

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
**федеральное государственное бюджетное учреждение**  
**«Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова»**  
**ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**Кафедра биологии**

ОДОБРЕНО  
Учебно-методическим советом  
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»  
Минздрава России

Протокол № 1/2022  
«25» января 2022 г.

УТВЕРЖДАЮ  
Директор Института медицинского  
образования  
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»  
Минздрава России  
Е.В. Пармон  
«25» января 2022 г.

**А.В. Карпушев, О.В. Калинина, А.А. Костарева**

**ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЯ КЛЕТКИ:**  
**ОТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ К ДИАГНОЗУ**

учебно-методическое пособие для обучающихся  
по проведению практических занятий  
**по дисциплине «Электрофизиология клетки:**  
**от фундаментальной биологии к диагнозу»**  
по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры)  
профиль программы: «Клеточная и молекулярная биология»

Санкт-Петербург

УДК 612:576

**Карпушев А.В., Калинина О.В., Костарева А.А. «Электрофизиология клетки: от фундаментальной биологии к диагнозу»: учебно-методическое пособие / А.В. Карпушев, О.В. Калинина, А.А. Костарева – СПб.: Издательство ... 2022. – 16 с.**

**Авторы:**

**Карпушев А.В.** – доцент кафедры биологии ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.б.н.;

**Калинина О.В.** – декан факультета биомедицинских наук ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, д.б.н.;

**Костарева А.А.** – директор института молекулярной биологии генетики ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.м.н.

**Рецензенты:**

**Вавилова Т.В.** – заведующий кафедрой лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им В.А. Алмазова» Минздрава России, д.м.н., профессор;

**Дмитриев А.В.** – директор ФГБНУ «ИЭМ», д.б.н., профессор РАН;

**Кравцов В.Ю.** – заведующий кафедрой биологии ФГБВОУ ВО ВМА им С.М. Кирова, д.б.н., профессор

Учебно-методическое пособие посвящено вопросам биоэлектрических явлений в живых организмах и структурно-функциональной организации ионных каналов возбудимых клеток. Рассмотрены физико-химические основы электрогенеза в клетке.

Цель учебно-методического пособия состоит в формировании у обучающихся знаний о разнообразии, строении и физиологической роли ионных каналов, методах их исследования; о патофизиологических механизмах, приводящих к нарушению работы ионных каналов и возможностях их фармакологической коррекции.

Пособие предназначено для обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры) при изучении дисциплины Электрофизиология клетки: от фундаментальной биологии к диагнозу.

Обсуждено на заседании кафедры биологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                 |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Введение.....                                                                                                                   |  |
| Практическое занятие №1. Мембранный потенциал покоя.<br>Потенциал действия.....                                                 |  |
| Практическое занятие №2. Потенциал-зависимый натриевый канал.<br>Биофизические параметры потенциал-зависимого натриевого канала |  |
| Практическое занятие №3. Эпителиальный натриевый канал.....                                                                     |  |
| Библиографический список.....                                                                                                   |  |

## ВВЕДЕНИЕ

*Продолжительность изучения дисциплины «Электрофизиология клетки: от фундаментальной биологии к диагнозу» – 72 часа:*

Лекции – 8 часов

Практические занятия – 24 часа

Самостоятельная работа – 40 часов

В данном учебно-методическом пособии представлены только практические занятия в объеме 10 часов.

*Цель* – ознакомить обучающихся с процессами электрогенеза на клеточных мембранах и со структурно-функциональной организацией ионных каналов клеток возбудимых тканей.

*Актуальность:* внести вклад в формирование следующих компетенций: УК-1, ОПК-2 (ОПК-2.1, ОПК-2.3), ПК-6 (ПК-6.1, ПК-6.3).

*Требования к результатам освоения блока:*

| Компетенция                                                                                                                                                                                | Индикатор                                                                                                            | Обучающийся должен знать                                                                                                                       | Обучающийся должен уметь                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| УК-1. Способен осуществлять критический анализ проблемных ситуаций на основе системного подхода, вырабатывать стратегию действий                                                           | УК-1.1. Анализирует проблемную ситуацию на основе системного подхода, выявляя ее составляющие и связи между ними     | современную научную литературу по проблемам биофизики ионных каналов и структурно-функциональном многообразии ионных каналов                   | анализировать проблемные ситуации по проблемам биофизики ионных каналов и структурно-функциональном многообразии ионных каналов |
| ОПК-2. Способен творчески использовать в профессиональной деятельности знания фундаментальных и прикладных разделов дисциплин (модулей), определяющих направленность программ магистратуры | ОПК-2.1. Применяет фундаментальные знания в сфере профессиональной деятельности для постановки и решения новых задач | теоретические основы электрогенеза на клеточной мембране, структурно-функциональные основы биофизики ионных каналов, строение, принципы работы | использовать методы электрофизиологических исследований                                                                         |
|                                                                                                                                                                                            | ОПК-2.3. Формулирует заключения и выводы по результатам анализа                                                      | теоретические основы регуляции потенциал-зависимых и лиганд-зависимых каналов, различные типы каналопатий,                                     | Формулировать выводы по результатам анализа электрофизиологических экспериментальных данных                                     |

|                                                                                                                                                                            |                                                                                                                |                                                                             |                                                                                                                                      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                            | литературных данных, собственных экспериментальных и расчетно-теоретических работ в избранной области биологии | связанных с нарушениями работы ионных каналов                               |                                                                                                                                      |
| ПК-6. Способен выбирать адекватные методы решения и осуществлять научные исследования в области молекулярной биологии с использованием современных технологических решений | ПК-6.1 Выбирает метод исследования в соответствии с целью и задачами исследования                              | биофизические, молекулярно-биологические методы исследования ионных каналов | выбирать биофизические, молекулярно-биологические методы исследования ионных каналов в соответствии с целями и задачами исследования |
|                                                                                                                                                                            | ПК-6.3 Способен выполнять лабораторные биологические исследования с использованием современной аппаратуры      | методы электрофизиологических исследований                                  | выполнять расчеты биофизических характеристик                                                                                        |

*Место проведения занятий и оснащение:* учебные аудитории, мультимедийные презентации, интерактивная доска, методические материалы.

*Межпредметные и внутрипредметные связи:* для изучения данной дисциплины необходимы знания, умения и практические навыки, полученные обучающимися в результате освоения образовательной программы по одному из направлений:

1. 06.03.01 Биология (уровень бакалавриата);
2. 19.03.01 Биотехнология (уровень бакалавриата).

В частности, для изучения данной дисциплины обучающимся необходимо предварительное освоение следующих дисциплин:

- «Биология клетки»;
- «Клеточная и молекулярная иммунология. Иммунопатогенез вирусных инфекций».

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 1

### МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОКОЯ. ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ

**Цель:** изучить механизмы генерации потенциала покоя и потенциала действия.

**Мотивация:** сформировать представление физиологической роли электрических потенциалов на мембране клеток возбудимых тканей.

**Продолжительность занятия:** 4 академических часа

**План занятия:**

Устный опрос: структура и функции клеточной мембраны.

Устный опрос: активный и пассивный транспорт веществ через клеточную мембрану.

3. Изучение темы: Мембранный потенциал покоя. Потенциал действия.

#### *Основные понятия*

**Ионное равновесие** – уравнивание перемещения ионов через мембрану по химическому градиенту (разница концентраций ионов по обе стороны клеточной мембраны) противоположным перемещением ионов по электрическому градиенту (разность потенциалов по обе стороны клеточной мембраны).

**Электрохимический градиент** – совокупность трансмембранной разницы в концентрации данных ионов и напряжения электрического поля (разности потенциалов между наружной и внутренней поверхностями клеточной мембраны), определяющая силу и направление ионного тока через ионный канал.

**Потенциал покоя** – трансмембранная разность электрических потенциалов, формирующаяся работой натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы (вынос из клетки ионов натрия и внос в клетку ионов калия в соотношении 3/2, т.е. создание трансмембранного градиента для этих ионов) и диффузией положительно заряженных ионов калия из клетки в окружающую среду по градиенту концентрации.

**Уравнение Нернста** – уравнение для расчета величины равновесного потенциала для данного иона при заданных вне- и внутриклеточной концентрациях.

$$E_{eq} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X]_{out}}{[X]}, \text{ где}$$

$E_{eq}$  – равновесный потенциал,

$R$  – газовая постоянная,

$T$  – абсолютная температура (в градусах Кельвина),

$F$  – константа Фарадея,

$z$  – валентность иона,

о

и  $[X]_{in}$  – концентрации ионов снаружи и внутри клетки.

**Уравнение Голдмана-Ходжкина-Катца** – уравнение для расчета величины мембранного потенциала покоя в зависимости от проницаемости клеточной мембраны для данных ионов и их вне- и внутриклеточной концентраций.

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln n, \text{ где}$$

$E_m$  – мембранный потенциал покоя,

$R$  – газовая постоянная,

$T$  – абсолютная температура (в градусах Кельвина),

$F$  – константа Фарадея,

$P$  – коэффициент мембранной проницаемости для ионов,

$n_{out}$  и  $[Na^+]_{in}$  – вне- и внутриклеточная концентрации ионов.

**Потенциал действия** – распространяющаяся без затухания волна деполяризации, сменяющаяся реполяризацией клеточной мембраны, возникающая вследствие активации потенциал-зависимых ионных каналов.

**Деполяризация** – уменьшение трансмембранной разности электрических потенциалов.

**Реполяризация** – восстановление после деполяризации трансмембранной разности электрических потенциалов.

**Гиперполяризация** — увеличение трансмембранной разности электрических потенциалов.

### **Контрольные вопросы**

1. Структурно-функциональная организация клеточной мембраны.
2. Типы транспортных мембранных белков.
3. Активный и пассивный транспорт веществ через клеточную мембрану.
4. Электрохимический градиент. Ионные механизмы формирования мембранного потенциала покоя.
5. Эквивалентная электрическая схема мембраны.
6. Уравнения расчета величины мембранного потенциала покоя.
7. Ионные токи потенциала действия.
8. Математическая модель описания генерации потенциала действия.
9. Математическое описание распространения потенциала действия.

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 2**  
**ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМЫЙ НАТРИЕВЫЙ КАНАЛ.**  
**БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ**  
**ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМОГО НАТРИЕВОГО КАНАЛА**

**Цель:** изучить структурно-функциональные свойства потенциал-зависимого натриевого канала.

**Мотивация:** сформировать представление о физиологической роли потенциал-зависимого натриевого канала.

**Продолжительность занятия:** 4 академических часа

**План занятия:**

Устный опрос: принципы строения и функции потенциал-зависимых каналов.

2. Изучение темы: Потенциал-зависимый натриевый канал.  
Биофизические параметры потенциал-зависимого натриевого канала.

***Основные понятия***

Основной функцией потенциал-зависимого натриевого канала является обеспечение входящего тока ионов натрия во время генерации потенциала. Активация натриевого канала происходит в ответ на деполяризацию мембраны.

Основным элементом, формирующим ион-проводящую пору канала, является  $\alpha$ -субъединица, построенная из четырех гомологичных функциональных доменов (DI-IV). Добавочная  $\beta$ -субъединица напрямую не участвует в реализации функции канала, но способна модулировать активность  $\alpha$ -субъединицы. Каждый из доменов  $\alpha$ -субъединицы содержит по шесть сегментов (S1, S2, S3, S4, S5, S6), пронизывающих клеточную мембрану, и структурно представляющих собой  $\alpha$ -спирали белковой молекулы. Сегменты S5-S6 вместе с соединяющими их внеклеточными P-петлями (участок молекулы, располагающийся между S4 и S5 каждого домена) формируют порообразующий модуль канала. Четыре таких петли с наружной стороны мембраны ограничивают узкий вход в пору канала, образуя фильтр селективности, обеспечивающий избирательное пропускание каналом ионов натрия. Сегменты S1-S4 образуют потенциал-чувствительные

модули. Сегмент S4 содержит большое количество положительно заряженных аминокислотных остатков, что позволяет ему выполнять функцию сенсора потенциала. Под действием электрического поля этот сегмент может сдвигаться, запуская сложные конформационные перестройки во всей молекуле канала, приводящие к его активации и последующей инактивации. В частности, сдвиг S4 приводит к смещению короткой внутриклеточной петли между третьим и четвертым доменами таким образом, что она закрывает пору канала с цитоплазматической стороны. Таким образом, именно эта петля выполняет функцию инактивационных ворот, обеспечивающих обсуждавшуюся выше так называемую быструю инактивацию. Существует также процесс медленной инактивации натриевого канала, имеющий другой молекулярный механизм, запускающийся при длительной деполяризации мембраны (сотни миллисекунд) и устраняющийся еще более длительной гиперполяризацией (несколько секунд).

При потенциале покоя каналы находятся в закрытом состоянии. Деполяризация мембраны вызывает переход канала в открытое состояние, что в свою очередь запускает механизм быстрой инактивации канала и его последующий переход в закрытое состояние.

### **Контрольные вопросы**

1. Структура и функция потенциал-зависимого натриевого канала.
2. Вольт-амперная характеристика потенциал-зависимого натриевого канала.
3. Быстрая и медленная составляющие инактивации потенциал-зависимого натриевого канала.
4. Оконный ток потенциал-зависимого натриевого канала.
5. Развитие медленной инактивации потенциал-зависимого натриевого канала и выход из состояния инактивации.

## ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ № 3

### ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЙ НАТРИЕВЫЙ КАНАЛ

**Цель:** изучить структурно-функциональные свойства эпителиального натриевого канала.

**Мотивация:** сформировать представление о физиологической роли эпителиального натриевого канала.

**Продолжительность занятия:** 2 академических часа

**План занятия:**

1. Изучение темы: Эпителиальный натриевый канал.

#### *Основные понятия*

Поддержание водно-электролитного баланса является основной функцией выделительной системы млекопитающих. Экскреция ионов и воды тонко регулируется целым рядом эндокринных факторов. Реабсорбция ионов натрия в почках играет центральную роль в поддержании солевого гомеостаза, определяя количество жидкости в системном кровотоке и в организме в целом. Основным лимитирующим фактором абсорбции натрия через эпителиальный слой в дистальной части нефрона является активность эпителиального натриевого канала (ENaC). Этот канал локализован на апикальной мембране эпителиальных клеток собирательных трубочек почки, а также прямой кишки и легких. Его физиологическую роль в долгосрочной регуляции системного кровяного давления демонстрируют наследственные формы гипертонических состояний, вызванных гиперактивностью ENaC, например, синдром Лиддла. Напротив, потеря функций канала в результате мутаций в субъединицах канала приводит к определенной форме псевдогипоальдостеронизма (PHA), выражающегося в гипотензии, гиперкалемии и общей потере солей.

ENaC является высокоселективным для ионов натрия гетеромерным каналом, состоящим из трех субъединиц,  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . Для формирования функционального канала необходимы все три субъединицы в соотношении 1:1:1. Субъединицы имеют сравнительно короткие внутриклеточные N- и C-

концы, примерно по 50–100 аминокислот, разделенные двумя трансмембранными доменами (TM1 и TM2) и большим (~450 аминокислот) внеклеточным доменом. Анализ последовательности цитоплазматических доменов показал, что С- и N-концевые участки  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц содержат консервативные мотивы, характерные для разных видов, включая человека, крысу, мышь и лягушку. Данные участки содержат положительно заряженные остатки лизина и аргинина и участвуют в регуляции активности канала. Так, упомянутые синдром Лиддла и пониженная активность канала вызываются мутациями в С- и N-концевых областях этих субъединиц.

Поддержание гомеостаза  $\text{Na}^+$  требует точной регуляции трансэпителиальной натриевой реабсорбции, осуществляемой через ENaC. Уровень реабсорбции натрия может широко варьировать в зависимости от потребностей организма и влияния окружающей среды. Активность ENaC, как и других ионных каналов, регулируется двумя фундаментальными механизмами:

- изменением вероятности открывания одиночных каналов ( $P_o$ ),
- изменением общего количества каналов в плазматической мембране.

Ряд эндокринных факторов регулирует с помощью различных внутриклеточных сигнальных каскадов количество и активность ENaC. Наиболее важный гормон, влияющий на интенсивность натриевой реабсорбции в дистальном нефроне, – минералокортикоид альдостерон. В клетках собирательных трубочек коркового вещества он вызывает увеличение синтеза ряда белков, ответственных за повышение активности ENaC. На данный момент установлено, что альдостерон увеличивает экспрессию SGK1, GILZ, WNK, PI3-киназы, USP2-45 и K-Ras. Альдостерон действует посредством: 1) контроля вероятности открытого состояния каналов на плазматической мембране и 2) стимулирования встраивания новых функциональных ENaC или замедления интернализации ENaC. Кроме того, описана активация работы ENaC под воздействием пептидов, образующихся при протеолизе  $\alpha$ - и  $\gamma$ -субъединиц самого канала. В целом, эндо-, пара- и

аутокринные факторы используют широкую сеть внутриклеточных сигналов для регуляции ENaC-зависимой натриевой реабсорбции в дистальном нефроне.

### **Контрольные вопросы**

1. Структура и функция эпителиального натриевого канала.
2. Биофизические характеристики эпителиального натриевого канала.  
Механизмы регуляции эпителиального натриевого канала.
4. Физиологическая и патофизиологическая роли эпителиального натриевого канала.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

### Основная литература:

1. Избранные лекции по нормальной физиологии / Selected Lectures on Normal Physiology: учебное пособие на русском и английском языках / Лапкин М. М., Трутнева Е. А. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – Текст: э
2. Клетки по Льюину / Л. Кассимерис [и др.] – М.: Лаборатория знаний, е
3. Нейрофизиология / Дегтярев В. П. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – Текст: электронный // URL:
4. Brody's Human Pharmacology/Wecker L. Sixth Edition. Copyright © 2019 by Elsevier Inc. – Текст: электронный//URL: <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20150057550>
5. Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside / Zipes D. P. Seventh Edition. Copyright © 2018 by Elsevier, Inc. – Текст: электронный//URL: <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20150040345>
6. Cell Biology, Pollard / Thomas D., Third Edition. Copyright © 2017 by Elsevier, Inc. – Текст: электронный // URL: <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20140002729>
7. С
- е
- l
- l
- и

### Дополнительная литература для углубленного изучения:

1. Биофизика: учебник для вузов / Под ред. В.Г. Артюхова – Москва: Академический Проект, 2020. – Текст: электронный//URL: Р
- h

2. Медицинская биология и общая генетика: учебник / Р.Г. Заяц, В.Э. Бутвиловский, В.В. Давыдов, И.В. Рачковская – Минск: Выш. шк.,
3. Нормальная физиология: учебник/под ред. Б.И. Ткаченко. – 3-е изд.,  
испр. и доп. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – Текст:  
э
4. Физиология возбудимых систем: Учебно-методическое пособие /  
Яковлева О.В., Яковлев А.В., Хазипов Р.Н., Ситдикова Г.Ф. – К., 2012. –  
Т
5. Цитология. Функциональная ультраструктура клетки. Атлас / Банин  
В
6. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology/A.L.  
К  
i  
e  
r  
s  
z  
e  
n  
b  
a  
u  
m

-

С

о

р

у

г

