далее увеличивайте силу раздражителя на 2 В, длительность установите на ноль. Электрод поместите на точку, и снова найдите минимальную длительность. Таким образом, проведите 5-6 измерений с увеличением силы раздражения на 2-3 В. С увеличением силы раздражения время его действия уменьшается. По полученным значениям постройте график зависимости силы от длительности раздражителя для каждого испытуемого. Отметьте на нем полезное время, реобазу и хронаксию. Сформулируйте подтвержденный закон Гооверга-Вейса.

Контрольные вопросы

1. Что называют потенциалом действия?
2. Нарисуйте схему (график) потенциала действия скелетного мышечного волокна, обозначьте его фазы, назовите их.
3. Какое свойство клеточной мембраны обеспечивает возникновение потенциала действия, за счет какого явления оно реализуется?
4. Укажите примерные значения длительности и амплитуды потенциала действия нервного волокна и волокна скелетной мышцы.
5. Назовите фазы потенциала действия, дайте соответствующие пояснения.
6. Что такое следовые потенциалы? Какие виды следовых потенциалов Вам известны?
7. Что такое критический уровень деполяризации клеточной мембраны?
8. В какие фазы потенциала действия и какое влияние оказывает концентрационный градиент на вход натрия внутрь клетки?
9. Движение, какого иона и в каком направлении через мембрану клетки обеспечивает нисходящую часть потенциала действия? Затрачивается ли при этом энергия?
10. Какая сила обеспечивает выход ионов калия из клетки, какая - препятствует этому в фазу реполяризации потенциала действия?

Глава 4

Физиология мышц

Многие клетки обладают ограниченной способностью преобразовывать химическую энергию в механический процесс укорочения и локомоцию, но только в мышечных волокнах этот процесс занял главное место. Основная функция этих специализированных клеток состоит в генерировании силы – напряжения при сокращении мышцы, которые организм использует, чтобы регулировать внутреннюю среду и перемещаться во внешнем пространстве.

На основании структуры, сократительных свойств и механизмов регуляции различают три вида мышечной ткани:

- 1) скелетные мышцы;
- 2) гладкая мускулатура;
- 3) сердечная мышца (миокард).

Скелетные мышцы, как следует из их названия, прикреплены, как правило, к костям скелета; благодаря сокращениям этих мышц поддерживается положение тела в пространстве и происходит его передвижение. Сокращения возникают под влиянием импульсов от нервных клеток и обычно бывают произвольными. В мышечных клетках наблюдается хорошо выраженное упорядоченное строение сократительных белков в виде поперечной исчерченности. Связей между отдельными мышечными волокнами нет.

Понятие скелетная, или поперечно-полосатая мышца относится к группе мышечных волокон, связанных соединительной тканью (рис. 11). Обычно мышцы прикреплены к костям пучками коллагеновых волокон - сухожилиями, находящимися на обоих концах мышцы.

Поперечная исчерченность волокон скелетной мышцы обусловлена особым распределением в их цитоплазме многочисленных толстых и тонких «нитей» (филаментов), объединяющихся в цилиндрические пучки диаметром 1-2 мкм - миофибриллы (рис. 11). Мышечное волокно практически заполнено миофибриллами, они тянутся по всей его длине и на обоих его концах соединены с сухожилиями.

Толстые и тонкие филаменты образуют периодический рисунок вдоль каждой миофибриллы (рис. 11). Толстые филаменты состоят почти целиком из сократительного белка миозина. Тонкие филаменты (их толщина равна примерно половине диаметра толстого филамента) содержат сократительный белок актин, а также два других белка – тропонин и тропомиозин, играющих важную роль в регуляции сокращения (см. ниже).

Толстые филаменты сосредоточены в средней части каждого

саркомера, где они лежат параллельно друг другу; эта область выглядит как широкая темная (анизотропная) полоса, называемая А-полосой. В

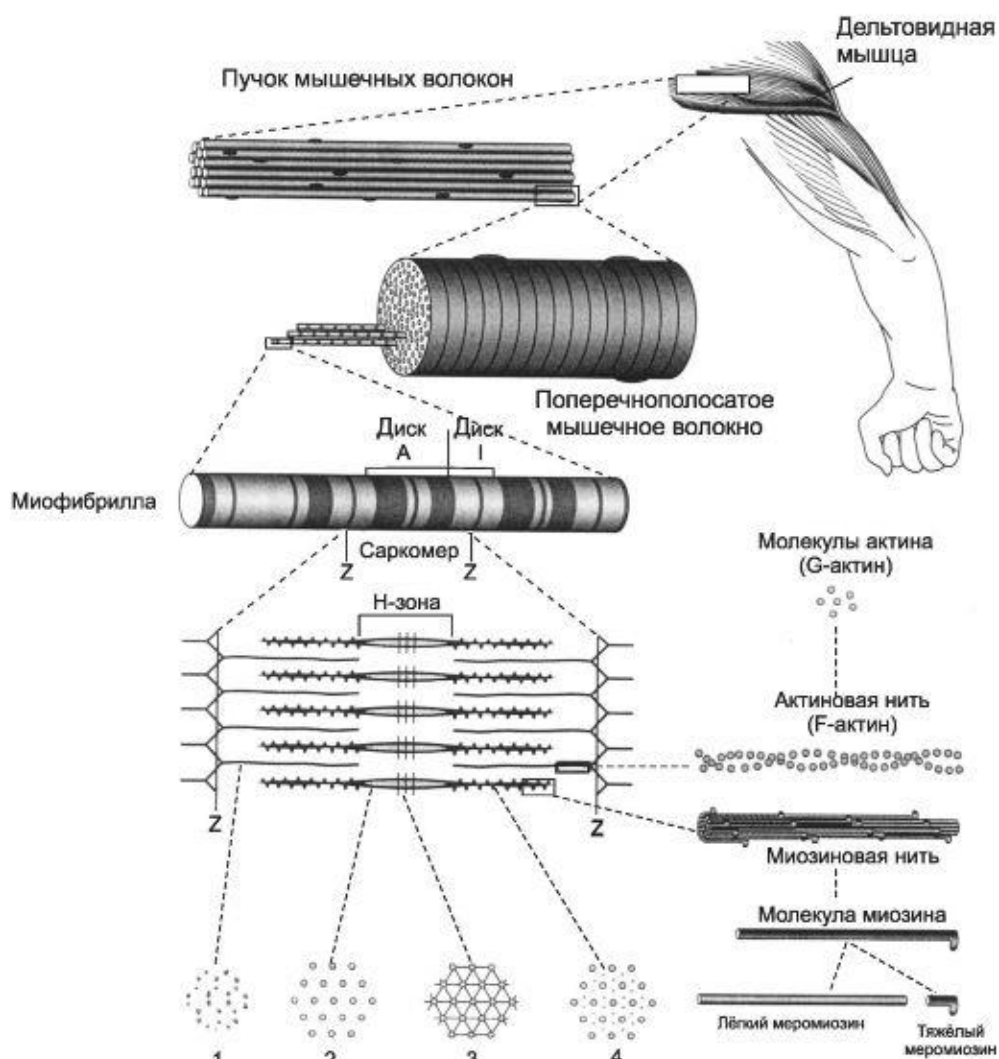


Рисунок 11. Строение поперечно-полосатой мышцы

обеих половинах саркомера находится по набору тонких филаментов. Один конец каждого из них прикреплен к так называемой Z-пластинке (или Z-линии, или Z-полосе) - сети из переплетающихся белковых молекул, а другой конец перекрывается с толстыми филаментами. Саркомер ограничен двумя последовательно расположенными Z-полосами. Таким образом, тонкие филаменты двух соседних саркомеров закреплены на двух сторонах каждой Z-полосы (рис. 11).

Светлая (изотропная) полоса - так называемая I-полоса - расположена между краями А-полос двух соседних саркомеров и состоит из тех участков тонких филаментов, которые не перекрываются с толстыми филаментами. Z-полоса делит I-полосу пополам.

В пределах А-полосы каждого саркомера различают еще две полоски. В центре А-полосы видна узкая светлая полоска - H-зона. Она соответствует промежутку между противостоящими друг другу концами

двух наборов тонких филаментов каждого саркомера, т.е. включает только центральные части толстых филаментов. Посередине H-зоны находится совсем тонкая темная M-линия. Это сеть белков, соединяющих центральные части толстых филаментов. Кроме того, от Z-полосы к M-линии идут филаменты белка титина, связанные одновременно с белками M-линии и с толстыми филаментами. M-линия и титиновые филаменты поддерживают упорядоченную организацию толстых филаментов в середине каждого саркомера. Таким образом, толстые и тонкие филаменты не являются свободными, незакрепленными внутриклеточными структурами (рис. 11).

Актин - глобулярный белок, состоящий из одного полипептида G-актин, который полимеризуется с другими молекулами актина и образует две цепи (F-актин), обвивающие друг друга (рис. 11, 12А). Такая двойная спираль представляет собой остов тонкого филамента. На каждой молекуле актина есть участок связывания миозина. В покоящемся мышечном волокне взаимодействие между актином и миозином предотвращают два белка - тропонин и тропомиозин (рис. 12А).

Тропомиозин - стержневидная молекула из двух полипептидов, обвивающихся друг около друга; молекула соответствует в длину примерно семи мономерам актина. Цепи из молекул тропомиозина, уложенные конец в конец, располагаются вдоль всего тонкого филамента. Молекулы тропомиозина частично прикрывают участки связывания каждой молекулы актина, мешая контакту миозина с актином. В таком блокирующем положении молекула тропомиозина удерживается тропонином (рис. 12А).

Тропонин - гетеротримерный белок. Он состоит из тропонина Т (отвечает за связывание с одиночной молекулой тропомиозина), тропонина С (связывает ион Ca^{2+}) и тропонина I (связывает актин и ингибирует сокращение). Каждая молекула тропомиозина связана с одной гетеро-тримерной молекулой тропонина, которая регулирует доступ к участкам связывания миозина на семи мономерах актина, прилегающих к молекуле тропомиозина (рис. 12А).

Миозин состоит из двух больших полипептидов (тяжелых цепей) и четырех меньших (легких цепей). Эти полипептиды составляют молекулу с двумя глобулярными «головками», которые содержат оба вида цепей, и длинным стержнем («хвостом») из двух переплетенных тяжелых цепей. Хвост каждой молекулы миозина располагается вдоль оси толстого филамента, а две глобулярные головки выступают по бокам, их иначе называют поперечными мостиками. На каждой глобулярной головке находятся по два участка связывания: для актина и для АТФ (рис. 12А).

В состоянии покоя в мышечном волокне концентрация свободного,

ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме вокруг толстых и тонких филаментов очень низка, около 10^{-7} моль/л. При такой концентрации ионы Ca^{2+} занимают очень небольшое количество участков связывания на молекулах тропонина (тропонина С), поэтому тропомиозин блокирует связывание с актином поперечных мостиков. После потенциала действия концентрация ионов Ca^{2+} в цитоплазме быстро возрастает, и они связываются с тропонином, устраняя блокирующий эффект тропомиозина и иницируя цикл поперечных мостиков. Источником поступления Ca^{2+} в цитоплазму служит саркоплазматический ретикулум мышечного волокна. Накоплению Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикулуме способствует белок (кальсеквестрин), который прочно связывает Ca^{2+} в ретикулуме, и Са-АТФ-аза (см. ниже).

Отдельную систему составляют поперечные трубочки (Т-трубочки), которые пересекают мышечное волокно на границе полос А-І, проходят между латеральными мешками двух смежных саркомеров и выходят на поверхность волокна, составляя единое целое с плазматической мембраной. Просвет Т-трубочки заполнен внеклеточной жидкостью, окружающей мышечное волокно (рис. 12Б). Мембрана Т-трубочек, так же как плазматическая мембрана, способна к проведению потенциала действия. Возникнув в плазматической мембране (рис. 12Б), потенциал действия быстро распространяется по поверхности волокна и по мембране Т-трубочек вглубь клетки. Достигнув области Т-трубочек, прилегающей к латеральным мешкам, потенциал действия активирует потенциалзависимые «воротные» белки Ca^{2+} -каналов мембраны Т-трубочек, физически или химически сопряженные с кальциевыми каналами мембраны латеральных мешков. Таким образом, деполяризация мембраны Т-трубочек, обусловленная потенциалом действия, приводит к открыванию кальциевых каналов мембраны латеральных мешков, содержащих Ca^{2+} в высокой концентрации, и ионы Ca^{2+} выходят в цитоплазму. Повышение цитоплазматического уровня Ca^{2+} обычно бывает достаточным для активации всех поперечных мостиков мышечного волокна.

Процесс сокращения продолжается, пока ионы Ca^{2+} связаны с тропонином, т.е. до тех пор, пока их концентрация в цитоплазме не вернется к низкому исходному значению. Мембрана саркоплазматического ретикулума содержит Са-АТФазу - интегральный белок, осуществляющий активный транспорт Ca^{2+} из цитоплазмы обратно в полость саркоплазматического ретикулума. Как только что говорилось, Ca^{2+} высвобождается из ретикулума в результате распространения потенциала действия по Т-трубочкам; для возвращения Ca^{2+} в ретикулум нужно гораздо больше времени, чем для его выхода. Именно поэтому,

повышенная концентрация Ca^{2+} в цитоплазме сохраняется в течение некоторого времени, и сокращение мышечного волокна продолжается после завершения потенциала действия.

Модель скользящих нитей

В момент генерации ПД, ионная природа которого в фазных мышечных волокнах аналогична таковому нервного волокна, происходит распространение ПД вдоль продольной плазматической мембраны, включая поперечные трубочки, контактирующие с цистернами саркоплазматического ретикулума. В результате открываются кальциевые каналы, по которым кальций выходит в межфибрилярное пространство. Здесь он связывается с миозином, что дает возможность для осуществления цикла мышечного сокращения.

Сокращение происходит согласно распространенной модели «скользящих нитей» А. Хаксли (1971). Головки миозина образуют поперечные мостики, цепляющиеся к актиновой нити под углом 90° . Тут же происходит активация АТФ-азной активности и как следствие гидролиз АТФ до АДФ и фосфата с выделением порции энергии. Далее головка миозина освобождает фосфат и связывается с актином. Затем головка миозина претерпевает сильные конформационные изменения, в результате чего совершает крутящий момент (гребок) и проталкивает актиновую нить примерно на 10 нм. Если рядом с образовавшимся мостиком имеется молекула АТФ, то она встраивается в вершину мостика и обеспечивает отрыв головки миозина от актиновой нити. Затем опять происходит гидролиз АТФ, и цикл повторяется. Миозиновая головка вновь прикрепляется к актиновой нити, но уже в другом месте, до тех пор, пока в среде будет достаточно кальция. Расслабление мышцы происходит в результате снижения уровня Ca^{2+} т.к. Са-АТФ-аза мембраны саркоплазматического ретикулума начинают откачивать его назад. Таким образом, миозиновые головки как бы «шагают» по актиновому филаменту, продвигая его относительно себя. Поскольку в каждом толстом филаменте содержится до 500 головок, а каждая головка при сокращении проходит около 5 рабочих циклов в 1 с, то скорость перемещения тонких и толстых филаментов относительно друг друга составляет 15 мкм/с. Весь процесс от появления мышечного потенциала действия до сокращения мышечного волокна носит название электромеханического сопряжения (ЭМС).

Работа скелетных мышц подразделяется на статическую (поддержание груза, позы) и динамическую (перемещение). Различают три режима работы мышцы: изотонический, изометрический и ауксотонический. Изотонический режим имеет место при отсутствии нагрузки на мышцу, когда мышца закреплена с одной стороны и может свободно сокращаться (например, мышца языка). Изометрический режим

характерен для мышц, оба конца которых закреплены. В момент активности мышцы напряжение в ней нарастает, но поскольку оба конца закреплены, мышца не укорачивается. Такой режим сокращения иначе называется режимом постоянной длины и наблюдается при сохранении заданной позы, т.е. при выполнении статической работы.

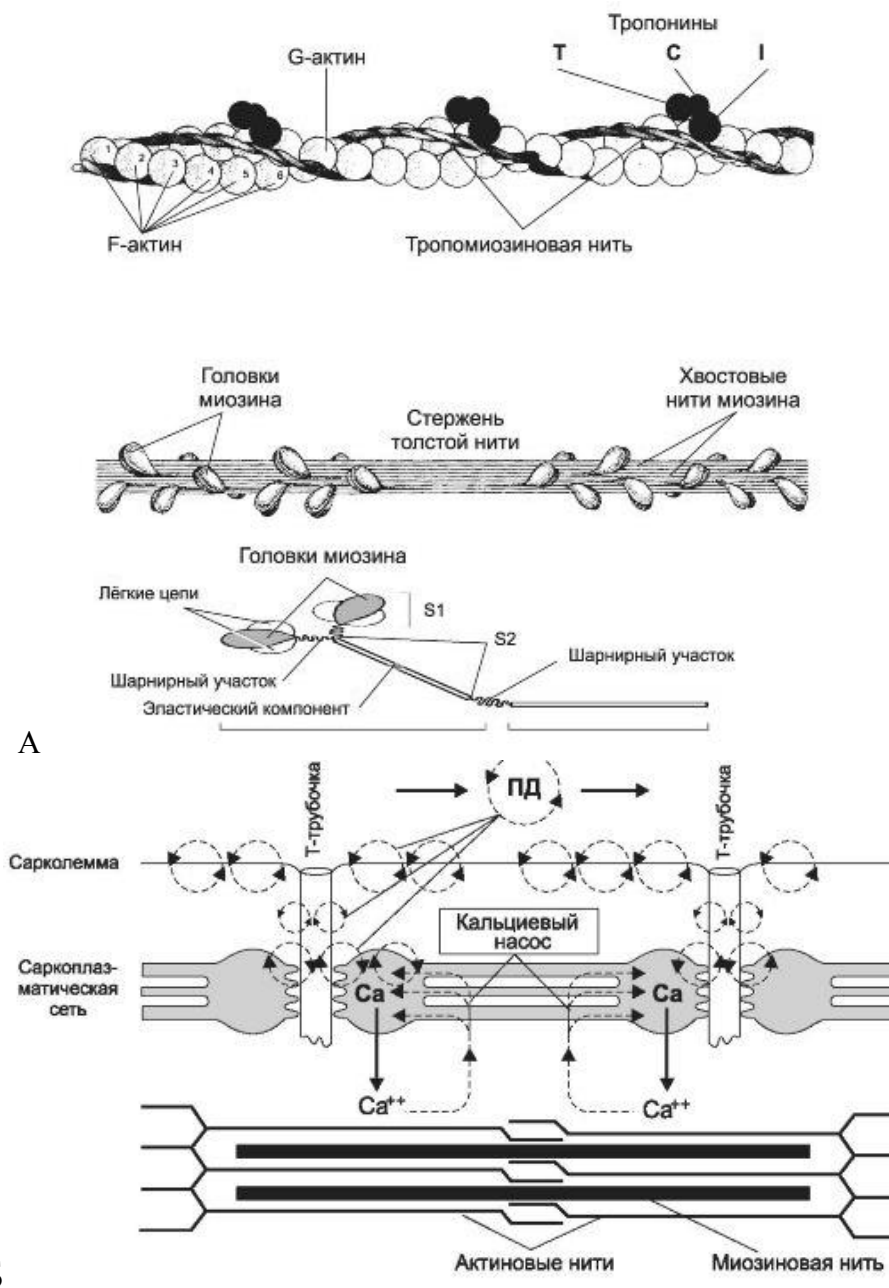


Рисунок 12 Механизм мышечного сокращения

В этом случае в мышечном волокне не происходит механическая реакция перемещения актиновых и миозиновых нитей относительно друг друга, хотя процессы возникновения и разрушения актиномиозиновых мостиков все равно присутствуют. Возникающее в такой мышце напряжение зависит от величины нагрузки и длительности работы.

Ауксотонический или смешанный режим характеризуется изменением длины и тонуса мышцы, что наблюдается при перемещении грузов. Такой режим проявляется при выполнении динамической работы, даже при отсутствии внешнего груза, т.к. перемещение человека связано с преодолением силы тяжести тела.

Виды мышечных сокращений. У скелетной мышцы различают одиночное и суммированное сокращение – тетанус.

При одиночном сокращении при регистрации сократительной активности мышцы в изометрическом режиме (когда оба конца мышцы закреплены), выделяют первую фазу, когда происходит нарастание напряжения (силы), – фазу напряжения, и вторую фазу, когда происходит падение напряжения до исходной величины, – фазу расслабления. При регистрации сократительной активности в изотоническом режиме в этом случае есть соответственно фазы укорочения и восстановления мышцы (рис. 13).

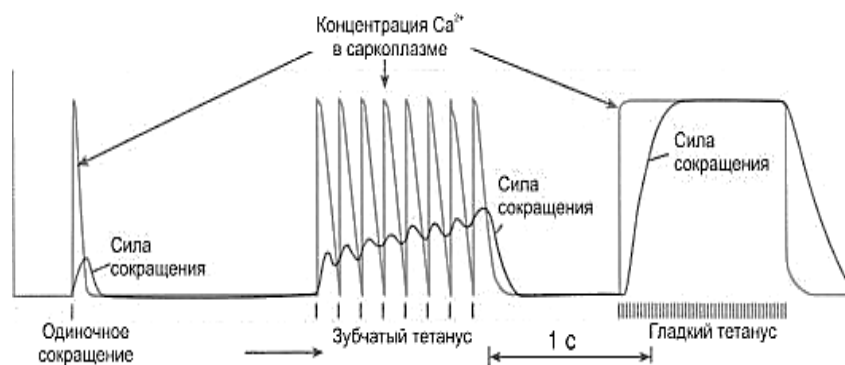


Рисунок 13 Одиночное мышечное сокращение и его суммация.

При множественном воздействии на мышцу возникает явление тетануса (рис.13). Если раздражения мышцы наносят достаточно редко, когда каждое последующее раздражение попадет в фазу восстановления, то наблюдается явление зубчатого тетануса. Если раздражения наносятся с меньшим интервалом и каждое последующее раздражение попадает в фазу укорочения или напряжения, то возникает так называемый гладкий тетанус. Амплитуда тетануса зависит от частоты раздражения, т.е. от того, в какую фазу периода относительной рефрактерности (следовой гиперполяризации или деполяризации) подействует следующий стимул. При раздражении в фазу следовой деполяризации – период экзальтации (повышенной возбудимости) – амплитуда будет большой – оптимум; в период следовой гиперполяризации (сниженная возбудимость) амплитуда будет намного меньше – пессимум.

Сила мышцы зависит от ряда морфологических и физиологических факторов: количества и свойств мышечных волокон в мышце, от исходной

длины мышцы, характера нервных импульсов, механических условий действия мышцы на кости скелета. Сила сокращения мышцы является суммой силы генерируемой отдельными мышечными волокнами. Сила мышцы так же зависит от ее анатомического и физиологического поперечного сечения. Физиологическое поперечное сечение мышцы представляет собой площадь поперечного сечения всех образующих ее мышечных волокон. Чем больше поперечное сечение, тем больше сила мышцы. Анатомическое поперечное сечение мышцы представляет собой разрез мышцы в плоскости, перпендикулярной линии, соединяющей ее начало и конец.

Влияние на силу мышцы ее исходной длины определяется изменением количества поперечных мостиков, которые могут образоваться при движении относительно друг друга актиновых и миозиновых волокон. Чем больше образуется актиново-миозиновых мостиков, тем больше тяга сократительных белков и соответственно больше сила мышцы. При этом наибольшее количество актиново-миозиновых мостиков образуется при небольшом растяжении мышцы, т.е. растяжении до некоторой оптимальной величины. Объясняется этот факт тем, что при слишком большом растяжении саркомера нити актина настолько далеко расходятся в стороны, что не могут контактировать с миозином. Тогда как в случае резкого сокращения мышцы нити актина перекрывают друг друга в центре, что также препятствует образованию контактов с миозином

Энергетика мышечного сокращения. Для обеспечения процессов сокращения и расслабления мышц потребляется энергия АТФ, при расщеплении которой образуется АДФ, молекула фосфата и 10 ккал энергии на 1 моль. Скорость оборота АТФ в клетке очень велика, поэтому существует постоянная необходимость ресинтеза АТФ. Восстановление АТФ в анаэробных условиях происходит двумя путями: медленным и быстрым. Медленное восстановление происходит за счет анаэробного расщепления глюкозы – в реакциях гликолиза, с образованием в конечном итоге молочной кислоты и АТФ Быстрое восстановление происходит за счет распада мышечного креатинфосфата, с образованием АТФ и креатина. Существуют и аэробные пути восстановления запасов АТФ – за счет реакций окисления жиров и углеводов в митохондриях (цикл Кребса). Среди всех источников энергии жиры обладают наибольшей энергетической емкостью, т.к. при расходовании 1 моля АТФ выделяется около 10 ккал энергии, 1 моля креатинфосфата – 10,5 ккал, 1 моля глюкозы при анаэробном расщеплении – 50 ккал, аэробном окислении глюкозы – 700 ккал, а при окислении жиров – 2400 ккал. Однако использование жиров при работе высокой мощности ограничено трудностью доставки

кислорода к работающим тканям.

Одним из важнейших факторов, оказывающих влияние на силу сокращения мышц, является состав или композиция **мышечных волокон**, мышцы. Различают три типа мышечных волокон: – медленные неустоляемые – I типа, – быстрые неустоляемые – II-а типа, – быстрые устоляемые – II-б типа.

Медленные волокна иначе называют медленными окислительными волокнами. Это выносливые и легковозбудимые волокна, с богатым кровоснабжением, большим количеством митохондрий, запасов миоглобина, использующие для энергообразования окислительные процессы. Чаще всего такие мышцы используются при статической работе, например поддержании позы. Быстрые неустоляемые волокна тоже являются окислительными, однако они менее возбудимы, чем медленные волокна. Быстрые устоляемые волокна иначе называют быстрыми гликолитическими волокнами, использующими анаэробные процессы энергообразования. Они менее возбудимы, поэтому включаются в работу только при больших нагрузках. С их помощью обеспечиваются быстрые и мощные сокращения мышц. В среднем мышцы человека состоят на 50,4 % из медленных волокон, на 18,5 % – из быстрых неустоляемых и на 31,1 % – из быстрых устоляемых волокон. Соотношение мышечных волокон разного типа в разных мышцах отличается. При этом состав мышечных волокон в одной и той же мышце у разных людей индивидуален, т.е. зависит от врожденных типологических особенностей. В ходе направленного тренировочного процесса развитие силы происходит за счет нарастания объема быстрых волокон, но не их количества.

Сердечная мышца содержит также поперечную исчерченность, но является функциональным синцитием. Благодаря наличию пейсмекерных клеток (атипические кардиомиоциты), сердечная мышца обладает способностью спонтанно генерировать потенциалы действия, обеспечивающие сердечные сокращения, т.е. обладает автоматией. Клетки с наибольшей способностью к автоматии образуют проводящую систему сердца. Ее основными частями у млекопитающих являются: синоатриальный и атриовентрикулярный узлы, пучок Гиса, его правая и левая ножки и волокна Пуркинье.

Между клетками рабочего миокарда, неспособными к автоматии, но обладающими сократимостью, имеются контакты с низким электрическим сопротивлением и возбуждение, возникшее в одной клетке сердца, проводится на другие. Поэтому мышца сердца отвечает на раздражения в соответствии с законом «все или ничего» - всё сердце расслаблено или сокращается с максимальной силой.

Потенциал действия рабочих кардиомиоцитов (рис. 14а) начинается фазой деполяризации (обусловлена повышением проницаемости мембран для Na^+), которая проявляется быстрым изменением мембранного потенциал от -90 мВ до $+30$ мВ. Затем начинается выход из клетки ионов калия и практически в это же время, в клетки устремляются ионы кальция. Это приводит к развитию плато. Быстрая реполяризация начинается только после закрытия кальциевых каналов. В конце периода реполяризации все ионы, при участии насосов, возвращаются на свои места и потенциал покоя восстанавливается.

Общая продолжительность потенциала действия в кардиомиоците в среднем составляет 300 мс и по длительности практически совпадает с периодом сокращения сердечной мышцы. Ее возбудимость (рис. 14б) в фазу абсолютной рефрактерности (в течение 270 мс) отсутствует, а в фазу относительной рефрактерности (длится до 30 мс) – снижена. Это исключает тетанус, и сердечная мышца работает только в режиме одиночных сокращений.

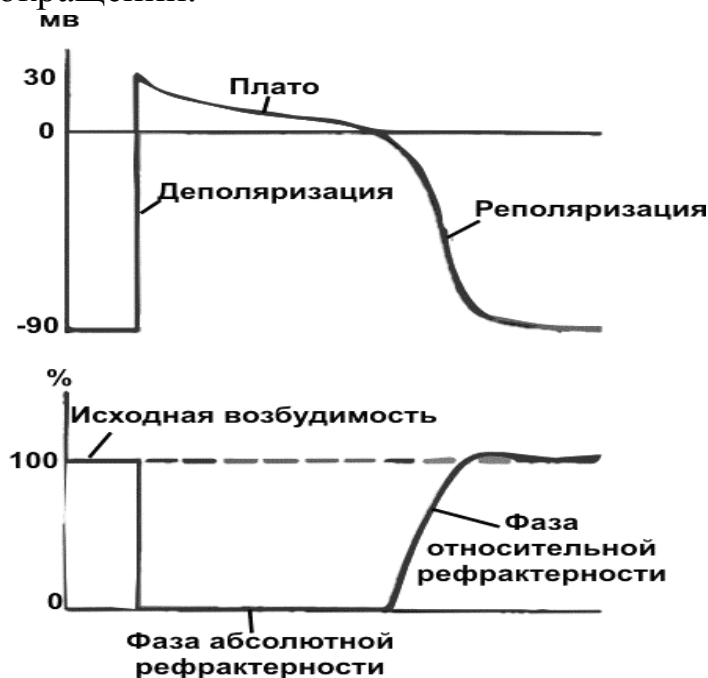


Рисунок 14 Фазы потенциала действия (а) и изменения возбудимости (б) клетки миокарда

Сокращение миокарда следует за его возбуждением и в кардиомиоцитах, как и в скелетных мышцах, существует специальный механизм сопряжения (трансформации) электрических процессов возбуждения в механические - сокращение.

Количество Ca^{2+} , содержащегося в саркоплазматическом ретикулуме кардиомиоцитов, может быть недостаточным для инициации и обеспечения достаточно сильного и продолжительного их сокращения. Дополнительными источниками Ca^{2+} , необходимого для возбуждения и

сокращения кардиомиоцитов, являются внеклеточный и примембранный пулы Ca^{2+} . Благодаря небольшим размерам кардиомиоцитов Ca^{2+} каждого из этих трех источников может достаточно быстро достигать сократительных белков. Мембраны кардиомиоцитов содержат потенциалзависимые медленные Ca^{2+} каналы, и часть кальция поступает в клетку в процессе возбуждения. Этот Ca^{2+} участвует как в процессах генерации потенциала действия кардиомиоцитов – фаза плато, так и в его проведении и сокращении клетки.

Для обеспечения сильного и продолжительного сокращения миокарда желудочков используются два других дополнительных источника Ca^{2+} . Входящие по одноименным каналам ионы Ca^{2+} вызывают высвобождение Ca^{2+} , связанного с примембранной областью сарколеммы. Поступающие в кардиомиоцит ионы Ca^{2+} являются своеобразным триггером, запускающим процесс высвобождения Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума. Поступивший в клетку внеклеточный Ca^{2+} способствует активации и открытию рианодин-чувствительных Ca^{2+} каналов (эти каналы чувствительны также к действию вещества рианоидина) мембран саркоплазматического ретикулума миоцитов. Поскольку концентрация Ca^{2+} в цистернах саркоплазматического ретикулума на несколько порядков превышает его концентрацию в саркоплазме, то ионы Ca^{2+} быстро диффундируют в саркоплазму по концентрационному градиенту. Повышение уровня Ca^{2+} в саркоплазме с 10^{-7}M (0,1-1,0 ммоль/л) до уровня 10^{-6} - 10^{-5}M (10 ммоль/л) обеспечивает его взаимодействие с тропонином (TN) C и инициирует последующую цепь событий, ведущих к сокращению миоцитов и началу систолы. Образование комплекса Ca^{2+} - TN C способствует активации актомиозиновой АТФазы, Ca^{2+} -АТФазы и, возможно, чувствительности самих миофиламентов к Ca^{2+} .

Таким образом, ионы Ca^{2+} не только участвуют в генерации возбуждения, но и выполняют функцию трансформации электрических процессов возбуждения в механические - сокращение кардиомиоцитов. Совокупность этих процессов называют сопряжением возбуждения и сокращения или электромеханическим сопряжением.

Большая часть объема кардиомиоцитов занята миофибриллами, выполняющими сократительные функции. Как и в клетке скелетной мышцы, миофибриллы в кардиомиоците образуют повторяющиеся по структуре саркомеры длиной около 2 мкм в состоянии диастолы. Собственно молекулярный механизм сокращения миокарда и поперечно-полосатой мускулатуры практически одинаков (см. механизм сокращения скелетных мышц).

На сокращение миокарда затрачивается большое количество энергии АТФ, которая синтезируется в нем почти исключительно в ходе процессов аэробного окисления и около 30 % объема кардиомиоцита приходится на митохондрии.

Эффективность сокращения миокарда обеспечивается также его несократительными структурными компонентами. Внутри кардиомиоцитов имеется разветвленная сеть цитоскелета. Она сформирована промежуточными филаментами и микротрубочками. Главный белок филаментов - десмин - участвует в фиксации Z-пластинок к сарколемме, а интегрины - в формировании связей между миофиламентами и внеклеточным матриксом. Микротрубочки внутриклеточного цитоскелета, образованные белком тубулином, способствуют фиксации и направленному перемещению в клетке внутриклеточных органелл.

Как и в случае миоцитов скелетных мышц, прекращение сокращения и начало расслабления кардиомиоцитов зависит от понижения уровня Ca^{2+} в саркоплазме. Удаление ионов Ca^{2+} из саркоплазмы осуществляется несколькими путями. Часть ионов Ca^{2+} возвращается с помощью Ca^{2+} - АТФазы в саркоплазматический ретикулум, часть - во время диастолы откачивается подобной АТФазой сарколеммы во внеклеточную среду. В удалении Ca^{2+} из клетки важную роль играет активный натрий-кальциевый обменный механизм, в котором выкачивание трех ионов натрия сопряжено с удалением одного иона Ca^{2+} из клетки. При избыточном накоплении Ca^{2+} в клетке он может поглощаться ее митохондриями.

Ионы Ca^{2+} являются не только главным звеном сопряжения процессов возбуждения и сокращения кардиомиоцитов, от прироста их концентрации зависят начало, скорость, сила сокращения, начало расслабления миокарда, поэтому регуляция динамики изменения концентрации кальция в кардиомиоците является важнейшим механизмом контроля сократимости, продолжительности систолы и диастолы сердца.

Гладкие мышцы построены из веретенообразных одноядерных мышечных клеток. В гладкомышечных клетках имеются такие же миофибриллы с саркомерами, как и в поперечно-полосатых. Однако, в гладкомышечных клетках эти структуры расположены нерегулярно и не имеют стройной ранжировки актиновых и миозиновых нитей. В отличие от скелетной мышцы, которой присуща высокая эластичность, в гладкой мышце больше выражено свойство пластичности, что обусловлено отсутствием четкой упорядоченности миофиламентов актина и миозина. В отличие от регулярной саркомерной структуры скелетных и сердечной мышц, тонкие филаменты гладких мышц присоединены к структурам в

цитоплазме, называемым плотными тельцами (прикрепительными бляшками сарколеммы), состоящими из белка десмина.

Гладкие мышцы бывают **висцеральные (мультиунитарные) и полиэлементные (унитарные)**. Висцеральные содержат мостики-щелевые контакты с низким сопротивлением электрическому току – синцитий. Висцеральные мышцы встречаются в стенках полых органов (кишечник, матка, мочеточники, мочевого пузыря). **Полиэлементные** гладкие мышцы состоят из отдельных мышечных единиц без соединительных мостиков, поэтому для них характерны точные, четко дозированные сокращения, подобно скелетным. Однако, сокращения этих мышц нельзя контролировать, в отличие от скелетных (мышцы радужки глаза, цилиарного тела, семенных протоков, артерии). Тонус этих мышц и его колебания имеют нейрогенную природу. Имеют парасимпатические и симпатические, а также метасимпатические волокна.

В гладкомышечных клетках слабо выражен саркоплазматический ретикулум, поэтому Ca^{2+} для инициации сокращения поступает из внеклеточного пространства. ПД у гладкомышечных клеток имеет кальциевую природу, именно в момент генерации ПД Ca^{2+} входит в клетку и вызывает акт сокращения. Отдельные гладкомышечные клетки в гладких мышцах связаны между собой электрическими щелевыми контактами – нексусами. Регуляция взаимодействия актина и миозина в гладкомышечных клетках осуществляется за счет фосфорилирования хвоста миозиновой нити, активация которого происходит в присутствии ионов Ca^{2+} , взаимодействующих с одной из субъединиц активирующего процесс фермента. Расслабление происходит в результате дефосфорилирования специфической фосфатазой в тот момент, когда фосфатная группа снимается с хвоста миозиновой нити. Таким образом, процесс сокращения и расслабления ГМК происходит намного медленнее, чем в скелетных.

Поэтому для гладких мышц характерны иные **виды сокращений**. Для тонических гладких мышц в условиях покоя характерно наличие базального тонуса – определенного напряжения – и определенная фазная активность. При действии на них ингибитора сократительной активности характерно снижение базального тонуса и уменьшение частоты генерации медленных фазных сокращений или их амплитуды. При воздействии раздражителя, стимулирующего мышечные сокращения, наоборот, происходит повышение базального тонуса, частоты и амплитуды фазных сокращений. Фазные сокращения в обоих случаях являются одиночными. Другие фазно-тонические мышцы имеют базальный тонус, но фазных сокращений в покое не генерируют. Поэтому в ответ на стимуляцию такая мышца повышает базальный тонус и начинает генерировать фазные

сокращения.

Скелетная и гладкая мышцы по-разному отвечают на пассивное растяжение. В скелетных мышцах в ответ на растяжение напряжение (сила) нарастает. В гладких мышцах первоначально тоже происходит нарастание напряжения, но через 30-60 секунд оно спонтанно снижается почти до исходного уровня. То есть гладким мышцам свойственна пластичность. Так в мочевом пузыре при накоплении мочи давление не возрастает, т.к. гладкие мышцы пузыря при таком растяжении постепенно снижают свой базальный тонус.

Лабораторная работа № 16.

Регистрация одиночного мышечного сокращения и его анализ

Цель: зарегистрировать и проанализировать одиночное мышечное сокращение икроножной мышцы лягушки.

Для работы необходимо: лягушка, препаровальный набор, раствор Рингера для холоднокровных животных, ванночка для регистрации преобразователь сигналов BSL MP35, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы:

1. Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе тензодатчик через канал 2.

3. Включите на компьютере программу BSL Pro. Не калибровать.

4. Преступите к препаровке лягушки. У декапитированной лягушки отпрепарировать небольшой участок седалищного нерва и икроножную мышцу. Икроножную мышцу за ахиллово сухожилие присоединить к тензодатчику.

5. Создайте в программе новый файл, назвав его «№ группы, день».

Выставьте «0» на стимуляторе.

В окне MP35 канал 1 должен отражать стимулятор, канал 2 — регистрацию сокращений мышцы. В окне стимулятора выбрать частоту стимуляции - 1 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

6. Стимулируйте седалищный нерв, постепенно повышая амплитуду стимуляции. Запишите пороговое значение. Продолжайте увеличивать амплитуду стимуляции до появления двух-трех одинаковых по амплитуде мышечных сокращений.

7. Для анализа полученной записи необходимо выделить участок мышечного сокращения (рис. 15).

Выберите параметр «Мах» и запишите амплитуду в граммах. Постройте график зависимости амплитуды мышечного сокращения от

амплитуды раздражителя.

Запишите одиночное мышечное сокращение в ответ на сверхпороговые стимулы. Для анализа полученной записи необходимо выделить участок от начала стимула до начала сокращения. Выберите параметр «delta T» и запишите время в мсек (рис. 15).

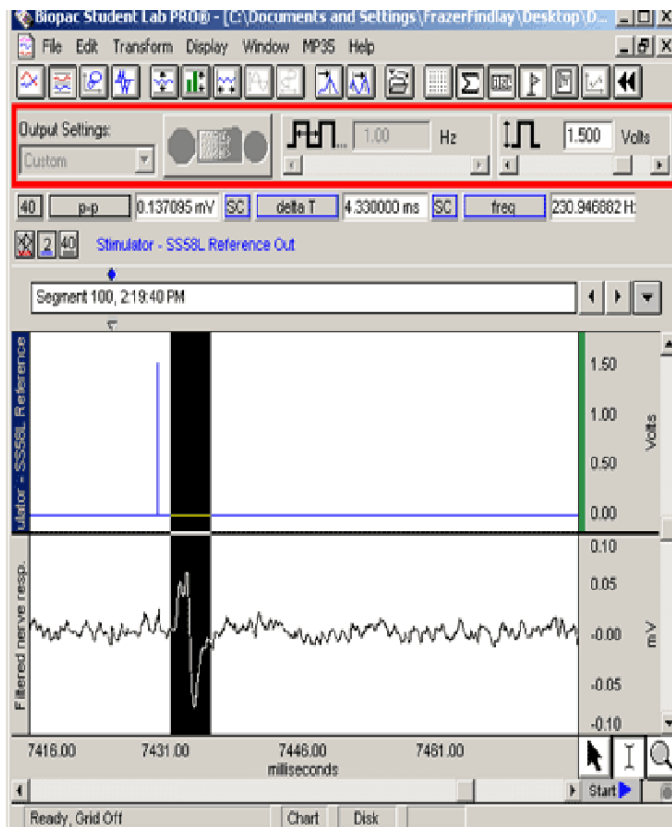


Рисунок 15. Пример обработки параметров сокращения мышцы.

9. Таким же способом подсчитайте время периодов укорочения и расслабления мышцы. Зарисуйте полученную картину, отметьте на ней эти периоды.

Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 17.

Прямое и не прямое раздражение мышцы

Цель работы: возбудимость мышечной и нервной ткани.

Для работы необходимо: то же.

Ход работы: Повторите действия с 1 по 5 в работе № 16.

6. Стимулируйте седалищный нерв, постепенно повышая амплитуду стимуляции. Запишите пороговое значение.

7. Вколите стимулирующий электрод в икроножную мышцу. Стимулируйте, постепенно повышая амплитуду стимуляции. Запишите

пороговое значение для прямого раздражения.

Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 18.

Суммация мышечных раздражений, тетанус, контрактура

Цель работы: зарегистрировать ритмические мышечные сокращения икроножной мышцы лягушки.

Для работы необходимо: то же.

Ход работы:

Повторите действия с 1 по 5 в работе № 16.

6. Увеличьте частоту стимуляции до 5 Гц, проведите запись мышечных сокращений. Увеличивайте частоту стимуляции до 10, 15, 20, 30, 50 и 100 Гц проведите запись мышечных сокращений.

Зарисуйте полученные кривые, подпишите полученные виды суммации мышечных сокращений.

7. Постойте график зависимости амплитуды сокращения от частоты стимуляции. Для анализа полученной записи необходимо выделить необходимый участок. Выберите параметр «Мах» и запишите амплитуду в граммах.

8. На основе данных из лабораторной работы № 16 рассчитайте теоретические значения частот для зубчатого и гладкого тетануса у лягушки. Сравните с полученными практическими данными.

9. При частоте необходимой для получения зубчатого тетануса обработайте мышцу сильно охлажденным раствором Рингера в течении 10 минут. Затем стимулируйте мышцу с той же частотой. Наблюдайте изменения.

10. Стимулируйте мышцу с частотой необходимой для получения гладкого тетануса в течении 20-30 секунд, наблюдайте появление контрактуры после прекращения стимуляции. Зарисуйте картину.

11. Пронаблюдайте появление необратимой контрактуры после обработки мышцы в течении 5 минут спиртовым раствором. Зарисуйте полученную картину.

Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 19.

Регистрация движений пальца кисти у человека: работа с использованием датчика силы

Цель работы: Зарегистрировать усилие, развиваемое во время тетануса по движениям пальца. Определить частоту стимула,

необходимую для развития пессимума.

Для работы необходимо: стимулятор BSLSTM, датчик силы ВЮРАС (SS12LA), набор проводов с электродами для безопасного раздражения у человека (HSTM01), S-образный крючок, груз известной массы (200 гр.), электродный гель, штатив, бумажная скрепка или проволока.

Ход работы:

1. Соедините стимулятор, преобразователь сигналов между собой через канал 1 и с компьютером через USB выход. Подключите к системе тензодатчик через канал 2. Установить уровень напряжения и диапазон работы электростимулятора.

2. Включить электростимулятор BSLSTM/A, прибор MP3X. Затем включить компьютер.

3. Запустить программу BSL PRO. Необходимо откалибровать датчик силы, для этого потребуется груз известной массы, предпочтительнее 200 грамм. В «меню MP3X» выбрать пункт «Настройка каналов» (Setup Channels), затем нажать на изображение гаечного ключа в CH 1 и выбрать пункт «калибровка».

a. Убрать нагрузку с датчика силы и нажать на кнопку «Cal 1».

b. К датчику силы SS12LA подвесить S-образный крючок вместе с грузом известной массы (200 гр.), после чего нажать на кнопку «Cal 2».

Датчик силы откалиброван и готов к записи сокращений.

4. Датчик силы установить горизонтально.

5. Подключение электродов к испытуемому:

Для выполнения данной работы, к испытуемому подключить контактное устройство с электродами для безопасного раздражения у человека (HSTM01), соединенное со стимулятором BSLSTM/A.

Расслабленную руку испытуемого уложить на плоскую поверхность ладонью вверх, на нижнюю часть предплечья нанести немного электродного геля. Наложить контактное устройство HSTM01, ориентируя электроды продольно, параллельно линии запястья. Для электростимуляции требуется, чтобы испытуемый, нажав, утопил красную кнопку на данном устройстве. Убедиться, что в окне «частота импульсов» (Pulse Rate) стимулятора установлено значение 1 Гц, после чего стимулятор переводят в положение «Включено» (ON).

Постепенно увеличить амплитуду раздражения (Level), пока не возникнут произвольные движения одного и трех пальцев (указательного, среднего или безымянного).

- Ответ, как правило, возникает в диапазоне от 20 до 40 В.

- Если ответов не наблюдается, на стимуляторе установить амплитуду (Level), равную 40 В, а затем медленно перемещать контактное

устройство по предплечью, сохраняя продольную ориентацию электродов.

После нахождения точки на предплечье, где будут получены произвольные движения только одного из трех, перечисленных выше, пальцев, подобрать амплитуду раздражения, которая была бы наиболее комфортной для испытуемого.

6. В программном окне Стимулятора нажать на кнопку “Выключить” (OFF), амплитуду же раздражения (Level) в настройках электростимулятора BSLSTM/A при этом не меняют.

7. Прикрепить датчик давления к пальцу следующим образом:

а. Разогнуть канцелярскую скрепку, затем зацепить ее за S-образный крючок, установленный гнезде датчика с меткой “200 г”.

б. Охватить палец испытуемого свободным концом скрепки.

Датчик силы будет записывать сокращения во время электростимуляции.

8 Испытуемого просят:

Закрывать глаза, расслабиться, расположив стимулируемую руку таким образом, чтобы скрепка, охватывающая палец расслабленной руки, находилась в натянутом состоянии.

9 Переключатель в окне стимулятора необходимо перевести в положение “включено” (ON). Для электростимуляции испытуемый должен удерживать красную кнопку устройства HSTM01 в утопленном состоянии.

10 Частоту раздражений увеличивать с шагом в 1 Гц до получения оптимума и пессимума сокращений.

11. В окне стимулятора перевести переключатель в положение “выключено” (OFF). Зарисовать полученные картины сокращений.

Лабораторная работа № 20

Зависимость работы изолированной мышцы от нагрузки и определение мышечной работы

Между грузом и укорочением мышцы при сокращении нет пропорциональности: нарастание и уменьшение амплитуды сокращений менее значительны, чем изменения нагрузки. Вначале увеличение нагрузки ведет к увеличению количества выполняемой работы, что, по-видимому, связано с увеличением возбудимости и сократительной способности мышцы. Дальнейшее же увеличение нагрузки ведет к уменьшению количества выполняемой работы, что связано с ослаблением сократительной способности и с чрезмерным растяжением мышцы вследствие слишком большого груза.

Цель: пронаблюдать зависимость выполняемой мышцей работы от нагрузки.

Для работы необходимо: изолированная икроножная мышца лягушки, набор грузов, раствор Рингера для холоднокровных животных, тензометрический датчик, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы: Повторите действия с 1 по 5 в работе № 16.

6. Затем к мышце подвесить груз в 1 г, снова раздражать мышцу и записывать сокращения. Далее постепенно увеличивать вес груза шагом в 1 грамм до тех пор, пока мышца не перестанет укорачиваться. При каждом увеличении записываем мышечное сокращение.

7. Для анализа полученной записи необходимо выделить необходимый участок. Выберите параметр «Max» и запишите амплитуду в граммах.

8. Вычислите произведенную для каждого груза работу (работа равна произведению нагрузки на амплитуду перемещения этого груза). Постройте график зависимости работы произведенной мышцей, от нагрузки, прилагаемой к мышце.

Сделайте выводы.

Лабораторная работа № 21.

Регистрация миниатюрных токов концевой пластинки диафрагмальной мышцы мыши

Цель: с помощью микроэлектродного метода внеклеточно зарегистрировать миниатюрные токи концевой пластинки мышцы.

Для работы необходимо: диафрагмальная мышца мыши, электрофизиологическая установка, раствор Кребса для теплокровных животных, 2М NaCl, стеклянные микроэлектроды, ванночка.

Ход работы:

1. Приготовить раствор Кребса для теплокровных, перфузировать карбогеном 20 мин, затем рН раствора довести до значений 7.3-7.4.

2. Приготовить препарат диафрагмальной мышцы мыши. Расположить препарат в стеклянной ванночке, растянув на 110-115 % от начальной длины.

3. Установить ванночку с препаратом в электрофизиологической установке, закрепить заземляющий электрод.

4. Заполнить регистрирующий электрод 2М NaCl, установить его в манипуляторе и опустить в омывающий раствор. Включить усилитель и предусилитель.

5. Подвести регистрирующий электрод к поверхности мышцы под микроскопом в область синапса. Наблюдения частоты МТКП проводят в течение 30 минут с фиксацией частоты каждые 5 минут.

6. Через 30 минут в перфузионный раствор добавляют исследуемый раствор (взять у лаборанта, уточнить концентрацию вещества) наблюдают изменения частоты МТКП.

7. Ход эксперимента фиксируют в протоколе, где отмечают время измерения частоты МТКП (часы, минуты), количество МТКП в минуту, все произведенные в ходе работы манипуляции. Результаты опыта выражают в виде графика, где по оси абсцисс откладывается время в минутах, а по оси ординат - частота МТКП в Гц, указать время действия вещества.

Лабораторная работа № 22.

Регистрация сокращения желудка лягушки в ответ на одиночную и ритмическую стимуляцию

Цель: регистрация сокращения гладкой мышцы желудка лягушки.

Для работы необходимо: лягушка, самописец, препаровальный набор.

Ход работы:

1. Вскрыть брюшную полость обездвиженной лягушки и извлечь желудок. Из средней части желудка вырезать 2-3 кольца шириной 5-6 мм. Разрезать их и с полученных полосок удалить слизистую оболочку.

2. Мышечную полоску поместить в камеру. В один конец мышцы вколоть спаренные игольчатые раздражающие электроды, которые одновременно фиксируют мышцу в камере. Другой конец мышцы соединить нитью с механодатчиком. При этом необходимо учитывать, гладкая мышца очень чувствительна к механическому раздражению, и даже незначительное растяжение может привести ее к сокращению или вызвать изменение тонуса.

3. Раздражать мышцу одиночными стимулами длительностью 1-5 мс, амплитудой 10-30 В, частотой 1-5 имп/с.

Установить скорость движения ленты самописца от 5 мм/с. Произвести регистрацию сокращения мышцы на одиночные стимулы. Определить длительность латентного периода сокращения, длительность фаз укорочения и расслабления.

4. Раздражая мышцу ритмическими стимулами разной частоты, зарегистрировать суммацию сокращений. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 23.

Влияние катехоламинов на тонус гладкой мускулатуры желудка лягушки.

Цель: изучить свойства гладкой мускулатуры при действии физиологически активных веществ.

Для работы необходимо: лягушка, самописец, препаровальный набор, адреналин, ацетилхолин.

Ход работы:

1 Мышечную полоску, полученную в прошлой работе поместить в камеру. Заполнить ванночку камеры, где находится мышца раствором Рингера. Мышцу соединить нитью с механодатчиком слегка натянув нить.

2 Скорость движения ленты - 1 мм/с. Зарегистрировать тонус мышцы в течении 1 минуты.

3 После регистрации начального уровня тонуса мышцы добавить в раствор 1 мл раствора адреналина (10^{-6} г/мл). Наблюдать за изменением тонуса мышцы в течении 10-15 минут.

4 Отмыть мышцу нормальным раствором Рингера и наблюдать влияние на тонус мышцы раствора ацетилхолина (10^{-6} г/мл).

Зарисовать линии изменения тонуса мышцы под влиянием физиологически активных веществ.

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 24.

Влияние физиологически активных веществ на спонтанную активность кишечника крысы.

Цель: изучить свойства гладкой мускулатуры при действии физиологически активных веществ.

Для работы необходимо: кишечник крысы, самописец, препаровальный набор, адреналин, ацетилхолин.

Ход работы:

1. Участок кишечника крысы, полученный у лаборанта, закрепить на восковой пластине и присоединить к тензодатчику. Скорость движения ленты - 1 мм/с. Зарегистрировать спонтанные сокращения мышцы в течении 1 минуты.

2. После записи начального уровня сокращений мышцы добавить в раствор 1 мл раствора Рингера адреналина (10^{-6} г/мл) и поливать этим раствором кишечник. Наблюдать за изменением частоты и амплитуды сокращений мышцы в течении 10-15 минут, производя короткую (5-15 сек) запись сокращений каждые 5 минут.

3. Отмыть мышцу нормальным раствором Рингера в течении 20-30 минут пока частота и амплитуда сокращений не вернется к начальному уровню. Повторить запись сокращений в течении 1 минуты.

4. Наблюдать влияние на частоту и амплитуду сокращений мышцы раствора ацетилхолина (10^{-6} г/мл) в течении 10-15 минут, производя короткую (5-15 сек) запись сокращений каждые 5 минут.

Построить графики зависимости частоты и амплитуды сокращения участка кишечника крысы от времени действия физиологически активных веществ.

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 25. Запись электрогастрограммы у человека

В норме, желудочная мускулатура сокращается с регулярными промежутками, порождая электрический сигнал, записываемый с помощью электродов. У здоровых испытуемых в покое ритм сокращений, приблизительно, составляет 3 цикла в минуту (0,05 Гц). Мощность и частота сигнала меняется после принятия пищи. Для записи ЭГГ (суммарной электрической активности желудочной стенки) на переднюю брюшную стенку испытуемого, в проекции желудка помещают три одноразовых электрода. Исследование проводят натощак, а при желании, после приема пищи.

Цели:

1. Зарегистрировать электрогастрограмму (ЭГГ) у испытуемого с помощью поверхностных электродов.

2. Проанализировать частотный спектр полученных сигналов методом быстрого преобразования Фурье (БПФ).

Для работы необходимо: компьютер, ВІОРАС, кабель для подсоединения регистрирующих электродов (SS2L), набор одноразовых электродов EL503, электродный гель и абразив (GEL1 и ELPAD), MP35.

Ход работы:

1. Включить компьютер. К порту СН 2 подсоединить кабель ВІОРАС для регистрирующих электродов (SS2L). Включить прибор MP36/MP35.

Запустить программу BSL PRO.

2. Открыть шаблон файла, выбирая из меню: «Файл > Открыть > Выбрать тип файлов: Graph Template (*GTL) >

Калибровка не требуется.

Испытуемый

1. Для записи ЭГГ обычно требуется примерно 1-2 часа (чтобы записать данные натощак и после приема пищи). Поэтому первая запись производится натощак, а затем испытуемого просят сесть и принять пищу. После еды испытуемый должен лечь и расслабиться. Запись ЭГГ производят через 15 и 45 минут после приема пищи.

2. Для получения наилучших результатов необходимо подготовить испытуемого:

а. С тела испытуемого необходимо снять все крупные металлические предметы.

б. Убедиться, в том, что испытуемый не контактирует с металлическими поверхностями (трубами, металлическими стульями и др.).

с. Кожные покровы в местах наложения электродов очистить и обработать абразивом. Если кожа испытуемого жирная, места наложения электродов перед обработкой абразивом очищают мылом и водой или спиртом.

д. Нанести по капле электродного геля на каждый электрод.

На тело испытуемого установить три одноразовых электрода EL503 в соответствии со схемой, представленной на рис. 16



Рисунок 16 Положение электродов.

*КРАСНЫЙ - Вверху (на стороне, где находятся два электрода).
ЧЕРНЫЙ - Внизу (на стороне, где находятся два электрода). БЕЛЫЙ -
На противоположной стороне (на стороне с одним электродом).*

3. Кабель SS2L подсоединить к регистрирующим электродам в соответствии с цветами, указанными выше.

Защелкивающиеся разъемы напоминают небольшие кнопки, используемые для одежды. С помощью разъемов электрод крепится только с одной стороны. Чтобы осуществить контакт и фиксацию к выступающей контактной части электрода, разъем может потребоваться развернуть так,

чтобы его внутренняя металлическая поверхность была обращена к контакту на электроде.

С помощью зажимов прикрепляют кабель для электродов к одежде испытуемого, либо располагают его таким образом, чтобы ни в одном месте соединений или по ходу проводов не наблюдалось скручиваний.

4. Включить прибор МР.

Испытуемый должен находиться в положении лежа на спине с закрытыми глазами. Важно, чтобы на протяжении записи испытуемый находился в состоянии покоя.

5. После закрепления регистрирующих электродов выжидают в течение 5 минут (за это время произойдет пропитывание электродным гелем и обеспечится максимальная проводимость).

Регистрация

1. Для начала записи нажимают кнопку Старт (Start).

2. Длительность непрерывной записи ЭГГ испытуемого, находящегося в состоянии покоя должна составить, как минимум, 10 минут, после чего нажать кнопку Стоп (Stop).

3. Затем испытуемого просят сесть и принять пищу.

4. Через 15 минут после приема пищи. Производят регистрацию ЭГГ, нажав кнопку Старт (Start).

5. Длительность непрерывной записи ЭГГ испытуемого после еды должна составить, как минимум 10 минут, затем следует нажать кнопку Стоп (Stop). Запись повторяют еще через 30 минут.

6. На приведенном ниже рисунке 17 показана кривая с данными. Отметим, что первые 30 сек записи представляют собой артефакт, возникший вследствие наложения фильтров.

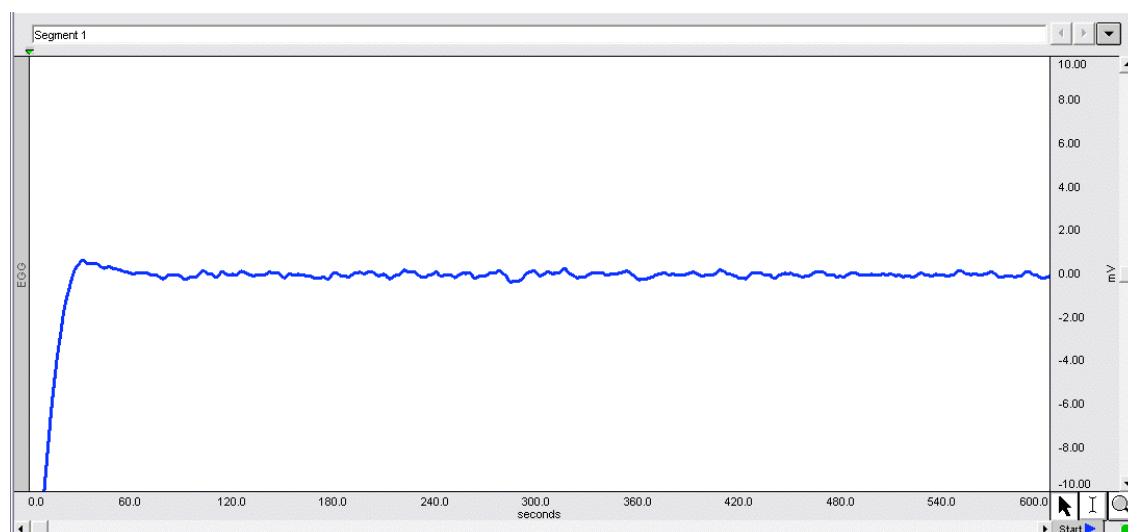


Рисунок 17 Пример миограммы

Анализ

1. Следует убедиться в том, что в окне отображены все данные, для чего в меню “Изображение“, выбрать пункт ”Горизонтальный автомасштаб” (Display > Autoscale Horizontal), который находится в этом же меню после пункта “Уравнять масштабы” (Autoscale Waveforms).

2. С помощью I-образного курсора выделить участок с данными, не включающими артефакт от установки фильтров, и приблизительно соответствующий первым 30 секундам записи. Примечание: При наличии нескольких сегментов (например, до и после еды) необходимо выделить данные только первого сегмента. Начало новой записи отобразится с помощью маркера (I).

3. В меню “Преобразовать” выбрать пункт “БПФ” (Transform> FFT).

4. Пункты: “Дополнить нулями” (Pad with zeros), “Вычесть среднее” (Remove mean), “Магнитуда” (Magnitude), “Линейная шкала” (Linear), “Убрать дрейф” (Remove trend)” и “Окно” (Window) – “Hamming”, необходимо отметить выделением, после чего затем нажать кнопку ОК.

Выделение в диалоговом окне БПФ.

5. Программа выполнит быстрое преобразование Фурье для выделенного участка данных.

6. На графике БПФ следует увеличить искомую частотную область (от 0 примерно до 0,5 Гц).

7. Параметром обработки из ниспадающего меню следует назначить функцию “F@Max” (максимальная мощность при максимальной частоте).

8. Выделить область, характеризующуюся максимальной амплитудой, записать значения “F@Max”. Отметим, что значения шкалы частот отображаются в связи с особенностями программного обеспечения. На примере, приведенном ниже, единицами измерения указаны “мГц” (mHz), что означает миллигерцы. Полученные данные должны быть в пределах 0,05 Гц (50 мГц), что соответствует трем сокращениям в минуту.

9. Так как исследование выполнено как до, так и после еды, аналогичный, анализ следует повторить и для второго и третьего записанного сегмента.

При сравнении результатов отмечают различия по амплитуде и частоте.

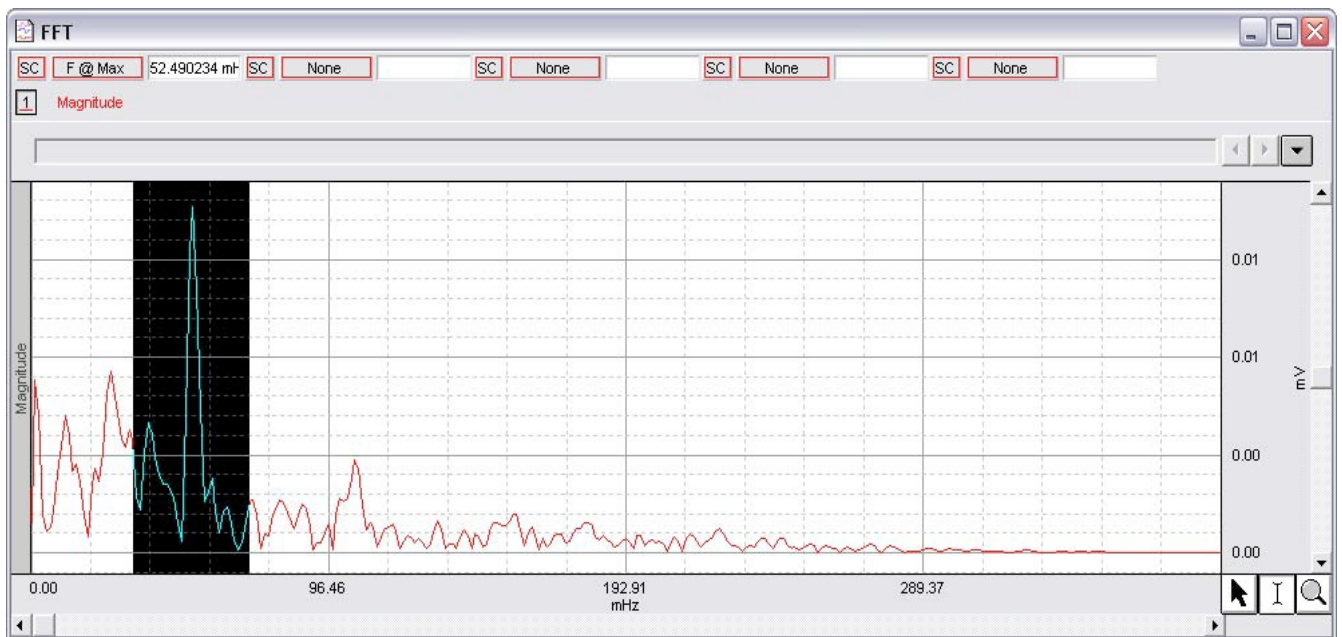


Рисунок 18 Измерение максимальной мощности при максимальной частоте.

Контрольные вопросы

1. Какие типы мышечной ткани вы знаете?
2. Опишите потенциал действия мышцы. Этапы формирования.
3. Назовите этапы мышечного сокращения
4. Опишите роль внутриклеточного Ca^{2+} в мышечном сокращении
5. Отличия в сокращении поперечно-полосатой и гладкой мускулатуры.
6. Чем отличаются гладкий и зубчатый тетанусы?
7. Фазные и тонические мышцы – отличия.
8. Классификация гладких мышц.
9. Опишите строение молекул актина и миозина, механизм их взаимодействия.
10. От чего зависит сила сокращения скелетной мышцы?

Глава 5

Нервно-мышечная передача

Синапс — место контакта между двумя нейронами или между нейроном и иннервируемой им клеткой мишенью. Служит для передачи нервного импульса между двумя клетками. Термин был введён в 1897 г. английским физиологом Чарльзом Шеррингтоном.

Классификации синапсов

В зависимости от механизма передачи нервного импульса различают

1) химические;

2) электрические — клетки соединяются высокопроницаемыми контактами с помощью особых коннексонов (каждый коннексон состоит из шести белковых субъединиц). Расстояние между мембранами клетки в электрическом синапсе — 3,5 нм (обычное межклеточное — 20 нм). Так как сопротивление внеклеточной жидкости мало, импульсы проходят, не задерживаясь через синапс. Электрические синапсы обычно бывают возбуждающими. Для нервной системы млекопитающих электрические синапсы менее характерны, чем химические.

3) смешанные синапсы: пресинаптический потенциал действия создает ток, который деполяризует постсинаптическую мембрану типичного химического синапса, где пре- и постсинаптические мембраны не плотно прилегают друг к другу. Таким образом, в этих синапсах химическая передача служит необходимым усиливающим механизмом.

Химические синапсы можно классифицировать по их местоположению и принадлежности соответствующим структурам:

- ♣ Периферические;
 - ♣ нервно-мышечные,
 - ♣ нейросекреторные (аксо-вазальные),
 - ♣ рецепторно-нейрональные,
- ♣ центральные;
 - ♣ *аксо-дендритические*— с дендритами,
 - ♣ *аксо-соматические*— с телами нейронов,
 - ♣ *аксо-аксональные*— между аксонами,
 - ♣ *дендро-дендритические*— между дендритами.

В зависимости от медиатора синапсы разделяются на:

- ♣ аминергические, содержащие биогенные амины (например, серотонин, дофамин, адреналин);
- ♣ холинергические, содержащие ацетилхолин;
- ♣ пуринергические, содержащие пурины;
- ♣ пептидергические, содержащие пептиды.

При этом в синапсе не всегда вырабатывается только один медиатор. Обычно основной медиатор выбрасывается вместе с другим, играющим роль модулятора – ко-медиатор. Медиатор синтезируется в соме нервной клетки и путем аксонального транспорта транспортируются к окончанию аксона, где и выполняют свою роль.

Химический синапс выполняет задачу передачи электрического сигнала от пресинаптического нейрона на постсинаптическую клетку (рис. 19). Для синапсов с химическим способом передачи возбуждения характерны *синаптическая задержка проведения возбуждения*, и генерация *постсинаптического потенциала* (ПСП) в ответ на пресинаптический импульс. Этот потенциал при возбуждении проявляется в деполяризации постсинаптической мембраны, а при торможении — в ее гиперполяризации, в результате чего развивается *тормозной постсинаптический потенциал* (ТПСП). При возбуждении проводимость постсинаптической мембраны увеличивается.

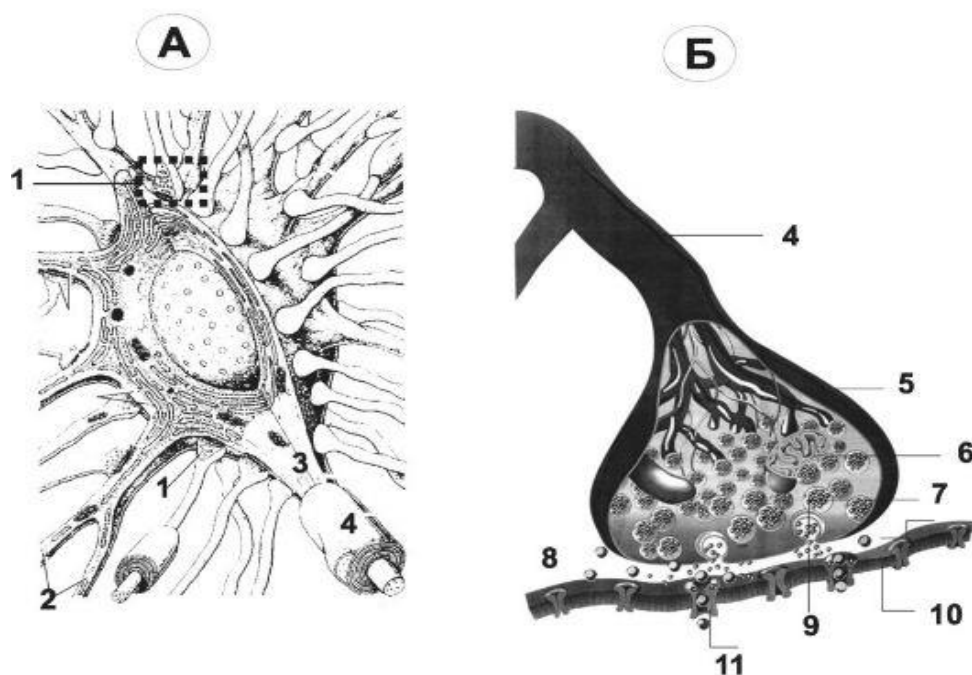


Рисунок 19. Схема взаимодействия нервных клеток.

1- пример нейро-нейронного синапса, 2- дендрит, 3 – аксон, 4 – перехват Ранвье, 5 – концевая пластинка, 6- митохондрия, 7 – пресинаптическая мембрана, 8 – синаптическая щель, 9- синаптический пузырек (везикула), 10 - постсинаптическая мембрана, 11 – ацетилхолиновый рецептор.

Когда нервный импульс достигает окончания аксона, на деполяризованной пресинаптической мембране открываются потенциалзависимые Ca^{2+} каналы. Вход Ca^{2+} в нервное окончание (через

пресинаптическую мембрану) способствует высвобождению нейромедиатора, находящегося в везикулах (пузырьках) – экзоцитоз (рис. 19).

Медиатор диффундирует через синаптическую щель и связывается со специфическими рецепторами на постсинаптической мембране (рис. 19). Так как медиатором в нервно-мышечном синапсе является ацетилхолин (АЦХ), то рецепторы постсинаптической мембраны называют холинорецепторами. На постсинаптической мембране нервно-мышечного синапса холинорецепторы являются ионотропными – представляют, из себя ионный канал встроенный в липидный слой мембраны, который при связывании с медиатором открывается. Через открытый канал внутрь мышечной клетки проникают катионы – преимущественно ионы Na^+ , что приводит к деполяризации мембраны мышечной клетки, в результате развивается так называемый потенциал концевой пластинки (ПКП). При повышении частоты стимуляции нервного волокна, усиливается деполяризация пресинаптической мембраны, а следовательно, возрастает количество выделяемого медиатора и число активированных хемочувствительных ионных каналов на постсинаптической мембране. Таким образом, возникают ПКП, которые по амплитуде деполяризации суммируются до порогового уровня. После чего, на мембране мышечного волокна, окружающей синапс, возникает ПД, который обладает способностью к распространению вдоль мембраны мышечного волокна.

Чувствительность постсинаптической мембраны регулируется активностью фермента – ацетилхолинэстеразы (АЦХ-Э), который гидролизует медиатор АЦХ на составные компоненты - ацетил и холин которые захватываются обратно в нервное окончание для ресинтеза. Без удаления медиатора на постсинаптической мембране развивается длительная деполяризация, которая ведет к нарушению проведения возбуждения в синапсе – синаптической депрессии. Таким образом, синаптическая связь обеспечивает одностороннее проведение возбуждения с нерва на мышцу, однако на все эти процессы расходуется время (синаптическая задержка, длящаяся около 0,5 мс), что приводит к низкой лабильности синапса по сравнению с нервным волокном.

Однако нервно-мышечный **синапс** является «**выгодным**» местом, куда можно воздействовать фармакологическими препаратами, изменяя чувствительность рецептора, активность фермента. Например, при отравлении токсином ботулизма – блокируется высвобождение медиатора АЦХ (разглаживание морщин в косметической медицине), блокада холинорецепторов (курареподобными препаратами, бунгаротоксином)

нарушает открытие ионотропных каналов на постсинаптической мембране. Фосфоорганические соединения (множество инсектицидов) нарушает эффективность АЦХ-Э и вызывает длительную деполяризацию постсинаптической мембраны. При заболевании миастении из-за дефицита холинорецепторов на постсинаптической мембране (из-за их аутолитического разрушения) возникает прогрессирующая мышечная слабость, вплоть до полной остановки мышечных сокращений (остановка дыхания).

В состоянии относительного физиологического покоя синапсы находятся в **фоновой биоэлектрической активности**. Ее значение заключается в том, что она повышает готовность синапса к проведению нервного импульса. В состоянии покоя 1–2 везикулы в терминале аксона могут случайно подойти к пресинаптической мембране, в результате чего вступят с ней в контакт. Везикула при контакте с пресинаптической мембраной открывается, и ее содержимое в виде 1 кванта АЦХ поступает в синаптическую щель, попадая при этом на постсинаптическую мембрану, где будет образовываться миниатюрный ПКП.

Лабораторная работа № 26.

Локализация утомления в нервно-мышечном соединении

Цель: выявить локализацию утомления в нервно-мышечном соединении.

Для работы необходимо: изолированная нервно-мышечная preparation икроножной мышцы лягушки, раствор Рингера для холоднокровных животных, тензометрический датчик, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы: Повторите действия с 1 по 5 в работе № 16.

В окне стимулятора выбрать частоту стимуляции - 20 Гц, начало стимуляции совпадает с началом записи.

Опыт № 1. Стимулируйте седалищный нерв сверхпороговыми стимулами с частотой 20 Гц. Поочередно переключая стимуляцию с прямой на непрямую стимуляцию. В окне происходит запись как бы двух кривых утомления, наложенных друг на друга. Амплитуда кривой, соответствующей непрямому раздражению, убывает быстрее.

Опыт № 2. Стимулируйте седалищный нерв сверхпороговыми стимулами с частотой 20 Гц непрямым раздражением, записываете кривую утомления. Когда мышца перестанет сокращаться, переключитесь на прямое раздражение. Мышца снова начнет ритмически сокращаться.

Зарисуйте полученные кривые, сделайте выводы.

Лабораторная работа № 27.

Влияние фармакологических агентов на нервно-мышечную передачу

Цель: изучение действия на нервно-мышечную передачу лягушки фармакологических веществ, влияющих на медиаторный процесс.

Для работы необходимо: изолированная нервно-мышечный препарат икроножной мышцы лягушки, раствор Рингера для холоднокровных животных, тензометрический датчик, стимулятор BSLSTM, набор проводов и электродов BSLCBL2A, BSLCBL4B.

Ход работы: Повторите действия с 1 по 5 в работе № 16.

6 Стимулируйте седалищный нерв сверхпороговыми стимулами с частотой 30 Гц в течении 15-20 секунд. Заменить нормальный Рингер в ванночке с мышцей на раствор, содержащий тубокурарин ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл) через равные промежутки времени (30 сек) регистрировать изменения в характере одиночных и ритмических сокращений мышцы. После достижения максимального эффекта блокирования, проверить его обратимость, заменив раствор на нормальный.

7 Стимулируйте седалищный нерв сверхпороговыми стимулами с частотой 30 Гц в течении 15-20 секунд. Заменить нормальный Рингер в ванночке с мышцей на раствор, содержащий прозерин ($2 \cdot 10^{-6}$ г/мл) через равные промежутки времени (30 сек) регистрировать изменения в характере одиночных и ритмических сокращений мышцы. После достижения максимального эффекта блокирования, проверить его обратимость, заменив раствор на нормальный.

8 Представить графики иллюстрирующие динамику действия фармакологических веществ и процесса восстановления. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 28.

Регистрация потенциалов концевой пластинки диафрагмальной мышцы мыши

Цель: с помощью микроэлектродного метода зарегистрировать потенциал концевой пластинки мышцы.

Для работы необходимо: диафрагмальная мышца мыши с иннервируемым диафрагмальным нервом, электрофизиологическая установка, раствор Кребса для теплокровных животных, 2М КСl, стеклянные микроэлектроды, ванночка.

Ход работы:

1. Приготовить раствор Кребса для теплокровных, перфузировать карбогеном 20 мин, затем рН раствора довести до значений 7.3-7.4.

2. Приготовить препарат диафрагмальной мышцы мыши. Расположить препарат в стеклянной ванночке, растянув на 110-115 % от начальной длины.

3. Установить ванночку с препаратом в установке, закрепить заземляющий электрод. Подключить стимулирующие электроды к стимулятору.

4. Заполнить регистрирующий электрод 2М КСl, установить его в манипуляторе и опустить в омывающий раствор. Включить усилитель и предусилитель. Включить стимулятор, наблюдать сокращения мышцы. Добавить в омывающий раствор тубокурарин в концентрации 3 мкмоль, наблюдать снижение амплитуды сокращений мышцы вплоть до полного их прекращения.

5. Подвести регистрирующий электрод к поверхности мышцы под микроскопом в область синапса. Произвести прокол мембраны, зарегистрировать изменение мембранного потенциала на вольтметре и появление ПКП при стимуляции нерва. Наблюдения ПКП проводят в течение 30 минут с фиксацией амплитуды каждые 5 минут.

6. Через 30 минут в перфузионный раствор добавляют активное вещество (взять у лаборанта или преподавателя), наблюдают изменения амплитуды ПКП.

7. Ход эксперимента фиксируют в протоколе, где отмечают время измерения амплитуды ПКП (часы, минуты), все произведенные в ходе работы манипуляции. Результаты опыта выражают в виде графика, где по оси абсцисс откладывается время в минутах, а по оси ординат - амплитуда ПКП в условных единицах, указать время действия вещества.

Лабораторная работа № 29.

Исследование морфологического строения синапса холоднокровных животных с помощью прижизненного флуоресцентного красителя FM 1-43

Цель: с помощью флуоресцентного метода наблюдать строение синапса холоднокровных животных.

Для работы необходимо: кожно-грудинная мышца лягушки, электрофизиологическая установка, флуоресцентный микроскоп ЛОМО, раствор Рингера для холоднокровных животных, ванночка.

Ход работы:

1. Приготовить раствор Рингера для холоднокровных, затем рН раствора довести до значений 7.3-7.4.

2. Приготовить препарат кожно-грудинной мышцы. Расположить препарат в стеклянной ванночке, растянув на 110-115 % от начальной

длины.

3. Установить ванночку с препаратом в установке. Подключить стимулирующие электроды к стимулятору.

4. Включить стимулятор, наблюдать сокращения мышцы.

5. При выключенном стимуляторе установить частоту стимуляции 20 Гц. Добавить в ванночку краситель в количестве 6 мкл.

6. Включить стимуляцию мышцы на 3 минуты. Затем оставить краситель на мышце без стимуляции еще на 7 минут без стимуляции. По истечении указанного времени промывать мышцу раствором Рингера в течении 40-45 минут.

7. Расположить ванночку с препаратом на предметном столике микроскопа, в проходящем свете рассмотреть мышцу, найти мышечные волокна и нервы. Переключить микроскоп на флуоресцентный свет, наблюдать свечение миелиновых оболочек нервов, терминалей. Перейти на большее увеличение. Зарисовать нервную терминаль лягушки, с шванновскими клетками.

Лабораторная работа № 30.

Исследование морфологического строения синапса теплокровных животных с помощью прижизненного флуоресцентного красителя FM 1-43

Цель: с помощью флуоресцентного метода наблюдать строение синапса теплокровных животных.

Для работы необходимо: диафрагмальная мышца мыши, электрофизиологическая установка, раствор Кребса для теплокровных животных, флуоресцентный микроскоп ЛОМО, ванночка.

Ход работы:

1. Приготовить раствор Кребса для теплокровных, перфузировать карбогеном 20 мин, затем рН раствора довести до значений 7.3-7.4.

2. Приготовить препарат диафрагмальной мышцы мыши. Расположить препарат в стеклянной ванночке, растянув на 110-115 % от начальной длины.

3. Установить ванночку с препаратом в установке. Подключить стимулирующие электроды к стимулятору.

4. Включить стимулятор, наблюдать сокращения мышцы.

5. При выключенном стимуляторе установить частоту стимуляции 50 Гц. Добавить в ванночку краситель в количестве 6 мкл.

6. Включить стимуляцию мышцы на 1 минуты. Затем оставить краситель на мышце без стимуляции еще на 7 минут без стимуляции. По истечении указанного времени промывать мышцу раствором Кребса в

течении 40-45 минут.

7. Расположить ванночку с препаратом на предметном столике микроскопа, в проходящем свете рассмотреть мышцу, найти мышечные волокна и нервы. Переключить микроскоп на флуоресцентный свет, наблюдать свечение миелиновых оболочек нервов, терминалей. Перейти на большее увеличение. Зарисовать нервную терминаль мышцы.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение синапса.
2. Перечислите способы классификации синапсов.
3. Какие медиаторы тормозные Вы знаете?
4. Назовите основные части синапса.
5. Нарисуйте мионевральный синапс.
6. Назовите отличия между химическим и электрическим синапсами.
7. Опишите, как можно выявить причину утомления мышцы при длительной стимуляции.
8. Назовите примеры возбуждающих медиаторов.
9. Расскажите о роли ацетилхолинэстеразы в мионевральном синапсе.
10. Назовите причину спонтанной секреции медиатора и опишите значение этого процесса?

Список использованной литературы

- 1) Алатырев, В. И. Лабораторные работы по курсу Физиология возбудимых систем / В.И. Алатырев // Казань ЛОП КГУ – 1989 - 30 с.
- 2) Зефирова, А.Л. Ионные каналы возбудимой клетки (структура, функция, патология). Монография/ А.Л. Зефирова, Г.Ф. Ситдикова //Казань: Арт-кафе – 2010 - 270 с.
- 3) Камкин, А. Фундаментальная и клиническая физиология / А. Камкин, А. Каменский //Москва, Издательство Академия - 2004 - 1072с.
- 4) Камкина, А.Г. Большой практикум по физиологии: учебное пособие / А.Г. Камкина // Москва, издательство Академия - 2007.– 448 с
- 5) Николс Дж.Г. От нейрона к мозгу./ Дж.Г. Николс, А.Р. Мартин, Б.Дж. Валлас, П.А. Фукс // Москва: Изд-во научной и учебной лит-ры – 2003 - 672 с
- 6) Ноздрачев, А.Д. Большой практикум по физиологии человека и животных: в 2 т. Т.1: Физиология нервной мышечной и сенсорных систем. / А.Д. Ноздрачев // В 2-х тт Учебное пособие для ВУЗов Москва Изд-во Академия – 2007 - 599 с.
- 7) Плещинский, Н.И. Практикум по общей электрофизиологии Методическое пособие / И.Н. Плещинский // Казань ОЛ КГУ – 1973 - 86 с.
- 8) Ситдикова, Г.Ф. Структура и функции ионных каналов возбудимой клетки: Учебное пособие/ Г.Ф. Ситдикова, Р.Н. Хазипов, А. Hermann // Казань: Казанский университет - 2011. – с.96
- 9) Чайлахян, Л.М. Электрофизиология возбудимых систем. Потенциал покоя. Учебное пособие / Л.М. Чайлахян, О.П. Балежина // Элиста: ЗАОр «НПП Джангар» - 2009 — с. 171.
- 10) Шошина, И.И. Физиология. Лабораторный практикум. / И.И. Шошина, Ф.А. Гершкорон, А.А. Савченко // Красноярск: ИПК СФУ – 2008 - 133 с.