**Практична робота 5.**

Холінергічний синапс побудований з пресинаптичної та постсинаптичної мембрани, між якими знаходиться синаптична щілина. На постсинаптичній мембрані знаходяться холінергічні рецептори (холінорецептори), які є специфічними білками з певною просторовою будовою. Утворення комплексу ацетилхолін-холінорецептор відповідає принципу структурної комплементарності.

*Перший крок* ***передачі нервового імпульсу в холінергічних нейронах***–це синтез ацетилхоліну: холінацетилтрансфераза каталізує реакцію холіну з ацетил-Ко-ензимом А (КоА) з утворенням Aцх.

На *другому етапі* передачі нервового імпульсу в холінергічних нейронах відбувається зберігання Aцх у везикулах (пухирцях): Aцх міститься у пресинаптичних пухирцях спільно з аденозинтрифосфорною кислотою і протеогліканами.

*Третім кроком* є виділенняAцх у синаптичну щілину.

*Четвертим кроком є* зв'язування Aцх (після його дифузії через синаптичний простір) із постсинаптичними рецепторами на клітинах-мішенях, або із пресинаптичними рецепторами на мембрані нейрона. Цей процес призводить до біологічних реакцій в клітинах, таких як ініціація нервового імпульсу в постгангліонарних волоконах, активація певних ферментів в ефекторних клітинах при посередництві вторинних месенджерів.

*П'ятий крок* нейротрансмісії в холінергічних нейронах – це розщеплення Aцх: ацетилхолінестераза (Ахе) руйнує Aцх до холіну та ацетату в синаптичній щілині.

*Шостий крок* є утилізація холіну: у нейроні холін ацетилюється у Aцх і зберігається до наступного потенціалу дії.

Розрізняють мускаринчутливі рецептори – М-холінорецептори і нікотинчутливі рецептори – Н-холінорецептори на поверхні ефекторних органів.

**Фізіологія синаптичної передачі в холінергічних синапсах**

Синтез медіатору здійснюється у закінченнях холінергічних нервів. Вихідними продуктами є холін і активований ацетат:



Поєднання цих продуктів у молекулу ацетилхоліну забезпечується спеціальним ферментом холінацетилазою, який локалізований в ос-новному у пухирцях, що містяться у цитоплазмі нервового закінчення. Необхідними умовами є надходження холіну й глюкози. Із глюкози утворюються АТФ і ацетат у процесі обміну глюкози. У мітохондріях утворюється ацетил-коензим А.

Синтезований ацетилхолін розподіляється в трьох пулах:

- зв`язаний пул, який непридатний до негайної мобілізації;

- слабозв`язаний пул, який здатний вивільнятися під час роботи;

- “гарячий” пул, який придатний для негайного вивільнення у синаптичну щілину.

Пресинаптична мембрана має близько 200-300 дифузійних каналів для ацетилхоліну. При надходженні імпульсу відбувається виділення іонів кальцію, які спричиняють скорочення везикул і викид медіатору.

Взаємодія ацетилхоліну з рецепторами обумовлена їх фізико-хімічною спорідненістю.

Одні холінорецептори можуть вибірково збуджуватися мускарином (отрутою з мухомора) і настільки ж селективно блокуватися алкалоїдом атропіном. Вони отримали назву мускариночутливих або скорочено - М-холінорецепторів. В інших органах рецептори постсинаптичної мембрани вибірково збуджуються малими дозами алкалоїду тютюну - нікотину і блокуються його великими дозами. Відповідно холінорецептори у цих синапсах мають назву нікотиночутливих, або скорочено - Н-холінорецепторів.

На сьогодні виявлено кілька різновидів М-холінорецепторів: М1, М2, М3, М4 і М5. Найбільш вивчені і важливі: М1, М2, М3.

Виділені різновиди Н-холінорецепторів: Nn і Nm. Кожний підтип має свою локалізацію не тільки в органах, але і в синапсі, та виконує свою строго специфічну функцію.

*Таблиця*

Локалізація та функціональне значення М-холінорецепторів

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Тип і підтип рецепторів** | **Локалізація** | **Реакція під час**  **активації** |
| М3 постсинаптичні | Закінчення постгангліонарних парасимпатичних волокон:  у гладеньких м`язах ШКТ, сечового тракту, бронхів, ока; | Скорочення |
| Закінчення постгангліонарних парасимпатичних волокон:  в екскреторних залозах (слинних, носоглоткових, бронхіальних, шлунку, кишечника). | Підвищення секреції |
| Закінчення постгангліонарних симпатичних волокон у потових залозах | Підвищення секреції |
| М2  постсинаптичні | Закінчення постгангліонарних парасимпатичних волокон у серці | Зниження автоматизму (брадикардія),  сповільнення провідності, послаблення скоротливості передсердь |
| М2 пресинаптичні | Пресинаптична мембрана закінчень парасимпатичних і симпатичних нервів | Гальмування викиду медіатору (ацетилхоліну і норадреналіну) |
| М1 позасинаптичні | 1 Мембрани клітин парасимпатичних і симпатичних гангліїв - рецептори з модулюючою функцією.  2 Ендотеліальні клітини судин, переважно скелетних м`язів, шкіри, підшкірного шару | Повільна деполяризація гангліонарних нейронів.  Секреція ендотеліального релаксуючого фактора і розширення судин |
| М1, М2, М3, М4, М5 | У ЦНС (підкіркові структури, ретикулярна формація, кора та ін.) | Різна реакція |

*Таблиця*

Локалізація та функціональне значення Н-холінорецепторів

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Тип та підтип** | **Локалізація** | **Реакція під час**  **активації** |
| Нn нейрональні | 1 Клітини симпатичних і парасимпатичних гангліїв (на постсинаптичній мембрані) | Деполяризація і збудження гангліїв |
| 2 Хромафінні клітини мозкового шару надниркових залоз | Секреція адреналіну та норадреналіну |
| 3 Хеморецептори каротидного клубочка, дуги аорти, коронарних артерій (аферентні нерви) | Рефлекторна стимуляція довгастого мозку (включаючи вагус) |
| 4 Пресинаптична мембрана закінчень парасимпатичних нервів (малозначущі) | Посилення викиду ацетилхоліну |
| 5 ЦНС (кора, продовгуватий, спинний мозок, нейрогіпофіз та ін.) | Активація функцій |
| Нm постсинап-тичні (м`язові) | Поперечносмугасті м`язи (скелетні, дихальні, голосових зв`язок та ін.) | Деполяризація мембран і скорочення |

Взаємодія ацетилхоліну і холінергічних засобів із холінорецепторами запускає різні механізми внутрішньоклітинної передачі сигналу.

М-холінорецептори входять до складної рецепторної системи, що містить такі елементи:

- поверхневу частину рецептора, що розпізнає медіатор;

- G-білок, розміщений на внутрішній поверхні мембрани;

- ферменти (аденілатциклаза або фосфорилаза С) або іонні канали мембрани.

Передача сигналу через М-холінорецептор на розміщені всередині клітини-ефектори (ферменти) здійснюється в кілька етапів:

- ацетилхолін взаємодіє з поверхневою частиною рецептора;

- рецептор активує G-білок;

- G-білок змінює функціональну активність мембранного ферменту або іонного каналу.

Через М3- і М1-холінорецептори, які спряжені з Gq-білками, ацетилхолін активує фосфоліпазу С; а через М2-холінорецептори, які спряжені з Gi-білком, пригнічує аденілатциклазу й одночасно через Go-білок активує калієві канали (посилений вихід калію з клітини спричиняє гіперполяризацію мембрани, що призводить до зниження збудливості клітини).

Потім до процесу залучаються вторинні внутрішньоклітинні посередники, такі як: інозитолтрифосфат (ІТФ), діацилгліцерол (ДАГ), іони кальцію Са2+, циклічний АМФ (активність останнього через   
М2-холінорецептори знижується).

Вторинні посередники переводять в активний стан відповідні фер-менти - протеїнкінази. Ті, у свою чергу, контролюють активність ряду внутрішньоклітинних ферментів і білків.

Н-холінорецептори утворені кількома поліпептидними субодиницями (2 альфа-, 1 бета-, 1 гамма- і 1 дельта-субодиниці). Кожний ланцюг перетинає мембрану 4 рази. Ці субодиниці утворюють полімер, в центрі якого розміщений натрієвий канал.

Для розуміння механізму спряження Н-холінорецепторів із функціями клітин необхідно знати, що в стані спокою мембрана має позитивний заряд на зовнішньому боці мембрани і негативний - на внутрішньому. Заряд обумовлений різницею в розподілі катіонів: концентрація іонів К+ всередині клітини більша, ніж у середовищі, яке оточує клітину. А концентрація іонів натрію - навпаки. Іони натрію тягнуть за собою аніони, які скупчуються біля внутрішньої поверхні мембрани й обумовлюють її негативний заряд.

Молекула ацетилхоліну зв`язується з двома α-субодиницями   
Н-холінорецептора, при цьому відкривається натрієвий канал. Іони натрію починають рухатися за градієнтом концентрації із зовнішнього середовища всередину клітини, що спричиняє деполяризацію мембрани й виникнення потенціалу дії. Іони калію поступово виходять назовні. При досягненні критичного рівня виникає швидка деполяризація, до процесу залучаються натрієві канали сусідніх ділянок мембрани, виникає потенціал, який поширюється у вигляді хвилі збудження по нервовій клітині. У поперечнопосмугованих м`язах потенціал дії викликає активацію Са2+-каналів, що супроводжується виходом іонів кальцію в цитоплазму із внутрішньоклітинних структур. Виникає взаємодія актину з міозином. Необхідно зазначити, що Nn- і Nm-ре-цептори мають тонкі відмінності в структурі.

Взаємодія ацетилхоліну з холінорецепторами дуже короткочасна (близько 2 мс). У холінергічних синапсах у пре- і постсинаптичних мембранах є специфічний фермент - ацетилхолінестераза (ХЕ), який здатний прискорювати гідроліз ацетилхоліну в мільйони разів. Фермент має активний центр із високою спорідненістю до ацетилхоліну. ХЕ розщеплює медіатор на холін і ацетат. Стан клітини повертається до вихідного рівня. Відбувається реполяризація мембрани. До роботи залучається Na+/K+-насос, який забезпечує видалення з клітини натрію й надходження калію. Відновлюється потенціал спокою.

У крові є інший різновид ферменту - несправжня холінестераза, яка синтезується в печінці й гідролізує різні ефіри, в тому числі й ліки (новокаїн, дитилін та інші). Цей фермент менш специфічний, він повільно інактивує ацетилхолін.