

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

**Б1.В.ОД.4.2 Физиология клетки**

**Направление подготовки (специальность) 06.06.01 Биологические науки**

**Профиль подготовки (специализация) 03.03.01 Физиология**

**Квалификация (степень) Исследователь. Преподаватель-исследователь**

**Нормативный срок обучения 4 года**

**Форма обучения очная**

## **СОДЕРЖАНИЕ**

- 1. Конспект лекций .....**
  - 1.1 Лекция № 1** Введение в предмет физиологии клетки.
  - 1.2 Лекция № 2** Характеристика клетки
  - 1.3 Лекция № 3** ДНК и РНК и их функции
  - 1.4 Лекция № 4** Клеточные механизмы покоя и действия
  - 1.5 Лекция № 5** Гематоэнцефалический барьер
  - 1.6 Лекция № 6** Мембранные потенциалы и их регистрация
  - 1.7 Лекция № 7** Полимеры и строение клетки
  - 1.8 Лекция № 8** Активные процессы в клетке
  - 1.9 Лекция № 9** Транспортные клеточные системы
  - 1.10 Лекция № 10** Микроструктуры и микрофункции
  
- 2. Методические указания по выполнению практических занятий.....**
  - 2.1 Практическое занятие № 1** АТФ и его роль в клетке. Функции митохондрий клетки
  - 2.2 Практическое занятие № 2** Хемотаксис. Роль ресничек клетки
  - 2.3 Практическое занятие № 3** Аппарат Гольджи. Синтез в эндоплазматическом ретикулуме
  - 2.4 Практическое занятие № 4** Изменения внеклеточной концентрации калия
  - 2.5 Практическое занятие № 5** Транскрипция. Виды и типы РНК клеток
  - 2.6 Практическое занятие № 6** Внутриклеточные биологические процессы
  - 2.7 Практическое занятие № 7** Сократимость. Мышечное сокращение
  - 2.8 Практическое занятие № 8** Мышечные белки. Деление клетки
  - 2.9 Практическое занятие № 9** Источники энергии в клетке
  - 2.10 Практическое занятие № 10** Метаболизм клетки

## **1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ**

### **1. 1 Лекция № 1 (2 часа).**

**Тема:** «Введение в предмет физиологии клетки»

#### **1.1.1 Вопросы лекции:**

1. Введение
2. Реакция клетки на внешние воздействия
3. Общие черты в ответных реакциях клеток

#### **1.1.2 Краткое содержание вопросов:**

##### **1. Введение**

Физиология клетки — раздел цитологии, научной дисциплины, которая изучает элементарную живую систему — клетку, лежащую в основе строения и функционирования любого животного и растительного организма. Современная цитология включает ряд разделов — морфологию, физиологию, биохимию клетки, цитогенетику, цитоэкологию, хотя четких границ между ними не существует.

Физиология клетки — раздел не только цитологии, но и физиологии — науки о функциях организма. Анализ функций проводится на различных уровнях организации живого — организменном, системном, тканевом, клеточном, молекулярном. Эти уровни тесно связаны друг с другом и вместе составляют единую физиологическую науку, конечной целью которой является понимание функционирования целостного организма. Путь анализа является неизбежным в познании любого сложного явления. Благодаря анализу биология достигла блестящих успехов, возникла новая область — молекулярная биология. Она рассказывает о процессах, которые совершаются на молекулярном уровне, когда происходят те или иные явления, например фотосинтез, фоторецепция, движение.

Знания, которые добываются путем анализа, подготавливают почву для синтеза, для понимания того, каким образом из простого возникает сложное, из частей возникает целое. Синтез намного труднее, чем анализ. Эти два пути познания не исключают, а дополняют друг друга.

##### **2. Реакция клетки на внешние воздействия**

Каждая клетка приспособлена к существованию лишь в определенных условиях, в определенной среде. Для свободно живущих одноклеточных организмов внешней средой является место их обитания; для клеток многоклеточных — внутренняя среда организма (плазма крови, лимфа, целомическая жидкость, тканевая жидкость). В ходе эволюции последняя становилась все более независимой и защищенной от изменений внешней среды благодаря созданию различных регуляторных механизмов, обеспечивающих постоянство состава и свойств внутренней среды организма. Поэтому клетки многоклеточного организма существуют в более постоянных условиях, чем свободноживущие одноклеточные, и защищены от излишних, разнообразных внешних воздействий. Внешняя среда любой клетки — это определенный комплекс факторов (свет, температура, сила тяжести, давление, различные химические вещества и т.д.), непрерывно воздействующих на клетку. Когда изменения какого-либо фактора превышают обычную норму, этот фактор становится раздражителем и вызывает ответную реакцию клетки в

виде комплекса разнообразных изменений ее структуры и свойств. Раздражители могут быть адекватными, обычными для клетки, и неадекватными, с которыми клетка, как правило, не встречается. Так, адекватными раздражителями для светочувствительных клеток сетчатки является свет, для механочувствительных клеток кортиева органа — звук. Для мышечных волокон эти раздражители будут неадекватными, так же как и различные наркотические вещества или рентгеновские лучи. Раздражителем может быть любой вид энергии (тепловая, снеговая, механическая, химическая, электрическая и др.), взятой в достаточной дозе; если интенсивность воздействия мала, то оно будет подпороговым и не вызовет ответной реакции клетки. Способность клетки отвечать на действие раздражителей определенным комплексом изменений называют раздражимостью или возбудимостью. Этими понятиями подчеркивается особенность реакции живых систем (в том числе и клетки) по сравнению с неживыми. Мертвые системы претерпевают изменения каждый раз разные в зависимости от вида воздействия. Так, кусок железа при нагревании расширяется, при охлаждении сжимается, при ударе молотком расплющивается, при действии кислотой окисляется и так далее. В клетках же любые раздражители, самые разные по своей природе, вызывают сходные однотипные изменения.

### 3. Общие черты в ответных реакциях клеток

Фактический материал о сходстве реагирования клеток на действие разных раздражителей лег в основу теории «парабиоза» Н.Е. Введенского и теории «паранекроза» Д.Н. Насонова и В.Я. Александрова. Н.Е. Введенский изучал функциональные показатели — возбудимость, проводимость, лабильность, биоэлектрические потенциалы. Д.Н. Насонов и В.Я. Александров исследовали в основном субстанциональные показатели — окрашиваемость, степень дисперсности протоплазмы, ее вязкость. Несмотря на это, авторы пришли к одному и тому же выводу, что реакции клеток на действие любых раздражителей являются в общих чертах сходными. Но они не тождественны, так как на общем неспецифическом фоне усматриваются и специфические особенности действия того или иного раздражителя, и специфические черты реакций различных клеток, обусловленные их специализацией.

Так, на любые воздействия железистая клетка реагирует выведением секрета, яйцеклетка — делением, мышечное волокно — сокращением, простейшие — амебоидным движением или изменением движения ресничек, в растительной клетке изменяется течение цитоплазмы. Но наряду с этим во всех клетках независимо от специализации и вида воздействия можно наблюдать и неспецифические изменения. К ним относится прежде всего нарушение функции гранулообразования. В норме клетки обладают способностью изолировать в гранулы чужеродные вещества и этим снижать их токсическое действие, поэтому гранулообразование рассматривают как защитную реакцию. В различных клетках оно выражено в разной степени. Наиболее интенсивной функцией гранулообразования обладают эпителиальные клетки, гораздо слабее — мышечные волокна; в ядерных эритроцитах можно наблюдать всего лишь одну-две гранулы. Образуются гранулы только в цитоплазме, в ядре их нет. Аккумулироваться в гранулы могут многие вещества: витальные гранулярные красители, новокаин, кокаин, кофеин, пилокарпин, эфедрин, атропин. Концентрация веществ внутри гранул может во много раз превышать его концентрацию в окружающей среде. Имеются данные, говорящие о том, что эти гранулы являются лизосомами или сходными с ними образованиями, но наряду с этим существуют работы, которые не подтверждают этого. Процесс гранулообразования тормозится при влиянии ингибиторов обмена, резко подавляется при низких температурах, а также при действии любых достаточно сильных раздражителей. Наряду с подавлением гранулообразования в обратимо поврежденных

клетках наблюдается усиление окрашиваемости прижизненными красителями цитоплазмы и особенно ядра, повышение вязкости цитоплазмы и снижение ее дисперсности (уменьшения прозрачности). Из-за нарушения окислительного фосфорилирования и накопления молочной кислоты происходит сдвиг внутриклеточной реакции в кислую сторону. Нарушается также проницаемость поверхностной мембраны и наблюдается выход некоторых веществ из клетки (ионы калия, фосфаты, нуклеиновые кислоты и др.). Вследствие поступления ионов натрия и хлора внутрь клетки уменьшается существующая в норме ионная асимметрия и снижается величина мембранного потенциала

## **1. 2 Лекция №2 (2 часа).**

**Тема:** «Характеристика клетки»

### **1.2.1 Вопросы лекции:**

1. Строение клетки
2. Строение растительной клетки

### **1.2.2 Краткое содержание вопросов:**

1.

Основное питательное вещество клетки животных — белок.

### **Основные органеллы клетки животных:**

Ядро и ядрышко — хранение и передача наследственной информации. Существуют многоядерные клетки животных, например, мышечные клетки; есть и безъядрные, например, эритроциты.

Мембрана клетки — защита, поддержание формы, активный и пассивный транспорт веществ.

Цитоплазма — внутренняя жидкая среда любой клетки, содержит все органеллы, органические и неорганические вещества.

Важнейшая роль цитоплазмы — объединение всех клеточных структур (компонентов) и обеспечение их химического взаимодействия. Она выполняет и другие функции, в частности, поддерживает тургор (внутреннее давление) клетки.

Эндоплазматическая сеть (эндоплазматический ретикулум) — это и внутренний «скелет» клетки, и обеспечение транспорта питательных веществ, в случае шероховатой ЭПС — это синтез белка,.

Аппарат Гольджи — «сортирует» белки, выводит вещества, произведенные ЭПС, образует лизосомы.

Лизосомы — пищеварительные органеллы клетки.

Митохондрия — «энергетическая станция» клетки.

Рибосомы — производство белка.

Центриоли (микротрубочки, клеточный центр) — это органелла, присущая только клетке животных.

Эта органелла была изучена сравнительно недавно, потому что в световой микроскоп (длина микротрубочки 0,2 — 0,6 мкм) ее можно было увидеть, но изучить строение можно было только с помощью электронного микроскопа.

Между собой микротрубочки соединены белковыми связями — так они удерживаются вместе.

В клетке центриоли располагаются обычно возле ядра, сами трубочки находятся в слегка уплотненном белковом окружении — матриксе. Такая система называется клеточным центром.

Основные функции клеточного центра — участие в делении клетки, функции микротрубочек — формирование цитоскелета клетки... Когда начинается процесс профазы митоза, они формируют веретено деления и помогают хромосомам разъезжаться к разным полюсам клетки — они играют роль своеобразных рельс.

## 2. Строение растительной клетки

**Основные части клетки.** Познакомимся со строением клетки листа элодеи. Это водное растение часто содержат в аквариумах.

Клетка листа элодеи (рис. 87) имеет снаружи прозрачную и прочную оболочку. Она состоит в основном из *клетчатки* — органического вещества, подобного крахмалу. Оболочка защищает содержимое клетки от механических и других воздействий. Внутри клетки находятся цитоплазма, ядро, зеленые пластиды и обычно одна крупная вакуоль.

**Цитоплазма** — полужидкое слизистое содержимое клетки, имеющее сложное строение. В зрелой клетке элодеи она находится в виде постенного слоя вблизи оболочки. В молодой клетке цитоплазма занимает почти всю ее полость. В цитоплазме происходят процессы, обеспечивающие жизнь клетки и всего организма в целом.

**Ядро** — более плотное образование округлой формы. Обычно оно хорошо видно при малом увеличении микроскопа. Ядро имеет оболочку, отделяющую его содержимое от цитоплазмы. В этой ядерной оболочке находятся мельчайшие поры, через которые в ядро из цитоплазмы и обратно переходят различные вещества. Ядро оказывает влияние на все процессы, происходящие в клетке.

**Вакуоль** (от лат. слова «ваккус» — пустой) — полость, которая занимает в зрелой клетке центральное положение. Она заполнена клеточным соком — водным раствором различных органических и минеральных веществ. В молодой клетке может быть несколько вакуолей.

У многих растений в клеточном соке содержатся красящие вещества — пигменты (от лат. слова «пигментум» — краска). Они придают органам растений (цветкам, плодам, стеблям и листьям, корнеплодам) синюю, фиолетовую, красную и другую окраску.

**Зеленые пластиды**, имеющиеся в цитоплазме листа элодеи, иначе называют *хлоропластами* (от греч. слова «хлорос» — зеленый и «пластос» — вылепленный). Их окраска связана с наличием зеленого пигмента — *хлорофилла*. В хлоропластах происходит образование на свету органического вещества из углекислого газа и воды.

В клетках листа элодеи, благодаря движению цитоплазмы, хлоропласты постоянно перемещаются. Это движение цитоплазмы в клетке можно увидеть под микроскопом.

**Хромопласты и лейкопласты.** Кроме зеленых пластид, в клетках разных растений встречаются желтые, красные и оранжевые *хромопласты* (от греч. слова «хрома» — цвет) (рис. 88) и бесцветные *лейкопласты* (от греч. слова «лейкос» — белый) (рис. 89). С наличием хромопластов в клетке связана окраска цветков (желтые — лютик, одуванчик), плодов (красные — шиповник, рябина), корнеплодов (оранжевая — морковь), а так же осенних листьев. В каждой живой клетке могут находиться пластиды только какой либо одной группы: либо хлоропласты, либо хромопласты, либо лейкопласты.

Возможно превращение лейкопластов в хлоропласты и (реже) в хромопласты. Хлоропласты также могут превращаться в хромопласты или лейкопласты. Зеленые плоды томатов, например, по мере созревания становятся красными.

**Запасные вещества клетки.** В клетках различных органов цветковых растений накапливаются органические вещества: крахмал, белок, жир. Крахмал откладывается в лейкопластах в виде крахмальных зерен. Большое количество крахмала имеется, например, в клетках клубней картофеля. В этом можно убедиться, капнув на срез клубня слабым раствором йода — срез посинеет.

Запасной жир (масло) откладывается в виде мельчайших капель в цитоплазме клеток растений. Много жира содержат семена подсолнечника, кукурузы, арахиса.

Белок накапливается в клеточном соке или в цитоплазме в виде плотных белковых зерен (рис. 91). Много белка образуется в клетках семян гороха, фасоли, сои.

### **1. 3 Лекция №3 (2 часа).**

**Тема:** «ДНК и РНК и их функции»

#### **1.3.1 Вопросы лекции:**

1. ДНК клетки и ее функция
2. РНК клетки и ее функция

#### **1.3.2 Краткое содержание вопросов:**

1. ДНК клетки и ее функция

Подобно белкам, нуклеиновые кислоты — биополимеры, а их функция заключается в хранении, реализации и передаче генетической (наследственной) информации в живых организмах.

Существует два типа нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК). Мономерами в нуклеиновых кислотах служат нуклеотиды.

Каждый из них содержит азотистое основание, пятиуглеродный сахар (дезоксирибоза — в ДНК, рибоза — в РНК) и остаток фосфорной кислоты.

В ДНК входят четыре вида нуклеотидов, отличающихся по азотистому основанию в их составе, — аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и тимин (Т). В молекуле РНК также имеется 4 вида нуклеотидов с одним из азотистых оснований — аденином, гуанином, цитозином и урацилом (У). Таким образом, ДНК и РНК различаются как по содержанию сахара в нуклеотидах, так и по одному из азотистых оснований.

Молекула ДНК может включать огромное количество нуклеотидов — от нескольких тысяч до сотен миллионов (поистине гигантские молекулы ДНК удается «увидеть» с помощью электронного микроскопа). В структурном отношении она представляет собой двойную спираль из *полинуклеотидных цепей*, соединенных с помощью водородных связей между азотистыми основаниями нуклеотидов. Благодаря этому полинуклеотидные цепи прочно удерживаются одна возле другой.

При исследовании различных ДНК (у разных видов организмов) было установлено, что аденин одной цепи может связываться лишь с тимином, а гуанин — только с цитозином другой. Следовательно, порядок расположения нуклеотидов в одной цепи строго соответствует порядку их расположения в другой. Этот феномен получил название *комплементарности* (т. е. дополнения), а противоположные полинуклеотидные цепи называются *комплементарными*. Именно этим обусловлено уникальное среди всех неорганических и органических веществ свойство ДНК — *способность к самовоспроизведению* или *удвоению*. При этом сначала комплементарные цепи молекул ДНК расходятся (под воздействием специального фермента происходит разрушение связей между комплементарными нуклеотидами двух цепей). Затем на каждой цепи начинается синтез новой («недостающей») комплементарной ей цепи за счет свободных нуклеотидов, всегда имеющихся в большом количестве в клетке. В результате вместо одной («материнской») молекулы ДНК образуются две («дочерние») новые, идентичные по структуре и составу друг другу, а также исходной молекуле ДНК. Этот процесс всегда предшествует клеточному делению и обеспечивает передачу наследственной информации от материнской клетки дочерним и всем последующим поколениям.

## 2. РНК клетки и ее функция

Так же, как ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), РНК состоит из длинной цепи, в которой каждое звено называется нуклеотидом. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара рибозы и фосфатной группы. Последовательность нуклеотидов позволяет РНК кодировать генетическую информацию. Все клеточные организмы используют РНК (мРНК) для программирования синтеза белков.

Клеточные РНК образуются в ходе процесса, называемого транскрипцией, то есть синтеза РНК на матрице ДНК, осуществляемого специальными ферментами — РНК-полимеразами. Затем матричные РНК (мРНК) принимают участие в процессе, называемом трансляцией. Трансляция — это синтез белка на матрице мРНК при участии рибосом. Другие РНК после транскрипции подвергаются химическим модификациям, и после образования вторичной и третичной структур выполняют функции, зависящие от типа РНК.



Для одноцепочечных РНК характерны разнообразные пространственные структуры, в которых часть нуклеотидов одной и той же цепи спарены между собой. Некоторые высокоструктурированные РНК принимают участие в синтезе белка клетки, например, транспортные РНК служат для узнавания кодонов и доставки соответствующих аминокислот к месту синтеза белка, а рибосомные РНК служат структурной и каталитической основой рибосом.

Однако функции РНК в современных клетках не ограничиваются их ролью в трансляции. Так, малые ядерные РНК принимают участие в сплайсинге эукариотических матричных РНК и других процессах.

Помимо того, что молекулы РНК входят в состав некоторых ферментов (например, теломеразы), у отдельных РНК обнаружена собственная ферментативная активность: способность вносить разрывы в другие молекулы РНК или, наоборот, «склеивать» два РНК-фрагмента. Такие РНК называются рибозимами.

Геномы ряда вирусов состоят из РНК, то есть у них она играет роль, которую у высших организмов выполняет ДНК. На основании разнообразия функций РНК в клетке была выдвинута гипотеза, согласно которой РНК — первая молекула, которая была способна к самовоспроизведению в добиологических системах.

Нуклеотиды РНК состоят из сахара — рибозы, к которой в положении 1 присоединено одно из оснований: аденин, гуанин, цитозин или урацил. Фосфатная группа соединяет рибозы в цепочку, образуя связи с 3 атомом углерода одной рибозы и в 5 положении другой. Фосфатные группы при физиологическом pH отрицательно заряжены, поэтому РНК — полианион. РНК транскрибируется как полимер четырёх оснований (аденина (А), гуанина (G), урацила (U) и цитозина (C)), но в «зрелой» РНК есть много модифицированных оснований и сахаров. Всего в РНК насчитывается около 100 разных видов модифицированных нуклеотидов, из которых 2'-О-метилрибоза наиболее частая модификация сахара, а псевдоуридин — наиболее часто встречающееся модифицированное основание.

У псевдоуридина (Ψ) связь между урацилом и рибозой не C — N, а C — C, этот нуклеотид встречается в разных положениях в молекулах РНК. В частности, псевдоуридин важен для функционирования тРНК<sup>[13]</sup>. Другое заслуживающее внимания модифицированное основание — гипоксантин, дезаминированный аденин, нуклеозид которого носит название инозина. Инозин играет важную роль в обеспечении вырожденности генетического кода.

Роль многих других модификаций не до конца изучена, но в рибосомальной РНК многие пост-транскрипционные модификации находятся в важных для функционирования рибосомы участках. Например, на одном из рибонуклеотидов, участвующем в образовании пептидной связи.

Матричная (информационная) РНК — РНК, которая служит посредником при передаче информации, закодированной в ДНК к рибосомам, молекулярным машинам, синтезирующим белки живого организма. Кодированная последовательность мРНК определяет последовательность аминокислот полипептидной цепи белка. Однако подавляющее большинство РНК не кодируют белок. Эти некодирующие РНК могут транскрибироваться с отдельных генов (например, рибосомальные РНК) или быть производными интронов. Классические, хорошо изученные типы некодирующих РНК — это транспортные РНК (тРНК) и рРНК, которые участвуют в процессе трансляции. Существуют также классы РНК, ответственные за регуляцию генов, процессинг мРНК и другие роли. Кроме того, есть и молекулы некодирующих РНК, способные катализировать химические реакции, такие, как разрезание и лигирование молекул РНК. По аналогии с белками, способными катализировать химические реакции — ферментами, каталитические молекулы РНК называются рибозимами.

#### **1. 4 Лекция № 4 (2 часа).**

**Тема:** «Клеточные механизмы покоя и действия»

##### **1.4.1 Вопросы лекции:**

1. Биоэлектрические потенциалы
2. Потенциал покоя
3. Потенциал действия

##### **1.4.2 Краткое содержание вопросов:**

###### **1. Биоэлектрические потенциалы**

Электрические потенциалы, возникающие в живых системах, принято называть биоэлектрическими. Они являются универсальными и точными показателями функционального состояния любых клеток животных, растений и простейших. Величины электрических потенциалов незначительны, они измеряются обычно десятками милливольт (мВ), и только в специальных электрических органах рыб максимальное напряжение достигает сотен вольт.

Все современные теории биопотенциалов являются ионными теориями, объясняющими возникновение потенциала неравномерным распределением ионов (носителей электрических зарядов) между клеткой и средой, а также разной способностью их проникать в клетки. Неравномерное распределение ионов в пространстве может быть связано с разными причинами — либо с тем, что катионы и анионы обладают неодинаковой скоростью диффузии (диффузионная разность потенциалов — РП), либо со способностью ионов проникать через мембрану (мембранная РП) или сорбироваться различными фазами (фазовая РП). Разные теории биопотенциалов связывали неравномерное распределение ионов обычно с одной из вышеуказанных причин. В такой сложнейшей системе, как клетка, вероятнее всего участвуют многие причины неравномерного распределения электрического заряда в пространстве — и свойства поверхностной мембраны, и свойства внутриклеточных структур, и процессы диффузии.

Для понимания биоэлектрических явлений очень важны исследования электрических свойств клеток. Электропроводность живых клеток очень мала, она во много раз ниже электропроводности окружающей среды. Удельное сопротивление крупных растительных клеток (валонии, нитчатки, ламинарии), нервных и мышечных волокон, суспензии эритроцитов, дрожжей колеблется в пределах от нескольких сотен до нескольких тысяч ом на  $1\text{ см}^2$  поверхности. Исследования с помощью микроэлектродной техники показали, что сопротивление цитоплазмы относительно невелико ( $100\text{ Ом}\cdot\text{см}$ ) и сопоставимо с сопротивлением окружающей клетку солевого раствора. Поверхностные мембраны обладают высоким электрическим сопротивлением, как правило, они составляют  $1000\text{ Ом}\cdot\text{см}^2$ . При возбуждении и повреждении клеток электропроводность их значительно повышается.

Исследования электропроводности клеток с помощью переменного тока различной частоты показали, что при частотах от 0 до  $2\cdot 10^4$  Гц сопротивление клетки максимально высокое (низкочастотное сопротивление) и почти не зависит от частоты. При частотах более высоких оно резко падает и доходит до постоянного уровня при частотах  $10^6$ — $10^8$  Гц. В этой области частот сопротивление клетки предельно низкое и также почти не зависит от частоты переменного тока (высокочастотное сопротивление). Подобными свойствами обладает конденсатор. Таким образом, клетки обладают не только омическим сопротивлением, не зависящим от частоты переменного тока, но и емкостным (или реактивным), которое зависит от частоты. Суммарная величина сопротивления —

импеданс — складывается из омического и емкостного сопротивлений. Зависимость импеданса от частоты в области 0,1—20 мГц объясняют поляризацией мембраны, т. е. она подобно конденсатору обладает емкостью. Емкость в разных клетках варьирует от долей микрофарады до нескольких десятков микрофарад на 1 см<sup>2</sup>.

## 2. Потенциал покоя

Любая клетка является источником электрического тока, поскольку она всегда поляризована: между внешней поверхностью клетки и ее внутренним содержимым имеется разность потенциалов со знаком минус внутри клетки. Эту разность потенциалов называют потенциалом покоя (ПП) или мембранным потенциалом (МП).

Мембранный потенциал связан с неравномерным распределением ионов между клеткой и окружающей ее средой. В клетке содержится больше ионов калия, а в среде — ионов натрия и хлора, но проницаемость их разная — у калия и хлора больше, чем у натрия. Так, в мышечном волокне в состоянии покоя отношение коэффициентов проницаемости (P) ионов будет следующее:

$$P_{K^+} : P_{Na^+} : P_{Cl^-} = 1 : 0,04 : 0,45.$$

Вследствие этого в покое имеется тенденция к утечке из клетки ионов калия и более быстрому проникновению внутрь ионов хлора, чем натрия. Поэтому мембрану часто рассматривают как калиевый, реже как хлорный электрод.

Величину МП можно вычислить по формуле Гольдмана

Местными градуальными потенциалами, подобно генераторным, являются и синаптические потенциалы (СП). Они возникают в результате действия на постсинаптическую мембрану медиатора, выделяющегося в межсинаптическую щель из нервного окончания в результате возбуждения нервного волокна.

Различают возбуждающие синаптические потенциалы (ВПСП) и тормозные синаптические потенциалы (ТПСП), ВПСП соответствуют временной деполяризации постсинаптической мембраны, которая ведет к активации клетки и возникновению токов действия; ТПСП соответствуют временной гиперполяризации клетки, ведущей к исчезновению токов действия.

Большинство клеток имеет эквипотенциальную поверхность, и при приложении внеклеточных электродов к разным точкам поверхности никакой разности потенциалов не обнаруживается (или очень незначительная). Но клетки, построенные асимметрично и обладающие функциональным градиентом, имеют так называемые потенциалы градиента основного обмена. Таковыми клетками являются, например, железистые клетки. Разность потенциалов между их апикальной и базальной сторонами может достигать 70—80 мВ, при этом участок более интенсивного обмена становится электроотрицательным по отношению к участку с менее интенсивным обменом.

## 3. Потенциал действия

В проводящих тканях (нервные, мышечные волокна, некоторые растительные клетки) помимо ПП существует так называемый потенциал действия (ПД), который сопровождает бегущую волну возбуждения и является ее рабочим механизмом, обуславливающим ее движение по волокну, иногда на большие расстояния (до 1,5 м у взрослого человека). Величина ПД при распространении его по волокну остается постоянной. Существует четко выраженный порог силы раздражения для вызова ПД, причем величина последнего не зависит от силы раздражения (сверхпороговой). Это положение известно как закон «все или ничего». В экспериментальных условиях ПД чаще всего вызывают, раздражая волокно электрическим током. ПД возникает под катодом (выходящий электрический ток), когда деполяризация волокна достигнет критического уровня. При внутриклеточном отведении ПД имеет вид, изображенный на рисунке 31. При введении микроэлектрода в волокно сразу регистрируется МП (в данном случае

около 80 мВ,  $E_1$ ). При возникновении ПД происходит крутое падение МП до нуля, а затем он приобретает противоположный знак — плюс оказывается на внутренней стороне мембраны. Эта разность потенциалов, называемая «овершут», может достигать + 40 мВ ( $E_2$ ), так что величина ПД оказывается равной в приведенном на рисунке случае 120 мВ (80+40). Восходящая фаза ПД протекает очень быстро (около 0,5 мс), нисходящая фаза является гораздо более длительной и может включать в себя медленные, длящиеся десятками миллисекунд, следовые (негативные и позитивные), низковольтные потенциалы. Высоковольтную часть ПД принято называть спайком. Величину ПД можно вычислить также по формуле Гольдмана, но коэффициент проницаемости  $P_{Na^+}$  будет равен 20 (вместо 0,04). Это связано с тем, что в момент восходящей ветви тока действия в возбужденном участке волокна проницаемость для ионов натрия резко возрастает (в 500 раз), они поступают в волокно и перезаряжают мембрану.

## **1. 5 Лекция № 5 (2 часа).**

**Тема:** «Гематоэнцефалический барьер»

### **1.5.1 Вопросы лекции:**

1. Гемато-энцефалический барьер

---

2. Строение ГЭБ

3. Повреждения ГЭБ

### **1.5.2 Краткое содержание вопросов:**

1. Гемато-энцефалический барьер

---

**Гемато-энцефалический барьер (ГЭБ)** — физиологический барьер между кровеносной системой и центральной нервной системой. ГЭБ имеют все позвоночные.

Главная функция ГЭБ — поддержание гомеостаза мозга. Он защищает нервную ткань от циркулирующих в крови микроорганизмов, токсинов, клеточных и гуморальных факторов иммунной системы, которые воспринимают ткань мозга как чужеродную. ГЭБ выполняет функцию высокоселективного фильтра, через который из артериального русла в мозг поступают питательные, биоактивные вещества; в направлении венозного русла с глимфатическим потоком выводятся продукты жизнедеятельности нервной ткани.

Вместе с тем, наличие ГЭБ затрудняет лечение многих заболеваний центральной нервной системы, так как он не пропускает целый ряд лекарственных препаратов.

## **2. Строение ГЭБ**

---

Основным элементом структуры ГЭБ являются эндотелиальные клетки. Особенностью церебральных сосудов является наличие плотных контактов между эндотелиальными клетками. В структуру ГЭБ также входят перicyты и астроcyты. Межклеточные промежутки между эндотелиальными клетками, перicyтами и астроcyтами нейроглии ГЭБ меньше, чем промежутки между клетками в других тканях организма. Эти три вида клеток являются структурной основой ГЭБ не только у человека, но и у большинства позвоночных.

## **Эндотелий**

Капиллярные сосуды выстланы эндотелиальными клетками. Эндотелий сосудов большинства тканей содержит открытые промежутки (фенестрации) диаметром около 50 нм и межклеточные щели от 100 до 1000 нм. Через эти промежутки вода и растворённые в ней вещества циркулируют между кровью и межклеточным пространством. Отличительной особенностью сосудов центральной нервной системы является отсутствие как фенестраций, так и межклеточных щелей между эндотелиальными клетками. Таким образом эндотелиальная выстилка капилляров мозга является сплошной.

Другим отличием эндотелия церебральных капилляров от периферических является низкое содержание в них пиноцитозных пузырьков (везикул).

Количество митохондрий в эндотелиальных клетках сосудов мозга в 5-10 раз выше, чем в эндотелии периферических сосудов. Столь высокое содержание митохондрий связано со значительными энергетическими потребностями эндотелиальных клеток ГЭБ, осуществляющих активный транспорт и обмен веществ. (Митохондрии — это органеллы, в которых происходит синтез молекул АТФ, являющихся основным источником энергии для клеток.)

ГЭБ является также метаболическим или ферментативным (энзиматическим) барьером. На поверхности клеточных мембран эндотелиальных клеток ГЭБ находится целый ряд ферментов, причём в значительно большем количестве, чем на мембранах других клеток паренхимы. Это такие ферменты, как гамма-глутамилтрансфераза и фосфатаза (в частности глюкоза-6-фосфатаза), катехол-О-метилтрансфераза, моноаминоксидаза и цитохром P450. Благодаря высокой концентрации ферментов в эндотелиальных клетках ГЭБ, многие вещества метаболизируются при транспортировании через цитоплазму этих клеток. Высота (размер в направлении, перпендикулярном стенке сосуда) эндотелиальной клетки ГЭБ составляет от 3 до 5 мкм. (Для сравнения, высота эритроцитов, эпителиальных клеток кишечника, 17-30 мкм)

Соотношение холестерина к фосфолипидам в эндотелиальных клетках ГЭБ такое же, как и в эндотелиальных клетках периферических сосудов, и составляет  $\approx 0,7$ . Пассивный транспорт через клеточные мембраны ГЭБ происходит так же, как и пассивная диффузия в других эндотелиальных клетках. В мембранах эндотелиальных клеток содержится большое количество каналов, проницаемых для молекул воды. Они позволяют диффузию воды между мозгом и кровеносной системой.

Благодаря отсутствию фенестраций и небольшому числу пиноцитарных везикул, эндотелиальная выстилка капилляров мозга становится механическим барьером для крупных молекул и инородных веществ. Кроме этого, ГЭБ обладает значительным электрическим сопротивлением — около 1500—2000 Ом. (Для сравнения, электрическое сопротивление для стенок капилляров мышечной ткани составляет лишь 30 Ом.)

## **Плотные контакты**

Эндотелиальные клетки сосудов мозга плотно прилегают друг к другу. Между их стенками образуются так называемые плотные контакты, роль которых в обеспечении ГЭБ состоит в том, что они предотвращают проникновение в ткань мозга различных нежелательных веществ из кровеносного русла. Плотные контакты между эндотелиальными клетками блокируют межклеточный (парацеллюлярный) пассивный транспорт. При этом блокируется парацеллюлярный транспорт веществ как из кровеносного русла в ткань мозга, так и в обратном направлении — из мозга в кровь.

Большое количество трансмембранных белков, таких как окклюдин, разнообразные клаудины и замыкательные адгезионные молекулы связывают латеральные

отделы клеточных стенок между собой, участвуют в формировании плотных контактов и делают возможным межклеточный транспорт и обмен веществ<sup>[49]</sup>. Основными белками, обеспечивающими адгезию эндотелиальных клеток и формирование плотных контактов, являются клаудин-5 и клаудин-24. Нокаут гена CLDN5, ответственного за синтез белка клаудина-5, приводило у экспериментальных мышей к тому, что их ГЭБ становился проницаемым для молекул молярной массой до 800 г/моль. Такие генетически изменённые животные умирали через несколько часов после рождения.

Эндотелиальные клетки полностью покрывают подлежащий белковый слой, называемый базальной мембраной. Толщина базальной мембраны колеблется от 40 до 50 нм. Она различима только под электронным микроскопом. Состоит в основном из коллагена IV типа, гепаринсульфат-протеогликанов, ламининов, фибронектина и других белков внеклеточного матрикса. Со стороны мозга базальная мембрана ограничена плазматической мембраной пластинчатых окончаний отростков астроцитов.

Перициты, ранее называвшиеся по имени первооткрывателя Шарля Мари Бенджамина Руже (1824—1904) клетками Руже, являются составной частью ГЭБ.

Они обладают несколькими важными для его функционирования свойствами: способностью к сокращению, регулированию функций эндотелия и макрофагальной активностью.

Около 20 % поверхности эндотелиальных клеток церебральных капилляров покрыты относительно маленькими, овальными перицитами. Каждая 2—4-я эндотелиальная клетка имеет контакт с клеткой-перицитом. В основном перициты располагаются в местах контакта эндотелиальных клеток.

Перициты имеются практически во всех артериолах, венолах и капиллярах организма. Уровень покрытия ими эндотелиального слоя капилляра коррелирует с проницаемостью сосудистой стенки. В органах и тканях с проницаемой сосудистой стенкой они могут мигрировать из кровеносного русла в межклеточное пространство. Так, например, в капиллярах скелетной мускулатуры соотношение перициты: эндотелиоциты составляет 1:100.

Перициты, как и эндотелиоциты, располагаются на базальной мембране.

Также перициты синтезируют целый ряд вазоактивных веществ и играют важную роль в ангиогенезе.

### **Клеточные контакты перицитов — эндотелиоцит**

Перициты крепко связаны с эндотелиоцитами. Эта связь осуществляется благодаря трём типам контактов: щелевым соединениям, фокальным адгезиям и инвагинациям мембраны одной клетки в полость другой. Щелевые соединения непосредственно связывают цитоплазму двух клеток, являясь проницаемыми для ионов и небольших молекул. С помощью фокальных адгезий осуществляется прочная механическая связь двух типов клеток. Инвагинации участков цитоплазмы одной клетки в другую обеспечивают как механическое связывание, так и межклеточный обмен веществ.

Благодаря тесным контактам клетки опосредованно влияют на митотическую активность, экспрессию генов и, соответственно, фенотип друг друга.

### **Сократительная функция**

Перициты содержат большое количество способного к сокращению белка актина. Благодаря этой своей структурной особенности они в состоянии изменять просвет капилляров и таким образом регулировать местное кровяное давление.

## **Макрофагальная активность**

Данное свойство характерно только для церебральных перицитов. В капиллярной сети мозга они выполняют функцию макрофагов. Соответственно в цитоплазме церебральных перицитов располагается большое количество лизосом. В культуре тканей доказана способность перицитов к фагоцитозу и презентации антигенов.

Макрофагальные свойства перицитов образуют «вторую линию защиты мозга» от нейротоксических молекул, которые преодолели барьер эндотелиальных клеток. Таким образом они являются важной составной частью иммунной системы мозга. Сбой макрофагальной активности перицитов может стать одним из факторов развития целого ряда аутоиммунных заболеваний. Имеются данные об опосредованной роли перицитов в развитии болезни Альцгеймера.

## **3. Повреждения ГЭБ**

Повреждения ГЭБ у человека наблюдаются при целом ряде заболеваний. Их коррекция рассматривается как терапевтическая стратегия.

### **Синдром дефицита белка GLUT-1**

Синдром дефицита белка GLUT-1 (G93.4 по международной классификации болезней ВОЗ) — редкое аутосомно-доминантное наследственное заболевание при котором отмечается нарушение синтеза белка GLUT-1, который ответственен за проницаемость ГЭБ для глюкозы и аскорбиновой кислоты. Заболевание проявляется в раннем детском возрасте. Недостаток поступления в ткань мозга глюкозы вызывает развитие микроцефалии, психомоторных нарушений, атаксии и целого ряда других неврологических расстройств.

### **Наследственная мальабсорбция фолиевой кислоты**

Наследственная мальабсорбция фолиевой кислоты (D52.8 по международной классификации болезней ВОЗ) — редкое аутосомно-рецессивное наследственное заболевание при котором отмечается недостаток синтеза белка обеспечивающего проницаемость ГЭБ для фолиевой кислоты.

### **Болезнь Альцгеймера**

Нарушение функционирования ГЭБ при болезни Альцгеймера приводит к увеличению количества амилоида  $\beta$  в мозге. Снижение количества спинномозговой жидкости приводит к повышению концентрации нейротоксичных веществ. Нейроваскулярная гипотеза патогенеза болезни Альцгеймера предполагает, что накопление амилоида  $\beta$  также связано с нарушением функционирования транспортеров, опосредующих перенос вещества из мозга в кровь, например, Р-гликопротеина и LRP1. При воспалительных процессах повышается захват амилоида  $\beta$  перицитами, что приводит к их гибели. Кроме того, при болезни Альцгеймера снижена эффективность транспорта инсулина через ГЭБ, играющего нейропротекторную роль

### **Сахарный диабет**

Сахарный диабет (E10-E14 по международной классификации болезней ВОЗ) является заболеванием, при котором возникает целый ряд функциональных и структурных изменений различных органов и тканей организма. Также отмечаются значительные изменения ГЭБ, которые проявляются в физикохимической перестройке мембраны эндотелиальных клеток и плотных контактов между ними

## **Рассеянный склероз**

Рассеянный склероз (G35 по международной классификации болезней ВОЗ— хроническое прогрессирующее заболевание нервной системы при котором отмечается преимущественное поражение белка миелина ткани мозга.

Сосуды мозга здоровых людей непроницаемы для клеток крови, в том числе иммунных клеток. У больных рассеянным склерозом происходит миграция активированных Т-лимфоцитов в паренхиму мозга через ГЭБ, повышается уровень провоспалительных цитокинов —  $\gamma$ -интерферона, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 и других; активируются В-лимфоциты. В результате начинают синтезироваться антитела к белку миелину, что приводит к формированию очагов воспалительной демиелинизации.

## **Ишемический инсульт**

Ишемический инсульт (I63 по международной классификации болезней ВОЗ<sup>1</sup>) — острое нарушение мозгового кровообращения, обусловленное недостаточностью поступления крови к участкам центральной нервной системы.

Ишемический инсульт приводит к высвобождению оксидантов, протеолитических ферментов и цитокинов в ткани мозга, что в итоге вызывает развитие цитотоксического отёка и изменение проницаемости ГЭБ. В результате запускается процесс миграции лейкоцитов через эндотелий в ткань мозга, которые вызывают в том числе поражение здоровых клеток нервной ткани.

## **Бактериальная инфекция центральной нервной системы**

Лишь немногие попадающие в кровь патогенные микроорганизмы способны проникать через ГЭБ. К ним относятся менингококки, некоторые виды стрептококков — в том числе пневмококки, гемофильная палочка, листерии, кишечные палочки и ряд других. Все они могут вызывать воспалительные изменения как мозга — энцефалит так и его оболочек — менингит. Точный механизм проникновения этих патогенов через ГЭБ до конца не изучен, однако показано, что воспалительные процессы оказывают влияние на этот механизм. Так, воспаление, вызванное листериями, может привести к тому, что ГЭБ становится проницаемым для данных бактерий. Прикрепившись к эндотелиоцитам капилляров мозга, листерии выделяют целый ряд липополисахаридов и токсинов, которые в свою очередь воздействуют на ГЭБ и делают его проницаемым для лейкоцитов. Проникшие в ткань мозга лейкоциты запускают воспалительный процесс в результате которого ГЭБ пропускает и бактерии.

Пневмококки секретируют фермент группы гемолизинов, который образует поры в эндотелии, через которые и проникает бактериальный агент.

## **Вирусы и ГЭБ**

Кроме бактерий через ГЭБ в ткань мозга могут проникать некоторые вирусы. К ним относятся цитомегаловирус, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и Т-лимфотропный вирус человека (HTLV-1).

## **Опухоли головного мозга**

Внутричерепные опухоли головного мозга (глиобластомы, метастазы в мозг и др.) выделяют целый ряд веществ<sup>[183]</sup>, которые дезинтегрируют работу ГЭБ и нарушают его избирательную проницаемость. Такие повреждения гемато-энцефалического барьера вокруг опухоли может вызвать вазогенный отёк мозга.

ГЭБ избирательно проницаем для различных лекарственных веществ, что учитывается в медицине при назначении препаратов для лечения заболеваний центральной нервной системы (ЦНС). Такие препараты должны проникать в ткань мозга к клеткам-мишеням. Также имеет значение то, что при инфекционно-



воспалительных заболеваниях ЦНС проницаемость ГЭБ повышается, и через него могут проходить те вещества, для которых он в нормальном состоянии служил непреодолимой преградой. Особенно актуально это для антибактериальных препаратов.

## 1. 6 Лекция № 6 (2 часа).

**Тема:** «Мембранные потенциалы и их регистрация»

### 1.6.1 Вопросы лекции:

1. Потенциал покоя
2. Потенциал действия

### 1.6.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Потенциал покоя

Любая клетка является источником электрического тока, поскольку она всегда поляризована: между внешней поверхностью клетки и ее внутренним содержимым имеется разность потенциалов со знаком минус внутри клетки. Эту разность потенциалов называют потенциалом покоя (ПП) или мембранным потенциалом (МП).

Мембранный потенциал связан с неравномерным распределением ионов между клеткой и окружающей ее средой. В клетке содержится больше ионов калия, а в среде — ионов натрия и хлора, но проницаемость их разная — у калия и хлора больше, чем у натрия. Так, в мышечном волокне в состоянии покоя отношение коэффициентов проницаемости (P) ионов будет следующее:

$$P_{K^+} : P_{Na^+} : P_{Cl^-} = 1 : 0,04 : 0,45.$$

Вследствие этого в покое имеется тенденция к утечке из клетки ионов калия и более быстрому проникновению внутрь ионов хлора, чем натрия. Поэтому мембрану часто рассматривают как калиевый, реже как хлорный электрод.

Величину МП можно вычислить по формуле Гольдмана:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K^+} [K^+]_{к\lambda} + P_{Na^+} [Na^+]_{к\lambda} + P_{Cl^-} [Cl^-]_{ср}}{P_{K^+} [K^+]_{ср} + P_{Na^+} [Na^+]_{ср} + P_{Cl^-} [Cl^-]_{к\lambda}}$$

где E — МП, R — газовая постоянная, T — температура по абсолютной шкале, F — число Фарадея, [ ]<sub>к\lambda</sub> — концентрация иона в клетке, [ ]<sub>ср</sub> — концентрация иона в среде, P — коэффициент проницаемости. Поскольку МП возникает в основном вследствие неравномерного распределения хорошо проникающего иона калия, то часто величину МП рассчитывают по более простой формуле Нернста:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{к\lambda}}{[K^+]_{ср}}$$

При комнатной температуре и в шкале десятичных логарифмов формула упрощается до

$$E = 58 \lg \frac{[K^+]_{к\lambda}}{[K^+]_{ср}} (мВ)$$

Измеряют МП с помощью микроэлектрода, который вводят внутрь клетки (рис. 29, I). Микроэлектрод представляет собой очень тонкий стеклянный капилляр, заполненный солевым раствором. Размеры его кончика не превышают микрона, и поэтому введение его внутрь клетки не вызывает заметного повреждения. Раньше, когда не была еще разработана микроэлектродная техника, ПП отводили, нанося разрез или убивая часть волокна нагреванием, аммиаком, кислотой (рис. 29, II). Получаемая при этом разность

потенциалов меньше, чем при микроэлектродном отведении вследствие утечки тока по поверхностной пленке жидкости, покрывающей волокно. Внутриклеточное отведение МП является более совершенным способом, поэтому все приводимые ниже значения МП измерены с помощью микроэлектрода.

При изменении функционального состояния клетки изменяется и величина МП, поэтому МП широко используется как показатель состояния клетки. Мембранный потенциал может увеличиваться (гиперполяризация), уменьшаться (деполяризация), и иногда даже наблюдается извращение знака заряда.

Снижение МП различных рецепторных клеток в результате их раздражения принято называть генераторными потенциалами. Измененный уровень МП поддерживается в течение всего времени раздражения, а величина его зависит градуально от силы воздействия. При достаточном раздражении, когда деполяризация достигает порогового (или критического) уровня, возникает потенциал действия, распространяющийся по аксону рецепторной клетки. При дальнейшем усилении раздражения увеличивается частота потенциалов действия.

Местными градуальными потенциалами, подобно генераторным, являются и синаптические потенциалы (СП). Они возникают в результате действия на постсинаптическую мембрану медиатора, выделяющегося в межсинаптическую щель из нервного окончания в результате возбуждения нервного волокна.

Различают возбуждающие синаптические потенциалы (ВПСП) и тормозные синаптические потенциалы (ТПСП), ВПСП соответствуют временной деполяризации постсинаптической мембраны, которая ведет к активации клетки и возникновению токов действия; ТПСП соответствуют временной гиперполяризации клетки, ведущей к исчезновению токов действия.

Большинство клеток имеет эквипотенциальную поверхность, и при приложении внеклеточных электродов к разным точкам поверхности никакой разности потенциалов не обнаруживается (или очень незначительная). Но клетки, построенные асимметрично и обладающие функциональным градиентом, имеют так называемые потенциалы градиента основного обмена. Таковыми клетками являются, например, железистые клетки. Разность потенциалов между их апикальной и базальной сторонами может достигать 70—80 мВ, при этом участок более интенсивного обмена становится электроотрицательным по отношению к участку с менее интенсивным обменом.

### 3. Потенциал действия

В проводящих тканях (нервные, мышечные волокна, некоторые растительные клетки) помимо МП существует так называемый потенциал действия (ПД), который сопровождает бегущую волну возбуждения и является ее рабочим механизмом, обуславливающим ее движение по волокну, иногда на большие расстояния (до 1,5 м у взрослого человека). Величина ПД при распространении его по волокну остается постоянной. Существует четко выраженный порог силы раздражения для вызова ПД, причем величина последнего не зависит от силы раздражения (сверхпороговой). Это положение известно как закон «все или ничего». В экспериментальных условиях ПД чаще всего вызывают, раздражая волокно электрическим током. ПД возникает под катодом (выходящий электрический ток), когда деполяризация волокна достигнет критического уровня. При внутриклеточном отведении ПД имеет вид, изображенный на рисунке 31. При введении микроэлектрода в волокно сразу регистрируется МП (в данном случае около 80 мВ,  $E_1$ ). При возникновении ПД происходит крутое падение МП до нуля, а затем он приобретает противоположный знак — плюс оказывается на внутренней стороне мембраны. Эта разность потенциалов, называемая «овершут», может достигать + 40 мВ ( $E_2$ ), так что величина ПД оказывается равной в приведенном на рисунке случае 120 мВ (80+40). Восходящая фаза ПД протекает очень быстро (около 0,5 мс), нисходящая фаза является гораздо более длительной и может включать в себя медленные, длящиеся

десятками миллисекунд, следовые (негативные и позитивные), низковольтные потенциалы. Высоковольтную часть ПД принято называть спайком. Величину ПД можно вычислить также по формуле Гольдмана, но коэффициент проницаемости  $P_{Na}^+$  будет равен 20 (вместо 0,04). Это связано с тем, что в момент восходящей ветви тока действия в возбужденном участке волокна проницаемость для ионов натрия резко возрастает (в 500 раз), они поступают в волокно и перезаряжают мембрану.

Протекание спайка сопровождается увеличением электропроводности мембраны, ее сопротивление падает с  $1000 \text{ Ом/см}^2$  в состоянии покоя до  $25 \text{ Ом/см}^2$  в активном состоянии. После кратковременной (1—2 мс) повышенной проницаемости мембраны для ионов натрия наступает повышенная проницаемость ее для ионов калия, и они по градиенту концентрации выходят из клетки наружу и создают ПД на мембране, равную равновесному калиевому потенциалу с отрицательным знаком на внутренней стороне мембраны, и тем самым снижают спайк (рис. 32). Таким образом при каждом импульсе в волокне увеличивается содержание ионов натрия и снижается количество ионов калия. Эта разница ликвидируется в последующем периоде восстановления. Изложенная натриевая теория потенциала действия была разработана английским ученым Алланом Хочкиным с сотрудниками. Потенциалы действия некоторых гладкомышечных клеток обусловлены ионами кальция, а не натрия.

В настоящее время накапливаются экспериментальные данные, указывающие на то, что при проведении тока действия происходят структурные изменения поверхностной мембраны. Они зависят от напряжения на мембране и сопровождаются перераспределением зарядов на мембране и появлением так называемого воротного тока или тока смещения, который и обуславливает увеличение натриевой проницаемости мембраны при ее деполяризации. Величина воротного тока гораздо меньше, чем ионные токи.

В таблице 13 представлены величины ПД для ряда объектов. Следует подчеркнуть, что они, как правило, превышают величину МП (сравните с таблицей 12).

Длительность ПД для разных объектов варьирует от 0,6 мс до 20 с (табл. 14). Длина электрической волны довольно велика, на мышечном волокне лягушки и. нервном волокне краба она составляет 1—3 мм.

Скорость проведения ПД варьирует в зависимости от вида волокна и от его диаметра; волокна с большим диаметром проводят быстрее, чем тонкие; мякотные волокна (покрытые миелиновой оболочкой) проводят быстрее безмякотных (табл. 15).

В основе распространения ПД по волокну лежит местный (локальный) ток, который течет между отрицательно заряженным возбужденным участком и соседним, покоящимся (рис. 33, I). В возбужденном участке токи входят в волокно (подобно аноду) и успокаивают его (повышают МП), а в покоящемся участке токи выходят из него (подобно катоду), т. е. его деполяризуют и возбуждают. Этот местный ток является достаточным, чтобы снизить МП до критического уровня и этим вызвать ПД в соседнем участке, и так далее от точки к точке по всему нервному волокну, так что продвижение ПД происходит непрерывно.

В миелинизированных нервных волокнах продвижение ПД по волокну происходит скачкообразно от одного перехвата Ранвье к другому (рис. 33, II). Это связано с тем, что сопротивление в перехвате Ранвье гораздо меньше, чем сопротивление миелиновой оболочки. Такой скачкообразный тип проведения импульса называется сальтаторным, он выгодно отличается от сплошного по скорости и по энергетическим затратам.

Таким образом, бегущий потенциал действия служит для быстрой передачи сигналов на относительно большие расстояния. Распространение его по волокну с постоянной величиной, без декремента, обеспечивает функцию проведения. Нервные волокна могут пропускать огромное количество импульсов (более 100 000) без видимого утомления с максимальной частотой 500—1000 имп/с. В нормальных условиях нервные импульсы передаются, как правило, с частотой 5—100 имп/с.

Важную функциональную роль играют также биопотенциалы, возникающие в специальных электрических органах, имеющихся у некоторых групп пресноводных и морских рыб; они являются органами защиты и нападения. Рыбы, живущие в мутной воде, с помощью электрических органов ориентируются в среде и избегают препятствия. Это им удается благодаря электроэхолокации. Электрические органы генерируют слабые токи; электрические поля, возникающие вокруг, искажаются любыми предметами, встречающимися на пути рыбы; последние же способны воспринимать свои слабые электрические поля и чувствовать их искажения. Некоторые морские угри через импульсную электрическую сигнализацию весьма избирательно связываются друг с другом.

Электрический орган состоит из столбиков пластинок-дисков. У ската торпедо каждый орган содержит примерно 45 столбиков по 400 пластинок; у электрического угря — около 70 столбиков по 6000 пластинок. Электропластинки соединены последовательно, а столбики между собой параллельно. Электропластинка представляет собой многоядерную распластанную клетку. Одна ее сторона гладкая, иннервированная; другая без иннервации, часто бывает складчатой. Величина МП пластинки угря равняется 90 мВ. При разрядке иннервируемая поверхность меняет полярность на обратную в 60 мВ, а потенциал складчатой поверхности не изменяется. Таким образом, две последовательно соединенные поверхности дают общий клеточный потенциал в 150 мВ (рис. 34). Напряжение, развиваемое электрическими органами, объясняется суммацией разностей потенциалов, возникающих в отдельных последовательно соединенных клетках в результате их асимметричной деполяризации. Электрические разряды отдельных пластинок строго синхронизированы, что способствует получению максимальной выходной мощности. Развиваемое электрическим органом напряжение достигает иногда 600—800 В.

## **1. 7 Лекция № 7 (2 часа).**

**Тема:** «Полимеры и строение клетки»

### **1.7.1 Вопросы лекции:**

1. Синтез веществ в клетках и секреция
2. Фотосинтез
3. Секреция

### **1.7.2 Краткое содержание вопросов:**

1. Синтез веществ в клетках и секреция

Все клетки, независимо от специализации, способны синтезировать различные химические вещества — белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, жиры, неорганические соединения. Синтез веществ в клетках совершается с участием специальных белков-ферментов — мощных ускорителей химических реакций. Они располагаются в клетке строго упорядоченно, образуя полиферментную систему, благодаря которой все виды химических превращений в клетке осуществляются очень эффективно.

Синтез веществ необходим любой клетке для постоянного обновления своих структурных элементов, а также роста клеток и размножения. Но в некоторых клетках вещества вырабатываются на «экспорт», т. е. выводятся за пределы клетки и являются необходимыми для нормального функционирования организма. Так, растительные клетки

синтезируют вторичные жесткие целлюлозно-пектиновые оболочки, образующие древесину. Одни простейшие секретируют слизь для образования студенистой оболочки, другие строят разнообразные раковины. Особые клетки известковых губок — склеробласты образуют скелетные структуры, так называемые спикулы, состоящие из солей кремния или кальция; другие специальные клетки губок вырабатывают слизь и спонгин (коллагеноподобное вещество).

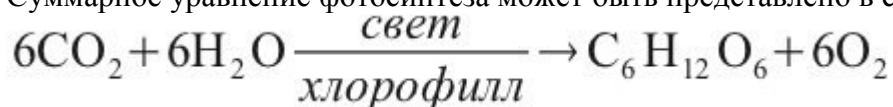
Клетки соединительной ткани позвоночных образуют основное или межклеточное вещество, состоящее из коллагеновых и эластических волокон. В период костеобразования специализированные клетки — остеобласты синтезируют коллаген и мукополисахариды (основные части органического вещества кости), а клетки адамантобласты — эмаль. Плазматические клетки и лимфоциты вырабатывают антитела, нейроны синтезируют медиаторы, необходимые для функционирования синапсов. Наибольшего развития функция синтеза веществ достигает в высококвалифицированных и очень разнообразных железистых, или секреторных, клетках — они способны вырабатывать вещества в больших количествах. Так, за 1 ч у взрослого человека может выделяться до 100 мл (и даже более) желудочного сока. Еще более высокой синтетической активностью обладают секреторные клетки молочной железы в период лактации и особенно после выведения молока. Они синтезируют белок казеин, лактозу, липиды и витамины — основные органические компоненты молока.

Для синтеза веществ клетки животных нуждаются в сложных питательных веществах (углеводы, жиры, белки, витамины), обеспечивающих их энергией и сырьем. Клетки зеленых растений способны синтезировать сложные соединения из простых неорганических веществ — углекислоты, воды и минеральных солей — путем фотосинтеза.

## 2. Фотосинтез

Растительные клетки синтезируют органические соединения, используя в качестве источника энергии солнечный свет.

Суммарное уравнение фотосинтеза может быть представлено в следующем виде:



Чтобы ввести одну молекулу  $\text{CO}_2$  в образующуюся молекулу углевода, необходимо, затратить около 8 квантов света. В качестве источника атомов водорода используется вода, из нее же образуются и все атомы кислорода.

Фотосинтез в целом распадается на две стадии. Расщепление молекул воды за счет поглощенной световой энергии происходит в первую световую стадию, при этом выделяется кислород и образуются АТФ и НАДФ·Н, необходимые для протекания темновых реакций. Процесс образования АТФ при фотосинтезе (фотосинтетическое фосфорилирование) аналогичен процессу окислительного фосфорилирования в митохондриях.

Во второй, темновой стадии фотосинтеза происходит восстановление углекислоты до углевода. Скорость фотосинтеза зависит от температуры, интенсивности освещения, концентрации углекислоты, воды и кислорода.

Первичным акцептором световой энергии в подавляющем большинстве случаев являются молекулы хлорофилла. В некоторых клетках существуют вспомогательные пигменты, например каротиноиды у растений, фикоцианин и фикоэритрин у красных и сине-зеленых водорослей; они поглощают энергию дзета и передают ее молекулам хлорофилла. Существует несколько форм или типов хлорофилла, из них наиболее важными являются хлорофиллы *a* и *b*. Хлорофилл *b* поглощает кванты света в красной области при 660 нм, а хлорофилл *a* — при 700 нм. Уникальная роль хлорофилла в

процессе фотосинтеза именно и связана с тем, что он очень эффективно поглощает солнечную энергию и передает ее другим молекулам.

### 3. Секретция

Большинство секреторных клеток объединены в многоклеточные железы, но некоторые функционируют поодиночке. Среди желез различают экзокринные и эндокринные. Первые выводят свой секрет во внешнюю среду или в полости тела (пищеварительный тракт, дыхательные пути); вторые — в циркуляторную систему организма (кровеносную, лимфатическую, целомическую жидкость).

Типичными экзокринными железами являются слюнные железы, ацинарные клетки поджелудочной железы, многочисленные мелкие железы пищеварительной, дыхательной и половой систем, железы молочные, вырабатывающие яды, а также разнообразные железы насекомых, выделяющие шелк, воск, лаки и различные пахучие и едкие вещества. Пахучие вещества насекомых, называемые феромонами, принадлежат к разным группам химических веществ — аминокислотам, спиртам, органическим кислотам, эфирам. Они выделяются прямо в окружающую среду и действуют в ничтожных количествах. Феромоны обнаружены и у некоторых рыб. Морские птицы (чайки, бакланы, пеликаны) имеют солевые назальные железы; клетки их, обладающие сильно складчатой мембраной, интенсивно секретируют NaCl.

Пищеварительные железы вырабатывают пищеварительные соки, соляную кислоту, муцин; пищеварительные соки содержат различные ферменты, необходимые для гидролитического расщепления белков, жиров и углеводов. Интересно, что набор пищеварительных ферментов зависит от характера пищи. Так, всеядные животные обладают широким набором пищеварительных ферментов, у травоядных наиболее активными являются карбогидразы (ферменты, переваривающие углеводы), а у плотоядных — протеазы (ферменты, переваривающие белки). У животных, узкоспециализированных в отношении питания, набор пищеварительных ферментов очень ограничен и приспособлен к определенному роду ниши. Ряд паразитических организмов утратили большинство важнейших пищеварительных ферментов и живут за счет продуктов пищеварительной деятельности хозяина.

Типичными эндокринными железами являются щитовидная, паращитовидная, надпочечники, гипофиз, островки Лангерганса в поджелудочной железе, половые железы. Эндокринные железы вырабатывают гормоны (тироксин, инсулин, адреналин, норадреналин, вазопрессин, окситоцин, стероиды и др.), которые необходимы для нормального развития и функционирования организма. Они регулируют процессы развития и дифференцировки, размножения, обмен веществ, функционирование желудочно-кишечного тракта, сезонные изменения окраски, процессы линьки, функционирование пигментных клеток и др.

К клеткам внутренней секреции относят также нейросекреторные клетки гипоталамуса позвоночных и клетки надпочечного ганглия и нервной цепочки ракообразных и насекомых. Нейрогормоны, вырабатываемые этими клетками, поступают в кровь или спинномозговую жидкость и осуществляют регуляцию вегетативных функций организма либо посредством прямого влияния на органы (почки, кровеносные сосуды, молочные железы и др.), либо через другие органы эндокринной системы.

Несмотря на большое разнообразие железистых клеток и вырабатываемых ими секретов, самые общие черты процессов секреции являются едиными. Секретция — это очень сложный процесс, в котором принимают участие и ядро и основные органоиды клетки — эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи, митохондрии, рибосомы, возможно, и лизосомы. Поэтому для всех, железистых клеток характерно сильное развитие комплекса Гольджи и эндоплазматической сети и большое число митохондрий.

Ядра секреторных клеток богаты хроматином и имеют хорошо развитый ядрышковый аппарат. В процессе интенсивной секреции размеры и форма ядра и ядрышек изменяются. Ядро играет важную роль в секретообразовании, так как оно является центром генетической информации клетки, закодированной в молекулах дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), и в ядре образуются рибонуклеиновые кислоты (РНК), передающие информацию для синтеза секрета в цитоплазме. Помимо этого в ядре железистых клеток, вырабатывающих белковые секреты, образуется первичный секрет (ядерная секреция), который затем поступает в цитоплазму, где и превращается в уже окончательный секрет. В цитоплазме синтез первичного секрета происходит в канальцах эндоплазматической сети с участием рибосом и РНК. В комплексе Гольджи первичный продукт накапливается, концентрируется и образуются первые, видимые в световом микроскопе, маленькие капельки секрета, покрытые мембранами. Многочисленные митохондрии секреторных клеток обеспечивают процесс синтеза необходимой энергией. При активации секреторных процессов митохондрии набухают, увеличивается в них количество крист, накапливаются ионы кальция, повышается активность митохондриальных ферментов.

Существуют железистые клетки, у которых секреция происходит непрерывно, т.е. секрет выделяется по мере его синтеза (щитовидная железа, кора надпочечника, слизеобразующие клетки эпителия желудка), и клетки, у которых секреторный процесс является прерывистым, ритмичным (бокаловидные клетки кишечника и ацинарные клетки поджелудочной железы). В этом случае хорошо выражен секреторный цикл. Рассмотрим его на примере функционирования ацинарной клетки поджелудочной железы, продуцирующей серозный, белковый секрет, богатый ферментами (зимоген). Как все типичные секреторные клетки, ацинарная клетка имеет гетерополярное расположение органоидов и ядра по продольной оси (рис. 36). В базальной части клетки расположены гранулярная эндоплазматическая сеть, ядро и митохондрии, ориентированные в апикально-базальном направлении; над ядром находится сетчатый аппарат, или комплекс Гольджи; апикальный конец клетки занят каплями готового секрета — зимогена, хорошо видимыми в световой микроскоп. Апикальная поверхность покрыта микроворсинками.

## **1. 8 Лекция № 8 (2 часа).**

**Тема:** «Активные процессы в клетке»

### **1.8.1 Вопросы лекции:**

1. Рецепторная функция клетки
2. Фоторецепция
3. Хеморецепция

### **1.8.2 Краткое содержание вопросов:**

1. Рецепторная функция клетки

Рецепция различных видов энергии (механической, химической, тепловой, электрической, световой) имеет чрезвычайно большое значение для живых организмов, ибо этим путем они получают необходимую информацию о внешней и внутренней среде. В процессе эволюции рецепция совершенствовалась и становилась все более чувствительной и точной.

Разнообразные (фото-, хемо-, термо-, стерео-) таксисы простейших и тропизмы растений свидетельствуют о том, что они могут реагировать на самые разные по своей

природе раздражения. Это может быть связано либо с чувствительностью клетки, либо с наличием специализированных органелл, воспринимающих лишь определенные сигналы. Так, у одноклеточной водоросли эвглени имеется глазное пятнышко, позволяющее реагировать на свет, у некоторых простейших есть чувствительные волоски для восприятия механического раздражения и обнаружения химического изменения среды.

Эволюция рецепторной функции у многоклеточных привела к возникновению высокоспециализированных органов рецепции, таких, как органы зрения, слуха, гравитации, обоняния, вкуса, осязания и т.д. Среди рецепторов различают экстерорецепторы, воспринимающие сигналы из внешней среды, и интерорецепторы, улавливающие сигналы о состоянии внутренней среды организма. Каждый рецептор независимо от специализации кодирует энергию раздражения, преобразуя ее в нервные импульсы, которые по афферентным нервным волокнам поступают в центральную нервную систему, где происходит их расшифровка и анализ. Таким образом, в восприятии раздражений принимают участие не только чувствительные рецепторные клетки, но и соответствующие нейроны, участвующие в проведении и анализе раздражений. В нашу задачу не входит рассмотрение функционирования всего анализатора. Настоящая глава посвящена только чувствительным клеткам.

К восприятию разнообразных раздражений способны вообще все клетки независимо от специализации, но их Чувствительность по отношению к неадекватным для них воздействиям очень мала; рецепторные клетки, приспособленные только к восприятию одного вида раздражения (адекватного), обладают очень высокой чувствительностью по отношению к нему. Так, фоторецепторные клетки могут возбуждаться единичными квантами света ( $1 \cdot 10^{-10}$  эрг/с), а волосковые клетки кортиева органа — звуковыми колебаниями с энергией, равной  $1 \cdot 10^{-9}$  эрг/с. При постоянном действии адекватного раздражителя наблюдается снижение чувствительности рецепторных клеток. Это явление принято называть адаптацией или приспособлением к силе раздражителя. При этом не только наступают изменения в чувствительности рецепторных клеток, но и меняется состояние нервных центров, связанных с ними. Рецепторные клетки не только посылают сигналы в центральную нервную систему, но и сами находятся под ее контролем и влиянием. Эта обратная связь осуществляется эфферентными волокнами сенсорных нервов. Чувствительность рецепторных клеток зависит от функционального состояния организма и от многих факторов окружающей среды.

Среди разнообразных рецепторных клеток различают первичные и вторичные. Первичные — это нервные клетки с периферически-чувствительным и центрально-проводящим отростками; вторичные же представляют собой специализированные эпителиальные клетки, не имеющие центрального проводящего отростка и контактирующие с нервными клетками с помощью синапсов. У беспозвоночных все типы рецепторных клеток первичные. У позвоночных существуют и первичные (фоторецепторы и обонятельные) и вторичные (вкусовые и волосковые) клетки. Для обоих типов рецепторных клеток очень характерно наличие на свободной апикальной поверхности так называемых чувствительных антенн, которые представляют собой чаще всего киноцилии (жгутики и реснички), реже микровилли (пальцеобразные выросты длиной 1,5 мк, диаметром 80 нм) или их производные — неподвижные стереоцилии (длиной 4—5 мкм, диаметром 0,10—0,15 мкм). Киноцилии представляют собой типичный жгутик или ресничку и имеют 9 пар периферических и одну пару центральных фибрилл (иногда наблюдаются отклонения от этого). У некоторых клеток киноцилии видоизменяются и усложняются (зрительная клетка). Микровилли и стереоцилии имеют более простой фибриллярный аппарат. Чувствительные антенны, как правило, обладают подвижностью, но у разных рецепторных клеток она выражена неодинаково.

Более подробное рассмотрение строения чувствительных клеток будет сделано в соответствующих разделах.



## 2. Фоторецепция

Все клетки способны реагировать на свет, но те из них, которые содержат пигмент, более чувствительны к действию света. Если искусственно ввести краситель в клетку, то также наблюдается повышение ее светочувствительности (фотодинамический эффект).

С наличием желтого пигмента растений — каротиноида — связывают фототропизм растений, т. е. изгибание растения в сторону источника света. Особенно хорошо это проявляется в синем свете. Микроорганизмы — пурпурные бактерии, сине-зеленые и зеленые жгутиковые водоросли — реагируют на свет разнообразными фототаксисами; полагают, что в рецепции света принимают участие флавины и каротиноиды. Световой чувствительностью обладают клетки радужной оболочки глаза, пигментированные нейроны змей, речного рака и гигантские нервные клетки брюхоногого моллюска (*Aplysia*), имеющие пигменты гемопротеиды и каротинпротеиды.

Непосредственно на свет могут реагировать и хроматофоры — специализированные пигментные клетки покровных тканей, обеспечивающие маскирующую защитную окраску животного, терморегуляцию, защиту от интенсивного освещения и брачную расцветку. Хроматофоры обнаружены у рептилий, земноводных, рыб, круглоротых, ракообразных, насекомых, головоногих моллюсков, аннелид и иглокожих. Хроматофоры различаются по форме, типу пигмента и реакциям на раздражение. У ракообразных, насекомых и рыб хроматофоры содержат два или даже более пигментов, у амфибий и рептилий, как правило, один пигмент, часто меланин.

Хроматофоры способны содержащиеся в них зернышки пигмента либо концентрировать в маленький шарик в центре клетки, что приводит к посветлению окраски, либо диспергировать их по всей клетке, обычно сильно разветвленной, что вызывает потемнение окраски животного.

В темноте зрительный пигмент с помощью ферментов вновь воссоединяется, трансформация ретиналя превращается в цисформу и присоединяется к опсину. Во время световой адаптации концентрация зрительного пигмента уменьшается, а во время темновой адаптации пигмент восстанавливается и чувствительность к свету растет. При умеренном освещении устанавливается равновесие между распадом и синтезом пигмента.

Таким образом, световой сигнал трансформируется в химический благодаря молекулярным превращениям зрительного пигмента, которые являются пусковым механизмом возбуждения всей фоторецепторной клетки: происходит округление и набухание митохондрий, увеличивается количество ядерной РНК, наблюдаются цитохимические сдвиги, связанные с обменом гликогена, снижается число гранул гликогена, возникает рецепторный потенциал, который для фоторецепторов оказался гиперполяризацией. Это связано с тем, что свет уменьшает проницаемость мембраны наружного сегмента для ионов натрия и снижает вследствие этого так называемый темновой ток (который выходит из тела клетки и внутреннего сегмента и входит в наружный сегмент, замыкаясь через цитоплазму рецептора), что эквивалентно появлению фототока, выходящего из наружного сегмента и входящего во внутренний. Возникающая при освещении гиперполяризация наружного сегмента длится в течение всего периода освещения и сопровождается повышением сопротивления поверхностной мембраны на 20—50%. Таким образом, зависящая от света натриевая проводимость принадлежит лишь мембране наружного сегмента. В результате возбуждения клетки возникают нервные импульсы, поступающие в центральную нервную систему.

## 3. Хеморецепция

В жизни большинства организмов хеморецепция играет огромную роль, с ее помощью определяются вредные химические агенты, обнаруживается и апробируется пища, происходит общение между отдельными особями, осуществляется ориентация

миграции и узнавание своих и чужих территорий, регуляция деятельности многих систем организма. Хеморецепция объединяет общее химическое чувство, вкус и обоняние, и во всех этих случаях в качестве раздражителя выступают химические вещества.

Общая химическая чувствительность свойственна всем клеткам; у подвижных клеток она проявляется в хемотаксисах и характеризуется относительно малой чувствительностью. Гораздо более высокой чувствительностью обладают специализированные хеморецепторные клетки, особенно обонятельные; вкусовые обладают более низкой чувствительностью.

И тем не менее вкусовые рецепторы языка в тысячи раз чувствительнее к соли, чем подходящие к ним вкусовые нервы. Возбуждаются вкусовые клетки обычно в связи с выбором и приемом пищи. Различают 4 основных вкуса: сладкий, кислый, соленый и горький. Способность веществ вызывать вкусовое ощущение зависит от функциональных групп, содержащихся в их молекулах. Небольшое изменение структуры молекулы вещества может изменить его вкус со сладкого на горький. Чувствительность вкусовых рецепторов зависит от функционального состояния организма. Так, вкусовые пороги у голодных животных ниже, чем у сытых.

Большее соответствие намечается между запахом и конформацией — стереометрией молекул. На основании этого была создана Эймуrom стереохимическая теория обоняния. Согласно ей на мембране рецепторной клетки существуют специфические «лунки», в которые попадают молекулы только определенной формы, т. е. определенного пахучего вещества (взаимодействие по типу «ключа и замка»). Причем основных или первичных лунок существует семь, соответственно семи первичным запахам: камфорный, эфирный, цветочный, мускусный, мятный, острый и гнилостный. Смешанные запахи состоят из сочетаний этих первичных.

Согласно другой, квантовой теории обоняния Райта существует 95 первичных запахов, обусловленных различными частотами электромагнитных волн, испускаемых молекулами пахучих веществ. Эти волны действуют на «обонятельный пигмент» рецепторных клеток и вызывают возбуждение клетки.

В большинстве существующих современных теорий предполагается взаимодействие молекул пахучего вещества с плазматической мембраной обонятельной клетки по типу адсорбции, что изменяет проницаемость мембраны, вызывает рецепторный потенциал и далее потенциал действия. Аналогично вкусовым клеткам, видимо, и в обонятельных клетках имеются специфические ольфактивные (обонятельные) белки, чувствительные к определенному виду пахучей молекулы. Их взаимодействие с молекулами пахучих веществ обуславливает изменение конформации молекулы рецепторного белка, что и является пусковым механизмом возбуждения всей обонятельной клетки.

## **1. 9 Лекция № 9 (2 часа).**

**Тема:** «Транспортные клеточные системы»

### **1.9.1 Вопросы лекции:**

1. Методы изучения клеточной проницаемости
2. Проницаемость клеток для воды
3. Проницаемость клеток для неэлектролитов

### **1.9.2 Краткое содержание вопросов**

1. Методы изучения клеточной проницаемости

**Осмотический метод.** Этот метод основан на том факте, что клетки ведут себя как осмометры, т.е. их объем ( $V$ ) изменяется обратно пропорционально изменению осмотического давления среды ( $\Pi$ ):

$$V \cdot \Pi = \text{const.}$$

Однако в это уравнение надо внести поправку ( $b$ ) на осмотически неактивный объем клетки (сухой остаток и осмотически неактивную воду):

$$\Pi (V - b) = \text{const.}$$

При помещении клетки в гипертонический раствор объем клетки уменьшается за счет выхода воды до тех пор, пока осмотическое давление внутри клетки не сравняется с осмотическим давлением среды. Если молекулы растворенного вещества не проникают в клетку, то уменьшенный объем клетки сохраняется без изменения и далее (рис. 17, а). Если молекулы растворенного вещества проникают в клетку, но с меньшей скоростью, чем молекулы воды, то сначала произойдет уменьшение объема клетки, затем по мере проникновения молекул из внешнего раствора в клетку объем ее будет увеличиваться, пока не достигнет исходной величины (рис. 17, б); осмотическое давление внутри клетки и в этом случае становится равным наружному осмотическому давлению. По скорости восстановления объема клетки судят о скорости проникновения в нее растворенного вещества. Если молекулы внешнего раствора проникают через клеточную мембрану с такой же скоростью, как и молекулы воды, то изменения объема клетки не произойдет.

**Химические методы.** Органы, кусочки тканей или клеточные суспензии помещают в раствор вещества, проницаемость которого исследуется, и через определенные сроки путем химического анализа определяют количество вещества либо в ткани (по прибыли), либо в растворе (по убыли). Если исследование проводится на кусочке ткани, необходимо учитывать межклеточное пространство.

Для изучения содержимого отдельных клеток (и даже их частей) разработаны микрометоды (необходимо 10—0,01 мг вещества) и даже ультрамикрометоды (менее 0,01 мг вещества). Первые получили широкое распространение, вторые ввиду трудоемкости и необходимости сложного специального оборудования применяются в небольшом числе лабораторий.

**Изотопные методы.** Эти методы основаны на том факте, что молекулы вещества, содержащие радиоактивный изотоп, по своим физико-химическим и химическим свойствам не отличаются от молекул, не содержащих этих изотопов. Они вступают в химические реакции и участвуют во всех физиологических процессах наравне со всеми другими молекулами этого вещества, но их присутствие в клетке и в окружающей среде легко может быть обнаружено путем измерения интенсивности их радиоактивности.

Часто скорость поступления вещества в клетки характеризуется изменением во времени коэффициента распределения  $Q$ . Величину коэффициента  $Q$  чаще всего определяют с помощью радиоактивности меченых радиоактивными изотопами веществ.

**Колориметрические методы** используются при изучении проницаемости клеток для красителей. При работе с окрашенными органами или кусочками ткани связанный ими краситель экстрагируют обычно подкисленным спиртом и по интенсивности окраски полученных вытяжек судят о количестве сорбированного тканью красителя. При работе на одиночных клетках (мышечные, нервные волокна) используют цитофотометрические установки.

В настоящее время изучается не только проницаемость целой клетки, но и проницаемость ядер и клеточных органелл. Это стало возможным благодаря разработке методов получения изолированных клеточных структур путем дифференциального центрифугирования гомогенатов ткани.

## 2. Проницаемость клеток для воды

Клетки содержат большое количество воды. В животных клетках ее около 80%, а в некоторых растительных клетках, имеющих большую центральную вакуоль, количество воды может достигать 95% и выше. Однако в протоплазме этих клеток содержание воды примерно такое же, как и в животных клетках.

В каком состоянии находится вода в живых клетках, отличается ли она по своим свойствам от воды в сосуде, так называемой объемной воды? Единого мнения по этому поводу не существует.

Со времен исследования Е. Овертона (1902) возникло представление о наличии в клетках связанной воды, которая не растворяет вещества и не подвергается действию осмотических сил. Овертон полагал, что связанная вода составляет 35% от всей воды в клетке. Он работал на мышцах, изучая проницаемость различных веществ с помощью осмотического метода, и обнаружил отклонение от осмотической закономерности: мышцы теряли воды в гипертонических растворах меньше, чем следовало. Но если допустить, что 35% воды не растворяет, т.е. является связанной, то получалось хорошее соответствие с осмотической закономерностью.

Некоторые исследователи пониженную растворяющую способность клеточной воды объясняют не ее особыми свойствами, а тем, что какая-то часть ее находится в местах, недоступных для более крупных молекул, поэтому они в ней и не растворяются (гипотезы ограниченных недоступных пространств). Наоборот, другие исследователи полагали, что в протоплазме вообще нет свободной воды, что она вся связана, т.е. что она отличается от объемной воды, хуже растворяет и не смешивается с ней.

На основании физико-химических исследований известно, что структура воды изменяется вблизи поверхностей раздела фаз, в капиллярах, вокруг молекул с большой молекулярной массой. Силовое поле поверхности вызывает более упорядоченную структуру воды. При этом изменения не ограничиваются мономолекулярным слоем, а распространяются на расстоянии 5—10 нм и даже на 150 нм. Вода эта по сравнению с более удаленной от поверхности обладает иной плотностью, иной растворяющей способностью, иной вязкостью и повышенной теплопроводностью. Клетка же состоит из огромных молекул биополимеров и пространственно представляет собой чрезвычайно сложно организованную структуру с очень большой поверхностью.

Наличие в клетке электрических зарядов — ионов — также должно влиять на состояние воды, так как известно, что ионы  $K^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $Rb^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Cl^-$ ,  $I^-$  повышают подвижность молекул воды, разжижают ее структуру и молекулы воды вблизи этих ионов приобретают большую подвижность. Указанные ионы обладают отрицательной гидратацией.

Ионы  $Na^+$ ,  $Li$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $OH^-$ ,  $F^-$  обладают положительной гидратацией, они замедляют подвижность молекул, и можно говорить о некотором эффективном связывании ионами ближайших молекул воды.

В настоящее время пытаются экспериментально решить вопрос о состоянии воды в клетках с привлечением различных физико-химических методов — рентгеноструктурного анализа, инфракрасной спектроскопии, ядерного магнитного резонанса, колориметрического, различных оптических и др. К сожалению, ввиду очень сложного объекта, каковым является клетка, невозможно однозначно интерпретировать полученные данные. В большинстве работ указывается на существование нескольких фракций воды, разной степени упорядоченности.

Таким образом, вопрос о состоянии воды в клетке еще не решен. Не лучше обстоит дело и со структурой объемной воды — существует также много теорий ее строения.

В норме количество воды в клетках поддерживается с большим постоянством, возможны небольшие сезонные колебания. Но если значительно изменяется функциональное состояние клетки, то изменяется и количество в ней воды. Так, при различных повреждениях, при действии ферментных ядов, низкой температуры и других

факторов клетки поглощают воду и набухают. Изменение ферментативной активности в митохондриях сопровождается их набуханием или отбуханием.

Все клетки хорошо проницаемы для воды, скорость проникновения ее значительно выше, чем других веществ (кроме газов), например в 50 раз выше скорости глицерина и в 30—40 раз — мочевины. О проницаемости воды чаще всего судят по скорости изменения объема клетки в гипо- или гипертонических растворах веществ, не проникающих или плохо проникающих в клетки, т.е. по скорости отбухания или набухания. В таблице 3 приведены величины коэффициентов проницаемости воды для различных клеток.

### 3. Проницаемость клеток для неэлектролитов

Изучение проницаемости клеток для неэлектролитов сыграло важную роль в выяснении закономерностей прохождения веществ через клеточную мембрану, ее состава, строения и физико-химических свойств.

Исследования Е. Овертона (1902) и позднее Р. Колландера и Х. Берлюнда (1933, 1954), результаты которых подтверждены И.М. Даймондом и Е.М. Райтоном (1969), показали, что скорость проникновения в клетки широкого круга неэлектролитов определяется их гидрофобностью: чем гидрофобность выше, тем больше скорость их проникновения в клетку. Эти результаты являются одним из важнейших аргументов, доказывающих наличие на поверхности клеток барьера липидной природы.

Однако такие неэлектролиты, как мочевина и ее производные, амиды, этиленгликоль, глицерин и другие спирты, обладающие резко выраженными гидрофильными свойствами, как правило, с большой скоростью проникают в клетки, так же как и молекулы воды. Эти данные привели к выводу, что липидная мембрана имеет поры, или гидрофильные участки, молекулярного размера (0,8 нм), обеспечивающие диффузию в клетку гидрофильных неэлектролитов. Чем меньше размер молекул этих веществ, тем они быстрее поступают в клетку. Гидрофильные неэлектролиты, радиус молекул которых больше 0,4 нм, практически не проникают в клетки, например полисахарид инулин. Известно, однако, что некоторые гидрофильные неэлектролиты, имеющие такую же величину молекул, все-таки поступают в клетки. Теперь доказано, что в этом случае действует специфическая транспортная система, обеспечивающая перенос неэлектролитов через мембрану.

Наиболее полно из всех неэлектролитов изучена транспортная система сахаров. В эпителиальных клетках кишечника и почечных канальцах транспорт некоторых сахаров является активным, так как совершается против градиента концентрации и требует затраты энергии. Поступление сахаров в клетки из просвета кишечника (всасывание) и почечных канальцев (реабсорбция) совершается через апикальную мембрану, выход сахаров из этих клеток в лимфу и кровь протекает пассивно по градиенту концентрации через базальную и латеральные мембраны. Имеются данные, свидетельствующие о взаимной связи потоков сахара и натрия в этих клетках, на основании чего полагают, что энергия натриевого градиента используется для активного транспорта сахара (сахар транспортируется вместе с Na<sup>+</sup>, поступающим в клетку по градиенту концентрации). Ингибиторы обмена подавляют активный транспорт сахара внутрь этих клеток.

## 1. 10 Лекция № 10 (2 часа).

**Тема:** «Микроструктуры и микрофункции»

### 1.10.1 Вопросы лекции:

1. Клеточные мембраны
2. Функции мембран

### 1.10.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Клеточные мембраны

На основании электронно-микроскопических исследований стало ясно, что важным структурным элементом клеточной организации является мембрана. Она не только покрывает клетку снаружи, отделяя ее содержимое от внешней среды, но и органеллы клетки (митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, лизосомы) построены из мембран. Ядро также покрыто мембраной. Роль мембран очень разнообразна, они имеют отношение почти ко всем функциям клетки. С деятельностью мембраны связано протекание строго согласованных биохимических реакций, ведущих к распаду и синтезу веществ, избирательная клеточная проницаемость, электрическая поляризация клетки, двигательная, рецепторная функция и многие другие. Биологические мембраны являются объектом изучения не только биологов, но и химиков и физиков.

Строение и химический состав клеточных мембран

После химической фиксации под электронным микроскопом мембраны выглядят как трехслойные структуры толщиной 7,5 нм. Согласно традиционной модели Даниели—Давсона—Робертсона, средний, более светлый промежуток соответствует непрерывному липидному бислою, в котором гидрофильные группы липидов обращены наружу. Белки располагаются на полярной поверхности липидов и вступают с ними в электростатическое взаимодействие. Американский ученый Робертсон полагал, что подобная элементарная мембрана лежит в основе строения любой клеточной мембраны. Однако имеются данные, указывающие на то, что, несмотря на общее сходство в строении мембранных структур, имеются между ними существенные различия. В результате дальнейшего, более детального изучения мембранных структур в универсальную модель были введены некоторые усложнения. Кроме того, были предложены новые модели, в которых основная роль в поддержании структурной организации мембран приписывается гидрофобным связям. Согласно модели Ленарда и Зингера, полярные головки фосфолипидов вместе с ионными боковыми группами структурного белка расположены на поверхности мембраны, а неполярные цепи белка и липиды располагаются внутри мембраны и стабилизируются здесь гидрофобными взаимодействиями. Геометрическая модель Вандеркой и Грина состоит из двух слоев глобулярных белков; пространство между глобулами заполнено фосфолипидными молекулами, полярные головки которых расположены на водной поверхности мембраны. В отличие от этой модели в жидкостно-мозаичной модели Зингера и Николсона глобулярные белки и фосфолипиды не являются фиксированной структурой, они более подвижны и свободно перемещаются в мембране

#### 2. Функции мембран

Мембранные структуры играют огромную роль в процессах клеточной проницаемости, они являются избирательными фильтрами и регуляторами поступления и выхода веществ. Многие мембраны обладают функцией активного транспорта и способны перекачивать вещества против градиента концентрации. Огромную работу по транспорту веществ выполняет нефрон — клетка почечных канальцев. Основная ее функция — поддержание постоянного состава и основных физико-химических свойств жидкостей внутренней среды организма. Нефрон — асимметрично построенная клетка, ее апикальная и базальная мембраны обладают различными биохимическими и транспортными свойствами. Через апикальную мембрану, обращенную в просвет канальца, всасываются разнообразные биологически значимые вещества — сахара, аминокислоты, витамины, ионы, вода, — и через базальную мембрану они поступают в кровь. Этот процесс называется реабсорбцией. Одновременно с ним в нефроне происходит транспорт веществ

в противоположном направлении — целый ряд избыточных и чужеродных веществ удаляется из крови и выводится в просвет канальца.

Некоторые мембраны участвуют в процессах переваривания пищевых веществ. Так, плазматическая мембрана микроворсинок эпителиальных клеток кишечника на внешней поверхности имеет слой кислых мукополисахаридных нитей, называемый гликокаликсом. Внутри слоя и на поверхности самой мембраны имеются пищеварительные ферменты, которые обеспечивают мембранное пищеварение. Интересно, что их функция теснейшим образом сопряжена с функционированием транспортной, всасывающей системы мембран, с работой переносчиков.

На внутриклеточных мембранах монтируются сложнейшие полиферментные системы, обеспечивающие направленное течение различных-метаболических процессов. Так, на внутренней митохондриальной мембране организованы ферменты, участвующие в процессах дыхания и окислительного фосфорилирования. При смене уровня метаболизма изменяется объем митохондрий, они набухают или сокращаются, при этом изменяется также структура внутренних мембран и связанного с ними матрикса. Последний представляет собой упорядоченную тонкофибрилярную сеть. При отсутствии в среде источника энергии эта сеть становится плотной с немногими толстыми тяжами; при наличии источника энергии (АТФ) она представляет собой мелкую сеть тончайших фибрилл. Полагают, что в основе явления набухания и сокращения митохондрий лежат обратимые конформационные изменения макромолекул митохондриальных мембран, в первую очередь ферментов дыхания и окислительного фосфорилирования.

## **2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ**

**Лабораторные работы не предусмотрены учебным планом**

## **3. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ**

### **3.1 Практическое занятие № 1 (2 часа).**

**Тема:** «АТФ и его роль в клетке. Функции митохондрий клетки»

#### **3.1.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Основным источником энергии для клетки являются питательные вещества: углеводы, жиры и белки, которые окисляются с помощью кислорода. Практически все углеводы, прежде чем достичь клеток организма, благодаря работе желудочно-кишечного тракта и печени превращаются в глюкозу. Наряду с углеводами расщепляются также белки — до аминокислот и липиды — до жирных кислот. В клетке питательные вещества окисляются под действием кислорода и при участии ферментов, контролирующих реакции высвобождения энергии и ее утилизацию. Почти все окислительные реакции происходят в митохондриях, а высвобождаемая энергия запасается в виде макроэргического соединения — АТФ. В дальнейшем для обеспечения внутриклеточных метаболических процессов энергией используется именно АТФ, а не питательные вещества. Молекула АТФ содержит: (1) азотистое основание аденин; (2) пентозный углевод рибозу, (3) три остатка фосфорной кислоты. Два последних фосфата соединены друг с другом и с остальной частью молекулы макроэргическими фосфатными связями,

обозначенными на формуле АТФ символом ~. При соблюдении характерных для организма физических и химических условий энергия каждой такой связи составляет 12000 калорий на 1 моль АТФ, что во много раз превышает энергию обычной химической связи, поэтому фосфатные связи и называют макроэргическими. Более того, эти связи легко разрушаются, обеспечивая внутриклеточные процессы энергией сразу, как только в этом возникает необходимость. При высвобождении энергии АТФ отдает фосфатную группу и превращается в аденозиндифосфат. Выделившаяся энергия используется практически для всех клеточных процессов, например в реакциях биосинтеза и при мышечном сокращении.

Восполнение запасов АТФ происходит путем воссоединения АДФ с остатком фосфорной кислоты за счет энергии питательных веществ. Этот процесс повторяется вновь и вновь. АТФ постоянно расходуется и накапливается, поэтому она получила название энергетической валюты клетки. Время оборота АТФ составляет всего несколько минут. Роль митохондрий в химических реакциях образования АТФ. При попадании внутрь клетки глюкоза под действием ферментов цитоплазмы превращается в пировиноградную кислоту (этот процесс называют гликолизом). Энергия, высвобождаемая в этом процессе, затрачивается на превращение небольшого количества АДФ в АТФ, составляющего менее 5% общих запасов энергии. Синтез АТФ на 95% осуществляется в митохондриях. Пировиноградная кислота, жирные кислоты и аминокислоты, образующиеся соответственно из углеводов, жиров и белков, в матриксе митохондрий в итоге превращаются в соединение под названием «ацетил-КоА». Это соединение, в свою очередь, вступает в серию ферментативных реакций под общим названием «цикл трикарбоновых кислот» или «цикл Кребса», чтобы отдать свою энергию. В цикле трикарбоновых кислот ацетил-КоА расщепляется до атомов водорода и молекул углекислого газа. Углекислый газ удаляется из митохондрий, затем — из клетки путем диффузии и выводится из организма через легкие. Атомы водорода химически очень активны и поэтому сразу вступают в реакцию с кислородом, диффундирующим в митохондрии. Большое количество энергии, выделяющейся в этой реакции, используется для превращения множества молекул АДФ в АТФ. Эти реакции достаточно сложны и требуют участия огромного числа ферментов, входящих в состав крист митохондрий. На начальном этапе от атома водорода отщепляется электрон, и атом превращается в ион водорода. Процесс заканчивается присоединением ионов водорода к кислороду. В результате этой реакции образуются вода и большое количество энергии, необходимой для работы АТФ-синтазы — крупного глобулярного белка, выступающего в виде бугорков на поверхности крист митохондрий. Под действием этого фермента, использующего энергию ионов водорода, АДФ превращается в АТФ. Новые молекулы АТФ направляются из митохондрий ко всем отделам клетки, включая ядро, где энергия этого соединения используется для обеспечения самых разных функций. Данный процесс синтеза АТФ в целом называют хемиосмотическим механизмом образования АТФ.

### **3.1.2 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

### **3.2 Практическое занятие № 2 (2 часа).**

**Тема:** «Хемотаксис. Роль ресничек клетки»

#### **3.2.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Самыми распространенными клетками, которые используют этот тип движения, являются лейкоциты, мигрирующие из сосудов в ткани, в которых они превращаются в тканевые макрофаги. В некоторых ситуациях амeboидное движение могут использовать и другие клетки, например фибробласты, которые мигрируют в поврежденную ткань,



способствуя ее восстановлению. Даже клетки росткового слоя эпидермиса, в обычной ситуации оседлые, при заживлении ран перемещаются в область кожной раны. Такой тип движения крайне важен и для оплодотворенной яйцеклетки, чтобы она для последующего развития эмбриона и плода могла переместиться на значительное расстояние. Управление амебоидным движением. Хемотаксис. Важнейшим инициатором амебоидных движений является процесс, называемый хемотаксисом. Он обусловлен появлением в тканях определенных веществ. Любое вещество, способное вызывать хемотаксис, называют хемоаттрактантом. Большинство клеток, способных к амебоидным движениям, мигрируют по направлению к источнику хемоаттрактанта, т.е. от участка с более низкой к участку с более высокой его концентрацией. Это явление называют положительным хемотаксисом. Однако некоторые клетки, напротив, движутся в сторону меньшей концентрации вещества; такой хемотаксис называют отрицательным. Каким же образом хемотаксис определяет направление движения клетки? Точного ответа на данный вопрос пока не существует, хотя известно, что изменение мембраны клетки, ведущее к образованию псевдоподии, происходит на стороне, наиболее подверженной действию хемоаттрактантов. Второй вид двигательной активности клетки — движение ресничек, которое напоминает движение кнута. Клетки, способные к этому типу движения, имеются только в слизистой верхних дыхательных путей и маточных (фаллопиевых) труб. Движение ресничек в носовых ходах и нижних отделах дыхательных путей способствует продвижению поверхностного слоя слизи по направлению к глотке со скоростью 1 см/мин и очищению дыхательных путей от захваченных слизью частиц. Колебания ресничек в маточных трубах вызывают медленное движение жидкости внутри просвета канальцев, направляя ее в полость матки и способствуя таким образом перемещению плодного яйца из яичника в матку.

Одна клетка может содержать множество ресничек; например, клетка эпителия верхних дыхательных путей содержит около 200 ресничек. Снаружи ресничка представляет собой продолжение мембраны. Поддерживающая конструкция внутри реснички представлена 11 микротрубочками, 9 из которых сдвоены и располагаются по периферии, а 2 одиночные находятся в центре, как это видно на поперечном срезе. Микротрубочки являются отростками базального тельца реснички — структуры, расположенной непосредственно под мембраной. Жгутик сперматозоида внешне напоминает ресничку, более того, в его состав входят те же структуры, а движения обеспечиваются тем же механизмом. Однако жгутик намного длиннее реснички, его движения не бьющие, а скорее синусоидальные. Ресничка совершает резкие и быстрые бьющие движения с частотой 10-20 уд/сек, изгибаясь кпереди под острым углом по отношению к поверхности клетки, и затем медленно возвращается в прежнее положение. Биения ресничек перемещают жидкость, окружающую клетку, вперед. Медленный возврат реснички назад практически не влияет на ток слоя жидкости, в результате она всегда течет в направлении быстрого движения ресничек. Большое количество ресничек на поверхности реснитчатых клеток и их ориентирование в одном направлении способствуют эффективному движению жидкости.

### **3.2.2 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

### **3.3 Практическое занятие № 3 (2 часа).**

**Тема:** «Аппарат Гольджи. Синтез в эндоплазматическом ретикулуме»

#### **3.3.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Мы уже подчеркивали, насколько обширны структуры эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи в секреторных клетках. В основе этих структур лежат мембраны из липидных бислоев, сходные по строению с мембраной клетки. Стенки мембран содержат ферменты, которые катализируют синтез многих веществ, необходимых клетке. Большая часть синтетических процессов происходит в эндоплазматическом ретикулуме. Сформированные здесь вещества направляются в аппарат Гольджи, где они перед выходом в цитоплазму подвергаются дальнейшей обработке. Вначале следует остановиться на веществах, которые синтезируются в отдельных областях ретикулума и аппарата Гольджи. Синтез белков на шероховатом эндоплазматическом ретикулуме. На наружной поверхности шероховатого эндоплазматического ретикулума содержится большое количество прикрепленных к нему рибосом; на них происходит синтез белка, незначительное количество которого попадает в цитозоль, а основная часть — в просвет трубочек и пузырьков ретикулума, т.е. в эндоплазматический матрикс. Синтез липидов в гладком эндоплазматическом ретикулуме. Эндоплазматический ретикулум способен к синтезу липидов, особенно фосфолипидов и холестерина. Они быстро растворяются в мембранном бислое, что способствует дальнейшему разрастанию структур ретикулума, в основном гладкого. Небольшие пузырьки, называемые транспортными, или ЭР-вакуолями постоянно отделяются от мембран гладкого ретикулума, предотвращая таким образом его избыточный рост. Большая часть этих транспортных вакуолей затем быстро направляется в аппарат Гольджи. Другие функции эндоплазматического ретикулума. Эндоплазматический ретикулум, особенно гладкий, обладает и другими важными функциями. 1. Обеспечение ферментами, расщепляющими гликоген при необходимости получения из него энергии. 2. Обеспечение большим количеством ферментов, способных нейтрализовать вредные для клетки вещества, например лекарственные препараты. Способы обезвреживания включают коагуляцию, окисление, гидролиз, соединение с глюкуроновой кислотой и т.п.

Важной функцией аппарата Гольджи является дополнительная обработка веществ, синтезированных в эндоплазматическом ретикулуме. Аппарат Гольджи также способен к синтезу некоторых углеводов, которые не могут синтезироваться в ретикулуме, особенно полисахаридов, соединенных с молекулой белка. Наиболее важными из них являются гиалуроновая кислота и хондроитинсульфат. Эти вещества имеют очень важное значение: (1) являются основными компонентами протео-гликанов, содержащихся в слизи и других секретах экзокринных желез; (2) входят в состав межклеточного вещества, которое заполняет пространство между клетками и коллагеновыми волокнами; (3) являются главными компонентами органического матрикса хрящей и костей. Переработка веществ эндоплазматического ретикулума в аппарате Гольджи. Образование секреторных пузырьков. Образующиеся в эндоплазматическом ретикулуме вещества, особенно белки, переносятся по его каналам в направлении гладкого отдела ретикулума, который непосредственно примыкает к аппарату Гольджи. С помощью мелких транспортных вакуолей, постоянно образующихся путем отщепления мембран гладкого ретикулума, эти вещества (белки и другие продукты) переносятся в самые глубокие слои аппарата Гольджи. Транспортные вакуоли немедленно сливаются и опорожняются в просвет пузырьков аппарата Гольджи. Здесь к веществам присоединяются углеводные цепочки. Важной функцией аппарата Гольджи является также концентрация молекул секрета. Этот процесс начинается с самых глубоких слоев аппарата Гольджи, поэтому концентрация секрета по мере продвижения к поверхностным слоям все возрастает. В итоге и мелкие, и крупные пузырьки с концентрированным содержимым отрываются от мембран и распространяются по всей толще клетки. Получить представление о затратах времени на выполнение данных процессов можно из следующего примера: если поместить железистую клетку в раствор, содержащий меченые изотопами аминокислоты, то новосинтезированные белки можно будет определить в эндоплазматическом ретикулуме

уже через 3-5 мин. В течение 20 мин эти белки появятся уже в аппарате Гольджи, а через 1-2 ч — будут обнаружены в виде секрета на поверхности клеток. Типы везикул, формируемых аппаратом Гольджи: секреторные пузырьки и лизосомы. В клетке с высокой секреторной активностью аппарат Гольджи производит преимущественно секреторные пузырьки, содержащие белковый секрет, который выделяется через мембрану наружу. Эти пузырьки вначале путем диффузии достигают наружной мембраны, затем сливаются с ней, опорожняя содержимое наружу с помощью процесса, называемого экзоцитозом. В большинстве случаев экзоцитоз начинается с поступления в клетку ионов кальция. Кальций, взаимодействуя с мембраной пузырька посредством пока неизвестного механизма, приводит к их слиянию с мембраной клетки и экзоцитозу с образованием «окна» в мембране и изгнанием содержимого наружу. Некоторые пузырьки, однако, предназначены для использования в клетке. Использование внутриклеточных пузырьков для восполнения мембранных структур клетки. Некоторые пузырьки, образовавшиеся из мембраны аппарата Гольджи, сливаются с мембраной клетки или внутриклеточных структур, включая митохондрии или ретикулум, и постоянно пополняют убывающий запас мембран путем увеличения их площади. Потеря мембран обычно происходит при формировании фагоцитарных или пиноцитозных пузырьков. В заключение отметим, что мембранная система клетки, состоящая из эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, характеризуется высоким уровнем обменных процессов и участвует как в образовании новых внутриклеточных структур, так и в продукции веществ, подлежащих секреции.

### **3.3.3 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

## **3.4 Практическое занятие № 4 (2 часа).**

**Тема:** «Изменения внеклеточной концентрации калия»

### **3.4.1 Краткое описание проводимого занятия:**

В плазме крови концентрация калия (К) обычно поддерживается близкой к своему нормальному уровню -4 мМ. Однако во многих нервных клетках не происходит быстрого обмена ионов с плазмой, и для них  $[K^+]_0$  может существенно отличаться от нормального уровня. На рис. 2.3 схематически изображен нейрон ЦНС, который отделен от ближайшего капилляра глиальными клетками. Здесь внеклеточное пространство существует в виде узких щелей шириной примерно 15 нм. Периферические аксоны аналогичным образом тесно окружены шванновскими клетками. Такие интерстициальные пространства вполне адекватно обеспечивают в длительных временных масштабах выравнивание состава внешней среды путем диффузии, однако при интенсивной активности нейронов концентрации ионов во внеклеточном пространстве могут на короткое время значительно изменяться. Во время интенсивной электрической активности ионы натрия ( $Na^+$ ) входят в клетку, а ионы калия (К) выходят из нее.

Высокая внеклеточная концентрация натрия ( $Na^+$ ) при этом заметно не меняется, тогда как концентрация калия (К) может существенно возрасти. Внеклеточную концентрацию  $K^+$  можно измерить с помощью микроэлектродов, заполненных селективными  $K^+$ -ионообменниками. При высокой активности нервных клеток внеклеточная концентрация калия (К) возрастает от нормального уровня 3-4 мМ до 10 мМ. Согласно уравнению Нернста, такие высокие внеклеточные концентрации калия (К) вызывают сильную деполяризацию нервных клеток. Не исключено, что деполяризация, которая обусловлена повышенной внеклеточной концентрацией калия (К), является одной

из причин развития в мозге судорожных разрядов, возникающих, например, во время эпилептических приступов. После окончания интенсивной работы клеток процесс активного транспорта калия (К) может сдвинуть его внеклеточную концентрацию ниже нормального уровня, вызывая гиперполяризацию нервных клеток.

Во время активности нейронов ЦНС может изменяться внеклеточная концентрация еще одного иона -кальция (Са). Концентрацию кальция (Са), так же как и концентрацию калия (К) , можно измерить с помощью микроэлектродов, заполненных селективным ионообменником. При активации синаптических окончаний кальция (Са) входит в них; соответственно во время их высокочастотного возбуждения обнаруживается снижение внеклеточной концентрации кальция (Са) . При низкой концентрации кальция (Са) повышается возбудимость нейронов, что может приводить к патологическим изменениям в них.

### **3.4.3 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

## **3.5 Практическое занятие № 5 (2 часа).**

**Тема:** «Транскрипция. Виды и типы РНК клеток»

### **3.5.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Сборка молекулы РНК из нуклеотидов происходит под действием РНК-полимеразы. Этот фермент представляет собой крупный белок, обладающий целым рядом свойств, необходимых на разных стадиях синтеза молекулы РНК. 1. На цепи ДНК в самом начале каждого гена лежит нуклеотидная последовательность, называемая промоутером. Фермент РНК-полимераза несет участки распознавания и комплементарного связывания с промоутером. Связывание данного фермента с этим участком необходимо для запуска сборки молекулы РНК. 2. После связывания с промоутером РНК-полимераза расплетает спираль ДНК на участке, занимающем примерно два витка, что приводит к расхождению цепей ДНК на этом участке. 3. РНК-полимераза начинает продвигаться по цепи ДНК, вызывая временное расплетание и расхождение двух ее цепей. По мере этого движения на каждой его стадии к концу растущей цепи РНК добавляется новый активированный нуклеотид. Этот процесс проходит следующим образом: а) вначале между азотистым основанием концевой нуклеотида ДНК и азотистым основанием нуклеотида РНК, поступающего из кариоплазмы, образуется водородная связь; б) затем РНК-полимераза последовательно отщепляет по два фосфата от каждого нуклеотида РНК, высвобождая при разрыве макроэргических фосфатных связей большое количество энергии, которая сразу идет на образование ковалентной связи между оставшимся фосфатом нуклеотида РНК и концевой рибозой растущей цепи РНК; в) когда РНК-полимераза доходит по цепи ДНК до конца гена, она вступает во взаимодействие с последовательностью нуклеотидов, которую называют терминирующей последовательностью; в результате этого взаимодействия РНК-полимераза и новосинтезированная молекула РНК отрываются от цепи ДНК. После этого РНК-полимераза может вновь использоваться для синтеза новых молекул РНК; г) слабые водородные связи между новосинтезированной молекулой РНК и матрицей ДНК рвутся, а связь между комплементарными цепями ДНК восстанавливается, поскольку сродство между ними выше, чем между ДНК и РНК. Таким образом, цепь РНК отделяется от ДНК, оставаясь пока в кариоплазме. Таким образом генетический код, «записанный» на ДНК, комплементарно переносится на цепь РНК. При этом рибонуклеотиды могут образовывать с дезоксирибонуклеотидами только следующие комбинации.

Виды и типы РНК клеток Существуют три типа РНК, каждый из которых выполняет свою особую роль в синтезе белка. 1. Матричная РНК переносит генетический код из ядра в цитоплазму, определяя таким образом синтез разнообразных белков. 2. Транспортная РНК переносит активированные аминокислоты к рибосомам для синтеза полипептидных молекул. 3. Рибосомная РНК в комплексе примерно с 75 разными белками формирует рибосомы — клеточные органеллы, на которых происходит сборка полипептидных молекул. Матричная РНК представляет собой длинную одноцепочечную молекулу, присутствующую в цитоплазме. Эта молекула РНК содержит от нескольких сотен до нескольких тысяч нуклеотидов РНК, образующих кодоны, строго комплементарные триплетам ДНК. Еще один тип РНК, играющий важнейшую роль в синтезе белка, называют транспортной РНК, поскольку он транспортирует аминокислоты к строящейся молекуле белка. Каждая транспортная РНК специфически связывается только с одной из 20 аминокислот, составляющих белковые молекулы. Транспортные РНК действуют как переносчики специфических аминокислот, доставляя их к рибосомам, на которых происходит сборка полипептидных молекул. Каждая специфическая транспортная РНК распознает «свой» кодон матричной РНК, прикрепившейся к рибосоме, и доставляет соответствующую аминокислоту на соответствующую позицию в синтезируемой полипептидной цепи. Цепь транспортной РНК гораздо короче матричной РНК, содержит всего около 80 нуклеотидов и упакована в форме клеверного листа. На одном конце транспортной РНК всегда находится аденозинмонофосфат (АМФ), к которому через гидроксильную группу рибозы прикрепляется транспортируемая аминокислота. Транспортные РНК служат для прикрепления специфических аминокислот к строящейся полипептидной молекуле, поэтому необходимо, чтобы каждая транспортная РНК обладала специфичностью и в отношении соответствующих кодонов матричной РНК. Код, посредством которого транспортная РНК распознает соответствующий кодон на матричной РНК, также является триплетом и его называют антикодом. Антикодон располагается примерно посередине молекулы транспортной РНК. Во время синтеза белка азотистые основания антикодона транспортной РНК прикрепляются с помощью водородных связей к азотистым основаниям кодона матричной РНК. Таким образом, на матричной РНК выстраиваются в определенном порядке одна за другой различные аминокислоты, формируя соответствующую аминокислотную последовательность синтезируемого белка.

### **3.5.2 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

## **3.6 Практическое занятие № 6 (2 часа).**

**Тема:** «Внутриклеточные биологические процессы»

### **3.6.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Для регуляции некоторых клеточных функций наряду с генетическими используются ферментативные механизмы, основанные на прямом действии ингибиторов или активаторов тех или иных внутриклеточных ферментов. Таким образом, ферментативная регуляция представляет собой второй способ, используемый клеткой для контроля над течением биохимических процессов. Ингибирование ферментов. Некоторые внутриклеточные вещества непосредственно действуют на участвующие в их синтезе ферменты по механизму обратной связи. Синтезируемые в клетке вещества чаще всего действуют на первый фермент метаболической цепочки, а не на последующие, обычно связываясь с ним напрямую и вызывая аллостерические конформационные изменения,

которые и приводят к инактивации фермента. Нетрудно догадаться, почему инактивируется первый фермент — это предотвращает накопление ненужных промежуточных метаболитов. Ингибирование ферментов — еще один пример механизма отрицательной обратной связи. Он отвечает за регуляцию внутриклеточной концентрации множества аминокислот, пуринов, пиримидинов, витаминов и других веществ. Активация ферментов. Многие ферменты присутствуют в клетке в неактивном состоянии, но при необходимости активируются. В качестве примера можно привести истощение запаса АТФ, приводящее к накоплению большого количества продукта его распада — циклического аденозинмонофосфата.

В присутствии цАМФ сразу же активируется фермент фосфорилаза, расщепляющий гликоген до глюкозы. Последняя быстро метаболизируется, а ее энергия используется для пополнения запаса АТФ. Таким образом, цАМФ действует как активатор фермента фосфорилазы и поэтому является частью общего механизма регуляции внутриклеточной концентрации АТФ. Интересен пример активации и одновременного ингибирования ферментов синтеза пуринов и пиримидинов. Оба эти вещества нужны клетке для синтеза ДНК и РНК примерно в одинаковом количестве. Накопление пуринов приводит к ингибированию ферментов, отвечающих за их синтез, но при этом активирует ферменты синтеза пиримидинов. Точно так же пиримидины ингибируют «свои» ферменты и активируют ферменты пуринового синтеза. Благодаря постоянному взаимодействию двух этих систем ферментативного синтеза концентрация пуринов и пиримидинов в клетке всегда оказывается практически одинаковой. Итак, существуют два основных способа, посредством которых клетка поддерживает абсолютное и относительное содержание в ней разных веществ на необходимом уровне: (1) механизм генетической регуляции; (2) механизм ферментативной регуляции. Таким образом могут быть активированы или ингибированы как гены, так и ферменты. Эти механизмы чаще всего действуют как регуляторные системы обратной связи, которые непрерывно контролируют и при необходимости корректируют биохимический состав клетки. В ряде случаев регуляцию внутриклеточных биохимических процессов осуществляют вещества, содержащиеся вне клетки (особенно некоторые гормоны, уже упоминавшиеся в этой главе), путем активации или ингибирования одной или нескольких внутриклеточных регуляторных систем. Клеточное деление. Клеточное деление — еще один пример, иллюстрирующий универсальность ДНК в качестве регулятора всех клеточных процессов. Гены и генетические регуляторные механизмы определяют ростовые характеристики клеток, время начала деления клетки и способность ее к делению. Система генетической регуляции играет первостепенную роль на всех стадиях развития организма — от оплодотворенной яйцеклетки до самого конца жизни. Итак, если существует какая-то основа жизни, то это, конечно же, ДНК. Клеточный цикл. Под клеточным циклом понимают период между двумя последовательными делениями клетки. У клеток, которые обладают нормальной активностью и пролиферируют с максимальной возможной для них скоростью, клеточный цикл может составлять всего 10-30 ч. Окончанием цикла служит цепь клеточных превращений, называемая митозом, в результате которого одна клетка делится на две дочерние. Весь процесс митоза длится около 30 мин; более 95% клеточного цикла (даже если клетки делятся очень быстро) занимает время между митозами (так называемая интерфаза). Клетки почти постоянно находятся под действием ингибирующих факторов, которые замедляют или останавливают клеточный цикл, за исключением случаев, когда требуется их быстрое воспроизведение, поэтому продолжительность клеточного цикла колеблется в очень широких пределах — в зависимости от типа клеток. Так, для быстро обновляющихся гемопоэтических клеток она может составлять всего 10 ч, а для большинства нервных клеток клеточный цикл занимает весь период от рождения до смерти.

### **3.6.2 Результаты и выводы:**

## Результаты и выводы оформить в виде протоколов

### 3.7 Практическое занятие № 7 (2 часа).

**Тема:** «Сократимость. Мышечное сокращение»

#### 3.7.2 Краткое описание проводимого занятия:

У позвоночных и человека **три вида мышц**: поперечнополосатые мышцы скелета, поперечнополосатая мышца сердца – миокард и гладкие мышцы, образующие стенки полых внутренних органов и сосудов.

Анатомической и функциональной единицей скелетных мышц является **нейромоторная единица** - двигательный нейрон и иннервируемая им группа мышечных волокон. Импульсы, посылаемые мотонейроном, приводят в действие все образующие ее мышечные волокна.

**Скелетные мышцы** состоят из большого количества мышечных волокон. Волокно поперечнополосатой мышцы имеет вытянутую форму, диаметр его от 10 до 100 мкм, длина волокна от нескольких сантиметров до 10-12 см. Мышечная клетка окружена тонкой мембраной – **сарколеммой**, содержит **саркоплазму** (протоплазму) и многочисленные **ядра**. Сократительной частью мышечного волокна являются длинные мышечные нити – **миофибриллы**, состоящие в основном из актина, проходящие внутри волокна от одного конца до другого, имеющие поперечную исчерченность. Миозин в гладких мышечных клетках находится в дисперсном состоянии, но содержит много белка, играющего важную роль в поддержании длительного тонического сокращения.

В период относительного покоя скелетные мышцы полностью не расслабляются и сохраняют умеренную степень напряжения, т.е. **мышечный тонус**.

Основные **функции** мышечной ткани:

1. двигательная – обеспечение движения
2. статическая – обеспечение фиксации, в том числе и в определенной позе
3. рецепторная – в мышцах имеются рецепторы, позволяющие воспринимать собственные движения
4. депонирующая – в мышцах запасаются вода и некоторые питательные вещества.

**Физиологические свойства** скелетных мышц:

**Возбудимость.** Ниже, чем возбудимость нервной ткани. Возбуждение распространяется вдоль мышечного волокна.

**Проводимость.** Меньше проводимости нервной ткани.

**Рефрактерный период** мышечной ткани более продолжителен, чем нервной ткани.

**Лабильность** мышечной ткани значительно ниже, чем нервной.

**Сократимость** – способность мышечного волокна изменять свою длину и степень напряжения в ответ на раздражение пороговой силы.

При **изотоническом сокращении** изменяется длина мышечного волокна без изменения тонуса. При **изометрическом сокращении** возрастает напряжение мышечного волокна без изменения его длины.

В зависимости от условий стимуляции и функционального состояния мышцы может возникнуть одиночное, слитное (тетаническое) сокращение или контрактура мышцы.

**Одиночное мышечное сокращение.** При раздражении мышцы одиночным импульсом тока возникает одиночное мышечное сокращение.

Амплитуда одиночного сокращения мышцы зависит от количества сократившихся в этот момент миофибрилл. Возбудимость отдельных групп волокон различна, поэтому пороговая сила тока вызывает сокращение лишь наиболее возбудимых мышечных волокон. Амплитуда такого сокращения минимальна. При увеличении силы раздражающего тока в процесс возбуждения вовлекаются и менее возбудимые группы мышечных волокон; амплитуда сокращений суммируется и растет до тех пор, пока в мышце не останется волокон, не охваченных процессом возбуждения. В этом случае регистрируется максимальная амплитуда сокращения, которая не увеличивается, несмотря на дальнейшее нарастание силы раздражающего тока.

**Тетаническое сокращение.** В естественных условиях к мышечным волокнам поступают не одиночные, а ряд нервных импульсов, на которые мышца отвечает длительным, тетаническим сокращением, или **тетанусом**. К тетаническому сокращению способны только скелетные мышцы. Гладкие мышцы и поперечнополосатая мышца сердца не способны к тетаническому сокращению из-за продолжительного рефрактерного периода.

Тетанус возникает вследствие суммации одиночных мышечных сокращений. Чтобы возник тетанус, необходимо действие повторных раздражений (или нервных импульсов) на мышцу еще до того, как закончится ее одиночное сокращение.

Если раздражающие импульсы сближены и каждый из них приходится на тот момент, когда мышца только начала расслабляться, но не успела еще полностью расслабиться, то возникает зубчатый тип сокращения (**зубчатый тетанус**).

Если раздражающие импульсы сближены настолько, что каждый последующий приходится на время, когда мышца еще не успела перейти к расслаблению от предыдущего раздражения, то есть происходит на высоте ее сокращения, то возникает длительное непрерывное сокращение, получившее название **гладкого тетануса**.

**Гладкий тетанус** – нормальное рабочее состояние скелетных мышц обуславливается поступлением из ЦНС нервных импульсов с частотой 40-50 в 1с.

**Зубчатый тетанус** возникает при частоте нервных импульсов до 30 в 1с. Если мышца получает 10-20 нервных импульсов в 1с, то она находится в состоянии **мышечного тонуса**, т.е. умеренной степени напряжения.



**Утомление мышц.** При длительном ритмическом раздражении в мышце развивается утомление. Признаками его являются снижение амплитуды сокращений, увеличение их латентных периодов, удлинение фазы расслабления и, наконец, отсутствие сокращений при продолжающемся раздражении.

Еще одна разновидность длительного сокращения мышц - **контрактура**. Она продолжается и при снятии раздражителя. Контрактура мышцы наступает при нарушении обмена веществ или изменении свойств сократительных белков мышечной ткани. Причинами контрактуры могут быть отравление некоторыми ядами и лекарственными средствами, нарушение обмена веществ, повышение температуры тела и другие факторы, приводящие к необратимым изменениям белков мышечной ткани.

#### ***Физиологические особенности гладких мышц.***

Гладкие мышцы образуют стенки (мышечный слой) внутренних органов и кровеносных сосудов. В миофибриллах гладких мышц нет поперечной исчерченности. Это обусловлено хаотичным расположением сократительных белков. Волокна гладких мышц относительно короче.

Гладкие мышцы **менее возбудимы**, чем поперечнополосатые. Возбуждение по ним распространяется с небольшой скоростью – 2-15 см/с. Возбуждение в гладких мышцах может передаваться с одного волокна на другое, в отличие от нервных волокон и волокон поперечнополосатых мышц.

Сокращение гладкой мускулатуры происходит более медленно и длительно.

Рефрактерный период в гладких мышцах более продолжителен, чем в скелетных.

Важным свойством гладкой мышцы является ее большая **пластичность**, т.е. способность сохранять приданную растяжением длину без изменения напряжения. Данное свойство имеет существенное значение, так как некоторые органы брюшной полости (матка, мочевого пузыря, желчный пузырь) иногда значительно растягиваются.

Характерной особенностью гладких мышц является их **способность к автоматической деятельности**, которая обеспечивается нервными элементами, заложенными в стенках гладкомышечных органов.

Адекватным раздражителем для гладких мышц является их быстрое и сильное растяжение, что имеет большое значение для функционирования многих гладкомышечных органов (мочеточник, кишечник и другие полые органы)

Особенностью гладких мышц является также их **высокая чувствительность к некоторым биологически активным веществам** (ацетилхолин, адреналин, норадреналин, серотонин и др.).

Гладкие мышцы иннервируются симпатическими и парасимпатическими вегетативными нервами, которые, как правило, оказывают противоположное влияние на их функциональное состояние.

#### **Основные свойства сердечной мышцы.**

Стенка сердца состоит из 3 слоев. Средний слой (миокард) состоит из поперечнополосатой мышцы. Сердечная мышца, как и скелетные мышцы, обладает свойством возбудимости, способностью проводить возбуждение и сократимостью. К физиологическим особенностям сердечной мышцы относятся удлинённый рефрактерный период и автоматизм.

**Возбудимость сердечной мышцы.** Сердечная мышца менее возбудима, чем скелетная. Для возникновения возбуждения в сердечной мышце необходим более сильный раздражитель, чем для скелетной.

**Проводимость.** Возбуждение по волокнам сердечной мышцы проводится с меньшей скоростью, чем по волокнам скелетной мышцы.

**Сократимость.** Реакция сердечной мышцы не зависит от силы наносимых раздражений. Сердечная мышца максимально сокращается и на пороговое и на более сильное по величине раздражение.

**Рефрактерный период.** Сердце, в отличие от других возбудимых тканей, имеет значительно выраженный и удлинённый рефрактерный период. Он характеризуется резким снижением возбудимости ткани в период ее активности. Благодаря этому сердечная мышца не способна к тетаническому (длительному) сокращению и совершает свою работу по типу одиночного мышечного сокращения.

**Автоматизм сердца.** Вне организма при определенных условиях сердце способно сокращаться и расслабляться, сохраняя правильный ритм. Способность сердца ритмически сокращаться под влиянием импульсов, возникающих в нем самом, носит название *автоматизма*.

### 3.7.3 Результаты и выводы:

Результаты и выводы оформить в виде протоколов

## 3.8 Практическое занятие № 8 (2 часа).

**Тема:** «Мышечные белки. Деление клетки»

### 3.8.1 Краткое описание проводимого занятия:

Мышечные клетки имеют разнообразную структурную организацию и функциональные свойства. Принято различать поперечнополосатые, сердечные и гладкие мышечные клетки, но необходимо подчеркнуть, что в каждой из указанных групп имеется также большое разнообразие. Оно является выражением приспособительной специализации для выполнения разных функциональных задач, разных движений.

По скорости сокращения мышцы могут различаться в десятки тысяч раз. Самая высокая из них наблюдается у так называемых асинхронных летательных мышц некоторых насекомых. Так, у комара-дергуна частота взмахов крыльев может достигать 2200 в 1 с, так что полный цикл сокращения — расслабления должен совершаться не более чем за 0,45 мс. У этих мышц нет соответствия (синхронности) между нервными импульсами, являющимися естественной причиной сокращения, и мышечными сокращениями, на один импульс их может приходиться от 5 до 20. Это объясняется механическими резонирующими свойствами асинхронных мышц.

Среди синхронных мышц, у которых число сокращений соответствует числу импульсов, самыми быстрыми являются наружные глазные мышцы млекопитающих. Длительность их сокращения составляет 40—20 мс; для слитного сокращения этой мышцы необходима частота раздражения не менее 350 импульсов в 1 с. Длительность одиночной волны сокращения большинства поперечнополосатых мышц позвоночных и насекомых колеблется в пределах от 60 до 200 мс. Многие мышцы беспозвоночных, исчерченные и неисчерченные, сокращаются с такой же скоростью, что и скелетные мышцы позвоночных, но время расслабления у них, как правило, гораздо больше. Сокращения гладких мышц позвоночных могут длиться иногда секундами, а беспозвоночных — даже минутами. Наибольшей величиной укорочения (90% от исходной длины) обладают некоторые мышцы беспозвоночных. Скелетные мышцы позвоночных сокращаются на 20—70%, а двигательные мышцы насекомых всего лишь на 2—5% от исходной длины.

По величине развиваемого напряжения мышцы также значительно варьируют. Так, максимальное напряжение у скелетной мышцы лягушки равно  $3 \text{ кг/см}^2$ , у скелетной мышцы человека —  $4 \text{ кг/см}^2$ , а у гладкой части аддуктора двустворчатого моллюска —  $8 \text{ кг/см}^2$ .

Независимо от функциональных особенностей все мышечные клетки содержат большое количество специальных сократительных белков. Они составляют от 60 до 80% от общего содержания белка в мышце. Главными сократительными белками мышечных клеток являются фибриллярные белки миозин, актин, тропомиозин. Миозин и актин способны образовывать прочное комплексное соединение актомиозин. Свойства и количество указанных белков варьируют в различных мышечных клетках, коррелируя с их функциональными свойствами. От общего количества сократительных белков миозин составляет 55—60%, актин — 20—25% и тропомиозин — 4—30%. В поперечнополосатых мышцах тропомиозина содержится незначительное количество (3—8%), в гладких — гораздо больше (до 30%). В запирающих мышцах моллюсков, способных развивать большое напряжение в течение длительного времени (запирающий тонус), содержится около 30% сократительного белка парамиозина, по своим свойствам близкого к тропомиозину позвоночных.

Вместе с указанными главными сократительными белками обнаруживаются в незначительных количествах так называемые «минорные белки» — тропонин,  $\alpha$ -актин,  $\beta$ -актин,  $\Delta$ -белок, которые, по-видимому, являются регуляторными белками.

Сократительные белки в мышечных клетках организованы в протофибриллы, а в некоторых из них и в более сложные структуры — миофибриллы. В поперечнополосатых мышечных волокнах миофибриллы имеют поперечную исчерченность вследствие регулярного чередования в них протофибрилл разного сорта — тонких и толстых. В большинстве гладких мышц имеются толстые и тонкие протофибриллы, но у них отсутствует правильное, регулярное расположение, а поэтому нет и поперечной исчерченности. У моллюсков и кольчатых червей есть мышцы со спиральным расположением протофибрилл.

Поперечнополосатые мышечные волокна имеются не только в двигательном аппарате позвоночных, но также почти у всех типов беспозвоночных (кишечнополостные, черви, моллюски, членистоногие). Однако по строению и функциональным свойствам они значительно различаются. Даже среди поперечнополосатых мышечных волокон позвоночных одни приспособлены для быстрых фазных движений и характеризуются высокой АТФ-азной активностью, другие же осуществляют длительные тонические напряжения, они малоутомляемы и имеют высокоактивные окислительные ферменты.

Лучше всего состав и строение сократительной системы изучены в поперечнополосатом мышечном волокне позвоночных, а среди них — в скелетном волокне лягушки. Поэтому мы и рассмотрим его более подробно.

### 3.8.3 Результаты и выводы:

Результаты и выводы оформить в виде протоколов

### 3.9 Практическое занятие № 9 (2 часа).

**Тема:** «Источники энергии в клетке»

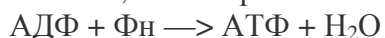
#### 3.9.1 Краткое описание проводимого занятия:

Извлечение энергии из питательных веществ — углеводов, белков, жиров происходит, в основном, внутри клетки. В ней все углеводы представлены глюкозой, белки — аминокислотами, жиры — жирными кислотами. В клетке глюкоза под влиянием энзимов цитоплазмы превращается в пировиноградную кислоту (в ходе анаэробного гликолиза).

В ходе этих превращений из одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы АТФ (не считая 2 молекул АТФ, фосфорилирующих субстрат). Превращение пирувата в 2 молекулы ацетилкоэнзима А (АцКоА) способствует образованию еще 6 молекул АТФ. И, наконец, АцКоА поступает в митохондрии и, окисляясь в них до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , образует еще 24 молекулы АТФ. Но не только пировиноградная кислота, а и жирные кислоты и большинство аминокислот превращаются в цитоплазме в АцКоА и также поступают в матрике митохондрий. В цикле Кребса АцКоА расщепляется до атомов водорода и окиси углерода. Окись углерода диффундирует из митохондрий, и далее из клетки. Атомы водорода соединяются с окисленным никотинамидадениндинуклеотидом (НАД<sup>+</sup>), формируя восстановленный НАД (НАДН), и с окисленным никотинамидадениндинуклеотид фосфатом (НАДФ<sup>+</sup>), формируя восстановленный НАДФН, а затем переносятся молекулами — переносчиками водорода от НАДН и НАДФН на систему ферментов внутренней митохондриальной мембраны.

В ходе передачи электронов в цепи переносчиков возрастают окислительно-восстановительные потенциалы — от отрицательных значений до потенциала восстановления  $\text{O}_2$ . Эта разница окислительно-восстановительных потенциалов и образует ту движущую силу, которая приводит к синтезу АТФ. Описанный перенос электронов и протонов от НАДН и НАДФН по цепи транспорта электронов называется окислительным фосфорилированием. Согласно хемиосмотической теории, объясняющей механизм образования энергии при окислительном фосфорилировании, в ходе передачи электронов по электронно-транспортной цепи, пара электронов три раза пересекает внутреннюю мембрану митохондрий, каждый раз перенося два протона наружу.

В результате возникает высокая концентрация протонов снаружи мембраны, и низкая — в матриксе митохондрий и, как следствие, разница в электрическом потенциале между наружным (имеющим положительный заряд) и внутренним (накапливающим отрицательный заряд) слоем мембраны. Оба эти фактора (электрическое поле и разность концентраций) формируют электрохимический трансмембранный протонный градиент, благодаря которому протоны начинают возвращаться назад через мембрану. Это обратное движение протонов осуществляется через мембранный белок, к которому присоединяется АТФ-синтетаза, расположенная на внутренней (матричной) стороне мембраны. Взаимодействие мембранного белка с АТФ-синтетазой активирует ее и сопровождается синтезом АТФ из аденозин-дифосфорной (АДФ) и фосфорной кислот (Фн). Следовательно, поток протонов через мембрану активирует реакцию:



Энергия протонного градиента также обеспечивает транспорт ионов кальция и натрия через мембрану митохондрий, восстановление в них НАДФ<sup>+</sup> с помощью НАДН, образование тепла. Молекулы АТФ, образовавшиеся в ходе гликолиза и окислительного фосфорилирования используются клеткой для обеспечения энергией почти всех внутриклеточных метаболических реакций.

Макроэргические фосфатные связи молекулы АТФ очень нестойки и концевые фосфатные группы легко отщепляются от АТФ, освобождая энергию (7-10 ккал/моль АТФ).

Энергия передается переносом отщепившихся, богатых энергией фосфатных групп на различные субстраты, ферменты, активируя их, расходуется на мышечное сокращение и т.п.

### **3.9.2 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

### **3.10 Практическое занятие № 10 (2 часа).**

**Тема:** «Метаболизм клетки»

#### **3.10.1 Краткое описание проводимого занятия:**

Под *метаболизмом* понимают постоянно происходящий в клетках живых организмов обмен веществ и энергии. Одни соединения, выполнив свою функцию, становятся ненужными, в других возникает насущная потребность. В различных процессах метаболизма из простых веществ при участии ферментов синтезируются высокомолекулярные соединения, в свою очередь сложные молекулы расщепляются на более простые.

Реакции биологического синтеза называются анаболическими (греч. *anabole* – подъем), а их совокупность в клетке — анаболизмом, или пластическим обменом (греч. *plastos* – вылепленный, созданный).

В клетке протекает огромное количество процессов синтеза: липидов в эндоплазматической сети, белков на рибосомах, полисахаридов в комплексе Гольджи эукариот и в цитоплазме прокариот, углеводов в пластидах растений. Структура синтезируемых макромолекул обладает видовой и индивидуальной специфичностью. Набор характерных для клетки веществ соответствует последовательности нуклеотидов ДНК, составляющих генотип. Для обеспечения реакций синтеза клетке требуются существенные затраты энергии, получаемой при расщеплении веществ.

Совокупность реакций расщепления сложных молекул на более простые носит название *катаболизма* (греч. *katabole* – разрушение), или энергетического обмена. Примерами таких реакций является расщепление липидов, полисахаридов, белков и нуклеиновых кислот в лизосомах, а также простых углеводов и жирных кислот в митохондриях.

В результате процессов катаболизма высвобождается энергия. Существенная ее часть запасается в виде высокоэнергетических химических связей АТФ. Запасы АТФ позволяют организму быстро и эффективно обеспечивать различные процессы жизнедеятельности.

Молекулы белков функционируют в организме от нескольких часов до нескольких дней. За этот период в них накапливаются нарушения, и белки становятся непригодными для выполнения своих функций. Они расщепляются и заменяются на вновь синтезируемые. Требуют постоянного обновления и сами клеточные структуры.

Пластический и энергетический обмены неразрывно взаимосвязаны. Процессы расщепления осуществляют энергетическое обеспечение процессов синтеза, а также поставляют необходимые для синтеза строительные вещества. Правильный обмен веществ поддерживает постоянство химического состава биологических систем, их внутренней среды. Способность организмов сохранять внутренние параметры неизменными носит название гомеостаза. Процессы метаболизма происходят в

соответствии с генетической программой клетки, реализуя ее наследственную информацию.

### **Энергетический обмен в клетке. Синтез АТФ**

Человек и животные получают энергию за счет окисления органических соединений, поступающих с пищей. Биологическое окисление веществ — это, по сути, медленное горение. Конечные продукты сгорания дров (целлюлозы) — углекислый газ и вода. Полное окисление органических веществ (углеводов и липидов) в клетках также происходит до воды и углекислого газа. В отличие от горения, процесс биологического окисления происходит постепенно. Высвобождающаяся энергия также постепенно запасается в виде химических связей синтезируемых соединений. Некоторая ее часть рассеивается в клетках, поддерживая необходимую для жизнедеятельности температуру.

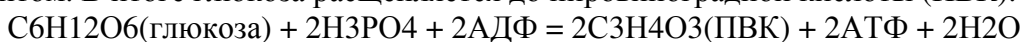
Синтез АТФ происходит главным образом в митохондриях (у растений еще и в хлоропластах) и обеспечивается в основном энергией, выделяющейся при расщеплении глюкозы, но могут использоваться и другие простые органические соединения — сахара, жирные кислоты и пр.

**Гликолиз.** Процесс расщепления глюкозы в живых организмах носит название гликолиза (греч. *glykys* сладкий + *lysis* расщепление). Рассмотрим основные его этапы.

На первой, предварительной стадии в лизосомах происходит образование простых органических молекул путем расщепления ди- и полисахаридов. Выделяющееся при этом небольшое количество энергии рассеивается в виде тепла.

Второй этап гликолиза происходит в цитоплазме без участия кислорода и называется анаэробным (бескислородным — греч. *ana* без + *aer*воздух) гликолизом — неполным окислением глюкозы без участия кислорода.

Бескислородный гликолиз представляет собой сложный многоступенчатый процесс из десяти последовательных реакций. Каждая реакция катализируется специальным ферментом. В итоге глюкоза расщепляется до пировиноградной кислоты (ПВК):



Глюкоза в этом процессе не только расщепляется, но и окисляется (теряет атомы водорода). В мышцах человека и животных две молекулы ПВК, приобретая атомы водорода, восстанавливаются в молочную кислоту  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ . Этим же продуктом заканчивается гликолиз у молочнокислых бактерий и грибов, применяемый для приготовления кислого молока, простокваши, кефира, а также при силосовании кормов в животноводстве. Процесс превращения ПВК в клетках микроорганизмов и растений в устойчивые конечные продукты называют брожением.

Так, дрожжевые грибки расщепляют ПВК на этиловый спирт и углекислый газ. Этот процесс, называемый спиртовым брожением, используют для приготовления кваса, пива и вина. Брожение других микроорганизмов завершается образованием ацетона, уксусной кислоты и т.д.

Главным результатом анаэробного гликолиза во всех организмах является образование двух молекул АТФ. Высвобождающаяся при расщеплении глюкозы энергия относительно невелика — 200 кДж/моль. Высокоэнергетичные связи АТФ запасают 40% этой величины. Остальные 60% рассеиваются в виде тепла. Основной выход энергии и молекул АТФ происходит на третьем, кислородном этапе гликолиза, называемом еще аэробным дыханием.

**Кислородный гликолиз.** При наличии достаточного количества кислорода дальнейший процесс расщепления ПВК происходит уже не в цитоплазме, а в митохондриях, и включает несколько десятков последовательных реакций, каждая из которых обслуживается своим комплексом ферментов.

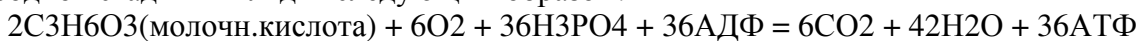
Молекулы ПВК под действием ферментов (и кофермента НАД — никотинамидадениндинуклеотида) поэтапно окисляются сначала до уксусной кислоты, а затем, в так называемом цикле Кребса (или трикарбоновых кислот), до углекислого газа и воды (медленное горение). В процессе окисления образуются сложные молекулярные

соединения с присоединенными к ним атомами водорода. Молекулы-переносчики подхватывают и перемещают электроны этих атомов по длинной цепи ферментов от одного к другому. На каждом шаге электроны вступают в окислительно-восстановительные реакции и отдают свою энергию, которая идет на перемещение протонов на внешнюю сторону внутренней мембраны митохондрии.

В результате оставшиеся протоны и перемещенные электроны оказываются на разных сторонах внутренней мембраны. На мембране создается разность потенциалов.

Фермент, синтезирующий АТФ (АТФ-синтетаза), встроен во внутреннюю мембрану по всей ее толщине. Этот фермент имеет характерную особенность: небольшой каналец в молекулярной структуре. При накоплении на мембране разности потенциалов примерно в 200 мВ ионы  $H^+$  начинают протискиваться через каналец в молекуле АТФ-синтетазы. В процессе энергичного продвижения ионов через фермент происходит синтез АТФ из АДФ с участием фосфорной кислоты.

В химических реакциях кислородного гликолиза освобождается большое количество энергии — 2600 кДж/моль. Существенная ее часть (55%) запасается в высокоэнергетичных связях образующихся молекул АТФ. Остальные 45% рассеиваются в виде тепла (поэтому при выполнении физической работы нам жарко). Итоговое уравнение кислородной стадии выглядит следующим образом:



Таким образом, кислородное расщепление резко увеличивает эффективность энергетического обмена и играет основную роль в аккумулировании энергии. Если гликолиз без участия кислорода дает только 2 молекулы АТФ, то кислородный гликолиз обеспечивает синтез 36 молекул АТФ. В итоге в полном цикле гликолиза на каждую молекулу глюкозы образуется 38 молекул АТФ.

При среднесуточных энергетических затратах в 10 тыс. кДж в организме человека ежедневно синтезируется около 170 кг АТФ, а содержится всего около 50 г АТФ, следовательно, возобновление запаса происходит с частотой 3400 раз в сутки!

При интенсивной физической работе клетки организма не успевают насытиться кислородом, и расщепление глюкозы ограничивается бескислородным гликолизом. В результате быстро накапливается молочная кислота — токсичное для нервных и мышечных клеток соединение (вспомним мышечные боли после тяжелой работы). Появление молочной кислоты возбуждает дыхательный центр и заставляет нас усиленно дышать. Насыщение клеток кислородом позволяет организму возобновить процесс кислородного расщепления, обеспечивающий необходимое количество энергии в виде молекул АТФ. Наступает "второе дыхание". Гепардам после интенсивного бега требуется продолжительный отдых, порой они оказываются не в состоянии защитить свою добычу от менее сильных хищников. В большой скорости восстановления кислородного запаса, а значит, в лучшей приспособленности к длительной мышечной активности — преимущество многих мелких животных.

Митохондрии способны использовать для синтеза АТФ не только расщепление глюкозы. В их матриксе содержатся также ферменты, расщепляющие жирные кислоты. Особенностью этого цикла является большой энергетический выход — 51 молекула АТФ на каждую молекулу жирной кислоты. Не случайно медведи и другие животные, впадая в спячку, запасают именно жиры. Любопытно, что часть запасаемого жира имеет у них бурый цвет. Такие жировые клетки содержат множество митохондрий необычного строения: их внутренние мембраны пронизаны порами. Ионы водорода свободно проходят через эти поры, и синтез АТФ в клетках бурого жира не происходит. Вся энергия, освобождающаяся в процессе кислородного расщепления жирных кислот, выделяется в виде большого количества тепла, согревающего животных во время долгой зимней спячки.

Бурый жир составляет не более 1-2% массы тела, но повышает производство тепла до 400 Вт на каждый килограмм веса (теплопроизводство человека в состоянии покоя

составляет 1 Вт/кг). Запасают жир и верблюды. При постоянном дефиците влаги это вдвойне выгодно, поскольку расщепление жиров дает еще и большое количество воды.

Кроме глюкозы и жирных кислот, митохондрии способны расщеплять аминокислоты, но они — дорогое топливо. Аминокислоты являются важным строительным материалом, из них организм синтезирует свои белки. К тому же использование аминокислот для синтеза АТФ требует предварительного удаления аминогруппы  $\text{NH}_2$  с образованием токсичного аммиака. Белки и составляющие их аминокислоты используются клеткой для получения энергии только в крайнем случае.

Этиловый спирт тоже может использоваться митохондриями для синтеза АТФ. Но спирт как "*топливо*" имеет для организма человека свои недостатки, постоянное употребление алкоголя приводит к тяжелым расстройствам, например, к жировому перерождению печени — циррозу.

### **3.10.2 Результаты и выводы:**

**Результаты и выводы оформить в виде протоколов**

## **4. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

### **ПО ПРОВЕДЕНИЮ СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ**

**Семинарские занятия не предусмотрены учебным планом**