

В. Л. ДУНИН-БАРКОВСКИЙ, С. А. КОВАЛЕВ, Л. М. ЧАЙЛАХЯН

АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПОСТСИНАПТИЧЕСКОЙ МЫШЕЧНОЙ МЕМБРАНЫ

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 1 III 1971)

В работах (^{1, 2}) было показано, что потенциал равновесия E_p постсинаптической мышечной мембраны, активированной действием натурального медиатора или ацетилхолина (АХ) описывается уравнением

$$E_p = (1 / (1 + \alpha)) (\alpha \varepsilon_0 \ln(\bar{Na} / \underline{Na}) + \varepsilon_0 \ln(\bar{K} / \underline{K})),$$

$$\alpha = 129 \text{ мМ} / (95 \text{ мМ} + 2 \bar{K}), \quad (1)$$

где $\varepsilon_0 = RT/F = 25$ мВ; $\alpha = g_{Na}/g_K$ — эмпирический параметр — «отношение ионных проводимостей», $\bar{Na}$, $\bar{K}$ и $\underline{Na}$, $\underline{K}$ — вне- и внутриклеточные концентрации ионов Na и K соответственно. Ионы Cl не влияют на E_p . В (^{3, 4}) было отмечено, что зависимость (1) резко отличается от обычного для катион-избирательных мембран уравнения Гольдмана (⁵)

$$E_p = \varepsilon_0 \ln[(\beta \bar{Na} + \bar{K}) / (\beta \underline{Na} + \underline{K})] \quad (2)$$

(коэффициент $\beta = P_{Na}/P_K$ называется отношением ионных проницаемостей мембраны). Если подобрать β так, чтобы в нормальных ионных условиях (¹) ($\bar{Na} = 116$ мМ, $\bar{K} = 2,5$ мМ, $\underline{Na} = 15,5$ мМ, $\underline{K} = 126$ мМ) значение E_p совпадало с экспериментально измеренным: -15 мВ, то при $\bar{K} = 0,5$ мМ (остальные концентрации неизменны) по уравнению (2) $E_p = -17$ мВ, а по уравнению (1) и в опыте $E_p = -33$ мВ. Сильное изменение E_p активированной постсинаптической мембраны (п.с.м.) при удалении K из наружного раствора мы будем называть K-чувствительностью. Ранее предложена (³) и развита (⁴) гипотеза, объясняющая зависимость (1) тем, что ионные токи при активации п.с.м. очень кратковременны и Na и K проходят через разные участки мембраны. Исходя из гипотезы следовало ожидать, что при длительной работе ионных каналов активированная п.с.м. должна потерять K-чувствительность. Были предприняты поиски модификаторов действия медиатора на п.с.м. и холинимиетиков, которые привели бы к искомому эффекту (^{4, 6, 7}). Было установлено (⁴), что при активации п.с.м. субхолином E_p в нормальном растворе совпадает с E_p при активации п.с.м. медиатором, но K-чувствительность в этом случае отсутствует. Далее оказалось (⁷), что при $t = +2^\circ$ активированная медиатором п.с.м. обладает теми же свойствами, что и п.с.м., активированная субхолином при комнатной температуре. В обоих случаях, когда была обнаружена потеря K-чувствительности, по независимым соображениям можно было предполагать, что время активации ионных каналов увеличено. Таким образом, эти результаты свидетельствуют в пользу исходной гипотезы. Следует отметить, что детализация гипотезы на микроскопическом уровне (⁴) неудовлетворительна: она использует такие понятия как профиль концентрации ионов в «поре» длиной 80 Å и диаметром 10 Å. Если учесть, что через каждый квадрат размерами 100×100 Å на постсинаптической мембране за 1 мсек. проходит не менее 500 ионов, то сомнительность такого допущения очевидна.

В данной заметке предлагается более реальная конкретизация схемы (³, ⁴) генерации ионных токов в активированной п.с.м. Сначала мы покажем, что электрохимические свойства п.с.м. в основном определяются при- мембранным слоем электролита, затем докажем, что уравнение (1) озна- чает, что К и Na в п.с.м. идут по разным каналам, а после этого оценим влияние длительной активации ионных каналов на К-чувствительность п.с.м.

Активированная п.с.м. обладает очень малым удельным сопротивлени- ем. Кац (⁸) оценивает его так. Изменение сопротивления мембраны во время одиночных миниатюрных потенциалов составляет 10^7 ом. Площадь, на которую успевает за это время распространиться медиатор, не превы- шает $10\mu^2$, отсюда $\rho = 1 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$. В этом расчете не учтены два фактора: а) в каждый момент времени, быть может, работает лишь какая-то доля из этих $10\mu^2$; б) концевая пластинка имеет сложную структуру. Таким об- разом, возможно, что сопротивление собственно п.с.м. вообще не отличается от сопротивления слоя жидкости толщиной $80 \text{ \AA}$. В этом смысле мы будем далее называть активированную п.с.м. «сверхпроводящей». Такая мембрана представляет препятствие для перемещения ионов лишь потому, что она не пропускает анионы и на ней имеется разность потенциалов. Еще одним аргументом в пользу подобного допущения может служить то, что внешний ток через активированную п.с.м. влияет на скорость диффу- зии медиатора из синаптической щели (¹⁰). Величину E_p «сверхпроводя- щей» однородной мембраны можно оценить из следующих соображений. Число ударов ионов о поверхность мембраны в единицу времени * снару- жи пропорционально величине $u_{Na}\overline{Na} + u_K\overline{K}$, а изнутри — $u_{Na}Na + u_KK$ (u_{Na} , u_K — подвижности ионов в растворе). По градиенту потенциала через мембрану пройдут все ионы, ударяющиеся о поверхность мембраны, а про- тив градиента — лишь те, энергия которых превышает величину eE (e — заряд электрона, E — разность потенциалов на мембране). При $E = E_p$ эти потоки равны, отсюда

$$E_p = e_0 \ln [(u_{Na}\overline{Na} + u_K\overline{K}) / (u_{Na}Na + u_KK)],$$

т. е. уравнение типа (2).

Этот вывод основан на предположении об однородности мембраны. Реально E_p активированной медиатором п.с.м. подчиняется уравнению (1). Значит п.с.м. не однородна по своим свойствам: одни ее участки избира- тельно проницаемы для Na, а другие — для К. E_p неоднородной мембра- ны должен при большом расстоянии между Na- и К-участками в первый момент времени после активации подчиняться уравнению (1). Расстояние между К и Na участками мембраны d должно, очевидно, превышать сред- нее расстояние между ионами в растворе ($\sim 30 \text{ \AA}$). С другой стороны, по- скольку потенциалы равновесия для миниатюрных потенциалов совпадают с потенциалом равновесия максимально активированной п.с.м., то на уча- стке мембраны, на который распространяется действие одного кванта ме- диатора ($\sim 3\mu$), должно быть достаточно много и К- и Na-каналов. От- сюда $3\mu \gg d \gg 30 \text{ \AA}$.

С течением времени концентрации ионов вблизи К- и Na-участков ак- тивированной мембраны должны измениться за счет протекания токов. Это может изменить значения E_p и его зависимость от концентраций К и Na. Значимость этого эффекта зависит от соотношения между плотностью тока и толщиной неперемешиваемого слоя электролита (⁹). Плотность тока между К- и Na-каналами активированной п.с.м. при потенциале, рав- ном потенциалу равновесия, составляет около $8 \cdot 10^{-2} \text{ а/см}^2$. «Критическая толщина» (⁹) диффузионного слоя при такой плотности тока $\sim 10 \mu$.

* В силу уравнений диффузии это число бесконечно. Из физических соображений ясно, что оно ограничено. С формальной точки зрения речь может, например, идти об ударах, разделенных промежутком времени некоторой фиксированной величины.

Реальная толщина неперемешиваемого слоя ~ 100 м, значит, диффузионные процессы вблизи мембраны должны оказывать влияние на E_p .

Рассмотрим пример расчета потенциала равновесия неоднородной мембраны в начальный момент времени и в установившемся режиме. Для упрощения расчетов примем, что слой неперемешиваемого электролита находится лишь с одной стороны мембраны, и омическим сопротивлением подводящего ток раствора электролита можно пренебречь (рис. 1). Пунктиром показана «сверхпроводящая» мембрана. В капале, помеченном знаком Na, она проницаема лишь для Na (соответственно для K). За значение E_p принимается одинаковая для обоих каналов разность потенциалов между внешней и внутренней стороной этой структуры. В начальный момент времени E_p определяется выражением типа (1), где α — отношение проводимостей Na- и K-каналов. В установившемся режиме E_p рассчитывается из стационарных уравнений диффузии для ионов K, Na и анионов с учетом поля в обоих типах каналов. Мембрана входит в расчет лишь тем, что она создает в каждом канале нерстовскую э.д.с. по соответствующему иону. В K-канале весь ток переносится ионами K, а в Na-канале — ионами Na; концентрации ионов на границе диффузионных областей равны концентрациям в глубине раствора.

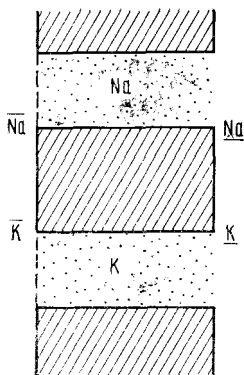


Рис. 1. Схема ионных каналов п.с.м. Пунктиром показана собственно активированная п.с.м.; заштрихованы области, непроницаемые для ионов; точками заполнены области, диффузия ионов в которых принимается во внимание

В этих предположениях для нормальных концентраций ионов получены следующие результаты. Если диффузионный слой сосредоточен на внешней поверхности мембраны, $E_p = +5$ мв, если диффузионный слой — на внутренней стороне, то $E_p = -22$ мв. Реально в «установившемся режиме» (⁴, ⁷) $E_p = -15$ мв. Этот факт, в частности, указывает на необходимость учитывать диффузионные слои с обеих сторон мембраны. В обоих случаях в стационарном режиме мембрана не обладает K-чувствительностью: при $\bar{K} = 0,5$ мМ E_p в первом случае равен $+5$ мв, а во втором -24 мв.

В опытах (⁶, ⁹) наблюдалось различие E_p атропинизированной мышцы для активации мембраны медиатором (⁶) и микроапликации АХ (⁹). Эти результаты могут быть даже получены на одной и той же концевой пластинке (⁹). Такое расхождение можно объяснить исходя из приведенных представлений, если принять, что атропин затрудняет диффузию ионов в синаптической щели (¹¹) и продлевает работу ионных каналов (¹⁰, ¹²).

Институт проблем передачи информации
Академии наук СССР
Москва

Поступило
25 II 1971

Московская рыбоводно-мелиоративная опытная станция
Министерства сельского хозяйства РСФСР

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Takeuchi, N. Takeuchi, J. Physiol., **154**, 52 (1960). ² N. Takeuchi, J. Physiol., **167**, 127 (1963). ³ В. Л. Дунин-Барковский, С. А. Ковалев и др., Материалы V симпозиума по вопросам нейрофизиологии, Вильнюс, 1967.
- ⁴ В. Л. Дунин-Барковский, С. А. Ковалев и др., Биофизика, **14**, 485 (1969).
- ⁵ Н. Н. Никольский, ЖФХ, **8**, 315 (1938). ⁶ Т. В. Потапова, Биофизика, **14**, 766 (1969). ⁷ П. Д. Брежневский, Б. Н. Вепринцев и др., Материалы симпозиума по биофизике мышечного сокращения, Ереван, 1971. ⁸ Б. Кац, Нерв, мышца, синапс, М., 1968. ⁹ Дж. Феттер, Электрохимическая кинетика, «Наука», 1967. ¹⁰ L. G. Magasanik, F. Vyskočil, Experientia, **25**, 618 (1969). ¹¹ R. Veranek, F. Vyskočil, J. Physiol., **195**, 493 (1968). ¹² A. B. Steinbach, J. Gen. Physiol., **52**, 162 (1968).