

НОВОЕ
В ЖИЗНИ, НАУКЕ,
ТЕХНИКЕ

ЗНАНИЕ



12/1977

СЕРИЯ
ФИЗИКА

В. С. Маркин
Ю. А. Чизмаджев
ФИЗИКА
НЕРВНОГО
ИМПУЛЬСА

НОВОЕ
В ЖИЗНИ, НАУКЕ,
ТЕХНИКЕ

Серия «Физика»
№ 12, 1977 г.
Издается ежемесячно с 1946 г.

В. С. Маркин,
доктор физико-математических наук
Ю. А. Чизмаджев,
доктор химических наук

ФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЗНАНИЕ»
Москва 1977

Маркин В. С. и Чизмаджев Ю. А.

М 26 Физика нервного импульса. М., 1977.

64 с. (Новое в жизни, науке, технике. Серия «Физика», 12. Издается ежемесячно с 1946 г.)

Брошюра посвящена одной из актуальных проблем биофизики — исследованию природы нервного возбуждения, анализу механизмов этого сложного явления.

Применение современных экспериментальных методов позволило проследить за весьма тонкими деталями процесса электрического возбуждения и в результате глубже проникнуть в его сущность.

Брошюра рассчитана на читателей, интересующихся достижениями современной физики.

20407

537

Введение

Современная биология развивается не менее стремительно, чем физика в начале XX в. Успехи эти стали возможными благодаря использованию новейших физических и физико-химических методов исследования. Наряду с такими разделами биологии, как молекулярная генетика, синтез белка и ферментативный катализ, все более важное значение приобретают исследования в области биологических мембран. Функции клеточных мембран крайне многообразны. Среди них одной из главнейших является генерация и проведение нервных импульсов.

Проблема нервного импульса имеет богатую и временами драматическую историю. В XVII в. считалось, что нервные волокна служат каналами передачи информации от головного мозга к мышцам. Относительно природы носителя информации высказывались различные предположения, которые отражали уровень научных представлений каждой эпохи.

Приведем в качестве иллюстрации очень любопытное высказывание Декарта: «Животные духи, напоминающие очень тонкую жидкость или, скорее, исключительно чистое и подвижное пламя, которое непрерывно возникает в сердце, направляется в мозг как в особый резервуар. Отсюда они выходят в нервы, достигают по ним мышц, вызывая сокращения или расслабления в зависимости от качества этих духов».¹

Физиологи, уже вооруженные микроскопом, склонялись к тому мнению, что нервное волокно — это трубка,

¹ Мы цитируем по прекрасной вводной статье А. В. Лебединского к «Избранным работам о животном электричестве» Гальвани и Вольта.

но которой течет «нервный флюид». Ньютон в «Principia» писал об упругой волне, распространяющейся вдоль волокна, что было вполне естественно в век торжества механики. Однако вскоре эта гипотеза была опровергнута, и на смену механическим концепциям пришли электрические, в утверждении которых определенную роль сыграли так называемые электрические рыбы.

Способность некоторых рыб производить «удар» была известна очень давно. Еще римский врач Скрибоний Ларг рекомендовал применять разряды ската *Torpedo* в качестве средства против подагры, головной боли и эпилепсий. В 1877 г. Кавендиш измерил распределение напряженности электрического поля вокруг ската *Torpedo*, находящегося в сосуде с водой. Эти эксперименты послужили доказательством того, что «удар», производимый скатом, представляет собой электрический разряд, который сравнивали с разрядом лейденской банки.

На сегодняшний день собрано немало точных сведений об электрических органах рыб. Известно, что такой орган часто служит орудием защиты или нападения. Электрический скат, например, генерирует импульсы в 50 А при напряжении 60 В, а электрический угорь «стреляет» импульсами с напряжением 500 В! Такие мощные импульсы может давать только очень совершенный электрический аппарат. И действительно, электрический орган состоит из 2000 параллельно соединенных батарей, в каждой из которых имеется 1000 последовательно включенных элементов. Такая конструкция позволяет генерировать большие токи и большие напряжения одновременно.

Сравнительно недавно был обнаружен ряд рыб, у которых электрическая активность служит для локации. Например, *Gymnarchus niloticus* непрерывно генерирует слабые разряды с частотой 30 Гц. Рыба представляет собой диполь: между ее головой и хвостом возникает разность потенциалов. Принцип действия локатора электростатический. При появлении в окружающем пространстве предмета с диэлектрической постоянной, отличной от диэлектрической постоянной среды, изменяется распределение электрического поля в окрестности приемника, находящегося в голове рыбы. Чувствительность этого приемника достигает 10^{-16} В/см!

Как же действует электрический орган? Основная деталь этого остроумного механизма — две мембраны специализированных клеток, которые в состоянии покоя развивают одинаковые потенциалы, так что внутренние поверхности отрицательны по отношению к внешним. В покое проводимость мембран очень мала, и их можно рассматривать как два последовательно соединенных конденсатора. Однако стоит только на одну из мембран поступить сигналу, как ее проводимость резко возрастает — мембрана «открывается» и цепь замыкается на внешнее сопротивление. Здесь особенно важно подчеркнуть, что ключом всего процесса является способность проводимости мембран претерпевать резкие изменения. В дальнейшем мы не раз убедимся в том, что этот ключ довольно универсален, по крайней мере в круге явлений возбудимости биологических мембран.

Вернемся, однако, в век XVIII, когда ученые уже упорно склонялись к той мысли, что имеется определенная связь между «нервными силами» и внешним электрическим полем. Правда, вопрос о природе «нервного флюида» все еще оставался открытым. И вот в 1791 г. Гальвани опубликовал «Трактат о силах электричества при мышечном движении», которому была уготована удивительная судьба.

Приводя в контакт с нервно-мышечным препаратом лягушки два различных металла, Гальвани наблюдал сокращение мышцы. В литературе можно встретить версии, по-разному толкующие интерес Гальвани к лягушачьим лапкам. По свидетельству одного из доброжелательных современников, «препарированные лягушки оказались на его столе по случаю приготовления им супа для больной жены». В «Истории физики» Марио Льюцци приводит рассказ Гальвани о том, как он увлекся биоэлектричеством: «Когда один из моих помощников острием скальпеля случайно очень легко коснулся внутренних бедренных нервов... лягушки, то немедленно все мышцы конечностей начали так сокращаться, что казались впавшими в сильнейшие... судороги. Другой же из них, который помогал нам в опытах по электричеству, заметил, что, как ему показалось, это удастся тогда, когда из кондуктора машины извлекается искра. Удивленный новым явлением, он тотчас же обратил на него мое внимание, хотя я замышлял совсем другое и был поглощен своими мыслями. Тогда я зажегся

страстным желанием исследовать это явление и вынести на свет то, что было в нем скрытого».

Пожалуй, мы ограничимся этими свидетельствами, демонстрирующими роль спутниц жизни и учеников в процессе рождения великих открытий. Хочется только справедливости ради подчеркнуть, что Гальвани из своих предыдущих опытов знал о влиянии атмосферного электричества на мышечное сокращение. Поэтому он предположил, что и это подрагивание лапки вызвано электричеством. Оставалось неясным, что же является источником этого электричества — живой объект или металлы. Гальвани полагал, что сокращение мышцы было вызвано биоэлектричеством, причем нервное волокно играло роль проводника, который в соединении с металлическими электродами замыкал цепь и способствовал разряду мышцы, эквивалентной лейденской банке.

Признанный авторитет в области электричества Вольт заинтересовался опытами Гальвани и воспроизвел их. Однако в ходе последующих экспериментов он установил, что источником электричества был контакт разнородных металлов с раствором электролита. Так был открыт новый класс источников тока, впоследствии названный гальваническими элементами.

Научный спор физиолога и физика на этом не окончился. Гальвани в трактате 1797 г. описал явление сокращения мышцы при ее соприкосновении с нервом, без включения в систему металлов. Однако этот эксперимент, названный впоследствии основоположником современной электрофизиологии Дюбуа-Реймоном «основным опытом нервно-мышечной физиологии», уже не мог преодолеть скепсис физиков — победа в полемике осталась за Вольта.

Реабилитация биоэлектричества, которая датируется уже серединой XIX в., потребовала значительно более чувствительной измерительной техники. В возрождении гальванизма большую роль сыграли опыты Маттеучи (40-е годы XIX в.), который пытался физически сбросить возникновение электричества в живых тканях «по Вольта» контактными явлениями на поверхности мышечного волокна. Большой интерес к проблеме биоэлектричества проявлял Фарадей. «Как ни удивительны электрические явления, присущие неорганической материи, — писал он, — они не идут ни в какое сравнение с теми, которые связаны с деятельностью нервной систе-

мы и жизненными процессами». Очень современно звучит и другое высказывание Фарадея, касающееся проблемы преобразования «нервных сил» в электричество: «Я могу сказать про себя, что если бы в моем распоряжении были необходимые средства, то эти эксперименты были бы первыми, которые я бы произвел».

Полное торжество идей Гальвани наступило после работ Дюбуа-Реймона и его учеников (1843 г.), которые изучали токи покоя мышцы и нерва, а затем и токи действия, возникавшие после раздражения. Гельмгольц и Бернштейн в это же время измерили скорость распространения нервных импульсов. Физические представления о происхождении биоэлектричества, развитые Бернштейном, основывались на работах Гиббса, Гельмгольца, Нернста и Оствальда по термодинамике гальванического элемента. Мы коснемся основных положений этой теории в дальнейшем. Применение более изощренной экспериментальной техники привело к существенному развитию представлений Бернштейна. Разработанная Ходжкиным и Хаксли феноменологическая теория биоэлектрических явлений прекрасно описывает огромный фактический материал.

Новейшее развитие этой области науки характеризуется более глубоким проникновением в молекулярную природу мембранных явлений. Наряду с этим происходит непрерывное расширение круга биоэлектрических явлений, возникают новые возможности их использования в медицине, особенно в целях диагностики. При этом, как правило, речь идет о внеклеточных полях. Можно, например, измерить разность электрических потенциалов между различными точками на поверхности человеческого тела. Она обязана своим происхождением деятельности совокупностей возбудимых клеток — нервных и мышечных.

Самым мощным электрогенератором, пожалуй, является сердце — амплитуда сигналов на кардиограммах составляет 2—3 тысячные доли вольта. Мозг генерирует импульсы слабее (порядка десятитысячных долей вольта), но значение его электрической активности трудно переоценить. Сразу после ее открытия оптимистам (а их было много) казалось даже, что еще шаг — и чтение мыслей станет делом более простым, чем лечение насморка. К счастью, постепенно выяснилось, что характер энцефалограммы свидетельствует лишь об об-

щем состоянии мозга. «Электрические портреты» сердца и мозга настолько широко используются в повседневной медицинской диагностике, что останавливаться на этом нет нужды.

Выше мы отмечали, что внеклеточные поля очень слабы. Кроме того, они весьма неинформативны — ведь в них суммирована активность миллиардов клеток! Значит, надо двигаться вглубь, поближе к отдельным электрическим центрам мозга. На этом пути сделаны поразительные открытия. Удалось показать, что эмоции выших животных так же поддаются управлению с помощью электрического тока, как движения лягушечьей лапки в опытах Гальвани. Ученые установили даже расположение различных центров — удовольствия, страха, ярости и т. п. Этим увлекательным работам посвящена специальная литература, к которой мы и отсылаем читателя.

Внеклеточные поля — побочный продукт основной деятельности нервных клеток. Вся информация, которую получает организм из внешней среды, преобразуется с помощью рецепторов в нервные импульсы, имеющие электрохимическую природу. По нервным волокнам, которые играют роль кабеля с усилением, они передаются в центральную нервную систему. Там информация обрабатывается, принимаются решения, и затем команды поступают к мышцам — опять в виде нервных импульсов. Одно из замечательных свойств нервных импульсов состоит в том, что они имеют постоянную амплитуду и форму, а характер раздражения влияет только на их частоту.

Таким образом, в основе жизнедеятельности высших организмов лежит функционирование электрически возбудимых клеток — мышечных и нервных. Эти клетки имеют между собой много общего, но для конкретности мы остановимся более подробно на нервных клетках.

Нервное волокно: основные свойства

1. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА НЕРВНОЙ КЛЕТКИ

Основным структурным элементом нервной системы высших организмов является нейрон, состоящий из клетки, от которой отходят многочисленные отростки — дендриты (рис. 1). Один из этих отростков у периферических нейронов намного длиннее других — это аксон, протяженность которого достигает иногда метров, а диаметр имеет порядок 1—100 микрон. Аксоны, как правило, окружены толстой жировой (миелиновой) оболочкой, которая периодически (через 1—2 мм) прерывается перехватами Ранвье (1 мкм). Миелиновые сегменты играют роль изолирующих муфт, нервное волокно на этих участках аналогично пассивному кабелю. Электрически активна только часть клеточной поверхности в перехватах Ранвье. Большое удобство для исследований представляют немиелинизированные аксоны кальмаров, иногда достигающие миллиметра в диаметре. В таких волокнах, называемых также гладкими, электрической активностью обладает вся поверхность. В дальнейшем, если это специально не оговорено, мы будем рассматривать гладкие нервные волокна.

Аксон можно представить в виде полый трубки, заполненной раствором электролита, которая погружена во внеклеточную жидкость. Стенка этой трубки — мембрана аксона — состоит из липидов и белков. Толщина мембраны составляет ~ 70 Å. В состоянии покоя электрическое сопротивление мембраны очень высоко — около 10^3 Ом·см², а ее емкость составляет примерно

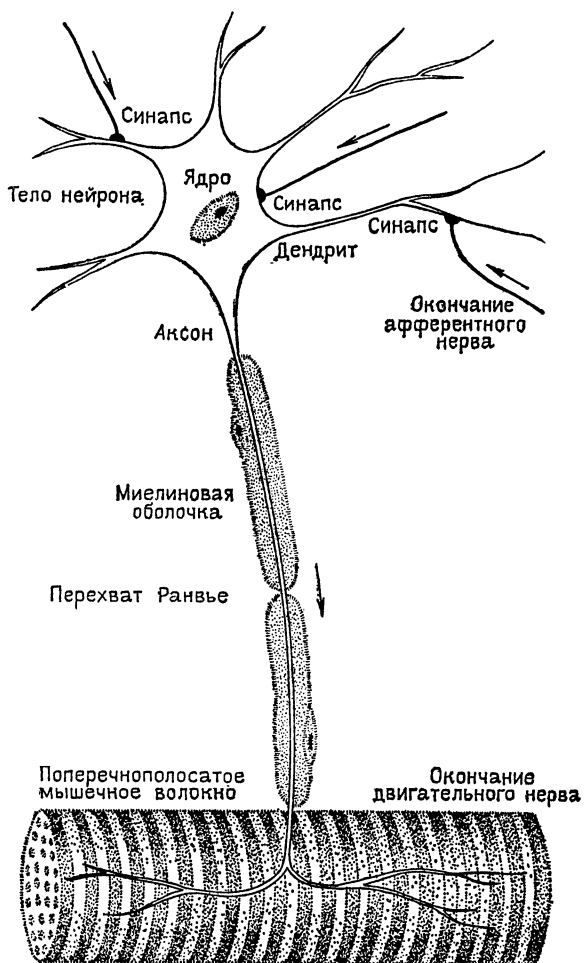


Рис. 1. Схема строения нервной клетки (спинномозгового двигательного нейрона лягушки)

1 мкФ/см². Мембрана аксона отделяет внутренний раствор от наружного, имеющего другой состав. Так, внутри, в аксоплазме, высока концентрация ионов К (400 мМ/л) и мала концентрация ионов Na и Cl (50 мМ/л и 40—100 мМ/л) по сравнению с окружающей средой (К — 10 мМ/л, Na — 460 мМ/л, Cl — 540 мМ/л). Внутренность клетки в покое заряжена отрицательно по отношению к внешней среде, и на мембране развивается разность потенциалов приблизительно в 60 мВ. В теории Бернштейна появление «потенциала покоя» объяснялось следующим образом. Предполагалось, что мембрана проницаема только для ионов калия. Тогда, чтобы уравновесить диффузионный поток ионов калия, на мембране должна установиться разность потенциалов:

$$\varphi_K = \frac{kT}{e} \ln \frac{C_K^o}{C_{K^+}^i}, \quad (1)$$

где k — постоянная Больцмана, T — абсолютная температура, e — заряд электрона, C_K^o и $C_{K^+}^i$ — концентрации ионов калия в наружном и внутреннем растворах соответственно.

Получавшиеся в экспериментах величины потенциала покоя не вполне согласовались с вычисленными по (1), но особого беспокойства это не вызывало до тех пор, пока не удалось непосредственно измерить потоки различных ионов через мембрану и тем самым проверить основной постулат Бернштейна. Оказалось, что в состоянии покоя мембрана проницаема не только для ионов К, но и для ионов Na и Cl. Правда, проницаемость по Na и Cl значительно меньше, чем по К ($P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$), но от кризиса старую мембранную теорию это не спасло.

Действительно, ионы Na, имеющиеся в избытке во внешней среде, поступают в клетку под действием и диффузионных сил, и электрических. Поэтому пришлось предположить, что в мембране действует специфический механизм — натриевый насос, который осуществляет так называемый активный транспорт, т. е. выносит ионы Na наружу, против градиента электрохимического потенциала, расходуя при этом энергию метаболизма. Насос устроен таким образом, что перенос трех ионов Na наружу сопряжен с переносом двух ионов К внутрь клетки, так что процесс активного транспорта приводит

к появлению электрического потенциала. Однако его вклад в потенциал покоя гигантского аксона кальмара составляет всего лишь 2,5 мВ. Поэтому вопрос о вычислении потенциала покоя можно рассматривать, отвлекаясь от существования активного транспорта. Поскольку мембрана проницаема для целого ряда ионов, состояние покоя не является термодинамически равновесным. Оно стационарно благодаря действию ионных насосов, причем мембранный потенциал в условиях разомкнутой цепи находится из условия равенства нулю полного электрического тока. Отсюда следует, что вычисление потенциала покоя должно основываться на определенной картине ионного транспорта через биомембраны.

2. ЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИМОСТИ

Если пропустить через аксон малый импульс тока, сдвигающий потенциал клетки в положительную сторону², то после снятия внешнего раздражения потенциал монотонно возвращается к исходному уровню. Иными словами, аксон ведет себя как пассивная электротехническая схема, состоящая из конденсатора и примерно постоянного сопротивления.

Однако все выглядит иначе, если импульс тока настолько велик, что потенциал падает ниже порогового значения φ_* . В этом случае потенциал продолжает изменяться и после выключения возмущения, он проходит через нуль, становится положительным и только потом возвращается к уровню покоя (рис. 2). Отклик мембраны уже не зависит от возмущения. Такой отклик называют нервным импульсом, или потенциалом действия. Правильное феноменологическое истолкование механизма генерации нервного импульса было дано Ходжкиным и Хаксли на основе экспериментов с фиксацией потенциала. Суть этого метода состоит в том, что на мембране задается потенциал в виде ступенчатой функции различной амплитуды и снимается зависимость тока от времени. Специальными экспериментами было доказано, что полный ионный ток (кривая I на рис. 3) складывается из калиевого и натриевого токов. Калиевый ток развивается с задержкой и выходит на стационарное значение за время порядка нескольких миллисекунд (кри-

² Такой импульс называют деполяризующим.

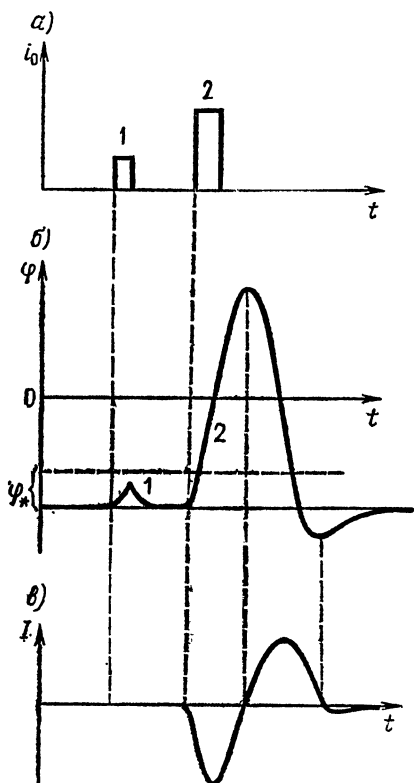


Рис. 2. Отклик на внешний импульс тока (а), нервного волокна (мембранный потенциал) (б) и ионный ток (в): 1 — подпороговое воздействие; 2 — надпороговое, Φ_* — пороговый потенциал

вая II). Натриевый ток, направленный внутрь клетки, быстро растет по величине, достигает максимума, а затем медленно убывает (кривая III). Последняя фаза называется инактивацией натриевого тока.

Измеряя серию $i-t$ кривых при разных амплитудах фиксируемого на мембране потенциала, можно построить вольт-амперные характеристики системы (рис. 4). Стационарная вольт-амперная характеристика будет, очевидно, совпадать с калиевой.

Что же касается натриевого тока, то принято описывать его через зависимость пикового значения i_{Na} от потенциала. Ток i_{Na} обращается в нуль при потенциале, совпадающем с равновесным натриевым потенциалом, определяемым по формуле (1), в которую вместо концентрации ионов К следует подставить концентрации ионов Na. Обращает на себя внимание тот факт, что

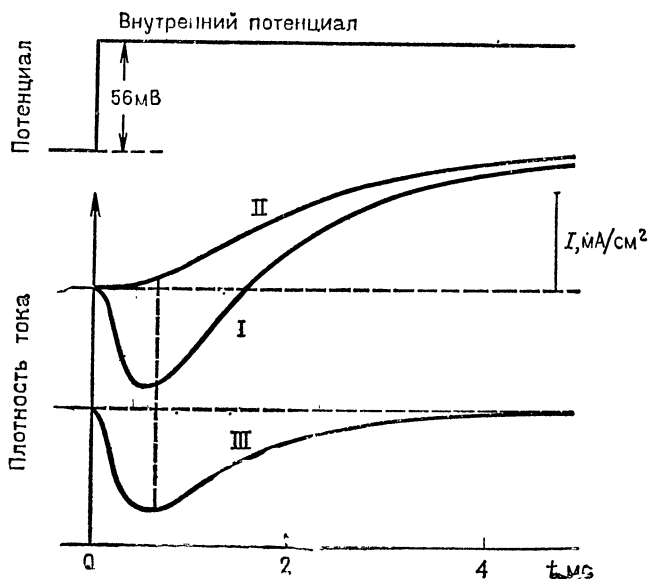


Рис. 3. Разделение мембранного тока (I) на калиевую (II) и натриевую (III) компоненты. Изменения токов вызваны быстрым смещением потенциала внутри волокна на $+56 \text{ мВ}$ (верхний график)

кривая $i_{\text{Na}} - \phi$ является немонотонной. Наличие участка с отрицательным сопротивлением на вольт-амперной характеристике крайне существенно для поведения системы. Его возникновение связано с тем, что при деполяризации мембраны растет натриевая проводимость. Ниже на ряде примеров мы увидим, как отрицательное сопротивление сказывается на устойчивости системы.

Важно также подчеркнуть, что участок с отрицательным сопротивлением существует только на квазистационарной характеристике, так как натриевая проводимость испытывает лишь кратковременное повышение, которое сменяется инактивацией. В окрестности равновесного натриевого потенциала ϕ_{Na} натриевая вольт-амперная характеристика близка к линейной, и натриевый ток пропорционален $(\phi - \phi_{\text{Na}})$.

В области линейности вольт-амперная характеристика является безынерционной. В этом можно убедиться,

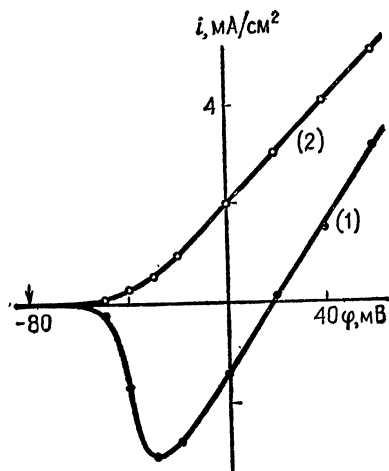


Рис. 4. Типичные данные по фиксации потенциала: пиковая (1) и стационарная (2) вольт-амперные характеристики

подавая короткие толчки потенциала любой амплитуды и знака на мембрану, предварительно деполяризованную до потенциалов, лежащих правее точки минимума на рис. 4. Левее точки минимума натриевый ток инерционен и характеризуется более сложной зависимостью от ϕ . Однако и в этой области в ответ на короткие толчки потенциала система ведет себя как омическая. Это говорит о том, что натриевая проводимость, так же как калиевая, является инерционной.

Широкое распространение при исследовании природы ионных токов получили фармакологические агенты (тетраэтиламмоний — ТЕА) и токсины (тетродотоксин — ТТХ). При введении ТЕА внутрь аксона калиевый ток полностью подавляется, тогда как натриевый не изменяется. Введение ТТХ, напротив, подавляет натриевый ток. Эти эксперименты практически доказывают наличие отдельных — натриевой и калиевой — систем транспорта. Следует упомянуть также опыты с внутриклеточным введением фермента проназы, который ликвидирует натриевую инактивацию, не изменяя ни кинетику калиевого тока, ни кинетику натриевой активации. В совокупности все эти факты убедительно свидетельствуют о том, что в мембране имеются две независимые системы ионного транспорта, причем регуляция натриевой системы осуществляется двумя отдельными механизмами — активационным и инактивационным.

Изложенные результаты позволяют дать качественное объяснение явлению возбудимости. В ходе развития нервного импульса резко возрастает проницаемость мембраны для Na , и внутрь волокна устремляется поток этих ионов. Весьма существенно, что процесс оказывается саморазгоняющимся — увеличение натриевой проницаемости способствует повышению потенциала на внутренней стороне мембраны, что в свою очередь увеличивает натриевую проницаемость. В результате система стремится к равновесному натриевому потенциалу. Одновременно включается система калиевого транспорта, которая выносит положительный заряд из клетки и возвращает мембранный потенциал к исходному значению.

3. УРАВНЕНИЯ ХОДЖКИНА — ХАКСЛИ

Перейдем теперь к количественному описанию изложенных фактов. В процессе пространственно-однородного возбуждения мембранный потенциал удовлетворяет уравнению:

$$C \frac{d\varphi}{dt} = -J, \quad (2)$$

где C — емкость мембраны, а ионный ток J складывается из двух парциальных — калиевого и натриевого:

$$J = J_K + J_{\text{Na}}.$$

Каждый из этих токов, как это следует из опыта, можно рассматривать как ток, даваемый батареей с постоянной ЭДС и переменной инерционной проводимостью:

$$\begin{aligned} J_{\text{Na}} &= g_{\text{Na}}(\varphi - \varphi_{\text{Na}}), \\ J_K &= g_K(\varphi - \varphi_K). \end{aligned} \quad (3)$$

Наличие линейных безынерционных сомножителей $(\varphi - \varphi_i)$ отражает тот факт, что в ответ на кратковременное возмущение мембрана ведет себя как омическая система. Центральный вопрос состоит в том, как описать динамику и зависимость от потенциала инерционных проводимостей g_{Na} и g_K . Ходжкин и Хаксли ввели «ненаблюдаемые» переменные m , h и n , которые подчиняются линейным динамическим уравнениям:

$$\frac{di}{dt} = \alpha_i (1-i) - \beta_i i, \quad i = m, h, n. \quad (4)$$

Проводимости g являются нелинейными функциями этих переменных:

$$\begin{aligned} g_{\text{Na}} &= \bar{g}_{\text{Na}} m^3 h, \\ g_{\text{K}} &= \bar{g}_{\text{K}} n^4. \end{aligned} \quad (5)$$

Зависимость кинетических коэффициентов α и β от мембранного потенциала выбрана из условий наилучшего совпадения расчетных и измеряемых характеристик. Этими же соображениями продиктован выбор степеней в соотношениях (5). Например, зависимость $g_{\text{K}} \sim n^4$ хорошо описывает запаздывание калиевого тока. Введение двух переменных m и h для описания динамики натриевой проводимости связано с наличием двух независимых процессов — активации и инактивации, а конкретная степень также обусловлена запаздыванием натриевого тока. Ниже мы увидим, что «скрытые» параметры теории m , n и h в результате новейших исследований стали вполне измеримыми величинами. Поэтому уравнения Ходжкина—Хаксли, выведенные эмпирически, имеют, по-видимому, более глубокое физическое содержание. Роль этих уравнению в биофизике возбудимых мембран невозможно переоценить. Фактически изложенный выше формальный аппарат стал тем языком, на котором обсуждаются все экспериментальные факты.

Обсуждение физической интерпретации уравнений Ходжкина—Хаксли будет проведено ниже. Здесь же мы ограничимся только общим выводом, который сводится к тому, что мембрана нервного волокна представляет собой нелинейный ионный проводник, свойства которого существенно зависят от электрического поля.

Ионный транспорт через мембраны

1. БИСЛОЙНЫЕ ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ

Читателю уже должно быть ясно, что вся проблема возбудимости опирается на явление переноса

ионов через мембраны. Поэтому представляет перво-степенный интерес изучение закономерностей такого переноса. Объект, на котором будет проводиться изучение, должен быть достаточно простым, лучше, чтобы это была не сама мембрана, а ее модель. Но как построить модель клеточной мембраны? Тут нам придется сделать небольшое отступление.

— Достойное ли занятие — пускать мыльные пузыри? Подавляющее большинство человечества издавна отвечало на этот вопрос отрицательно. Занятие это считалось символом безделья, вроде бросания камешков в воду. Меньшая часть человечества придерживалась иного мнения. Козьма Прутков уточнял: «Бросая камешки в воду, смотри на круги, ими оставляемые, иначе занятие твое будет пустой тратой времени». Небезынтересным оказалось и созерцание мыльных пузырей. Можно назвать немало ученых, посвятивших такому созерцанию не один час своей жизни уже тогда, когда у них, казалось, были более важные дела.

— Например, не считал зазорным такое занятие великий Исаак Ньютон. Особенно удивило и заинтересовало его то, что на поверхности мыльного пузыря, покрытой радужными разводами, иногда возникают какие-то темные пятна. Вот как он их описывал в своей «Оптике»: «В центре цветных колец появилось круглое черное пятно, которое постепенно расширялось, пока не достигало в поперечнике $\frac{1}{2}$ или $\frac{3}{4}$ дюйма. Внутри него я увидел несколько меньших более темных пятен, которые казались чернее фона. Наблюдая дальше, я обнаружил, что внутри большого черного пятна, а также внутри меньших более темных пятен можно видеть очень слабое отражение некоторых предметов, таких, как свеча или солнце. Я составил следующую таблицу, где толщина пленки, при которой каждый цвет достигает наибольшей интенсивности, выражена в долях дюйма, разделенного на миллион равных частей».

В этой знаменитой таблице толщина пленки в области очень темных пятен была оценена в $\frac{3}{8}$ указанной доли дюйма. Нетрудно сосчитать, что это составляет около 90 Å. Такой неощутимо малой толщины может достигнуть обычная мыльная пленка — стенка мыльного пузыря! Тут в самом деле есть о чем подумать.

Напомним читателю, как устроена мыльная пленка. Мыло в ней расположено на поверхности, так что плен-

ка представляет собой тонкий слой воды, «укрепленный» снаружи молекулами мыла. Эти молекулы располагаются на поверхности в один слой, причем вполне упорядоченным образом. Дело в том, что каждая молекула мыла состоит из двух частей: одна часть является гидрофобной, т. е. не любит воду и выталкивается из нее. Зато другая сравнительно малая часть молекулы является гидрофильной — она притягивается к воде, стараясь в нее погрузиться. Таким образом, молекулы мыла оказываются на поверхности, причем погружены своими полярными головками в слой воды, а их жирные хвосты торчат наружу, в воздух.

Вот такие противоречивые свойства и создают очень устойчивые мыльные пленки. Причем толщина внутреннего водного слоя существенной роли не играет. Ее можно менять, в результате чего на пленке появляются радужные разводы. Если же толщина пленки становится меньше длины волны света, то пленка перестает отражать, становится черной. Толщина пленки не может быть меньше длины двух молекул, покрывающих ее поверхность. Это предельная толщина, соответствующая бимолекулярной пленке мыла.

Возникает вопрос, не может ли подобная пленка служить моделью клеточной мембраны? Пожалуй, может, но есть одна существенная разница. Мыльная пленка существует в воздухе. А клеточная мембрана должна разделять две водные фазы, т. е. существовать в воде. Как же примирить противоречивые свойства специфических молекул, способных образовывать пленки на воздухе?

Решение было найдено в начале 60-х гг. и оказалось неожиданно простым. Выяснилось, что тонкая пленка специализированных молекул может возникнуть в водной фазе самостоятельно, надо только создать для этого подходящие условия. В этом и состоит весь секрет и мастерство экспериментатора. Прежде всего необходимо было подобрать материал, из которого следует делать пленку. Здесьгодились молекулы природных липидов, которые можно выделить из тканей мозга или синтезировать в лаборатории. Эти молекулы нужно растворить в какой-нибудь жидкости, например, в спирту, затем взять рамку — проволочную или волосную — и поместить ее в воду (лучше в раствор соли). Кисточкой надо набрать раствор липидов и нанести каплю на

рамку. После этого остается спокойно сесть рядом и предоставить все природе. Под действием силы тяжести раствор липидов растекается по плоскости рамки, и постепенно пленка утоньшается. Ее поверхность покрывается радужными разводами. Через некоторое время на ней появляются темные участки, затем цветные области исчезают, и вся пленка в отраженном свете кажется равномерно темной. Это и означает, что ее толщина стала значительно меньше длины волны видимого света. Различные методы измерения показывают, что толщина пленки составляет около 70 Å. Это равно длине двух молекул. Потому такие пленки называют бислойными липидными мембранами, или сокращенно БЛМ.

Как расположены молекулы липидов в БЛМ? Оказывается, они ориентированы иначе, чем молекулы мыла в пленке мыльных пузырей. В бислойных мембранах липидные молекулы расположены гидрофильными полярными головками наружу, а жирными гидрофобными хвостами внутрь пленки. Почти по Гоголю: «Голова у Ивана Ивановича была похожа на редьку хвостом вверх». Такое расположение хвостов в каждом случае обеспечивает устойчивость пленки.

Многие свойства бислойных липидных мембран роднят их с клеточными мембранами, в первую очередь их близкий химический состав. Что касается сложных функций, присущих клеточным мембранам, то некоторые из них также могут быть получены на липидных мембранах, но для этого в БЛМ нужно дополнительно ввести специальные химические соединения, присутствующие в природных мембранах. Правда, мы не всегда знаем их строение, и не всегда такая «пересадка» оказывается успешной, но в целом этот подход к моделированию мембранных явлений оказался весьма плодотворным.

Началось все с изучения электрических свойств бислойных мембран. Уже первые измерения показали, что искусственные мембраны являются хорошими изоляторами, их электрическое сопротивление достигает 100 МОм на 1 см². Это очень большая величина, и она примерно в 100 000 раз превышает сопротивление клеточных мембран. Поэтому принято считать, что чистая бислойная липидная мембрана несет только структурно-механическую и барьерную функцию, строго разде-

ляя наружную и внутреннюю части воображаемой клетки.

Очень важным оказалось открытие класса веществ, которые могут радикальным образом изменять электрические свойства БЛМ. Они были названы ионофорами. В их присутствии проводимость мембран возрастает на много порядков. Сами ионофоры требуются в небольших количествах: они лишь обеспечивают перенос через мембрану других ионов, присутствующих в растворе. Проводимость в этом случае носит селективный характер. К ионофорам принадлежат жирорастворимые кислоты — 2,4-динитрофенол, дикумарол, тетрахлортрифторметилбензимидазол (ТТФБ) и т. п., полипептиды — валиномицин, группа актинов, грамицидины А, Б и С, аламетицин.

2. ПЕРЕНОС ЗАРЯДА ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

В подавляющем большинстве работ, посвященных изучению электрических свойств, липидные мембраны рассматриваются как однородная фаза. Проводимость мембраны определяется концентрацией имеющихся в ней носителей тока и их подвижностью. Чрезвычайно низкая диэлектрическая проницаемость липидов — она заключена в пределах от 2 до 3 — очень неблагоприятна для внедрения заряженных частиц в мембрану. Коэффициент распределения γ частиц между липидной и водной фазами равен:

$$\gamma = \frac{C_m}{C_w} = \exp\left(-\frac{W}{kT}\right), \quad (6)$$

где W — энергия частицы в липидной фазе, отсчитанная от энергии в воде. Она складывается из электростатической энергии и энергии гидрофобного взаимодействия.

Оценки показывают, что коэффициент распределения, найденный с учетом лишь электростатических взаимодействий, имеет порядок 10^{-20} . В таком случае проводимость бислойных мембран была бы существенно ниже указанного ранее значения. Положение может быть несколько поправлено за счет гидрофобных взаимодействий, которые повышают коэффициент распределения в пользу липидной фазы. Кроме того, существу-

ют еще по крайней мере четыре фактора, снижающих энергию иона в мембране:

а) мембрана имеет конечную толщину;

б) ионы могут образовывать ионные пары внутри мембраны;

в) мембрана может иметь поры с высокой диэлектрической постоянной, через которые проходят частицы;

г) ион может быть «завернут» в нейтральную молекулу «переносчика» с высокой поляризуемостью, которая сольватирует его (увеличивает эффективный радиус) и тем самым способствует его растворению в фазе мембраны.

Рассмотрение каждого из этих эффектов приводит к следующим результатам:

а) На границе между мембраной и водной фазой возникают силы изображения. В результате электростатическая энергия иона в мембране снижается. В центре мембраны энергия за счет сил изображения понижается согласно оценкам всего на несколько процентов. Поэтому углеводородная часть мембраны представляет собой существенный барьер для прохождения ионов. Высота барьера составляет несколько десятков килокалорий на моль.

б) Образование ионных пар из двух расположенных поблизости сфер при ионном взаимодействии также не дает заметного выигрыша. Максимальное понижение энергии оказывается не более чем двукратным. Только в случае ковалентной связи между заряженными частицами электрическое поле вокруг них будет существенно понижено, однако это уже означало бы разряд двух ассоциированных частиц.

в) Поры с высокой поляризуемостью могут значительно понизить энергию заряда в мембране. Если диэлектрическая постоянная пор ϵ_p сравнима с диэлектрической постоянной воды ϵ_w , а у мембраны $\epsilon_w \approx 2$, то потенциальный барьер для иона, проходящего через пору, составляет примерно 0,5 ккал/моль.

г) Рассмотрим, наконец, возможность комплексообразования. Пусть нейтральная молекула с высокой поляризуемостью может образовать сферический комплекс с ионом³. В случае высокой поляризуемости молекулы комплексообразователя, согласно оценкам, энергия ком-

³ Такие молекулы называют комплексонами, к ним относятся уже упоминавшиеся ионофоры,

плекса все еще заметна по сравнению с тепловой энергией, хотя и значительно меньше, чем энергия «голового» иона, и составляет 20 ккал/моль.

Следует отметить еще одно немаловажное обстоятельство. Если приращение электростатической энергии иона в углеродной фазе велико, то в мембране может возникнуть мощная электрострикция. Оценки показывают, что возникающие давления имеют порядок атмосфер. Не исключено, что это может вызвать локальное утоньшение мембраны и тем самым существенно повлиять на ионный транспорт.

Таким образом, эффективное снижение гидрофобного барьера возникает только в случаях в) и г), которые отвечают образованию либо подвижных комплексов, либо специфических каналов, через которые ионы могут проникать сквозь мембраны. Говорят, что ионофоры индуцируют ионный транспорт.

Однако вопрос о том, каков именно механизм действия того или иного ионофора, оказался не слишком простым. В связи с этим был разработан целый ряд методов, позволяющих детально изучить механизм переноса. Как отмечалось выше, ионный транспорт через каналы характеризуется значительно более низкой энергией активации по сравнению с механизмом, где основную роль играют комплексоны-переносчики. Поэтому было предпринято прямое измерение энергии активации проводимости мембран в присутствии ряда ионофоров. При этом оказалось, что для таких веществ, как нонактин и валиномицин, энергия активации составляет 32,5 и 55 ккал/моль соответственно, тогда как для грамицидина А она равна всего 9,3 ккал/моль. Так был получен убедительный довод в пользу того, что валиномицин и нонактин представляют собой подвижные переносчики, а грамицидин А образует внутри мембраны полярные поры. Структурно-химические данные говорят о том, что для образования сквозной поры необходимо соединение двух молекул грамицидина. Такие поры-димеры должны находиться в динамическом равновесии с мономерами грамицидина. Иными словами, каналы в мембране непрерывно возникают и разрушаются. Если опыт ставится с относительно высокой концентрацией грамицидина, то среднее число каналов в мембране оказывается большим, так что флуктуации на фоне высоких значений тока заметить трудно.

Возможна, однако, иная постановка эксперимента, когда используются настолько малые концентрации ионофора, что число каналов в мембране измеряется единицами. Английские ученые Хейдон и Хладки впервые осуществили такой опыт и наблюдали дискретные флуктуации проводимости (рис. 5). Каждая ступенька

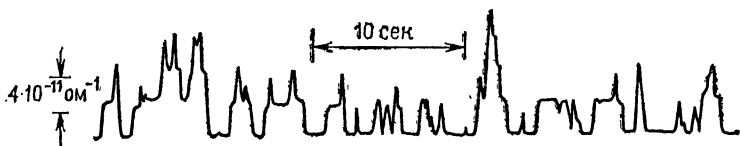


Рис. 5. Флуктуации проводимости бислойной мембраны, содержащей грамицидин А

на этом рисунке отвечает созданию или разрушению одиночного канала. Четкая «квантованность» проводимости не оставляет никаких сомнений в том, что грамицидин А образует в мембране каналы.

Отличие двух механизмов было продемонстрировано еще одним способом. Специально подобранные липидные мембраны могли быть «заморожены» и «расплавлены» при изменении температуры. В присутствии валиномицина и нонактина проводимость резко уменьшалась при «замораживании» мембраны, тогда как свойства грамицидина А не изменялись. Простейшее объяснение этого явления опять состояло в том, что валиномицин и нонактин в отличие от грамицидина А действуют как подвижные переносчики, чья подвижность резко снижается при «замораживании» мембраны. В то же время на свойства поры состояние окружающих липидных молекул заметного влияния оказывать не должно.

Таким образом, индуцированный транспорт, возникающий в присутствии ионофоров, может осуществляться с помощью как подвижных переносчиков, так и специальных пор (рис. 6). Последний механизм называют также эстафетным, поскольку пора может быть образована несколькими последовательно расположенными молекулами, между которыми осуществляется передача иона. Возможна разновидность механизма подвижных переносчиков, когда ион переносится не одной молекулой, а сразу несколькими, — этот вариант носит название коллективного транспорта. Если сюда добавить механизм прямого прохождения крупных жирораствори-

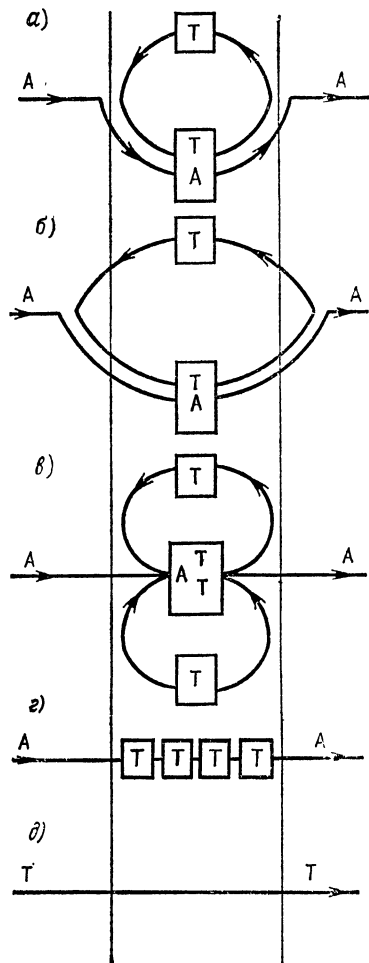


Рис. 6. Механизмы переноса ионов через мембраны: *а* — подвижные переносчики с «малой каруселью»; переносчик Т заключен в мембране, а комплексообразование происходит на границах раздела мембрана—раствор; *б* — подвижные переносчики с «большой каруселью»; переносчик Т имеется и в мембране, и в растворе, комплексообразование происходит в растворе; *в* — коллективный транспорт. Ион А переносится несколькими частицами переносчика Т; *г* — эстафетный перенос; *д* — прямое прохождение

мых ионов, то мы получим все основные типы механизмов, изученные на сегодня.

3. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПОДХОД

До сих пор мы рассматривали липидную мембрану как совершенно однородную сплошную фазу. Ясно, что это является лишь приближением к реальности и не

охватывает многих важных свойств мембраны. Поэтому делались попытки более детального описания мембраны и, в частности, процесса переноса частиц через нее.

Прежде всего отметим, что бислойная липидная мембрана находится в жидкокристаллическом состоянии. С одной стороны, она является весьма текучей — ее отдельные компоненты подвижны, а с другой — молекулы липидов в довольно высокой степени упорядочены — они расположены в два слоя. В пределах каждого слоя возможна большая или меньшая степень упорядоченности. Была исследована дифракция электронов на бислоях из фосфатидилхолина. Дифракционные картины показали, что бислой состоит из большого числа маленьких, но хорошо упакованных участков, ориентация которых несколько отличается от ориентации соседей. Размер кристаллитов оценивается в несколько сотен ангстрем. Такие образования должны иметь динамический характер и видоизменяться с течением времени.

Подвижность липидных молекул, составляющих мембрану, важна с точки зрения переноса частиц через мембрану. Движение может быть параллельным поверхности мембраны и поперечным.

Переход липидных молекул из одного слоя в другой обладает одной существенной особенностью: молекула должна не только переместиться, но и повернуться при этом, так как ее полярная головка с другой стороны мембраны должна быть направлена противоположно. Это обстоятельство, по-видимому, может играть существенную роль в транспортных процессах. Проиллюстрируем это на примере переноса Cl^- через липидные мембраны.

Поток ионов Cl^- , рассчитанный по электропроводности мембраны и измеренный с помощью меченых атомов, имеет разные значения, причем изотопный поток оказывается на три порядка больше. Электрический потенциал, приложенный к мембране, не оказывает на него никакого влияния. Таким образом, в мембране действует какой-то электрически не проявляющийся процесс, приводящий к интенсивному переносу ионов. Подобные явления довольно хорошо известны в биологии, их связывают с обменными процессами, в которых происходит эквивалентный обмен ионов из одного резервуара на такие же ионы из другого. Обменную диффу-

знию проще всего осуществить с помощью подвижных переносчиков. Однако в рассматривавшихся мембранах не было ничего, кроме самих липидов. Поэтому естественно родилось предположение, что обменную функцию осуществляют сами липиды. Ионы Cl^- объединяются с полярными головками липидов, и образовавшиеся комплексы переносятся через мембрану. Такой механизм объясняет не только различие между электрическим и изотопным потоками, но и насыщение потоков при увеличении концентрации. Описанный переворот липидных молекул идет с разной скоростью в зависимости от состава мембраны и условий опыта. Так, у фосфатидилхолина характерное время переворота молекул составляет несколько часов.

Это довольно сложный процесс. Для того чтобы повернуть крупную молекулу, предварительно требуется освободить большое пространство. Поэтому более вероятным представляется поворот не одной, а одновременно двух молекул из разных слоев. Такой одновременный поворот освобождает место в каждом из слоев для внедрения новых молекул. Вовлечение двух, а возможно, и более молекул, по-видимому, может объяснить довольно большую активационную энергию процесса, которая достигает 19,4 ккал/моль.

4. УСТОЙЧИВОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

Простые оценки, основанные на энергетических соображениях, показывают, что концентрация таких ионов, как K^+ , Na^+ , Cl^- , в мембране должна быть крайне мала. Поэтому встает вопрос: как объяснить наблюдаемые значения проводимости бислойных липидных мембран, не содержащих никаких ионофоров. В поисках ответа может помочь тот факт, что бислойные липидные мембраны хорошо проницаемы для воды. Правда, механизм переноса воды известен так же плохо, как и природа фоновой проводимости. Однако естественно думать, что эти процессы как-то сопряжены.

Простейший вариант сопряжения сводится к тому, что через мембрану диффундируют гидратированные ионы. Мембрана в этой схеме обычно выступает как сплошная однородная фаза. Мыслим и другой механизм, согласно которому в мембране образуются корот-

коживущие «водные дорожки», служащие каналами транспорта и для воды, и для ионов. Непосредственный способ изучения этого явления состоит в измерении флуктуаций тока, а также в установлении корреляций между потоками молекул воды и ионов.

Однако разрешающая способность имеющейся аппаратуры не позволяет пока измерить спектральные характеристики флуктуаций таких процессов. Поэтому возникла естественная мысль усилить эти флуктуации, например, накладывая на мембрану кратковременный импульс электрического напряжения, и одновременно изучать динамику ионных токов. На экране осциллографа после включения импульса напряжения появляются всплески тока, которые нарастают по амплитуде. Если импульс достаточно продолжителен, мембрана рвется, причем среднее время разрыва крайне чувствительно к величине напряжения. Интересное явление возникает в том случае, когда напряжение резко уменьшается до наступления пробоя. Возникшие в мембране под действием поля низкочастотные флуктуации тока высокого уровня поддерживаются в течение десятков минут. Создается впечатление, что электрическое поле способствует рождению в мембране долгоживущих структурных дефектов. Мембрана с таким дефектом является метастабильной фазой, аналогичной, например, перегретой жидкости. Время жизни метастабильного состояния, как обычно, определяется вероятностью достижения зародышем критического размера, после чего происходит самопроизвольное разрушение мембраны. Нетрудно рассмотреть эволюцию зародыша в окрестности критического радиуса, зависящего от поля и составляющего примерно десятки ангстрем, поскольку в этой области размеров более или менее приемлемы макроскопические понятия. Значительно хуже обстоит дело с описанием рождения и начальной стадии развития дефекта. В качестве рабочей гипотезы можно предложить следующую.

Как уже отмечалось выше, бислойная мембрана представляет собой жидкий кристалл, в котором довольно высока подвижность фосфолипидных молекул, образующих часток поплавок, частично погруженных в тонкий слой органического растворителя. Существенно отметить, что сам по себе органический растворитель не может существовать в виде тонкой пленки. Более того, если в бислойной мембране в результате флуктуаций

образуется незащищенный фосфолипидами участок пленки растворителя размером порядка 10 \AA , то, как показывают оценки, в этом месте произойдет разрыв пленки, являющийся результатом ван-дер-ваальсовского сжатия. Образующаяся таким образом водяная пора имеет гидрофобные стенки, тем самым высокую энергию, а потому должна быть неустойчива.

Возможны два пути развития такой поры. Один — наиболее вероятный — состоит в схлопывании с одновременным возвращением фосфолипидных молекул на исходные позиции. Другой — менее вероятный, но наиболее интересный — сопряжен с такой переориентацией фосфолипидных молекул, в результате которой внутренняя поверхность поры окажется устланной полярными группами. Вероятность такого процесса должна возрастать пропорционально квадрату электрического поля по той же причине, в силу которой в конденсатор втягивается диэлектрик. Такие инвертированные поры и являются, по-видимому, источником низкочастотных и долгоживущих флуктуаций ионного тока. Фоновая же проводимость в обычных условиях может быть связана с короткоживущими не инвертированными дефектами.

Судьба долгоживущих дефектов зависит, по-видимому, не только от величины электрического поля, но и от силы тока. Создается впечатление, что ионный поток, текущий через пору, сам способствует ее стабилизации, не дает ей захлопнуться. Физический механизм такой стабилизации может быть основан на обычной электростатике. Действительно, если придержать ион внутри полярной поры, то он будет стремиться отпихнуть от себя подальше гидрофобную мембрану, т. е. увеличить радиус гидрофильной поры. Включая внешнее поле и создавая ток, мы фактически вынуждаем ионы провести некоторое время в порах, тем самым продлевая им жизнь.

Заманчивой способностью раздвигать стенки полярных пор обладают не только ионы, но и любые гидрофильные молекулы. Поэтому такие поры могут служить каналами транспорта в клетку крупных молекул, не растворимых в липидной фазе.

Ионные каналы

1. ФАКТЫ И ГИПОТЕЗЫ

Сейчас уже накоплено множество аргументов в пользу того, что проводящие структуры биомембран действуют по типу каналов, а не подвижных переносчиков. Опыты со связыванием ТТХ и ТЕА, а также измерения электрических флуктуаций показали, что на 1 мкм^2 приходится порядка сотен ионных каналов. Проводимость одиночного натриевого канала оценивается в $4 \cdot 10^{12} \text{ Ом}^{-1}$, а калиевого — $12 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$. В структурном отношении ионный канал до сих пор остается в значительной мере неопределенным понятием. Выделить и охарактеризовать белки возбудимых биологических мембран, ответственные за регулируемый ионный транспорт, пока не удалось. Этой проблемой занимаются в ряде лабораторий СССР и США. Прежде всего необходимо получить мембранную фракцию, обогащенную ионными каналами. Показателем существования каналов во фракции могут служить специфически связывающиеся с рецепторными участками радиоактивные меченые токсины. Непосредственной проверкой является реконструкция каналов в БЛМ или измерение обменных потоков меченых ионов Na и K на мембранных пузырьках, которые самопроизвольно образуются в водном растворе. Каждый этап этой программы представляет чрезвычайно сложную задачу. Трудности начинаются уже на стадии подбора исходного биологического материала, который должен быть по возможности богатым и однородным по белковой компоненте. Далее необходимо располагать набором меченых токсинов, обладающих специфичностью и не нарушающих при связывании собственно транспортную систему канала. Поскольку ожидаемый молекулярный вес искомого канала очень велик — сотни тысяч дальтон, желательно метить его сразу по нескольким рецепторным участкам. Во всяком случае именно по этому пути идут сейчас американские ученые.

До сих пор не отработана и методика встраивания каналов в БЛМ. Фактически возможны два подхода. Первый состоит в том, чтобы вводить мембранную фракцию в раствор фосфолипидов в органическом раствори-

теле, а затем пытаться вытянуть бислойную мембрану. Второй сводится к введению в водный раствор, где уже сформирована БЛМ, мембранных пузырьков, содержащих каналы. Подбирая условия, можно вызвать слияние пузырьков с БЛМ, в результате которого каналы оказываются встроенными в плоскую мембрану. Сам процесс слияния до сих пор мало изучен, так что приходится полагаться на эмпирику.

До сих пор нет твердой уверенности в том, что вся программа по выделению и реконструкции ионных каналов окажется реализуемой. Нельзя не считаться с возможностью, что в процессе выделения канал, если он состоит из слабо связанных субъединиц, будет рассыпаться, как картонный домик. Некоторый оптимизм, правда, внушают работы по изучению мембранных белков эритроцитов. Там удалось выделить огромные гликопротеиды, пронизывающие мембрану насквозь и как будто бы ответственные за ионный транспорт.

Не предвещая результатов извечного спора между оптимистами и пессимистами, мы вынуждены анализировать различные представления о строении ионных каналов, прибегая лишь к косвенным аргументам. Опираясь на аналогию с искусственными каналами в БЛМ, где электрическое поле влияет на статистический процесс сборки канала из субъединиц, некоторые авторы считают, что в биологических мембранах нет предсуществующих ионных каналов, а наблюдаемый процесс повышения проводимости при деполяризации возникает при их сборке. Более распространена другая точка зрения, согласно которой канал представляет собой достаточно жесткую макромолекулярную систему, способную к небольшим конформационным перестройкам. Представление об ионном канале, как о липопротеиновом комплексе, характеризующемся совокупностью конформационных состояний, позволяет рассматривать его как «векторный» фермент, который катализирует реакцию переноса иона. Особенность этого транспортного фермента состоит в том, что его активность управляется электрическим полем. Аналогия транспортных мембранных систем с ферментами распространяется и в область специфичности. Как показали исследования в области мембраноактивных комплексов, механизм взаимодействия иона с комплексом включает конформационную перестройку всего комплекса и хорошо моделирует инду-

цированное соответствие между субстратом и активным центром фермента.

Ионный канал выполняет две основные функции — делает мембрану селективной и управляемой полем. Возникает естественный вопрос, можно ли установить соответствие между этими функциями канала и какими-то молекулярными группами. В более скромной (и более реалистической) постановке вопрос этот звучит так: можно ли утверждать, что различные функции осуществляются разными группами канала. Дать категорический ответ пока не представляется возможным, хотя считается наиболее вероятным, что транспортно-селективная и регуляторная функции реализуются различными участками канала. Анализ различных функций канала мы начнем с рассмотрения транспортной системы.

Ионные каналы высоко селективны. Тем не менее, замещая в наружном растворе ионы Na на другие катионы и блокируя калиевый канал с помощью тетраэтиламмония, удастся реализовать такую искусственную ситуацию, когда через натриевый канал переносятся другие катионы. В результате можно найти ряд проницаемостей для серии катионов. Если принять проницаемость для Na за единицу, то, например, для аммония она составит 0,16, а для K — 0,09. Аналогичные эксперименты позволяют установить ряд проницаемостей и для калиевых каналов. Так, было установлено, что Na переносится через калиевый канал в 100 раз медленнее, чем K.

Используя ряд катионов с разными кристаллографическими радиусами, удалось оценить геометрические характеристики натриевых и калиевых каналов. На основе этих опытов была создана модель ионного канала, согласно которой он состоит из входных участков и селективной области. Во входных участках происходят постепенная дегидратация иона и замещение молекул воды на полярные группы, выстилающие внутренность канала. Основной барьер находится в селективном центре канала, который имеет сечение $3 \times 5 \text{ \AA}^2$. Размер сечения выбран из тех соображений, чтобы геометрически исключить непроникающие катионы. Продольный размер (порядка нескольких Å) оценен грубо, исходя из максимально допустимого омического сопротивления канала как проводника с удельными характеристиками окру-

жающих растворов. Натриевый канал обладает очень высокой проводимостью. В открытом состоянии поток через него составляет 10^7 ионов/с. Это и заставляет максимально сузить основную барьерную область, чтобы получить высокую проницаемость наряду с высокой селективностью.

Большая проницаемость натриевого канала ставит вопрос о том, не является ли замедленным процесс диффузии ионов в примембранном пространстве. Оценки показывают, что предельный диффузионный ток примерно на порядок выше тока через канал, так что основным является внутримембранный транспорт. Это тем более верно в случае калиевых каналов, пропускная способность которых составляет 10^6 ионов/с. Сама по себе величина проницаемости каналов по ионам Na или K, хотя она и велика, не вызывает особого удивления. В конце концов она примерно та же, что и в водном растворе. Однако в мембранах высокая проницаемость сочетается с высокой селективностью — и тут уже приходится задуматься. Особенно явно суть проблемы вырисовывается в случае калиевого канала. Напомним, что кристаллографический радиус иона K составляет 2,66 Å, а Na — 1,90 Å. И тем не менее маленький ион Na, не испытывающий, казалось бы, никаких размерных трудностей, переносится через калиевый канал в сто раз медленнее! Невольно вспоминается старый анекдот из серии «ох, уж эти гении!», касающийся Ньютона. Великий физик согласно этой истории имел двух кошек, большую и маленькую. Чтобы они могли беспрепятственно уходить из дома на прогулку, Ньютон проделал в стене два отверстия разного диаметра — большое и маленькое, чем изрядно насмешил свою экономку, которая резонно считала, что маленькая кошка с успехом может воспользоваться широким отверстием. Наверное, экономке было бы очень трудно пережить ситуацию с калиевым каналом, прекрасно пропускающим большой ион K и практически закрытым для маленького Na.

Качественно ясно, что дело здесь не исчерпывается геометрией, необходимо учитывать взаимодействие конкретного иона с теми группами, которые выстилают внутреннюю полость канала. Если геометрия этой полости является жесткой, причем она соответствует иону K, то ион Na в канале оказывается в энергетически невыгодном положении. В растворе ион Na плотно окру-

жен молекулами воды, которые образуют гидратную оболочку, так что ион оказывается в глубокой потенциальной яме. В канале геометрически невозможно реализовать плотный контакт иона Na с выступающими внутреннюю полость полярными группами. Грубые оценки показывают, что эти рассуждения позволяют объяснить наблюдаемые эффекты. К этому следует добавить, что существенную роль может играть взаимодействие иона с фиксированным зарядом, если таковой имеется в окрестности селективного центра. Физически очевидно, что ионы малого радиуса теперь находятся в преимущественном положении, так как их кулоновское взаимодействие с фиксированным зарядом противоположного знака будет увеличивать сродство к каналу. Ряд селективности, наблюдаемый в натриевом канале, можно получить в предположении, что в окрестности селективного центра находится анионная группа. Проблема селективности не исчерпывается сугубо энергетическим аспектом. Действительно, если некоторый ион излишне хорошо связывается с каналом, он будет скорее блокировать транспорт, чем ускорять его. Отсюда вытекает, что задача требует кинетического подхода, к обсуждению которого мы и перейдем.

2. ОДНОРЯДНЫЙ ТРАНСПОРТ

Ионные каналы в силу своей геометрии допускают лишь одnorядное движение частиц. Следовательно, должны сказываться эффекты конкуренции и блокировки, которые будут проявляться во взаимной зависимости односторонних ионных потоков. О степени связи потоков судят по тому, как они зависят от ионных концентраций по разные стороны мембраны. Односторонние потоки считаются независимыми, если каждый из них определяется только концентрацией соответствующих частиц по ту сторону мембраны, откуда направлен поток. Это означает, что поток внутрь клетки ионов определенного сорта зависит только от концентрации этих ионов в наружном растворе.

Обычное описание, основанное на представлении о диффузии точечных не взаимодействующих частиц, естественно приводит к независимым односторонним потокам, отношение которых равно:

$$\frac{\vec{j}_K}{j_K} = \frac{C_K^o}{C_K} \exp z_K \psi = \exp z_K (\psi - \psi_K), \quad (7)$$

где ψ — безразмерный мембранный потенциал. Это соотношение, известное как формула Уссинга, имеет важное значение для анализа вопроса о степени зависимости потоков. Односторонние потоки, удовлетворяющие формуле Уссинга, могут не подчиняться принципу независимости. Напротив, отклонения от (7) будут свидетельствовать о наличии сильных корреляций между ионными потоками.

Экспериментальные исследования последних лет позволили обнаружить ряд существенных отклонений от принципа независимости. Так, в натриевом канале входящий и выходящий потоки независимы только в том случае, если через канал идут ионы Na и их концентрация в окружающих растворах не слишком высока. Если же рассматривается такой опыт, где с одной стороны Na заменен на другой катион, например Li, K, Cs и т. п., то натриевый канал перестает подчиняться принципу независимости. Перенос ионов K через калиевый канал даже при обычных условиях не подчиняется принципу независимости. Так, например, при увеличении внешней концентрации K в 10 раз входящий ток возрастает в 30 раз, а выходящий уменьшается в 3—4 раза. Отношение входящего и выходящего потоков K не удовлетворяет формуле Уссинга (7) и описывается эмпирической зависимостью:

$$\vec{j}/j = \exp[n(\psi - \psi_K)], \quad \psi = \frac{e\varphi}{kT}, \quad \text{где } n \approx 2,5.$$

Все эти факты говорят о том, что количественное описание ионного транспорта через каналы биологических мембран должно проводиться с учетом однорядного характера переноса. Для развития соответствующей теории необходимо опираться на какую-то модель ионного канала. По-видимому, разумно представлять движение иона по каналу как последовательное замещение молекул воды из гидратной оболочки на полярные группы, выстилающие внутренность канала. Профиль потенциальной энергии иона в мембране можно аппроксимировать кривой, изображенной на рис. 7, а. Области «1» и «3» отвечают входным участкам канала, а область «2» — селективному центру. Пока не конкретизировано количество потенциальных ям, их глубина и вы-

сота барьеров, такое представление является достаточно общим. Если в полном наборе барьеров имеется несколько основных, наиболее высоких, то перенос удобно рассматривать как дискретный процесс. В противном случае, когда число барьеров велико, а высоты их близки

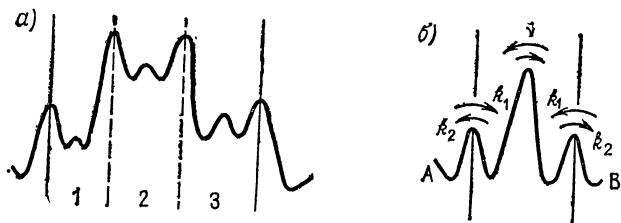


Рис. 7. Схематическое изображение энергетического профиля иона в канале: а — общий случай; б — трехбарьерная модель

по величине, можно использовать непрерывное описание. Обращаясь к дискретному варианту, отметим, что ионный транспорт выглядит здесь как серия последовательных реакций, для описания которых можно было бы привлечь обычный аппарат химической кинетики. Однако он требует существенной модификации, так как в нашем случае необходимо учесть однорядность процесса переноса. Это можно сделать, отказавшись от описания степени заполнения каждой потенциальной ямы и вводя вместо этого функцию состояния всего канала $F(X_1, X_2, \dots, X_n)$, где многомерный вектор $\{X_1, X_2, \dots, X_n\}$ отвечает определенной реализации заполнения канала, а функция $F(X_1, X_2, \dots, X_n)$ характеризует вероятность такой реализации. Число компонентов n соответствует числу потенциальных ям в энергетическом профиле канала. Если рассматривается такая задача, когда слева от мембраны имеются ионы А, а справа — ионы В, то каждое из X_k может принимать значения А, В и 0. Это означает, что k -я яма либо содержит ион (А или В), либо вакантна (0).

Чтобы проиллюстрировать метод расчета, рассмотрим простейший случай трехбарьерного энергетического профиля (рис. 7, б). Ионы А и В могут совершать перескоки через крайние барьеры с константами скоростей

k^A_1 , k^B_1 (внутри) и k^A_2 , k^B_2 (наружу). Константу скорости перескока через средний барьер обозначим v_A и v_B соответственно. Односторонние потоки j_A , j_B выражаются через функции состояния.

Таким образом, задача сводится к нахождению функций состояния, для которых имеется система кинетических уравнений.

Особенно простые и наглядные результаты получаются в случае, когда средний барьер существенно выше остальных. Физически это означает, что входные участки находятся в равновесии с окружающими растворами, а кинетика процесса определяется прохождением через средний барьер. Для односторонних потоков получаем:

$$j_A = \frac{n\gamma_A A v_A e^{-\psi_1/2}}{(1+\gamma_A A)(1+\gamma_B B)}, \quad j_B = \frac{n\gamma_B B v_B e^{-\psi_1/2}}{(1+\gamma_A A)(1+\gamma_B B)}, \quad (8)$$

где параметры γ_A и γ_B имеют смысл коэффициентов распределения. Комбинация множителей $\gamma_A A$ определяет вероятность заполнения входной ямы при условии, что она вакантна, множитель $[(1+\gamma_A A)(1+\gamma_B B)]^{-1}$ характеризует вероятность того, что канал пуст, а произведение $v \exp(\psi_2/2)$ есть константа скорости перехода через центральный барьер.

Отношение односторонних потоков (8) описывается формулой Уссинга:

$$j_A/j_B = e^{\psi - \psi_0}, \quad \psi_0 = \ln \frac{v_B \gamma_B^0 B}{v_A \gamma_A^0 A},$$

где $\gamma_i^0 = k_i^1/k_i^2$.

Из этих формул следует ряд важных выводов. Прежде всего, как это ясно из (8), односторонние потоки нелинейно зависят от концентрации по обе стороны мембраны, т. е. принцип независимости не имеет места. Только в том случае, когда $\gamma_A A \ll 1$, $\gamma_B B \ll 1$, т. е. мала концентрация в растворе или сродство данных ионов к входным участкам каналов, односторонние потоки оказываются независимыми и, как в электродиффузионной теории, определяются только произведением параметров $v_i \gamma_i$. При повышении концентрации или сродства проявляются эффекты блокировки. Проницаемость в общем случае становится функцией концентрации. Отсюда вытекает также, что селективность, определяемая как отношение односторонних потоков, определяется не только термодинамической величиной — сродством, но и кинетическими факторами.

тической характеристикой v_i . Анализ экспериментальных данных по транспорту различных катионов через натриевый канал позволяет заключить, что даже этот простейший тип энергетического профиля с одним высоким барьером отражает определенные качественные черты, характерные для натриевого канала. Не останавливаясь на деталях обработки эксперимента, приведем таблицу найденных коэффициентов v_i и γ_i для ряда катионов.

Коэффициенты v_i и γ_i для ряда катионов

Ион	γ_i^0, M	v_i/v_{Na}
Натрий	2,6	1
Таллий	21,7	0,042
Гидроксигуанидин	18,0	0,037
Аминогуанидин	9,3	0,038
Метилгуанидин	16,3	0,039

Из нее следует, что замещающие ионы лучше связываются с входным участком канала, чем ионы натрия, но их константа скорости прохождения через селективный центр v много меньше, чем соответствующая константа иона натрия. При замене ионов натрия на другие катионы в эквивалентной концентрации растет член $\gamma_v B$ в блокировочном множителе, так как коэффициент распределения γ натрия минимален. Следовательно, при переходе к другим катионам можно ждать отклонений от принципа независимости, что и наблюдается на опыте. Хотя трехбарьерная модель безусловно обладает подкупающей прелестью простоты, остается открытым вопрос о ее единственности. Для его решения необходимо рассматривать различные, физически оправданные модификации энергетического профиля. Наиболее интересным представляется тот вариант, когда в области селективного центра имеется дополнительная потенциальная яма, отделенная двумя высокими барьерами от входных участков. В пользу такой модели говорят экспериментальные данные, согласно которым в области селективного центра имеется фиксированная анионная группа. При ее нейтрализации проницаемость канала для катионов резко уменьшается. Поэтому естественно думать, что в нейтральном состоянии селективная область эквива-

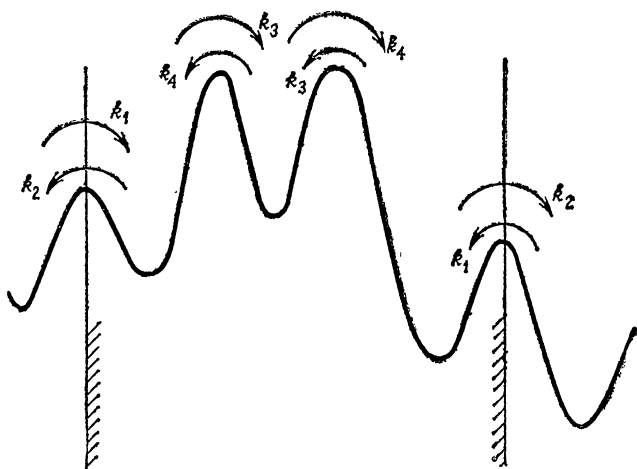


Рис. 8. Энергетический профиль иона в четырехбарьерном канале

лентна высокому барьеру, который для катионов понижается и расщепляется при ионизации. Таким образом, перенос через канал становится уже четырехбарьерным, и состояние канала должно описываться трехмерным вектором (X_1, X_2, X_3) , $X=A, B, 0$ (рис. 8). Мы не будем останавливаться на описании методов решения этой задачи и упомянем лишь один интересный результат, возникающий при учете межйонного кулоновского взаимодействия.

В четырехбарьерной модели следует различать два варианта ионного транспорта. В первом перенос является существенно одночастичным процессом; простейшим примером может служить случай, когда в канале всегда присутствует только один ион. Во втором варианте в канале имеются два иона, так что перенос приобретает двухчастичный характер. На первый взгляд кажется, что двухчастичный перенос должен быть всегда менее эффективным по сравнению с одночастичным. Однако такой вывод ошибочен. Физически пояснить это можно следующим образом. Фиксированный анионный центр, притягивая катионы, облегчает им вход в канал. Однако одновременно с этим он затрудняет им выход из канала. Очевидно, что выход из центральной ямы был бы облегчен, если бы в левой яме появился второй катион,

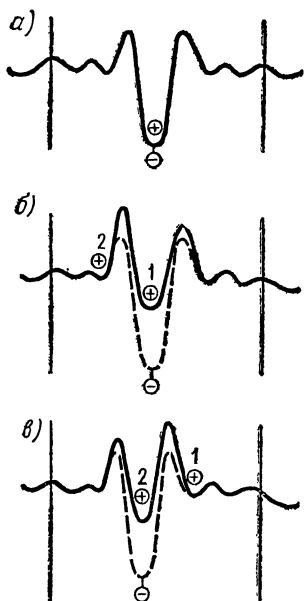


Рис. 9. Двухчастичный перенос ионов через канал. Глубокая потенциальная яма (а) соответствует одночастичному состоянию в канале. Кулоновское отталкивание в двухчастичном состоянии делает яму менее глубокой (б) и облегчает переход иона 1 в следующую яму (в)

так как взаимодействие иона 1 с фиксированным зарядом теперь ослаблено отталкиванием от иона 2. Иными словами, яма стала менее глубокой и возникла возможность перехода иона 1 в правую яму. Соответственно ион 2 может заполнить центральную яму, как бы «выбив» оттуда ион 1. Количественный анализ этой задачи показывает, что такой «бильярдный» механизм не нарушает справедливости формулы Уссинга и приводит к качественно тем же результатам, что и однорядный перенос в канале с одним высоким барьером. Следующий шаг на пути модификации энергетического профиля состоит в том, чтобы ввести в селективную область не одну, а минимум две сильно коррелированные потенциальные ямы. Метод решения этой задачи не отличается от изложенного выше, но результат представляет несомненный интерес. Оказывается, показатель степени в усинговской экспоненте определяется двумя факторами — числом потенциальных ям в селективной области и их глубиной. Если потенциальных ям две и они настолько глубоки, что канал практически всегда находится в двухчастичном состоянии, то показатель в экспоненте равен 2, а именно:

$$j_A/j_B = \exp 2(\psi - \psi_0). \quad (9)$$

Появление второй степени в экспоненте говорит как бы об удвоении порядка реакции переноса иона через канал, в заполненном канале выход частицы в раствор сопровождается последовательным сдвигом ионов по всему каналу. Формула (9) удовлетворительно согласуется с экспериментом по калиевым каналам. Удастся также объяснить наблюдающиеся отклонения односторонних потоков K от принципа независимости. Таким образом, сопоставляя выводы теории однорядного ионного транспорта с экспериментальными данными, удастся выявить качественные особенности энергетических профилей селективных ионных каналов.

Зависимость проводимости канала от электрического поля

1. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ УРАВНЕНИЙ ХОДЖКИНА — ХАКСЛИ

Уравнения Ходжкина—Хаксли описывают динамику некоторых макроскопических величин — проводимостей участков мембраны, содержащих большое количество отдельных ионных каналов. Поэтому одна и та же зависимость может быть получена либо как результат статистического усреднения проводимости каналов, испытывающих скачкообразные изменения, либо просто как умноженная на плотность каналов непрерывно изменяющаяся проводимость отдельного канала. Рассмотрим первую возможность на примере калиевой проводимости. Как следует из уравнений, эта величина пропорциональна n^4 , причем n изменяется от 0 до 1. Естественным рассматривать n как вероятность того, что некоторая частица, принадлежащая каналу, находится в определенном положении, способствующем возникновению проводящего состояния. Степень 4 тогда будет означать, что таких частиц имеется 4, и все они независимы, причем канал находится в проводящем состоянии лишь в том случае, если все четыре частицы од-

новременно оказываются в «активном» положении. Как следует из вида кинетического уравнения для n , кроме активного имеется лишь одно состояние для n -частицы, и его вероятность равна $1-n$. Таким образом, простейшая интерпретация модели Ходжкина—Хаксли дает для калиевого канала следующую картину.

Пусть для определенности все n -частицы несут некоторый положительный заряд. Тогда в состоянии покоя все четыре n -частицы находятся у внутренней стороны мембраны, и канал закрыт. Если увеличивать мембранный потенциал, то энергия n -частиц у внутренней стороны повышается, а у внешней — понижается. Поэтому вероятность нахождения частицы у внешней стороны мембраны растет, и соответственно повышается проводимость мембраны. Наконец, при больших потенциалах n -частицы почти все время находятся у внешней стороны мембраны, и проводимость достигает наибольшего возможного значения. Аналогичным образом можно интерпретировать и проводимость для натриевого канала с тем отличием, что здесь придется ввести два типа частиц — m и h , причем на один канал приходится три m -частицы и одна h -частица, не взаимодействующие между собой. Кинетическое уравнение для m -частиц линейно, что соответствует представлению об однобарьерном переходе или наличию всего двух состояний m -частицы. Константа равновесия между этими состояниями зависит от потенциала следующим образом: $\beta_m/\alpha_m \simeq \simeq \exp(-\frac{35}{9}\phi)$. Обычно предполагается, что разность потенциалов между начальным и конечным состоянием m -частицы совпадает с мембранным потенциалом ϕ . Тогда заряд n -частицы, определенный в окрестности потенциала покоя, оказывается равным 4. Однако трудно примириться с идеей о перескоке нескольких частиц в процессе активации на расстояние порядка 100 Å, если исходить из того, что канал представляет собой достаточно жесткую макромолекулярную систему. Можно предположить, что m -частицы испытывают небольшие смещения, но тогда заряд их придется считать неразумно большим. Обойти эту трудность можно лишь отказавшись от независимости субъединиц канала.

2. ТОКИ ВОРОТ

Структурная перестройка канала, происходящая при изменении внешнего электрического поля, должна проявляться в наличии дополнительной компоненты тока смещения, получившей образное название «тока ворот». Осуществить такой эксперимент удалось лишь в последние годы. Проблема состояла в том, чтобы выделить весьма малый полезный сигнал. Поэтому обычно измерения проводились на нервных волокнах, в которых внутренняя среда замещалась бескалийевым раствором, а из внешнего раствора убирались ионы натрия. Кроме того, добавлялись специфические яды — ТЭА и ТТХ, подавляющие проводимость калиевого и натриевого каналов. Но и при этих условиях флуктуации были довольно велики по сравнению с полезным сигналом, так что часто приходилось прибегать к использованию накопителя, производившего автоматическое усреднение записей. Типичный опыт состоял в следующем: к волокну, на котором предварительно устанавливался потенциал —100 мВ, затем прикладывался положительный импульс напряжения прямоугольной формы. При этом в начале и в конце импульса регистрировались переходные токи, направленные наружу и внутрь волокна. Для учета тока заряда емкости аналогичные измерения проводились при отрицательном импульсе напряжения, после чего результаты первого и второго эксперимента складывались алгебраически. В результате была выделена асимметричная компонента тока смещения, которая имела тот же знак, что и ток в ответ на положительный импульс напряжения, хотя по амплитуде была значительно меньше.

Характерной особенностью получаемых асимметричных токов является их экспоненциальная зависимость от времени. Анализ характерного времени релаксации асимметричного тока в зависимости от потенциала во время положительного импульса напряжения показал, что это время очень близко времени релаксации переменной m модели Ходжкина—Хаксли. Такое совпадение позволило предположить, что наблюдаемый асимметричный ток связан с частицами, открывающими и закрывающими натриевый канал.

Интегрируя воротный ток по времени, можно получить величину эквивалентного заряда, переносимого с

одной стороны мембраны на другую. На рис. 10 показана зависимость перемещенного заряда от мембранного потенциала. Сплошная кривая получена полуэмпирическим путем в предположении, что воротные частицы имеют по одному устойчивому состоянию вблизи каждой стороны мембраны и заряд $1,3 e$. Эта кривая описывается формулой:

$$Q(\psi) / Q_{\max} = (1 + e^{-Z\psi})^{-1}, \quad (10)$$

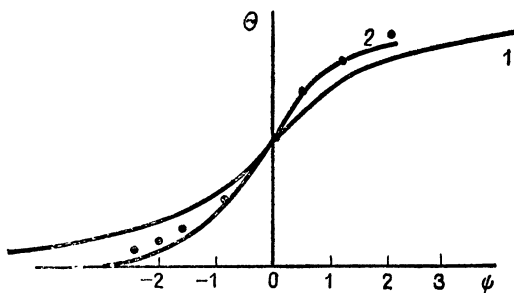


Рис. 10 Доля перенесенного заряда как функция потенциала. Кривая (1) построена по формуле (11) с линейной аппроксимацией $u(\theta)$. Кривая (2) — по формуле (10), точки — эксперимент

где Q_{\max} — максимальный смещенный заряд, равный приблизительно $2400 e/\mu\text{км}^2$.

Воротные токи можно рассматривать как следствие перескока m -частиц в процессе активации мембраны. С физической точки зрения представление о перескоке нескольких заряженных групп через всю толщину мембраны, как уже отмечалось, выглядит мало убедительным. Поэтому следует рассмотреть другие возможности интерпретации воротных токов. Остановимся на одной из них, которая связывает воротный ток с изменением проекции суммарного дипольного момента системы. Если липопротеиновый комплекс является достаточно жестким, то процесс переориентации элементарных диполей, соответствующих отдельным связям, будет кооперативным. Это весьма существенно для объяснения наблюдающейся на опыте (рис. 10) крутой зависимости величины смещенного заряда от мембранного потенциала. Если считать, что каждый элементарный диполь имеет

только две возможные ориентации, то долю изменивших ориентацию диполей Θ можно описать соотношением:

$$\frac{\Theta}{1-\Theta} \exp(-w\Theta) = k \exp \epsilon \psi, \quad (11)$$

где w — параметр кооперативности, $\epsilon = d/e\delta$, d — изменение проекции дипольного момента, δ — толщина мембраны, e — элементарный заряд, k — константа. На рис. 10 показана зависимость $\Theta(\psi)$, вычисленная при $w=3,5$ и $\epsilon=0,2$. Расхождение расчетной кривой с экспериментом при малых и больших Θ можно устранить, считая w функцией Θ , определенной из условий совпадения (10) и (11). Это означает, что ионный канал в терминах дипольной модели является системой с переменной кооперативностью, причем она возрастает в области малых и больших Θ . Например, при $\Theta=0,1$ (или $0,9$) $w=4,6$. Воротный ток, пропорциональный Θ , и зависимость его времени релаксации от потенциала качественно согласуются с экспериментом.

Изменение ионной проницаемости в процессе переориентации диполей может быть вызвано различными причинами. Если переориентация сопряжена с заметными конформационными изменениями системы, то «открытие» или «закрывание» канала может иметь буквальный смысл, т. е. сводиться к перестройке молекулярной геометрии канала. Возможен и другой случай, когда дипольная переориентация, не изменяя геометрии канала, влияет на электростатическую компоненту энергии ионов в канале и тем самым как на их концентрацию в мембране, так и на эффективную подвижность. Простые оценки показывают, что электростатический механизм регуляции в принципе может обеспечить наблюдаемую зависимость проводимости от потенциала.

Окончательный выбор между этими двумя возможностями можно будет сделать после того, как будет выяснено, дискретно или непрерывно изменяется проводимость отдельного канала. Физически очевидно, что закон «все или ничего» будет говорить в пользу конформационной гипотезы, тогда как непрерывное изменение проводимости должно свидетельствовать скорее о действии электростатического принципа регуляции. В модели Ходжкина—Хаксли постулировалось, что ионный канал, например калиевый, может находиться в одном из пяти конформационных состояний, причем проводя-

щим является лишь одно из них. Эта схема канала не является, конечно, единственно возможной, если исходить из условий совпадения с данными экспериментов по фиксации потенциала. Можно, например, предположить, что все конформационные состояния являются проводящими, причем функция распределения по проводимости будет находиться из условий наилучшего совпадения с экспериментом. Другая возможность состоит во введении единственного конформационного состояния, проводимость которого описывается нелинейным уравнением:

$$\frac{1}{4} \dot{g} = \alpha(\varphi) (g_0^{1/4} g^{3/4} - g) - \beta g. \quad (12)$$

Различить эти схемы можно с помощью изучения спектра электрических флуктуаций.

3. ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ФЛУКТУАЦИИ

В мембране, через которую течет электрический ток, существует ряд источников флуктуаций. Во-первых, мембрана шумит как обычный омический проводник. Амплитуда этой компоненты, очевидно, растет с числом открытых каналов. Большой интерес представляет другая компонента, связанная с открыванием и закрыванием каналов. Физически очевидно, что этот шум, называемый лоренцовским или дробовым, должен характеризоваться значительной интенсивностью. Однако до самого последнего времени не удавалось измерить лоренцовскую компоненту флуктуационного спектра, непосредственно связанную с действием ворот. Виной тому являлся мощный фон во флуктуационном спектре, который характеризовался частотной зависимостью типа $1/\omega$. Этот шум наблюдался и ранее в самых различных системах и получил название фликкер-шума. Природа его до сих пор достоверно не установлена.

И вот только в 1973 г. американскому биофизику Фишману удалось осуществить остроумный эксперимент. Он измерил вначале спектр обычной мембраны, а затем спектр той же мембраны, в которой калиевые каналы были заблокированы тетраэтиламмонием. Разностный спектр, очевидно, должен был отвечать флуктуациям электрических характеристик калиевых каналов и действительно имел лоренцовский вид. На основании де-

тального изучения спектра флуктуаций тока в калиевых и натриевых каналах исследователи склоняются к тому мнению, что схема Ходжкина—Хаксли верна и каналы характеризуются набором возможных конформационных состояний, из которых только одно является проводящим. Несмотря на быстрый прогресс в этой области, точность эксперимента не позволяет пока вынести окончательное суждение. По амплитуде флуктуаций и среднему значению флуктуирующей переменной уже удалось оценить среднее расстояние между каналами, которое оказалось порядка нескольких сот ангстрем для калиевых каналов в аксоне кальмара.

Распространение импульсов по нервным волокнам

1. СКОРОСТЬ И ФОРМА ИМПУЛЬСА

Важнейшим свойством нервного импульса является его способность распространяться вдоль волокна без затухания с постоянной скоростью. В одномерном случае распределение мембранного потенциала $\varphi(x, t)$ определяется кабельным уравнением, представляющим собой дифференциальную форму закона Ома:

$$C \frac{d\varphi}{dt} = \frac{1}{R} \frac{d^2\varphi}{dx^2} - I, \quad (13)$$

где C — емкость мембраны, приходящейся на единицу длины волокна, R — сумма продольных внутриклеточного и внеклеточного сопротивлений, I — ионный ток, протекающий через мембрану. Электрический ток I находится в сложной зависимости от потенциала, времени и координаты. Однако уравнение (13), если отвлечься от формы I , имеет более общий характер и описывает многие физические явления, например процесс горения. Поэтому передачу нервного возбуждения часто уподобляют горению порохового шнура. Если в бегущем пламени процесс поджигания осуществляется за счет теплопроводности, то в нервном импульсе возбуждение происходит при помощи так называемых локальных токов (рис. 11).

Эти представления появились еще в конце прошло-

го века. Затем последовали многочисленные попытки рассчитать передачу нервного импульса математически. Однако для этого надо было знать закономерности возбуждения. Не располагая фактическими данными о природе нервного возбуждения, многие исследователи ограничились построением теоретических моделей, свойства которых напоминали процесс возбуждения.

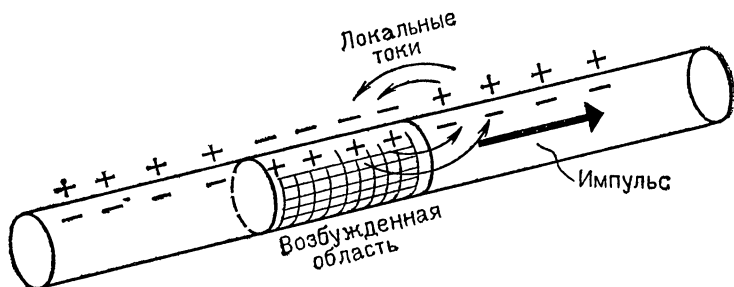


Рис. 11. Локальные токи, обеспечивающие распространение нервного импульса

По мере накопления экспериментальных данных становилось ясно, что сам эффект распространения мало чувствителен к деталям процесса возбуждения и что ответ на вопросы, связанные с распространением, можно получить при помощи весьма простых моделей, отражающих лишь общие свойства возбуждения. Исследователей интересовал вопрос о вычислении скорости нервного импульса в однородном волокне, а также сложные режимы распространения возбуждения в активных средах, например, таких, как сердечная мышца. Известно, что в миокарде может возникать явление трепетания, или фибрилляции, связанное со спонтанной электрической активностью среды. Задачей о фибрилляции занимались известный математик Винер и Розенблют. Ими было введено понятие формальной возбудимости среды, в которой природа возбуждения несущественна, и получены основополагающие результаты. Их идеи в дальнейшем были значительно развиты и усовершенствованы в работах советских ученых Гельфанда, Фомина, Цетлина и др.

Другая группа работ связана с вычислением скорости импульса. Здесь уже нельзя было обойтись без каких-нибудь, хотя бы простейших, представлений о фи-

зике процесса. Они обычно сводились к тому, что по достижении некоторых критических условий либо начиналась разрядка мембранной емкости, либо происходило включение мембранного генератора с заданными свойствами. Такое физическое моделирование позволяло получать аналитические результаты и выяснить физические закономерности. Еще одна группа работ связана с решением системы уравнений Ходжкина—Хаксли на вычислительных машинах. Однако мы не будем детально анализировать эти численные методы решения и сразу перейдем к обсуждению физических моделей и подходов, допускающих аналитическое решение.

Известно, что ионный ток, текущий через мембрану при прохождении нервного импульса, является знакопеременным (см. рис. 2, в). Поэтому аппроксимируем ионный ток I_B , текущий через мембрану при возбуждении, кусочно-постоянной функцией или двумя «столиками». Иными словами, допустим, что в некоторый момент, соответствующий началу возбуждения, включается ток, направленный внутрь волокна и равный по модулю j' . Спустя время τ' , ток меняется на равный и противоположный j'' . Эта фаза продолжается в течение времени τ'' . Кроме того, учтем пассивную проводимость мембраны r_m . Тогда полный ток будет равен: $I = I_B + \phi/r_m$. Теперь уже нетрудно найти автомодельное решение уравнения (13). Оказывается, что существует два допустимых значения скорости, каждому из которых соответствует бегущий импульс определенной формы, причем один оказывается устойчивым, а другой — неустойчивым. Скорость устойчивого импульса равна:

$$v_1 = \sqrt{\frac{j'}{\phi * RC^2}}. \quad (14)$$

В это выражение вошли только параметры первой фазы тока возбуждения, т. е. скорость распространения определяется передним фронтом бегущего импульса. Представляет интерес зависимость скорости от диаметра нервного волокна. Эксперимент на гладких волокнах показывает, что скорость приблизительно пропорциональна квадратному корню из диаметра. Такой же результат дает и приведенная формула.

Подбор разумных значений параметров, стоящих в формуле (14), дает величины скоростей, весьма близкие

к экспериментальным значениям. Например, для гигантского волокна кальмара получается скорость около 21 м/с.

2. РАСПРОСТРАНЕНИЕ ИМПУЛЬСОВ ПО НЕОДНОРОДНЫМ ВОЛОКНАМ

Нервные волокна, по которым распространяются импульсы, не являются однородными. Там, где происходит ветвление или изменяется сечение волокон, прохождение импульсов может быть затруднено, а иногда и просто невозможно. Эта проблема была исследована разными авторами с помощью различных методов. Применялись как аналитические методы, так и расчеты с помощью вычислительных машин.

Рассмотрим прохождение импульса по расширяющемуся волокну (рис. 12). Анализ показывает, что по мере приближения к расширению скорость импульса уменьшается, а после расширения начинает расти, пока не выйдет на новое стационарное значение, которое пре-

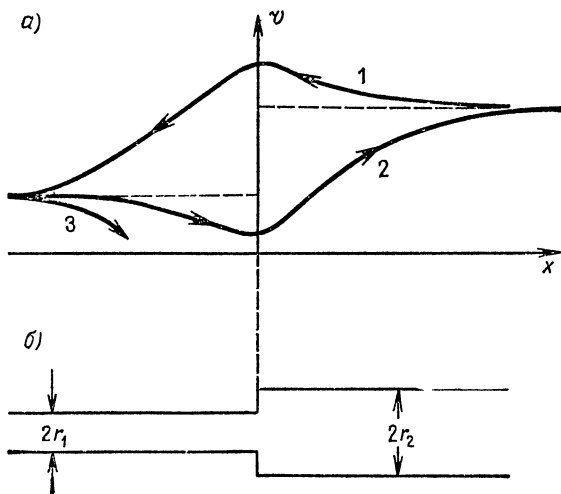


Рис. 12. Прохождение импульсов по расширяющемуся волокну: а — изменение скорости импульса в зависимости от его направления: импульсы 1, 2 проходят, импульс 3 блокируется; б — схематическое изображение расширяющегося волокна

выскачет первоначальное. Таким образом, переход на более высокую скорость происходит не монотонно, а через замедление. Это замедление тем больше, чем больше разница в сечениях. При достаточно большом расширении импульс может остановиться совсем. Представляет интерес вычисление критического расширения волокна, которое не пропускает импульс. Расчет, проделанный для простой аналитической модели, показывает, что условие блокирования имеет вид:

$$(r_2/r_1)^{3/2} > \chi + 1,11\sqrt{\chi} - 1,69 = K(\chi), \quad (15)$$

где r_1 и r_2 — радиусы двух частей волокна, χ — фактор безопасности, т. е. отношение амплитуды потенциала действия к порогу. Оценки с параметрами, принятыми для гигантского аксона кальмара, показывают, что критическим является расширение несколько больше четырехкратного. Вычисления в модели Ходжкина—Хаксли дают величину порядка пяти.

При обратном движении импульса блокирования не происходит. Импульс всегда может перейти из широкого волокна в узкое. Но изменение скорости при прохождении неоднородности носит противоположный характер. При подходе к сужению скорость импульса увеличивается, а затем начинает спадать до нового стационарного значения (см. рис. 12). Таким образом, на графике скорости мы получаем своеобразную петлю гистерезиса. Происхождение «гистерезиса» физически вполне понятно. Расположенное впереди широкое волокно с большой емкостью представляет собой мощный сток для заряда, поэтому потенциал медленнее поднимается до порога. Если же впереди находится сужение, то оно, будучи не в состоянии поглотить большой заряд, представляет собой отражающий экран, вблизи которого потенциал поднимается скорее, и следовательно, скорость импульса увеличивается.

Другой неоднородностью является ветвление волокон. Здесь возможны различные варианты прохождения и блокирования импульса. Если импульс подходит к узлу ветвления по одному волокну, то условие блокирования имеет вид:

$$\frac{\sqrt{r_2^3} + \sqrt{r_3^3}}{\sqrt{r_1^3}} > K(\chi).$$

Более интересен подход к узлу ветвления импульсов сразу по двум волокнам. Если импульсы движутся синхронно, то условие блокирования имеет вид:

$$\frac{\sqrt{r_3}}{\sqrt{r_1} + \sqrt{r_2}} > K(\chi).$$

Однако гораздо сложнее вопрос о разновременном подходе импульсов к узлу ветвления. Условие блокирования зависит от временного сдвига.

При разновременном подходе импульсов к узлу ветвления возникает эффект синхронизации, выражающийся в уменьшении временного сдвига между импульсами по мере их приближения к узлу. Если временной сдвиг между импульсами мал, то импульсы помогают друг другу проникнуть в широкое третье волокно. Однако если сдвиг достаточно велик, то импульсы начинают мешать друг другу. Связано это с тем, что импульс, подошедший первым, но не сумевший возбудить третье волокно, частично переводит узел в рефрактерное состояние.

3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИМПУЛЬСОВ

До сих пор мы рассматривали передачу нервного импульса по одиночному волокну более или менее сложной формы. Однако в организме нервные волокна обычно объединены в пучки или нервные стволы. Это хорошо видно на их срезах, которые выглядят так же, как срезы многожильного кабеля. Каждое волокно в таком пучке представляет собой самостоятельную линию связи, но все они имеют «один общий провод» — межклеточную жидкость. Следовательно, когда по одному из волокон бежит нервный импульс, он создает электрическое поле в межклеточной жидкости, которое может повлиять на мембранный потенциал соседних волокон. Конечно, в нормальных условиях разные линии связи должны работать без взаимных помех, но возможность взаимодействия в принципе существует, и в особых, патологических условиях она может проявиться. Действительно, обрабатывая нервные стволы специальными химическими веществами, удается наблюдать не только взаимные помехи, но и передачу возбуждения в соседние волокна. Пожалуй, наиболее четкий опыт такого рода удалось поставить Катцу и Шмидту. В лабораторных условиях

они поместили два отдельных нервных волокна в ограниченный объем внешнего раствора. Концы волокон были разведены в разные стороны, и их можно было возбуждать и контролировать по отдельности. Было обнаружено, что если по одному из волокон бежит импульс, то одновременно изменяется возбудимость второго волокна. Изменение проходит через три четко выраженные стадии. Сначала возбудимость второго волокна падает (повышается порог возбуждения). Это уменьшение возбудимости опережает потенциал действия, бегущий по нервному волокну, и длится примерно до тех пор, пока потенциал в первом волокне не достигает максимума. Затем возбудимость возрастает. Эта стадия совпадает по времени с процессом уменьшения потенциала в первом волокне. И наконец, возбудимость еще раз уменьшается, когда в первом волокне происходит небольшая заключительная гиперполяризация мембраны.

Экспериментально изучалось также одновременное прохождение импульсов по обоим волокнам. Взаимодействие импульсов при определенных условиях приводило к их синхронизации. Несмотря на то что собственные скорости импульсов в разных волокнах были различными, при их одновременном возбуждении мог возникнуть коллективный импульс. Если собственные скорости импульсов были одинаковы, то коллективный импульс имел меньшую скорость. Когда собственные скорости отличались заметно, коллективная скорость имела промежуточное значение. Синхронизоваться могли лишь импульсы, скорости которых отличаются не слишком сильно — в эксперименте Катца и Шмидта не более чем на 10%, причем взаимодействие очень сильно зависит от сопротивления внешней среды и оказывается тем больше, чем выше сопротивление.

Если воспользоваться описанной выше простой аналитической моделью, то довольно быстро удастся решить уравнение для нескольких волокон. Результаты сводятся к следующему. При возбуждении одного волокна в соседнем наводится знакопеременный мембранный потенциал: в начале еще волокно гиперполяризуется, затем дополяризуется и наконец еще раз гиперполяризуется. Очевидно, что эти три фазы соответствуют пониженной, повышенной и еще раз пониженной возбудимости волокна. Специально была исследована возможность передачи возбуждения между соседними волокнами, так

называемой эфаптической передачи. Подстановка типичных значений параметров, входящих в конечные формулы, показывает, что в нормальных условиях эфаптическая передача в стволах отсутствует. При увеличении радиуса волокна вероятность передачи на него возбуждения повышается. Особо исследован случай неоднород-

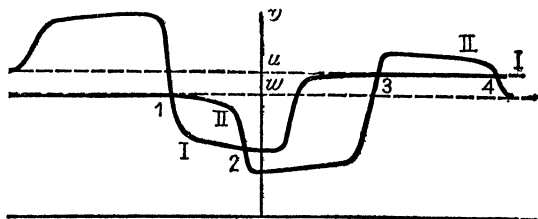


Рис. 13. К отысканию скорости коллективного импульса во взаимодействующих волокнах: a — расстояние между импульсами, v — скорость коллективного импульса, u , w — скорости отдельных не взаимодействующих импульсов. Кривые I и II — теоретические скорости импульсов в каждом из волокон при взаимодействии с соседними; точки их пересечения 1, 2, 3, 4 — коллективные состояния

ных стволов. Передача возбуждения из волокна в волокно оказалась наиболее вероятной в неоднородных участках, например, там, где волокна ветвятся или выходят из ствола.

Более интересна задача об одновременном возбуждении двух соседних волокон, и мы задержимся на ней несколько подробнее. Будем искать автомодельное решение задачи, когда два импульса движутся с одинаковой скоростью на постоянном расстоянии друг от друга. В этом случае в задаче имеются два неизвестных параметра — скорость v и расстояние между импульсами a . Поскольку импульсы влияют друг на друга, то формально скорость каждого из них является функцией расстояния между ними (рис. 13). Точки пересечения кривых представляют собой коллективное состояние, поскольку при этих условиях оба импульса движутся с одинаковой скоростью на постоянном расстоянии друг от друга. На приведенном рисунке имеются четыре коллективных состояния, отмеченных цифрами 1, 2, 3 и 4; устойчивыми из них являются только 1 и 3.

Состояние 1 соответствует такому случаю, когда впереди находится импульс, собственная скорость которого меньше. Он притормаживает второй («быстрый») импульс, не выпуская его вперед, и они оба движутся с относительно малой скоростью. А в состоянии 3 впереди находится «быстрый» импульс, который тянет за собой «медленный». Коллективная скорость оказывается близкой к собственной скорости «быстрого» импульса.

Возбудимые среды

До сих пор мы рассматривали распространение импульсов по отдельным волокнам. Между тем известно, что наиболее сложные функции выполняются совокупностями нервных или возбудимых мышечных клеток. При объединении нервных клеток в сети между ними образуются либо синаптические, либо электрические контакты. Сеть с синаптическими связями образуют, например, нейроны коры мозга. Мы же ограничимся рассмотрением сетей с электрическими контактами, где соседние клетки связаны настолько хорошо, что внутриклеточная жидкость представляет собой как бы единую проводящую систему. Такие сети называют синцитиальными. Примером подобной системы может служить сердце.

Работа сердца управляется особым органом — водителем ритма, который непрерывно посылает импульсы и задает частоту сокращений. Значительно упрощая реальную ситуацию, можно сказать, что сердце представляет собой нервно-мышечную возбудимую среду, по которой могут распространяться волны электрической активности. В нормальных условиях эти волны так же регулярны, как круги от брошенного камня на спокойной поверхности воды. Но вот подул ветер, пошел дождь — по поверхности воды побежала нерегулярная рябь. Подобная «электрическая рябь», называемая фибрилляцией, возникает при патологических состояниях сердца, в частности при инфаркте.

Общая картина развития инфаркта сейчас в значительной мере прояснилась. Опыты, проводимые на кусочках сердечной мышцы, показали, например, что фибрилляция возможна только тогда, когда размеры возбудимой среды достаточно велики. Критическая масса для

возникновения фибрилляции составляет около грамма. Поэтому один из мыслимых подходов к устранению фибрилляции состоит в том, чтобы сделать критическую массу большей, чем масса всего сердца. Естественно, что для сознательного увеличения критической массы необходимо знать ее зависимость от параметров, характеризующих сердечную мышцу, и в первую очередь от свойств отдельных клеток. Тогда, регулируя эти параметры, можно было бы управлять и критической массой.

Не будем останавливаться на описании других удивительных явлений, с которыми сталкиваются специалисты, изучающие механизмы работы сердца. Подчеркнем лишь, что для успешного развития этой области знания требуется разработка теории распространения возбуждений в нейронных сетях. В настоящее время построение полной теории возбудимых сред еще далеко не завершено, хотя уже имеются отдельные подходы к проблеме и сделаны первые шаги в изучении возбудимых сетей. Здесь необходимо упомянуть интересные работы американского математика Винера и советских ученых Гельфанда, Кринского и других.

Предположим, что мы располагаем сетью, состоящей из ветвящихся и меняющих свои размеры волокон. Как будет вести себя импульс, возбужденный в некоторой ее точке? Охватит ли возбуждение всю бесконечную сеть или затухнет вблизи от исходного участка?

Если на возможном пути импульса много «канканов» — ветвлений и расширений, блокирующих возбуждение, — наш импульс погибнет. Если же больше ветвлений, приводящих к раздвоению импульса, т. е. фактически к рождению нового импульса, есть вероятность, что начальный импульс размножится и возбудит сеть. Эта вероятность тем больше, чем реже встречаются в сети блокирующие неоднородности по сравнению с ветвлениями, порождающими новый импульс. Оказывается, можно найти количественные критерии возбуждения среды.

Рассмотренный частный вопрос о судьбе импульса, конечно, не представляет собой полного описания свойств сети. Например, интересно выяснить, в каких сетях возможно самопроизвольно поддерживающееся возбуждение, первоначально внесенное извне. Это тем более важно, что мерцательные аритмии, наблюдаемые на сердце, часто объясняют круговым движением воз-

буждения по предсердию. При этом полые вены рассматриваются как отверстия в плоской возбудимой среде, моделирующей предсердие. Таким образом, в простейшем случае непрекращающееся возбуждение можно представить как волну, бегущую по замкнутому контуру.

Принципиальная возможность такого явления доказывается следующим примером. Допустим, что наша сеть содержит кольцо, в котором круговое движение возбуждения возможно только в одном направлении. Пусть к этому кольцу подходит волокно, причем волокно достаточно толстое, чтобы возбудить кольцо. Если по такому волокну подходит импульс, то от точки слияния по кольцу побегут в разные стороны два импульса. Один из них, бегущий в запрещенном направлении, сразу же затухнет. Судьба же второго импульса зависит от того, успеет ли входной участок кольца «отдохнуть» до того, как второй импульс обоит кольцо и вернется к началу. Иными словами, если длительность рефракторного периода мала по сравнению со временем, в течение которого импульс обходит кольцо, то второй импульс, очевидно, никогда не будет уничтожен. Таким образом, наличие самоподдерживающегося возбуждения, которое называют ревербератором.

Можно запустить круговое возбуждение и в двусторонне проводящее кольцо. Конечно, сделать это с помощью одного только волокна, соединяющего кольцо с сетью, не удастся, поскольку импульсы, возникшие в кольце и бегущие в разные стороны, уничтожают друг друга при столкновении. При наличии двух волокон для устранения одного из импульсов можно воспользоваться тем, что приходящие одновременно в узел ветвления импульсы не всегда помогают друг другу: если разность между моментами прихода их в узел достаточно велика, импульс, пришедший вторым, вследствие явления аккомодации не пройдет через ветвление даже в том случае, когда без поддержки первого импульса он способен на это.

Итак, пусть к двусторонне проводящему кольцу подходят два волокна, первое из которых способно возбудить кольцо, а второе — нет. Пусть в начале возбуждается второе волокно. Тогда кольцо вблизи места слияния со вторым волокном окажется на время в рефракторном состоянии, т. е. его порог возбуждения окажется

временно повышен. Если вслед за этим возбудить первое волокно, то импульсы, запущенные от него в кольцо, окажутся в разном положении. Тот, который пойдет по второму волокну по кратчайшему пути, будет заблокирован из-за рефракторного состояния участка, а тот, который пойдет по длинному пути, даст возможность кольцу «отдохнуть» и возбудиться вновь. Таким образом в кольце возникнет постоянно циркулирующий импульс.

Рассмотренные типы возбуждения предъявляют специальные требования к размеру кольца. Например, в сердце длина кольца должна быть того же порядка, что и диаметр сердца или даже больше. Следовательно, самоподдерживающееся возбуждение может возникнуть только в том случае, когда в сети имеются достаточно большие неоднородности.

Обсуждавшиеся до сих пор сложные режимы возбуждения действительно возникали благодаря макроскопическим неоднородностям. Наличие таких областей в сердце до сих пор вызывает сомнение. Поэтому было важно выяснить, нельзя ли объяснить самоподдерживающиеся возбуждения как-нибудь иначе.

Действительно, ревербераторы оказались возможными и в макроскопически однородной среде. Представим себе, что имеется возбудимая среда в виде мелкой мозаики из клеток двух типов — с большой и малой рефрактерностями. Остальные их свойства одинаковы. Если одна из компонент среды находится в рефрактерном состоянии, а другая — в состоянии покоя, то по среде может распространяться импульс, хотя и с меньшей скоростью, чем коллективный, образующийся при возбуждении обеих компонент.

Если в первоначально покоящейся среде такого типа возбудить последовательно два импульса с интервалом, промежуточным по отношению к обоим рефрактерностям, в ней возникнет реверберация, механизм которой состоит в следующем. Первый коллективный импульс быстро уходит от точки раздражения. Вторым импульс, создаваемый только частично возбужденной средой, движется медленнее и постепенно отстает от первого. Вследствие этого настает момент, когда второй импульс встречает клетки, полностью вышедшие из рефрактерности. Тогда вперед идет новый коллективный импульс, а назад — медленный импульс, образованный частью среды с большой рефрактерностью.

Может случиться, что компонента с меньшей рефрактерностью снова станет способной к возбуждению, прежде чем возвратный импульс достигнет исходной точки, где он должен погибнуть, столкнувшись со своим симметричным близнецом. Тогда дальше вместо этого возвратного импульса пойдет коллективный, который погибнет в исходной точке. В первоначальном же направлении пойдет импульс, аналогичный возникшему при вторичном искусственном возбуждении среды. Как и раньше, этот импульс породит два: коллективный — вперед и медленный — назад. Процесс будет продолжаться, причем область, в которой можно наблюдать парциальный импульс того или иного типа, постепенно будет удаляться от начальной точки, а по обе стороны от этой области образуется «шуба» из коллективных импульсов, порождаемых таким ревербератором.

Интересно, что уничтожить ревербератор обычным импульсом уже нельзя — гибнет только внешний слой «шубы», т. е. самый первый импульс. Два ревербератора при столкновении уничтожают друг друга только в том случае, когда их «шубы» одинаковы. В противном случае выживает тот, чья «шуба» толще. На такой среде можно устроить и «погоню» ревербераторов. При этом оба ревербератора успешно «отстреливаются» друг от друга одиночными импульсами, и между ними всегда имеется постоянная прослойка из импульсов, созданных первым ревербератором.

Таким образом, ревербераторы оказываются удивительно устойчивыми образованиями, способными существовать и перемещаться по возбудимой среде. Не приходится сомневаться, что им принадлежит существенная роль в механизме возникновения и поддержания сердечных аритмий.

Заключение

Изучение механизмов функционирования биологических систем обычно основывается на структурных исследованиях. В случае с возбудимыми мембранами положение осложняется тем, что до сих пор нет такого структурного фундамента. Поэтому наиболее актуальной задачей ближайшего будущего следует считать выделение, изучение и реконструкцию мем-

бранных компонентов, ответственных за регулируемый электрическим полем селективный ионный транспорт.

Достигнутый прогресс в изучении ионного транспорта связан прежде всего с модельными экспериментами на БЛМ. Однако до сих пор остается много неясностей в важнейшей области, к которой относятся проблемы структуры, устойчивости и фазовых переходов в мембранах. Именно структурные дефекты, по-видимому, ответственны за фоновую проводимость БЛМ; они же могут определять закономерности электрического пробоя и фликкер-шум, характерный для этих систем. Теория подобных явлений пока отсутствует.

Количественное описание ионного переноса через мембраны, содержащие различные комплексоны, которые действуют как подвижные переносчики или фиксированные каналы, хотя и развито с почти исчерпывающей полнотой, но носит феноменологический характер. Переход на молекулярный уровень связан с большими трудностями, которые коренятся в самой природе изучаемого объекта. Кажется очевидным, что связывание и последующее движение иона сопряжены с конформационной перестройкой системы. Однако полный расчет структуры даже изолированного ионного комплекса (например, калия с валиномицином) представляет пока непреодолимую проблему. Возможный путь состоит, по-видимому, в более широком применении ЭВМ. Такие расчеты необходимы и для корректного решения проблемы селективности.

Наиболее интригующим вопросом в физике нервного импульса остается механизм действия ионных каналов возбудимых мембран, управляемых электрическим полем. Изменение проводимости канала либо связано с заметной перестройкой молекулярной геометрии системы, либо вызвано изменением электростатической компоненты энергии иона. Кажется естественным, что в первом случае канал будет работать дискретно, по принципу «все или ничего», а во втором проводимость его будет меняться непрерывно. Измерение спектров флуктуаций тока в принципе позволяет выбрать между этими двумя возможностями. Поэтому флуктуационный анализ ионных токов биологических мембран приобретает особое значение. Трудно переоценить важность и другого экспериментального метода изучения возбудимых мембран — измерения токов ворот. Если описывать ионный

канал как некоторую макромолекулярную систему, которая характеризуется набором возможных конформационных состояний, каждому из которых отвечает определенное значение электрической переменной, то токи ворот отражают изменение этой переменной и тем самым конформационную перестройку. Однако до сих пор остается неясным, какова природа электрического параметра, характеризующего состояние канала. Пока не видно способа, который позволил бы различить, происходит ли перенос или поворот каких-то заряженных групп на большие расстояния или имеет место кооперативная переориентация совокупности диполей атомного масштаба. Выяснение этого вопроса остается одной из актуальнейших задач биофизики нервного импульса.

Регистрация токов ворот имеет и более общее значение. Если рассматривать ионный транспорт через каналы как векторную ферментативную реакцию, то измерение асимметричных токов смещения фактически является новым и очень удобным методом изучения конформационных переходов. В современной биофизике живо обсуждается вопрос о том, играют ли такие переходы решающую роль в процессе ферментативного катализа или просто сопутствуют ему. Регуляционная роль конформационных переходов в мембранных транспортных системах вполне очевидна. Однако не исследован механизм ионно-конформационных взаимодействий в связи с элементарным актом перемещения частиц по каналу.

Серьезного изучения заслуживает в связи с этим фундаментальная проблема соотношения динамических и статистических факторов, актуальная не только в связи с транспортными задачами, но имеющая и общий для биофизики интерес. Проявление динамических закономерностей, которые определяют некоторую степень «машинности» в поведении системы, может оказаться важным при рассмотрении каналов активного транспорта.

Теория распространения нервных импульсов по отдельным волокнам различной геометрии разработана достаточно подробно. Следующим шагом является рассмотрение густых сетей из электрически связанных нервных волокон, так называемых возбудимых сред. В физике изучались близкие системы в связи с задачей о распространении фронта пламени. Однако биологическая возбудимая среда, которая «горит, но не сгорает»,

характеризуется большим разнообразием возможных режимов активности, среди которых особый интерес представляет фибрилляция, или так называемая электрическая турбулентность. Развитие теории возбудимых сред связано со значительными трудностями, так как кроме случайного распределения параметров, необходимо принимать во внимание нелинейный характер и память функции источника. Поэтому не удивительно, что подходящий формальный аппарат до сих пор разработать не удалось. Сложность этой задачи окупается не только практической важностью, но и внутренней красотой, которая проглядывается в тех модельных подходах, которые уже развиты в этой области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. Гальвани, А. Вольта. Избранные работы о животном электричестве, ОГИЗ Биомедгиз. М.—Л., 1937.
2. М. Льюис. История физики. М., «Мир», 1970.
3. П. В. Симонов. Что такое эмоция? М., «Наука», Научно-популярная серия. 1966.
4. М. Ходжкин. Нервный импульс. М., «Мир», 1965.
5. Б. Катц. Нерв, мышца, синапс. М., «Мир», 1968.
6. Ю. А. Овчинников, В. Т. Иванов, А. М. Шкроб. Мембранно-активные комплексы. М., «Наука», 1974.
7. Л. Д. Бергельсон. Биологические мембраны. М., «Наука», Научно-популярная серия, 1976.
8. Б. И. Ходоров. Общая физиология возбудимых мембран, М., «Наука», 1975.
9. С. В. Фомин, М. Б. Беркинблит. Математические проблемы в биологии. М., «Наука», 1973.
10. Ю. А. Чизмаджев, В. С. Маркин, 1970, № 6, 18, «Природа»,

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Нервное волокно: основные свойства	9
1. Строение и свойства нервной клетки	9
2. Явление возбудимости	12
3. Уравнения Ходжкина—Хаксли	16
Ионный транспорт через мембраны	17
1. Бислойные липидные мембраны	17
2. Перенос заряда через мембраны	21
3. Молекулярный подход	25
4. Устойчивость бислойных липидных мембран	27
Ионные каналы	30
1. Факты и гипотезы	30
2. Однорядный транспорт	34
Зависимость проводимости канала от электрического поля	41
1. Интерпретация уравнений Ходжкина—Хаксли	41
2. Токи ворот	43
3. Электрические флуктуации	46
Распространение импульсов по нервным волокнам	47
1. Скорость и форма импульса	47
2. Распространение импульсов по неоднородным волокнам	50
3. Взаимодействие импульсов	52
Возбудимые среды	55
Заключение	59

Владислав Семенович Маркин,
Юрий Александрович Чизмаджев

ФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Гл. отраслевой редактор *В. П. Демьянов*
Редактор *К. А. Кутузова*
Мл. редактор *Т. И. Полякова*
Обложка *О. А. Тарасенко*
Худ. редактор *М. А. Гусева*
Тех. редактор *Л. А. Кирякова*
Корректор *В. В. Каночкина*

Т 17028. Индекс заказа 74012. Сдано в набор 11.IX 1977 г. Подписано к печати 20.X 1977 г. Формат бумаги 84×108¹/₃₂. Бумага типографская 2. Бум. л. 1,0. Печ. л. 2,0. Усл. печ. л. 3,36. Уч.-изд. л. 3,24. Тираж 49 790 экз. Издательство «Знание». 101835, Москва, Центр, проезд Серова, д. 4. Заказ 1544. Типография Всесоюзного общества «Знание». Москва, Центр, Новая пл., д. 3/4.
Цена 11 коп.

Цена 11 коп.

