

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕРАЦИИ И РАСПРОСТРАНЕНИЯ НЕРВНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

Член-корреспондент АН СССР В. Г. ЛЕВИЧ,
кандидат физико-математических наук В. С. МАРКИН,
доктор химических наук Ю. А. ЧИЗМАДЖЕВ

В истекшем году в Институте электрохимии Академии наук СССР были начаты исследования в новой области, которую можно назвать биоэлектрохимией. Сюда в первую очередь относится изучение процессов, протекающих в возбудимых нервных и мышечных тканях. Исследования проводились в двух направлениях: во-первых, рассматривалось распространение возбуждения, свойства которого известны, и, во-вторых, выяснялся механизм возникновения электрического возбуждения. Эта статья представляет собой краткий обзор полученных результатов. Однако предварительно хотелось бы сделать одно замечание. Уровень, достигнутый современной электрофизиологией, позволяет, как нам кажется, применять методы теоретической физики к исследованию мембранной проницаемости, механизмов генерации и распространения возбуждений. Использование этих методов подразумевает расчет моделей, являющихся результатом определенной абстракции. Для такого подхода специфично прежде всего отыскание качественных закономерностей, а затем — сопоставление с экспериментом, что позволяет уточнить исходные модели или выбирать новые. Изложенные ниже результаты могут служить иллюстрацией подобного подхода.

*

На мембране нервного волокна в состоянии покоя поддерживается стационарная разность потенциалов величиной 50—70 мв. При деполяризации мембраны на величину, превышающую пороговую φ^* , происходит возбуждение мембраны, и генерируется так называемый потенциал действия. При этом через мембрану протекает ионный ток I , качественно изображенный на рис. 1 сплошной кривой. Как показано А. Ходжкиным и А. Хаксли, распространение нервного импульса по волокну описывается хорошо известным в электрохимии уравнением мембранного потенциала:

$$C \frac{\partial \varphi}{\partial t} = \frac{1}{R} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} - I,$$

где C — емкость волокна, а R — сопротивления внутреннего и внешнего раствора, отнесенные к единице длины волокна. При изучении распространения нервного импульса природа возбуждения, его механизм не существенны; достаточно знать, как изменяется ток. С целью получения аналитического решения мы аппроксимировали ток простой функцией, изображенной на рис. 1 пунктиром. Анализ уравнения показал, что задача допускает два стационарных решения. Это означает, что по одному и тому же волокну могут распространяться два разных импульса с разными скоростями. Правда, из них только один устойчивый. Возможность существования неустойчивого импульса впервые была указана А. Хаксли в его нобелевской речи. Здесь это было доказано аналитически. Была найдена скорость распространения возбуждения.

Для устойчивого импульса она равна:

$$v = \sqrt{\frac{j_1}{RC^2\varphi^*}}$$

Таким же методом исследовано распространение возбуждения в миелинизированном волокне. Сравнение рассчитанных величин скорости с экспериментальными показало хорошее совпадение результатов. В реальных условиях первые волокна бывают расположены параллельно в непосредственной близости друг к другу. Прохождение импульса по одному волокну оказывает влияние на свойства другого волокна, а распространение импульсов по ним обоим одновременно существенно отличается от распространения каждого импульса. Это явление было проанализировано математически. Выведена система уравнений, описывающая распространение импульсов по двум параллельным волокнам:

$$C_1 \frac{\partial \varphi_1}{\partial t} = \frac{R_2 + R_3}{R_1 R_2 + R_1 R_3 + R_2 R_3} \frac{\partial^2 \varphi_1}{\partial x^2} - \frac{R_3}{R_1 R_2 + R_1 R_3 + R_2 R_3} \frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial x^2} - I_1,$$

$$C_2 \frac{\partial \varphi_2}{\partial t} = - \frac{R_3}{R_1 R_2 + R_1 R_3 + R_2 R_3} \frac{\partial^2 \varphi_1}{\partial x^2} + \frac{R_1 + R_3}{R_1 R_2 + R_1 R_3 + R_2 R_3} \frac{\partial^2 \varphi_2}{\partial x^2} - I_2.$$

Здесь R_1 и R_2 — сопротивления внутренних растворов волокон, C_1 и C_2 — емкости их мембран, I_1 и I_2 — ионные мембранные токи, R_3 — сопротивление внешнего раствора. Все эти величины берутся за единицу длины волокна.

Взаимодействие между волокнами в такой схеме носит чисто электрический характер. Каждый импульс создает разность потенциалов во внешней среде и тем самым влияет на другое волокно. Решение этой системы привело к следующим результатам.

Когда по одному волокну распространяется нервный импульс, мембранная разность потенциалов на другом волокне изменяется в соответствии с движением импульса по нервному волокну. Эта волна изменения мембранного потенциала имеет три стадии: вначале волокно гиперполяризуется, затем деполяризуется и, наконец, еще раз гиперполяризуется. Иными словами, порог возбуждения второго волокна сдвигается: вначале повышается, затем понижается и, наконец, еще раз повышается. Такое изменение возбудимости волокна экспериментально наблюдалось в 1941 г. Б. Катцем и Р. Шмидтом.

Особый интерес представляет вторая стадия изменения возбудимости, когда порог понижается. Если он упадет до нуля, то произойдет возбуждение второго волокна, т. е. возбуждение передается от одного волокна к другому. Расчет показал, что если пороги волокон не сильно различаются, то такого возбуждения не происходит. Следовательно, в обычных условиях возбуждение между соседними волокнами не передается. Это может произойти только в том случае, если порог возбуждения второго волокна искусственно понижен или оно повреждено.

Исследовано также одновременное прохождение импульсов по двум волокнам. Если параметры волокон различаются не слишком сильно, то образуется коллективный импульс. Решение системы уравнений показало, что возможно до пяти видов коллективных состояний, отличающихся взаимным положением импульсов и скоростью распространения. Устойчивы из них не более трех. Найдены скорости распространения и условия существова-

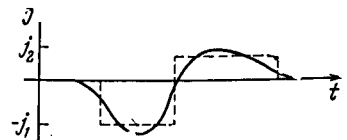


Рис. 1. Мембранный ток как функция времени (t)

j_2 — максимальное, j_1 — минимальное значение тока

ния каждого коллективного состояния. Возникновение коллективного импульса из импульсов, обладающих в отдельности разными скоростями, также наблюдалось экспериментально В. Катцем и Р. Шмидтом.

В нервных сетях импульс неминуемо встречает неоднородные участки. Такими неоднородностями могут быть изменение размеров волокна или его разветвление. Качественно эти вопросы изучались в работах Ю. И. Аршавского, М. Б. Беркинблита, С. А. Ковалева, В. В. Смолянинова и Л. М. Чайлахяна. Ниже будет изложена количественная теория этих эффектов.

Рассмотрим вначале, как проходит нервный импульс по волокну, радиус которого изменяется от r_1 до r_2 (рис. 2а). Будем считать, что $r_1 < r_2$.

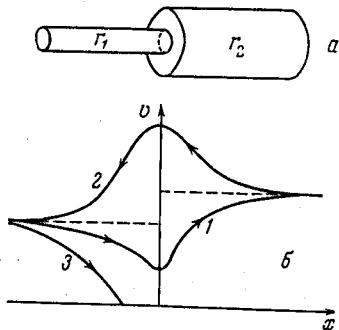


Рис. 2. Прохождение импульса по волокну с разными диаметрами

а — модель неоднородного аксона, б — изменение скорости импульса v в окрестности неоднородности как функция координаты x ; кривые 1—3 — характер изменений скорости в зависимости от направления импульса и степени изменения радиуса волокна

В каждой части такого составного волокна распространение импульса описывается прежним уравнением. На границе двух частей производится сшивка решений, так чтобы потенциал и продольный электрический ток были непрерывны. В этой задаче представляет интерес выяснить, как импульс проходит через область изменения размеров. Решение уравнений позволило определить изменение скорости в процессе перехода импульса из одной части волокна в другую. Зависимость скорости от положения импульса показана на рис. 2б. Если импульс движется слева направо, т. е. проходит из тонкой части волокна в толстую, то скорость изменяется следующим образом (кривая 1): вдали от области изменения размеров волокна скорость импульса постоянна и равна скорости в однородном волокне того же радиуса. Расширение здесь не ощущается. По мере приближения к границе скорость уменьшается, поскольку в широкой части волокна емкость выше и заряжать ее приходится дольше. Когда импульс переходит в широкую часть, его скорость начинает возрастать и асимптотически стремится к постоянному значению, равному скорости в однородном волокне соответствующего радиуса. Если импульс движется в обратном направлении — из толстой части в тонкую, то кривая возрастает, а потом убывает, стремясь к предельному значению (кривая 2). Таким образом наблюдается своеобразная петля гистерезиса. Понижение скорости импульса при переходе из тонкой части волокна в толстую зависит от величины расширения. При достаточно большом расширении скорость может обратиться в нуль. Это означает остановку импульса (кривая 3): через такое расширение он не может пройти. Было найдено условие остановки импульса на расширяющемся волокне. Если сопротивление внешнего раствора мало по сравнению с сопротивлением внутреннего раствора волокна, то остановка импульса происходит при выполнении условия:

$$\frac{r_2^{3/2}}{r_1^{3/2}} > \kappa + 1,11 \sqrt{\kappa} - 1,69 + \frac{0,17}{\sqrt{\kappa}},$$

где κ — фактор безопасности импульса, представляющий собой отношение максимального значения потенциала действия к пороговому. Например, при $\kappa = 7$ блокирующим является расширение, в котором отношение радиусов превышает 4,1. Близкое значение было получено С. Я. Виленкиным,

Ф. Б. Гулько и Б. И. Ходоровым в результате расчета на ЭВМ, основанного на уравнениях Ходжкина — Хаксли. В обратном направлении — из толстой части в тонкую — импульс может пройти всегда. Прохождение его через неоднородность сильно зависит от количества электролита во внешней среде. Если оно мало, так что волокно покрыто лишь тонкой пленкой раствора, условие блокирования импульса выглядит иначе:

$$\frac{r_2}{r_1} > \kappa + 1,11 \sqrt{\kappa} - 1,69 + \frac{0,17}{\sqrt{\kappa}},$$

Оно сильно отличается от предыдущего. Например, при том же значении фактора безопасности блокирование осуществляется, если отношение радиусов превышает 8,3. Таким образом, если отношение радиусов при данном факторе безопасности лежит в интервале $4,1 < \frac{r_2}{r_1} < 8,3$, то такое волокно, находясь в большом объеме раствора, блокирует импульс, а в маленьком объеме проводит его. Это обстоятельство может играть определенную физиологическую роль.

Другой вид неоднородности — ветвление волокон (рис. 3). К узлу ветвления импульс может подойти либо по одному, либо сразу по двум волокнам. Задача заключается в том, чтобы выяснить условие прохождения импульсов через узел. В каждой ветви импульс описывается обычным уравнением, а в узле ставятся два очевидных условия: потенциал должен быть непрерывным и ток, вытекающий в узел, должен быть равен вытекающему току.

Рассмотрим сначала случай, когда импульс подходит к узлу только по волокну 1. Скорость импульса при этом уменьшается или возрастает в зависимости от соотношения между параметрами волокон. Если возбуждение по волокну 1 доходит до узла, то дальше оно раздваивается и уходит по волокнам 2 и 3. Возбуждение только одного из этих волокон без возбуждения другого невозможно. Импульс может быть блокирован ветвлением. Условие блокирования для волокна в большом объеме внешнего раствора имеет вид:

$$\frac{r_1^{3/2}}{r_1^{3/2} + r_2^{3/2}} > \kappa + 1,11 \sqrt{\kappa} - 1,69 + \frac{0,17}{\sqrt{\kappa}},$$

Сравнение с расширяющимся волокном показывает, что импульсу пройти через узел ветвления труднее, чем через расширение, поскольку он должен возбудить мембрану сразу двух волокон.

Если импульсы подходят к узлу ветвления по двум волокнам, то прохождение через узел облегчается. Если они движутся по двум волокнам с некоторым временным сдвигом, то по мере приближения к узлу синхронизируются, так что сдвиг уменьшается. Условие прохождения зависит от разности времен прихода импульсов в узел. Прохождение импульсов тем легче, чем меньше задержка. При синхронном подходе условие блокирования импульсов узлом имеет вид:

$$\frac{r_2^{3/2}}{r_1^{3/2} + r_2^{3/2}} > \kappa + 1,11 \sqrt{\kappa} - 1,69 + \frac{0,17}{\sqrt{\kappa}}.$$

Зная, как проходят импульсы через неоднородности, можно приступить к рассмотрению нервных сетей. В качестве примера была рассмотрена статистическая сетка, состоящая из волокон со случайными значениями

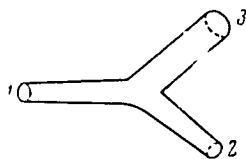


Рис. 3. Схематическое изображение ветвящегося аксона

1—3 — нервные волокна

радиусов: волокна в сети случайным образом изменяют свои размеры и ветвятся. В такой сети возбуждается одно волокно, выбранное наугад. Требуется выяснить, угаснет ли это возбуждение или сможет охватить всю сеть. Решение задачи показало, что ответ зависит от свойств сети — распределения волокон по радиусам, радиуса выбранного волокна, а также от вероятностей ветвления и изменения радиуса. Через эти параметры удается выразить вероятность угасания возбуждения или распространения его на всю сеть. Качественно результат состоит в том, что возбуждение либо угасает в некоторой конечной области, либо, если ему удается «прорваться» через границу этой области, охватывает всю сеть.

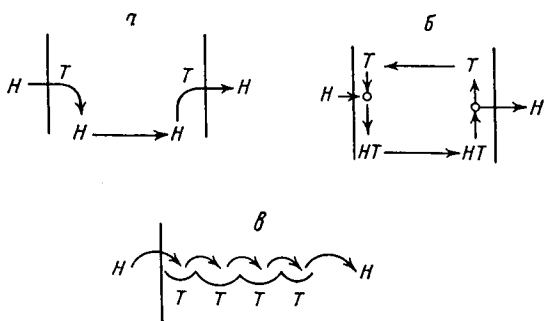


Рис. 4. Модели ионного транспорта через мембраны

а — схема свободной диффузии, б — схема переносчиков, в — эстафетный перенос

ции возбуждения. Известные уравнения Ходжкина — Хаксли прекрасно описывают электрические процессы в нервной мембране, однако, будучи эмпирическими, не раскрывают самого механизма этих процессов. Поэтому полученные недавно П. Мюллером искусственные бимолекулярные фосфолипидные мембраны быстро привлекли к себе всеобщее внимание. По своему составу они близки к реальным клеточным мембранам, а возможность контролируемым образом изменять окружающие условия позволяет очень легко изучить влияние на мембрану самых разных факторов.

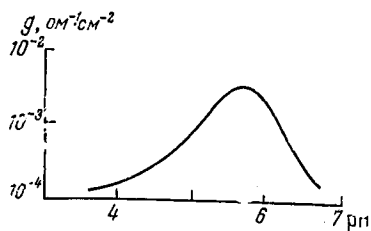


Рис. 5. Зависимость проводимости от концентрации токопроводящих ионов

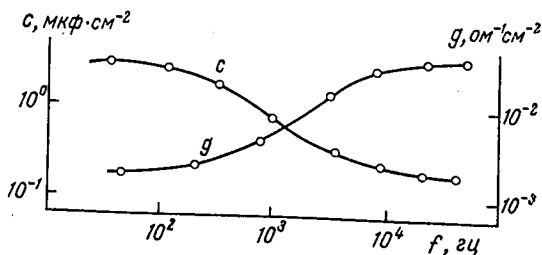


Рис. 6. Зависимость емкости и проводимости от частоты

В работах Е. А. Либермана и В. П. Топалы изучалось воздействие на проводимость искусственных фосфолипидных мембран таких разобщителей окислительного фосфорилирования, как тетрахлортрифторметилбензимидазол, 2,4-динитрофенол, никриновая кислота, валиномицин и т. п. Было показано, что под действием этих добавок проводимость мембран возрастает на несколько порядков, а ток переносится протонами. В случае валиномицина ток переносится ионами калия. Проводимость очень резко и немонотонно зависела от концентрации токообразующего иона с максимумом, расположенным в районе рК разобщителя. Представляло интерес выяснить механизм проводимости мембран. С этой целью было рассмотрено три

модели. В модели диффузии протонов (рис. 4а) предполагалось, что разобщители (T), располагаясь на границах мембраны с раствором, облегчают протонам (H) переход через эти границы, а по мембране протоны диффундируют самостоятельно. В модели переносчиков, разработанной совместно с Е. А. Либерманом и Л. И. Криптиком, предполагалось, что разобщители могут перемещаться внутри мембраны (рис. 4б). На одной стороне мембраны они соединяются с протонами из раствора. Образовавшиеся комплексы под действием электрического поля и градиента концентрации

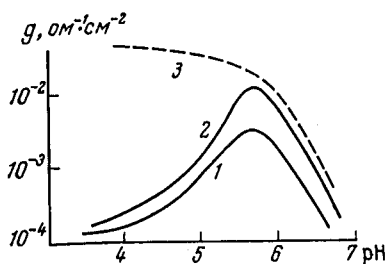


Рис. 7. Зависимость проводимости от концентрации токопроводящих ионов на разных частотах

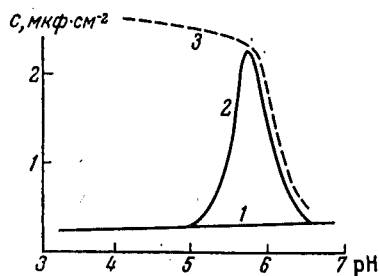


Рис. 8. Зависимость емкости от концентрации токопроводящих ионов на разных частотах

перемещаются к другой границе. Там они отдают протон в раствор, а освободившиеся переносчики возвращаются обратно. Затем цикл повторяется. И, наконец, в эстафетной модели (рис. 4в) предполагалось, что разобщители образуют внутри мембраны цепочку, по которой «скачет» протон.

Основным критерием для оценки модели служила даваемая ею зависимость проводимости от концентрации переносимого иона или от pH раствора. Модель диффузии протонов показала монотонную зависимость проводимости от pH, а модель переносчиков и эстафеты — немонотонную, совпадающую с экспериментальной (рис. 5). Причина такой зависимости для модели переносчиков состоит в следующем: при высоких pH проводимость мала, потому что в растворе мало протонов; с уменьшением pH, когда увеличивается концентрация протонов, проводимость возрастает, однако одновременно уменьшается число свободных переносчиков, поскольку они переходят в связанную форму, и в результате проводимость, пройдя через максимум, должна уменьшаться. Максимум достигается при оптимальном соотношении между числом связанных и свободных переносчиков, а именно когда порядки этих величин совпадают. Такое условие выполняется в районе рК разобщителя.

Для эстафетной модели причина аналогична. С уменьшением pH растет число переносимых протонов, и проводимость увеличивается. Одновременно уменьшается число свободных мест в цепочке, необходимых для передвижения протонов. Следовательно, и здесь проводимость должна пройти через максимум в районе рК разобщителя.

Таким образом, для дальнейшего анализа следовало оставить только две последние модели. Если мембрана разделяет два раствора с различными pH, то на ней возникает разность потенциалов, величина которой и зависимость от pH растворов одинаково описываются моделью переносчиков и эстафетной моделью. Результаты совпадают с экспериментальными. В модели переносчиков мембранный потенциал должен возникнуть и при одинаковых pH, если задан перепад концентрации разобщителя. Такой эффект экспериментально наблюдался на пикриновой кислоте.

*

Весьма подробные сведения о характере проводимости дает исследование импеданса мембраны, т. е. емкости и проводимости на переменном токе. Результаты в модели переносчиков и в эстафетной модели одинаковы (рис. 6). С увеличением частоты проводимость возрастает от одного предельного значения до другого, так как на высоких частотах протонам не обязательно переходить через границу мембраны с раствором — достаточно только смещаться внутри мембраны. Ликвидация одной из стадий переноса повышает проводимость. Емкость мембраны изменяется в обратном направлении. На низких частотах она оказывается выше чисто геометрической емкости за счет того, что смещение зарядов внутри мембраны увеличивает ее эффективную диэлектрическую проницаемость. На высоких частотах заряды не успевают смещаться, и емкость стремится к геометрической. Опыты Л. И. Богуславского и А. В. Лебедева подтвердили такую зависимость. Различие двух рассматриваемых моделей проявляется в том, как зависит емкость и проводимость от рН раствора на разных частотах.

На рис. 7 представлена зависимость проводимости от рН. Здесь кривая 1 — проводимость на малых частотах, одинаковая для обеих моделей (причина такой зависимости изложена выше), кривая 2 относится к эстафетной модели на высоких частотах, а кривая 3 — к модели переносчиков также на высоких частотах. Здесь проявляется различие. В эстафетной модели сохраняется колоколообразный вид кривой, поскольку соображения, изложенные для низких частот, остаются справедливыми и для высоких частот.

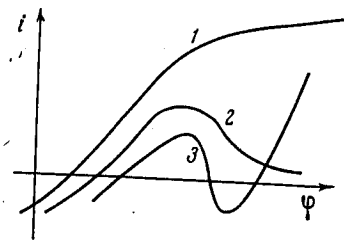


Рис. 9. Вольт-амперные характеристики мембран

В модели переносчиков ситуация иная: при уменьшении рН уменьшается число свободных переносчиков; если переносчики нейтральны, то комплексы оказываются заряженными. Уменьшение числа свободных переносчиков снижает скорость образования комплексов на границе, и в результате на низких частотах уменьшается проводимость. Однако на высоких частотах это оказывается несущественным, поскольку заряженные частицы могут и не переходить через границу, смещаясь в пределах мембраны. Проводимость не убывает. Следует отметить, что кривая 3 может иметь обратный характер — возрастать с увеличением рН, если переносчик заряжен отрицательно, а его комплекс с протоном нейтрален.

По аналогичным причинам емкость ведет себя так, как показано на рис. 8. На высоких частотах заряды в мембране не успевают значительно сместиться, поэтому емкость в обеих моделях оказывается равной одному и тому же предельному значению, определяемому геометрией мембраны (кривая 1). На низких частотах эстафетная модель дает колоколообразную зависимость (кривая 2), поскольку увеличение емкости происходит из-за смещения зарядов, а оно может иметь место только при одновременном наличии и протонов и свободных мест в цепочке. Модель переносчиков на низких частотах дает монотонную кривую 3. Направление ее изменения может быть иным при другом заряде переносчика. Экспериментальные исследования в этой области начаты совсем недавно и проведены пока только для тетрахлортрифторметилбензимидазола (ТТФБ), диципрофенола, пентахлорфенола и валиномицина. Из опытов Л. И. Богуславского и А. В. Лебедева следует, что данные укладываются на расчетные кривые эстафетной модели (см. рис. 7).

*

Большой интерес представляло изучение вольт-амперных характеристик мембран с разными добавками. Вводя в раствор разные вещества, П. Мюллер экспериментально получил поведение, очень похожее на поведение реальных возбудимых клеточных мембран. В этой связи очень важны поиски падающих участков на вольт-амперных характеристиках. Изучение модели переносчиков показало, что вольт-амперные характеристики могут иметь вид кривых 1 и 2, представленных на рис. 9. Эти кривые относятся к переносчикам с разными зарядами. На кривой 2 переносчик имеет заряд 0 и -1 , так что либо сам переносчик, либо его комплекс с протоном оказывается нейтральным. В результате вольт-амперная характеристика имеет монотонный вид. Если заряд переносчика отличен от 0 и -1 , то и сам переносчик и его комплекс оказываются заряженными, и на вольт-амперной кривой появляется падающий участок (кривая 2). Причина этого состоит в следующем. При увеличении потенциала ток вначале возрастает. Однако в дальнейшем, по мере того как и переносчики и комплексы под действием сильного поля оттягиваются к одной стороне мембраны, ток начинает падать. Для получения явления возбудимости необходимы дополнительные осложнения модели, например введение второго переносимого иона и второго переносчика. Тогда удастся найти расчетным путем характеристику типа кривой 3 с тремя бестоковыми состояниями.

Аналогичные результаты были получены в эстафетной модели с дополнительным предположением о существовании каких-либо частиц, которые могут адсорбироваться на активных центрах и тем самым блокировать проводимость.

Таким образом, значительное число экспериментальных данных, относящихся к искусственным фосфолипидным мембранам, удовлетворительно описывается изложенными выше механизмами переноса. Однако остается открытым вопрос о том, насколько модель адекватна изучаемому объекту, т. е. насколько хорошо искусственная фосфолипидная мембрана моделирует мембрану аксона. Ведь в искусственной мембране не содержится белка, который, по-видимому, играет важную роль в функционировании биологических мембран. Выяснение этого вопроса является задачей начатых сейчас исследований.

*

Изучением механизма возникновения нервного импульса занимаются во многих лабораториях мира. В данной статье мы хотели рассказать о возможностях феноменологического метода в теории распространения нервных импульсов, а также о новых подходах к проблеме полного транспорта, появившихся после создания искусственных фосфолипидных мембран.

удк 541.13