

§ 4.4. АКТИВАЦИЯ И ИНАКТИВАЦИЯ НАТРИЕВОЙ ПРОВОДИМОСТИ

Обратимся теперь к модельной теории активации и инактивации Na-проводимости. Такая теория предложена в работах [67—70].

В опытах на аксоне кальмара, проведенных методом фиксации напряжения на мембране, Ходжкин и Хаксли установили экспоненциальную зависимость между величиной начального изменения мембранного потенциала φ и пиковым значением натриевой проводимости g_{Na} [51]. Изменению φ на 4—6 мВ в сторону деполяризации отвечает e -кратное повышение g_{Na} . Можно предположить, что изменения ионной проводимости являются результатом влияния электрического поля на положение каких-то ионов в мембране. Считая, что проводимость g_{Na} пропорциональна доле этих ионов, смещенных мембранным потенциалом из исходного положения, получаем

$$g_{\text{Na}} = \frac{g_{\text{Na, max}}}{1 + b \exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT)}, \quad (4.51)$$

где z — валентность гипотетического иона, α — число, выражающее долю напряжения φ , действующего на ион при его перемещении, b — множитель, не зависящий от φ . В области $\varphi < 0$ получаем асимптотически

$$\ln g_{\text{Na}} \approx \text{const} + z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT. \quad (4.52)$$

Из начального угла наклона экспериментальной прямой $\ln g_{\text{Na}}(\varphi)$ получается $z\alpha \approx 6$ [51]. Параметр $z\alpha$ можно определить также из центральной части кривой (4.51) по ее наклону в точке $g_{\text{Na}} = 0,5g_{\text{Na, max}}$ [67]. Формула (4.51) хорошо согласуется с многочисленными экспериментальными данными, полученными на различных аксонах [71—73]. Параметр $z\alpha$, найденный по (4.52), имеет, согласно этим работам, значения от 3,6 до 6, по (4.51) — от 2 до 4,4. Среднее значение $z\alpha$ равно 3,5.

Как уже сказано (см. стр. 178), Ходжкин и Хаксли предполагали, что эти гипотетические ионы определяют активацию и инактивацию каналов для натрия и калия. Была высказана гипотеза о том, что эти ионы — ионы Ca^{++} . Действительно, известно, что изменения концентрации Ca^{++} сильно влияют на возбудимость нервных и мышечных клеток [74] (см. гл. 5). Было показано, что при пятикратном изменении концентрации ионов Ca^{++} кривые зависимости g_{Na} , g_{K} и инактивации от φ смещаются вдоль оси напряжения на 10—15 мВ. Понижение c_{Ca} смещает кривые в сторону меньших φ . Концентрация Ca^{++} в растворе сильно влияет на скорость уменьшения g_{Na} при снятии деполяризации. В цитируемой выше работе было выдвинуто предположение о блокировании каналов в мембране ио-

нами Ca^{++} . Отношение доли p каналов, закрытых кальцием, к доле открытых каналов $1 - p$

$$p/(1 - p) \propto c_{\text{Ca}} \exp(-2\alpha\varphi\mathcal{F}/RT), \quad (4.53)$$

где $\alpha\varphi$ — напряжение, под влиянием которого ионы Ca^{++} перемещаются от внешнего раствора к месту закрытия канала. Если это место расположено в середине мембраны, то $\alpha = 0,5$, если у внутреннего края, то $\alpha = 1,0$. Согласно (4.53) e -кратное изменение c_{Ca} эквивалентно изменению φ не менее, чем на 12,5 мВ (если $\alpha = 1,0$). Между тем опыт дает от 4,5 до 9 мВ [71—73, 75].

Вторая трудность «кальциевой гипотезы» связана со значением $z\alpha$ в формуле (4.51). α всегда меньше 1, z для Ca^{++} равно 2. Между тем из экспериментального значения $z\alpha \approx 3,5$ следует, что $z \geq 4$. Предположение о том, что в блокировке каналов участвуют пары ионов Ca^{++} наталкивается на существенное противоречие — получается смещение кривой $g_{\text{Na}}(\varphi)$, значительно превышающее наблюдаемое на опыте [67].

В работах [6, 19] исследовалось возбуждение мембраны аксона с помощью метода перфузии. Было установлено, что разбавление внешнего раствора изотоническим неэлектролитом повышает потенциал покоя. Аналогичное разбавление внутреннего раствора не оказывает влияния. Напротив, замена Cl^- во внешнем растворе на Br^- , SO_4^{--} и т. д. не влияет на потенциал покоя, а во внутреннем растворе она влияет на него. Следовательно, на внешней стороне мембраны имеется много фиксированных отрицательных зарядов, а на внутренней их мало. Возрастание внешней концентрации двухвалентных катионов стабилизирует состояние покоя, а ее уменьшение приводит к заметным флуктуациям мембранного потенциала. Ионы Ca^{++} оказываются необходимыми для сохранения мембраны в состоянии покоя. На этих основаниях предполагается, что мембрана обладает свойствами катионообменника — в состоянии покоя доступные для обмена отрицательно заряженные центры на внешней стороне мембраны заняты двухвалентными ионами Ca^{++} . При стимуляции возникает ионный обмен. Процесс возбуждения можно считать подобным фазовому переходу макромолекул мембраны из одной устойчивой конформации в другую. Обмен ионов Ca^{++} на Na^+ развивается кооперативно. Возбуждение триггерно стимулируется переносом внутрь ионов Na^+ , замещающих внешние ионы Ca^{++} , причем изменяется физико-химическая структура мембраны.

Проведем, пользуясь методом молекулярного поля, анализ статистической модели возбудимой мембраны [67]. Представим мембрану как совокупность периодически расположенных ячеек, каждая из которых может находиться в проводящем или

непроводящем состоянии. Проводимость мембраны пропорциональна доле ячеек, находящихся в проводящем состоянии. Предположим, что энергия взаимодействия двух соседних ячеек равна ϵ_{11} , если их состояния одинаковы, и ϵ_{10} , если они различны. Разность $\epsilon \equiv \epsilon_{11} - \epsilon_{10}$ является параметром кооперативности. Каждая ячейка может присоединить ион валентности z , который при перемещении из раствора в мембрану пересекает поле с разностью потенциалов $\alpha\phi$. Присоединение иона изменяет энергию ячейки на $U + z\alpha\phi\mathcal{F}$ (в расчете на моль) и делает ячейку непроводящей. В приближении молекулярного поля получаем

$$\frac{p}{1-p} \exp[v\epsilon(2p-1)/RT] \approx c_{Ca} \exp(-z\alpha\phi\mathcal{F}/RT), \quad (4.54)$$

где v — координационное число. Это выражение совпадает с (4.53) в отсутствие кооперативности (при $\epsilon = 0$). Из (4.54) следует, что

$$\left. \frac{dp}{d(\phi\mathcal{F}/RT)} \right|_{p=0.5} = -\frac{z\alpha}{2(2-\beta)}, \quad \beta \equiv \frac{v\epsilon}{RT}, \quad (4.55)$$

а так как $g_{Na} \propto 1-p$, то

$$\left. \frac{d(g_{Na}/g_{Na, \max})}{d(\phi\mathcal{F}/RT)} \right|_{g_{Na}=0.5g_{Na, \max}} = \frac{z\alpha}{2(2-\beta)}. \quad (4.56)$$

В отсутствие кооперативности, т. е. при $\beta = 0$, эта производная равняется $z\alpha/4$. Как уже сказано, опыт дает $z\alpha \approx 3,5$. Такой же наклон кривой $g_{Na}(\phi)$ можно получить из формулы (4.56) при любых $z\alpha < 4$, если задать соответствующее значение $\beta > 0$. Таким образом, наклон кривой $g_{Na}(\phi)$ можно объяснить при $z = 2$. Однако смещение кривой при изменении c_{Ca} с этим не согласуется. Из (4.54) следует условие смещения кривой

$$\ln c_{Ca} - z\alpha\phi\mathcal{F}/RT = \text{const}$$

и величина изменения ϕ при e -кратном изменении c_{Ca} равна $\Delta\phi = 25/z\alpha$ (в мВ) независимо от значения β . Совпадение этого значения $\Delta\phi$ с опытом получается лишь при $z\alpha \approx 3,5$.

Отсюда следует, что одновременное объяснение двух, несомненно связанных друг с другом эффектов, — формы кривой $g_{Na}(\phi)$ и смещения этой кривой при изменении c_{Ca} , нужно искать на основе другой модели. Резкое возрастание проводимости обусловлено перемещением внутри мембраны заряда величины $z \geq 4$, которое должно быть связано с десорбцией одного иона Ca^{++} . Если заряд совершает в поле работу $z\alpha\phi\mathcal{F}$, где $z\alpha = 3,5$, то для получения согласия с опытом надо принять близкое к нулю значение β , т. е. малую кооперативность или ее отсутствие.

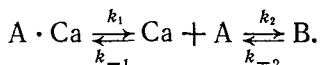
Модель, объясняющая основные экспериментальные факты, предложена в работе [68].

Допустим, что в мембране имеется N ячеек, каждая из которых содержит молекулу или группу молекул (активирующую частицу, способную находиться в состоянии*) A или B . Предположим, что переходы $A \rightleftharpoons B$ связаны с совершением работы в электрическом поле. Такие переходы могут состоять в перемещении заряженной молекулы, в поворотах диполей или в конформационном превращении макромолекулы, приводящем к одновременному перемещению нескольких зарядов. Последний вариант подтверждается опытами, свидетельствующими о наличии структурных изменений мембраны во время увеличения проницаемости [76, 77]. Если z — суммарный заряд, перемещаемый при переходе $A \rightarrow B$, то работа моля частиц равна $z\alpha\mathcal{F}$. Предположим, что в состоянии A частица образует комплексы $A \cdot Ca$ с ионами Ca^{++} . В состоянии B активирующая частица обладает такой структурой или положением, что способствует прохождению иона Na^+ через мембрану. Перенос Na^+ лимитируется числом частиц в состоянии B . Обозначим числа активирующих молекул в состояниях A и B через x и y , а число комплексов $A \cdot Ca$ через s . Имеем

$$g_{Na} = ky.$$

Таким образом, исследование временных изменений проводимости при сдвиге ϕ сводится к изучению зависимости $y(t)$.

Модели отвечает схема реакций



Имеем

$$K_2 = k_{-2}/k_2 = q \exp(-z\alpha\mathcal{F}/RT), \quad (4.57)$$

где q — фактор, не зависящий от поля.

Кинетические уравнения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{y} &= k_2x - k_{-2}y, \\ \dot{s} &= k_{-1}c_{Ca}x - k_1s, \\ x + y + s &= N. \end{aligned} \right\} \quad (4.58)$$

Из изложенного выше следует, что пиковый Na -проводимости соответствует значение y , близкое к равновесному значению y_{eq} . В стационарных условиях, т. е. при $\dot{y} = \dot{s} = 0$, из (4.58) получаем

$$y = y_{eq} = N/(1 + K_2 + K_1K_2c_{Ca}), \quad (4.59)$$

*) Здесь и далее сами частицы мы также будем обозначать через A , B и т. д.

где $K_1 = k_{-1}/k_1$. Учитывая значение K_2 , получаем

$$g_{Na} = ky_{eq} = g_{Na, \max} / \left[1 + (1 + K_1 c_{Ca}) q \exp \left(- \frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT} \right) \right], \quad (4.60)$$

где $g_{Na, \max} = kN$ (k — коэффициент пропорциональности). Как мы видели, экспериментальная форма кривой $g_{Na}(\varphi)$ хорошо описывается формулой такого вида, если $z\alpha \approx 3,5$. Смещение кривой (4.60) вдоль оси φ при изменении c_{Ca} дается условием

$$(1 + K_1 c_{Ca}) q \exp \left(- \frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT} \right) = \text{const}. \quad (4.61)$$

Если $K_1 \gg c_{Ca}^{-1}$, что согласуется с представлением о комплексах $A \cdot Ca$ как о резервуаре активных частиц [68], то из (4.61) следует

$$\ln c_{Ca} - \frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT} = \text{const} \quad (4.62)$$

и величина $\Delta\varphi$ при e -кратном изменении c_{Ca} равна $RT/z\alpha\mathcal{F}$, что дает 7 мВ при $z\alpha = 3,5$. Это хорошо согласуется с опытом [71, 73, 75]. Такие же смещения кривой $g_{Na}(\varphi)$ вызывают другие двухвалентные ионы: Mg^{++} , Co^{++} , Cd^{++} , Ba^{++} , Zn^{++} и Ni^{++} . Очевидно, что они могут замещать Ca^{++} в рассматриваемой модели.

Кривая $g_{Na}(\varphi)$ смещается также при изменении рН [63]. При рН < 5,5 $\Delta\varphi = 13,5$ мВ, при рН > 5,5 $\Delta\varphi = 1,3$ мВ при e -кратном изменении концентрации H^+ . Если ионы H^+ могут попарно связываться активирующими частицами в состоянии А, то их требуется в два раза больше, чем ионов Ca^{++} . Условие смещения (4.62) приобретает вид

$$\ln(1 + K_1 [H^+]^2) - z\alpha\mathcal{F}/RT = \text{const} \quad (4.63)$$

и, если $K_1 [H^+]^2 \gg 1$, то

$$2 \ln [H^+] - z\alpha\mathcal{F}/RT = \text{const}. \quad (4.64)$$

Увеличение $[H^+]$ в e раз равносильно уменьшению φ на величину

$$\Delta\varphi = 2RT/z\alpha\mathcal{F} = 2RT/3,5\mathcal{F} = 14 \text{ мВ},$$

что совпадает с опытными данными в области рН < 5,5.

При малых $[H^+]$, если $K_1 [H^+]^2 \ll 1$, формула (4.63) также приводит к совпадению с опытом [68].

В нестационарных условиях решение уравнений (4.58) имеет вид

$$y(t) = y_0 + y_1 \exp(r_1 t) + y_2 \exp(r_2 t). \quad (4.65)$$

Кривая, описываемая (4.65), имеет S-образную форму (рис. 4.26), что согласуется с видом экспериментальной кривой $g_{Na}(t)$. Константы y_i и r_i зависят от параметров системы k_i , k_{-i} , N , c_{Ca} . Подобрав численные значения констант, можно добиться полного согласия теоретической кривой (4.60) с экспериментальной. Аналитическое исследование $y(t)$ позволяет установить зависимость начальной скорости изменения $g_{Na}(0)$ от c_{Ca} . Расчет дает эту начальную скорость [68]

$$\dot{g}_{Na}(0) = -k_{-1} N c_{Ca} K_2 / (1 + K_2). \quad (4.66)$$

Опыт подтверждает линейную зависимость скорости падения g_{Na} от c_{Ca} при снятии деполяризации. Действительно, понижение c_{Ca} в пять раз от 112 до 22 мм уменьшает скорость изменения g_{Na} также в пять раз, а от 112 до 4,4 мм — в 25 раз. Из формулы (4.66) следует также, что, компенсируя уменьшение c_{Ca} изменением ϕ так, чтобы произведение $K_2 c_{Ca}$ оставалось постоянным, мы должны наблюдать уменьшение скорости падения g_{Na} , потому что K_2 входит еще и в знаменатель.

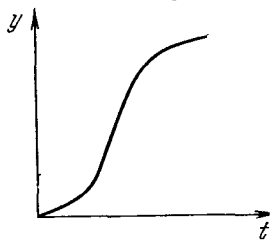


Рис. 4.26. График функции $y(t)$.

Та же модель позволяет рассчитать влияние c_{Ca} на кинетику подъема g_{Na} при возникновении деполяризации [68]. В согласии с опытом теория дает замедление скорости роста g_{Na} при увеличении c_{Ca} .

Таким образом, модель объясняет большую совокупность фактов, относящихся к Na-проводимости клеточной мембраны. Можно думать, что сходный физико-химический механизм определяет и изменения K-проводимости.

Рассмотрим теперь инактивацию Na-проводимости возбужденной мембраны.

Ходжкин и Хаксли высказали две альтернативных гипотезы о природе повышения g_{Na} [50]. Первая из них предполагает химическое превращение активирующих частиц после их перемещения из положения, которое они занимали при потенциале покоя. Вторая предполагает, что уменьшение g_{Na} обусловлено перемещением особых инактивирующих частиц, постепенно блокирующих каналы проводимости. Вторая гипотеза принята в теории Ходжкина — Хаксли (см. стр. 179). Модель, предложенная в работе [67], исходит из первой альтернативы.

При потенциале покоя активирующие частицы находятся преимущественно в состоянии S, когда они связаны с Ca^{++} и A. Эти состояния отвечают отсутствию Na-проводимости. При де-

поляризации мембраны происходит переход $A \rightarrow B$ в проводящее состояние, связанный с перемещением заряда z в поле $\alpha\mathcal{F}$. Из состояния B активирующая частица может переходить в неактивное состояние C . Этот переход не связан с перемещением заряда. После снятия деполяризации происходит переход $C \rightarrow S$ ($\equiv A \cdot Ca$) с работой заряда $z\alpha\mathcal{F}$. Схема этих процессов показана на рис. 4.27. Соответствующая система кинетических уравнений имеет вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= k_1s - k_{-1}xc_{Ca} + k_{-2}y - k_2x, \\ \dot{y} &= k_{-3}u - k_3y - k_{-2}y + k_2x, \\ \dot{u} &= -k_{-3}u + k_3y + k_{-4}s - k_4uc_{Ca}, \\ x + y + u + s &= 1. \end{aligned} \right\} \quad (4.67)$$

Здесь x, y, u, s — доли молекул в состояниях A, B, C, S ($\equiv A \cdot Ca$) соответственно. c_{Ca} — концентрация Ca^{++} в омывающем растворе. Как уже сказано, $g_{Na} = ky$ (см. стр. 196). Исследование изменений g_{Na} во времени сводится к определению $y(t)$.

Считая, что в реакции II быстро устанавливается равновесие (это согласуется с наблюдаемым влиянием c_{Ca} на кинетику активации), заменим первое уравнение (4.67) на

$$x = K_2y, \quad (4.68)$$

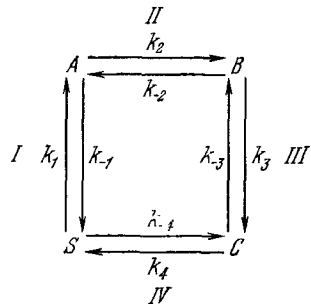


Рис. 4.27. Схема процесса активации и инактивации Na-проводимости [5].

где константа равновесия $K_i = k_{-i}/k_i$. Константы K_1 и K_3 , очевидно, не связаны с перемещением зарядов в поле и не зависят от ϕ . K_2 и K_4 должны зависеть от ϕ согласно формулам

$$K_2 = q_2 \exp(-z\alpha\mathcal{F}/RT); \quad K_4 = q_4 \exp(z\alpha\mathcal{F}/RT). \quad (4.69)$$

Система уравнений (4.67) приводится к виду

$$\left. \begin{aligned} \dot{y} &= \frac{k_1}{1+K_2} \left[1 - \left(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2 + \frac{k_3}{k_1} \right) y - \left(1 - \frac{k_{-3}}{k_1} \right) u \right], \\ \dot{u} &= k_{-4} \left[1 - \left(1 + K_2 - \frac{k_3}{k_{-4}} \right) y - \left(1 + c_{Ca}K_1K_2K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) u \right]. \end{aligned} \right\} \quad (4.70)$$

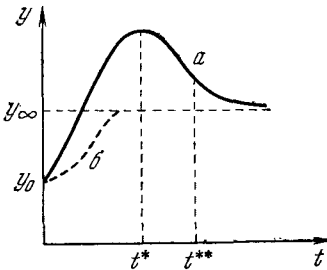
Нужно найти корни r_1, r_2 характеристического уравнения системы

$$r^2 + \left[\frac{k_1}{1+K_2}(1+K_2+c_{Ca}K_1K_2) + k_{-4} \left(1 + c_{Ca}K_1K_2K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) \right] r + \frac{k_1k_{-4}}{1+K_2} \left[(1+K_2+c_{Ca}K_1K_2) \left(1 + c_{Ca}K_1K_2K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) - \left(1 + K_2 - \frac{k_3}{k_{-4}} \right) \left(1 - \frac{k_{-3}}{k_1} \right) \right] = 0. \quad (4.71)$$

Комплексным корням соответствует переход системы в стационарное состояние в результате затухания колебаний около этого состояния. При фиксированном потенциале ионные токи не испытывают затухающих колебаний. Ищем решение (4.70) с вещественными корнями r_1 и r_2 . Они отрицательны и решение записывается следующим образом:

$$\begin{aligned} y(t) &= a_1 + b_1 \exp(-|r_1|t) + c_1 \exp(-|r_2|t), \\ u(t) &= a_2 + b_2 \exp(-|r_1|t) + c_2 \exp(-|r_2|t). \end{aligned} \quad (4.72)$$

Введя начальные значения $y_0, u_0, \dot{y}_0, \dot{u}_0$ и равновесные значения y_∞, u_∞ , отвечающие $t \rightarrow \infty$, получим



$$a_1 = y_\infty, \quad b_1 = \frac{\dot{y}_0 + r_2(y_\infty - y_0)}{r_1 - r_2},$$

$$c_1 = \frac{\dot{y}_0 + r_1(y_\infty - y_0)}{r_2 - r_1}$$

и аналогичные выражения для a_2, b_2, c_2 . Функция $y(t)$ может иметь максимум в момент времени

$$t^* = \frac{1}{r_1 - r_2} \ln \frac{r_2 [\dot{y}_0 + r_1(y_\infty - y_0)]}{r_1 [\dot{y}_0 + r_2(y_\infty - y_0)]}.$$

Рис. 4.28. Вычисленная зависимость $y(t)$, т. е. $g_{Na}(t)$.

a — кривая при наличии максимума, b — кривая без максимума.

Необходимые и достаточные условия существования максимума суть

$$\dot{y}_0 + r_1(y_\infty - y_0) > 0,$$

$$\dot{y}_0 + r_2(y_\infty - y_0) > 0.$$

Точка перегиба соответствует

$$t^{**} = \frac{1}{r_1 - r_2} \ln \frac{r_2^2 [\dot{y}_0 + r_1(y_\infty - y_0)]}{r_1^2 [\dot{y}_0 + r_2(y_\infty - y_0)]}.$$

$t^{**} > t^*$, т. е. точка перегиба лежит вправо от максимума (рис. 4.28). Если условия появления максимума не выполнены, то кривая имеет лишь перегиб (кривая b на рис. 4.28). Сказанное относится и к $u(t)$. В системе уравнений (4.70) при начальных условиях $y_0 \approx u_0 \approx 0$ получается $\dot{y}_0 \approx k_1/(1+K_2)$, $\dot{u}_0 \approx k_{-4}$.

Из опыта известно, что инактивация развивается существенно медленней, чем активация. Поэтому следует предположить, что скорости реакций III и IV (см. рис. 4.27) малы по сравнению со скоростями реакций I и II, т. е.

$$k_1, k_{-1}, k_2, k_{-2} \gg k_3, k_{-3}, k_4, k_{-4}. \quad (4.73)$$

Поэтому $\dot{y}_0 \gg \dot{u}_0$ и $y(t)$ имеет вид кривой *a* (см. рис. 4.28). Если бы мы отказались от принятого адиабатического приближения, то кривая $y(t)$ имела бы второй перегиб при $t < t^*$ (кривая *b* на рис. 4.28, ср. рис. 4.26).

Максимальное значение y равно

$$y_{\max} = y_{\infty} - \frac{\dot{y}_0 + r_2(y_{\infty} - y_0)}{r_2} \left[\frac{\dot{y}_0 + r_1(y_{\infty} - y_0)}{\dot{y}_0 + r_2(y_{\infty} - y_0)} \frac{r_2}{r_1} \right]^{r_1/(r_1-r_2)}. \quad (4.74)$$

При выполнении условий (4.73) находим из (4.71)

$$\begin{aligned} r_1 &\approx - \frac{k_1(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)}{1 + K_2}, \\ r_2 &\approx - \frac{k_{-4}c_{Ca}K_1K_2 + k_3}{1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2} - c_{Ca}k_4 - k_{-3}. \end{aligned} \quad (4.75)$$

Следовательно, $|r_1| \gg |r_2|$, $r_1/(r_1 - r_2) \approx 1$ и формула (4.74) сильно упрощается:

$$y_{\max} \approx y_0 - \frac{1}{r_1} \dot{y}_0. \quad (4.76)$$

Подставляя в (4.76) значение \dot{y}_0 из (4.70), получаем в конечном счете

$$y_{\max} = \frac{1 - u_0}{1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2} \quad (4.77)$$

и в пределе $u_0 \rightarrow 0$

$$y_{\max}^* = \frac{1}{1 + (1 + c_{Ca}K_1) q_2 \exp(-\alpha\phi\mathcal{F}/RT)}. \quad (4.78)$$

Последняя формула совпадает с (4.60). Начальное значение u_0 может отличаться от 0, оно зависит от исходного состояния мембраны. Стационарное значение u_0 , получаемое из (4.70) при $\dot{y} = \dot{u} = 0$, равно

$$u_0 = u_p = \frac{1}{1 + K_3 + (1 + c_{Ca}K_1) K_2 p K_3}. \quad (4.79)$$

K_{2p} соответствует мембране, на которой достаточно долго сохранялся предварительный потенциал ϕ_p . Введем отношение

$$\omega = y_{\max} / y_{\max}^* = 1 - u_0.$$

Его значение для стационарного u_0

$$\omega_\infty = \frac{1}{1 + \exp(z\alpha\varphi_p \mathcal{F}/RT)/q_2(1 + c_{Ca}K_1)K_3}. \quad (4.80)$$

Эмпирическая зависимость, найденная Ходжкином и Хаксли, имеет вид

$$\omega_\infty = \frac{1}{1 + \exp(\varphi_p/7)/\exp(\varphi'_p/7)}, \quad (4.81)$$

где φ'_p — эмпирическое значение φ_p , отвечающее $\omega = 0,5$ (величины φ_p и φ'_p в мВ).

Как мы видели $z\alpha \approx 3,5$, $RT/\mathcal{F} \approx 25$ мВ. Коэффициент при φ_p в теоретической формуле (4.80), определяющий форму кривой $\omega_\infty(\varphi_p)$, действительно равен $z\alpha\mathcal{F}/RT = 3,5/25 \approx 1/7$ мВ. Фактор $\exp(-\varphi'_p/7)$ в эмпирической формуле задает положение кривой $\omega_\infty(\varphi_p)$ относительно оси φ_p . Сравнивая (4.80) и (4.81), находим

$$\exp(\varphi'_p/7) = q_2(1 + c_{Ca}K_1)K_3.$$

Положение кривой стационарной инактивации зависит от c_{Ca} . Если $c_{Ca}K_1 \gg 1$, то должно быть

$$c_{Ca}^{-1} \exp(z\alpha\varphi_p \mathcal{F}/RT) = \text{const.}$$

Это значит, что e -кратное увеличение c_{Ca} может быть скомпенсировано уменьшением φ_p на величину $\Delta\varphi_p = RT/z\alpha\mathcal{F} \approx 7$ мВ. Опыт дает $\Delta\varphi_p = 6,3 - 7,8$ мВ [75].

Рассмотрим теперь развитие процесса инактивации во времени. Если мембрана выдерживалась при потенциале φ_p недостаточно долго, то u_0 в выражении $\omega = 1 - u_0$ зависит от длительности предварительного импульса, $u_0 = u(t_p)$. При $t_p = 0$ мембрана находится в состоянии покоя (соответствующие величины снабжаются верхним индексом ноль). Из (4.72) и значений a_2 , b_2 , c_2 следует с учетом малости начальной скорости изменения

$$\dot{u}(t_p) = u_p + \frac{r_1}{r_2 - r_1} (u_p - u^0) \left[\exp(-|r_2|t_p) - \frac{r_2}{r_1} \exp(-|r_1|t_p) \right] \quad (4.82)$$

и, так как $|r_2| \ll |r_1|$, то

$$u(t_p) \approx u_p + (u^0 - u_p) \exp(-|r_2|t_p),$$

т. е.

$$\omega \approx 1 - u_p - (u^0 - u_p) \exp(-|r_2|t_p).$$

Мы видим, что если мембрана до подачи тестового потенциала была гиперполяризована, т. е. $u_p < u^0$, то пиковый Na-ток ра-

стет экспоненциально с ростом t_p ; если же $u_p > u^0$ (деполяризация), то он экспоненциально убывает (рис. 4.29). Именно такой ход экспериментальных инактивационных кривых наблюдался в работе [79]. В этой работе вводится величина τ_h , равная в излагаемой теории $|r_2|^{-1}$. Расчет дает

$$\tau_h = |r_2|^{-1} = \frac{1}{k_{-3} + c_{Ca}k_4} \frac{K_3(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)}{1 + K_3(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)} \quad (4.83)$$

или, согласно (4.79),

$$\tau_h = \frac{\omega_\infty}{k_{-3} + c_{Ca}k_4}. \quad (4.84)$$

Теория Ходжкина — Хаксли (см. стр. 177) дает

$$\tau_h = \omega_\infty/\kappa,$$

где κ — константа скорости выхода из инактивированного состояния. Знаменатель теоретической формулы (4.84) имеет тот же смысл. В теории Ходжкина — Хаксли зависимость параметров от φ подбирается искусственно с целью получения согласия с опытом; в излагаемой теории эта зависимость имеет непосредственное физическое содержание. Напишем (ср. (4.69))

$$k_4 = v_4 \exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/2RT),$$

$$k_{-4} = v_{-4} \exp(z\alpha\varphi\mathcal{F}/2RT).$$

Как уже сказано, предполагается, что реакция смещена в сторону С, т. е. $k_{-3}/k_3 \ll 1$. При малых k_{-3} знаменатель в (4.84) приблизительно равен (φ измеряется в милливольтях)

$$c_{Ca}k_4 = c_{Ca}v_4 \exp(-\varphi/14).$$

Опыт дает $\kappa = 0,07 \exp(-\varphi/20)$.

Согласно теоретической формуле (4.83) $\tau_h(\varphi)$ представляется произведением двух противоположно направленных S-образных кривых, т. е. $\tau_h(\varphi)$ имеет колоколообразную форму. При $\varphi \rightarrow -\infty$ $\tau_h \rightarrow 0$, при $\varphi \rightarrow \infty$ $\tau_h \rightarrow k_3^{-1}$. Такую же форму имеет экспериментальная кривая.

Согласно (4.83), максимум кривой $\tau_h(\varphi)$ смещается в сторону больших φ с увеличением c_{Ca} . Именно такое влияние Ca^{++} на величину τ_h наблюдалось в работе [75].

Таким образом, описанные кинетические модели действительно дают количественное описание большой совокупности

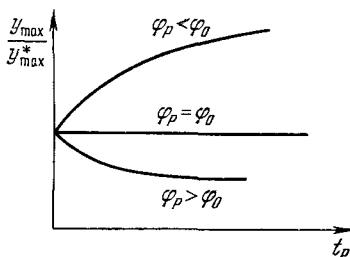


Рис. 4.29. Зависимость пикового Na-тока от длительности предварительного импульса — потенциала φ_p . φ_0 — потенциал покоя.

явлений, наблюдаемых при генерации потенциала действия — при активации и инактивации мембраны. Вскрывается взаимосвязь различных явлений. Изложенная теория согласуется с экспериментальными фактами. Основная ее идея состоит в том, что переходы $A \rightleftharpoons B$ и $S \rightleftharpoons C$ связаны со структурными превращениями мембраны. Основным параметром теории — величина $\alpha\phi$. Опыт показывает, что при изменении проводимости мембраны аксона, при ее возбуждении, происходят структурные изменения. В работах [76, 80] наблюдались изменения рассеяния света. Тасаки и сотрудники наблюдали изменения флуоресценции [77], Берестовский и др. — изменение двулучепреломления мембраны аксона, вызванное появлением потенциала действия [81].

Прямые доказательства перемещения заряженных частиц, входящих в структуру мембраны, под действием поля были получены впервые Армстронгом и Безанилья, а затем изучены ими и другими исследователями более подробно [82, 83, 97].

При смещении мембранного потенциала в положительную сторону наблюдается изменение проводимости, при смещении в отрицательную сторону изменения нет. Следовательно, имеются «активационные ворота» — это свойство мембран нелинейно. Для нахождения реального тока заряженных частиц необходимо, во-первых, выделить нелинейные компоненты мембранного тока, и, во-вторых, связать их с процессом активации.

Чтобы обнаружить малый компонент трансмембранного тока, необходимо исключить мощные ионные токи, основную часть которых составляют токи Na^+ и K^+ . В цитированных работах эти ионные токи подавлялись путем замены проникающих ионов непроникающими. Ионы Na^+ в наружном растворе заменялись ионами трис (оксиметил) метиламмония, а ионы K^+ — ионами Cs^+ . Использовался также эффект Коля и Мура [97], позволяющий существенно замедлить развитие K -тока с помощью большой предварительной гиперполяризации мембраны.

Для устранения линейных токов утечки и емкостных токов применен метод алгебраического сложения сигналов, полученных от двух скачков потенциалов, равных по величине, но противоположных по знаку. Получающиеся суммарные токи очень малы. Поэтому для улучшения соотношения «сигнал — шум» применялась техника суммирования сигналов. Суммировались и усреднялись ответы от сотен и даже тысяч пар сигналов.

Каков источник зарегистрированных таким методом токов? Армстронг и Безанилья подробно доказывают, что это не токи ионов, приходящих из раствора. Следовательно, это токи смещения зарядов, являющихся структурной частью мембраны. Кейнес и Рохас [83] приводят следующие аргументы в пользу того, что наблюдаемые токи являются токами смещения: 1) суммарный заряд, смещенный при включении деполаризующего по-

тенциала, с большой точностью равен суммарному заряду, смещенному при снятии деполяризации; 2) смещенный заряд, возросшая с увеличением приложенного потенциала, достигает предельной величины при достаточно больших импульсах; 3) понижение температуры не меняет полного заряда, перенесенного при прохождении импульса данной величины, хотя константа времени имеет большой температурный коэффициент.

Идентификация несимметричных токов смещения с процессами, управляющими развитием Na-тока, требует детального и разностороннего изучения свойств этих токов. В пользу связи между обоими процессами говорит близость их временных констант (200—400 мкс). В аксонах, не дающих Na-тока («dead axon pattern»), не наблюдаются и асимметричные токи смещения. Внутренняя перфузия 10 М раствором $ZnCl_2$ обратимо подавляет Na-ток и несимметричный ток смещения. Ряд других свойств, по которым можно идентифицировать эти процессы, является в настоящее время предметом дискуссии. Требуются дальнейшие исследования, чтобы установить, каков механизм участия зарядов, дающих несимметричные токи смещения, в изменениях Na-проводимости.

Процессы, определяющие изменения Na-проводимости, изучаются также на основе исследования влияния на нее различных ионов. Выше рассмотрено влияние Ca^{++} и H^+ (см. стр. 196). Ионообменные процессы, как уже не раз указывалось, весьма существенны для поведения мембран. Эдельман и Палти изучали влияние ионов K^+ в окружающем растворе на инактивацию Na^+ -проводимости [84]. Параметр инактивации ω_∞ убывает с ростом концентрации K^+ , временная постоянная τ_h возрастает. Эти и другие явления также удается объяснить на основе кинетической модели, учитывающей ионный обмен [70]. Модель предполагает, что центры, определяющие мембранную проводимость, могут существовать в двух состояниях. При переходе из одного состояния в другое производится работа заряда в электрическом поле. Одно из этих состояний (S) стабилизируется ионами Ca^{++} . При их замене ионами Na^+ или K^+ центр приобретает способность к быстрому переходу в другое состояние, что приводит к высокой Na-проводимости, если ионы Na^+ связаны с этим центром. Связывание K^+ переводит центр в состояние инактивированной Na-проводимости.

Сходная схема может объяснить действие других ионов на g_{Na} , в частности, ингибирующее действие яда — тетродотоксина.

Кинетические модели не дают, конечно, полного молекулярного истолкования обсуждаемых явлений. Здесь необходима дальнейшая экспериментальная работа, раскрытие тонких количественных закономерностей. Но можно считать установленным.

что в соответствии с развиваемыми представлениями о конформационных свойствах мембран (см. § 3.8), их функциональные участки переходят из одних состояний в другие и эти переходы зависят от внешнего поля и ионного окружения.

Физика нервного импульса изложена также в обзоре [98].

§ 4.5. СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА

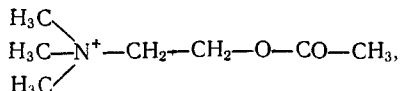
Когда импульс достигает окончания нервного волокна, он должен либо произвести свое действие, скажем, в нервно-мышечном (мионевральном) соединении, индуцируя мышечное сокращение, либо перейти на другое нервное волокно. И в том и в другом случае реализуется синаптическая передача импульса с одной клетки на другую. Синапс представляет собой функциональный контакт двух возбудимых клеток, каждая из которых заключена в отдельную мембрану.

Современная биология располагает богатой цитологической, биохимической и физиологической информацией о синаптической передаче. Эти данные изложены, в частности, в монографии Катца [5] и в обзоре [85]. Они пока недостаточны для построения молекулярной физической теории соответствующих явлений, но позволяют наметить пути ее развития.

Расстояние между пресинаптической и постсинаптической мембранами, *синаптическая щель*, может достигать 150—200 Å. В мионевральном соединении разрыв еще больше — до 500—1000 Å. Вместе с тем существуют синапсы с сильно сближенными и даже сливающимися пресинаптической и постсинаптической мембранами. Соответственно реализуются два типа передачи импульса — при больших щелях передача имеет химический характер, при тесном контакте возможно прямое электрическое взаимодействие. Здесь мы рассмотрим химическую передачу.

При химической передаче электрический импульс, дошедший до окончания волокна, включает специфический химический механизм, усиливающий электрический сигнал. Такой механизм состоит в освобождении некоторого химического вещества, *медиатора*, синтезируемого и запасаемого в нервных окончаниях, в его рецепции специфическими центрами постсинаптической мембраны и, как результат этой рецепции, изменении ее проницаемости, вследствие чего появляется новый импульс.

Установлено, что медиатором служит прежде всего ацетилхолин (АХ)



а также другие родственные соединения (карбахол, сукцинил-