

**NERVE,
MUSCLE
and
SYNAPSE**

McGraw-Hill Series in the New Biology

BERNARD KATZ

University of London

McGraw-Hill Book Company
New York St. Louis San Francisco

Toronto London Sydney

1966

Б. КАТЦ

Нерв, мышца и синапс

Перевод с английского Ю. И. Лашкевича

*Под редакцией и с предисловием
д-ра мед. наук В. С. Гурфинкеля*

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» МОСКВА 1968

В этой небольшой книжке известный английский физиолог и биофизик в доступной и увлекательной форме обобщил все современные данные о процессе передачи информации в организме человека. После краткого описания строения нервной и мышечной систем, быстрого обзора истории вопроса и основ электрофизиологических методик рассмотрены электрические процессы в отдельных нервных клетках и мышечных волокнах, мембранная теория генерации потенциалов, передача возбуждения от клетки к клетке, процессы передачи в синапсах, механизм мышечного сокращения.

Предназначена для физиологов, врачей, биофизиков, специалистов в области кибернетики и бионики, для студентов старших курсов и аспирантов соответствующих специальностей

Редакция биологической литературы

Предисловие к русскому изданию

Монография «Нерв, мышца и синапс» принадлежит перу замечательного английского физиолога Бернарда Катца, известного своими работами по механизму генерации биопотенциалов и передачи сигналов от клетки к клетке. То обстоятельство, что эта монография посвящена проблемам, в разработке которых выдающуюся роль сыграл сам автор, несомненно, отразилось на характере книги. В ней не только четко и достаточно подробно изложены современные представления о механизмах процесса возбуждения, его распространения в нерве и мышце и передачи от клетки к клетке, но и проведен глубокий анализ исходных данных, на основе которых были сформулированы эти представления. Высокая эрудиция автора, в частности в вопросах физики и физической химии, позволила ему связать многие классические понятия общей физиологии с физико-химическими свойствами клеточных мембран.

В высшей степени последовательный, ясный и конкретный характер изложения, отсутствие неопределенных и общих фраз значительно облегчают восприятие материала. Очень ценно, что в книге можно найти также ряд важных методических указаний. Все это делает книгу Б. Катца прекрасным учебным пособием для всех тех, кто хотел бы познакомиться с современными представлениями об электрических явлениях в нерве и мышце и о нервно-мышечной передаче, а также с соответствующими методами исследования.

Она, несомненно, будет чрезвычайно полезна не только студентам и аспирантам, но и многим научным работникам, интересующимся этой областью знания.

В. Гурфинкель

Предисловие к английскому изданию

Когда я впервые попросил проф. Катца написать книгу для серии McGraw-Hill Series in the New Biology, предполагалось, что она будет предназначена для таких студентов, каких обучал я, — главным образом для студентов первого и второго курсов колледжа, слушающих вводный курс биологии. Мы уже с успехом использовали статьи Катца в *Scientific American*, отличающиеся ясностью и содержательностью. Я надеялся, что в небольшой книге он сможет на том же уровне изложить более обширный материал с полнотой, достаточной не только для ознакомления с предметом, но и для целей *обучения*.

Проф. Катц написал нужный нам элементарный курс, но фактически он сделал нечто гораздо большее. Он не ограничивается изложением первых основ, а развивает тему в глубину. Он обладает ясным, «графичным» стилем. Мне особенно импонирует то, что изложение каждой мысли доводится им до количественного уровня. Любой теоретический вопрос обсуждается в этой форме, с четкой формулировкой проблем и рассмотрением относящихся к ним численных данных. Но в целом автор идет еще дальше: он ставит и разрешает фундаментальные вопросы, за анализ которых до сих пор брались, вероятно, лишь немногие исследователи в области электрофизиологии. Все это он делает с отличным пониманием физических и физико-химических основ рассматриваемых процессов.

Поэтому я думаю, что в книге найдется много интересного и поучительного для самых различных читателей — не только тех, для кого она была первоначально задумана, но и для студентов старших курсов и даже, возможно, для зрелых исследователей в данной области.

У всех нас, занятых исследовательской работой, остались пробелы в подготовке, и мы утешаем себя мыслью, что когда-нибудь найдем время «проработать» какие-то важные вопросы, в которых мы до сих пор как следует не разобрались. Пожалуй, самое ценное в этой книге состоит в том, что автор поднимает такие вопросы и анализирует их, попутно вскрывая аспекты, которые могли бы ускользнуть от нашего внимания.

Джордж Уолд

Предисловие автора

Цель этой книги — изложить простым языком то, что известно о передаче сообщений в живом организме. Автор не утверждает, что наши современные знания о нервном импульсе и о процессах межклеточной связи уже вошли в орбиту «молекулярной биологии». Тем не менее изучение нервных и мышечных клеток за последние десятилетия заметно продвинулось вперед и достигло такого этапа, когда некоторые биологические процессы могут быть описаны в понятиях физики и химии. Кроме того, многие простейшие явления установлены путем прямых и количественных наблюдений на отдельных клетках, что упростило их анализ и значительно способствовало их пониманию.

Бернард Катц

Элементы организации нервно-мышечной системы

Нервно-мышечная система возникла у животных на раннем этапе эволюции; она появилась у самых примитивных многоклеточных организмов, у которых уже имелась дифференциация тканей. Даже неподвижно прикрепленная к субстрату актиния обладает специализированными клетками, обеспечивающими восприятие раздражителей, быструю внутреннюю связь и ответные рефлекторные движения.

Передача сообщений внутри живого организма может осуществляться в принципе с помощью двух механизмов. Один из них основан на освобождении специфического химического вещества в результате, например, местного воздействия раздражителя в точке *A*. Циркулируя внутри организма, это вещество попадает в отдаленный участок тела *B*, где определенные клетки снабжены специфическими молекулами — «рецепторами» для данного вещества. Некоторые виды таких сигнальных веществ, называемые *гормонами*, играют важную роль в регуляции метаболизма. У мелких одноклеточных животных освобождение и внутренняя диффузия или циркуляция химических веществ вполне могли бы иметь первостепенное значение для быстрых реакций на внешние раздражители. Но у крупного многоклеточного животного, у которого различные ткани приобрели специализированные функции, эффективная связь между отдаленными участками тела не могла бы осуществляться с помощью одних лишь химических агентов. Они не обеспечивали бы достаточной скорости и точности в регулировании огромного потока сигналов и не справились бы с задачей мгновенного сообщения специфических инструкций миллионам различных клеток.

Выполнение этих задач составляет, как мы знаем, функцию нервной системы в ее разнообразных формах — от

сравнительно простой нервной сети кишечнopolостных до чрезвычайно сложной «вычислительной» системы головного мозга млекопитающего.

Успешное развитие даже простейшего нервного аппарата связано с механизмами, физико-химическая природа которых нам еще совершенно неизвестна. Каковы те направляющие силы, которые заставляют аксоны развивающихся или регенерирующих нервных клеток расти, проходить длинный путь к своим специфическим конечным пунктам и находить среди миллионов клеток те немногие избранные, с которыми они должны вступать в контакт? Это один из труднейших вопросов биологии, и значение его не уменьшилось оттого, что и сейчас мы не можем дать на него более ясный ответ, чем могли это сделать наши предшественники сто лет назад.

Обычно принято разделять нервную систему высших организмов на две главные части — центральную и периферическую. Периферическая нервная система содержит длинные соединительные «кабели» (нервные волокна, или аксоны), каждый из которых является отростком центрально расположенной клетки. Функция периферических нервов состоит в быстрой и безотказной передаче сигналов — *афферентных* сообщений от органов чувств, доставляющих входную информацию для центрального «вычислительного устройства», и *эфферентных* сигналов, направляющихся обратно на периферию, к исполнительным органам — мышцам и железам. Центральная нервная система — спинной и головной мозг — представляет собой гораздо более сложный аппарат и служит для сортировки и сравнения входных сигналов, для их координации и выработки надлежащих ответных реакций. Чтобы получить представление о важности и хрупкости этой управляющей системы, достаточно обратить внимание на совершенство ее механической защиты: она взвешена в амортизирующей жидкой среде внутри защитных костных образований черепа и позвоночника.

Но это еще не вся нервная система; существуют еще скопления нервных клеток в различных областях тела (автономные ганглии), входные и выходные связи которых относительно независимы от контроля со стороны головного мозга; они обеспечивают автоматическую регуляцию работы наших внутренних органов и кровообращения.

У беспозвоночных животных нервная система несколько отличается от нашей. Тела чувствительных нейронов находятся у них на периферии, поблизости от мест первичной рецепции раздражителей, а двигательные нейроны сосредоточены в центральных ганглиях вместе с высшими — интегрирующими и координирующими — нервными клетками.

Таким образом, сигналы, передаваемые нашими периферическими нервами, выполняют две главные функции: они несут входную информацию от органов чувств и выходную информацию к скелетным мышцам и железам. Однако для тонкого и точного управления мышечными движениями имеются устройства, обеспечивающие непрерывное поддержание «обратной связи» и постоянную проверку и уточнение двигательных реакций даже после того, как они уже начались. С этой целью в наши мышцы встроены внутренние рецепторы, действующие как микроскопические датчики напряжения; они посылают в центры нервные сигналы, которые позволяют непрерывно контролировать длину мышечных волокон и скорость ее изменения. Информация от этих так называемых *мышечных веретен* используется для постоянного контроля над активностью двигательных нервов и автоматически регулирует поток центробежных импульсов, направляющихся к мышцам.

В качестве добавочного усовершенствования мышечные веретена имеют регулятор чувствительности, состоящий из тонких специализированных мышечных волокон, используемых для предварительного натяжения чувствительных нервных окончаний. Эти волокна находятся под контролем центральной нервной системы, и в зависимости от того, натянуты или расслаблены веретена, вся эта сложная система рефлекторной регуляции может находиться в состоянии «готовности» или «отдыха». Это только один из многочисленных биологических сервомеханизмов, которые связывают периферические органы чувств с центральными нейронами и обеспечивают их плавную, точную и автоматическую работу. Каждому известно, что умение надлежащим образом использовать этот аппарат и точно дозировать усилие во времени требует тренировки. Только путем практики приобретается плавность и точность мышечных движений. «Механику» этого процесса, в результате которого мы научаемся вовремя посылать нервные импульсы и автоматически,

без усилия выполнять очень сложные двигательные акты, мы пока не знаем; это еще одна увлекательная проблема нейрофизиологии, до сих пор не решенная даже частично.

Структурной единицей системы связи нашего организма является отдельная нервная клетка, или *нейрон*; нейрон содержит ядро и состоит из тела клетки и отростков, многочисленные разветвления которых расходятся в разных направлениях (фиг. 1). Каждая нервная клетка в некотором роде представляет собой нервную систему в миниатюре: она получает афферентные сообщения от многих других нейронов через их тонкие концевые веточки, образующие контакты, или *синапсы*, которые находятся на теле клетки и на ее более коротких отростках — дендритах. Она отбирает, анализирует и интегрирует эти сигналы и подготавливает надлежащие выходные сообщения, которые передаются дальше по эфферентному каналу, называемому *аксоном*, на следующую сортировочную станцию¹.

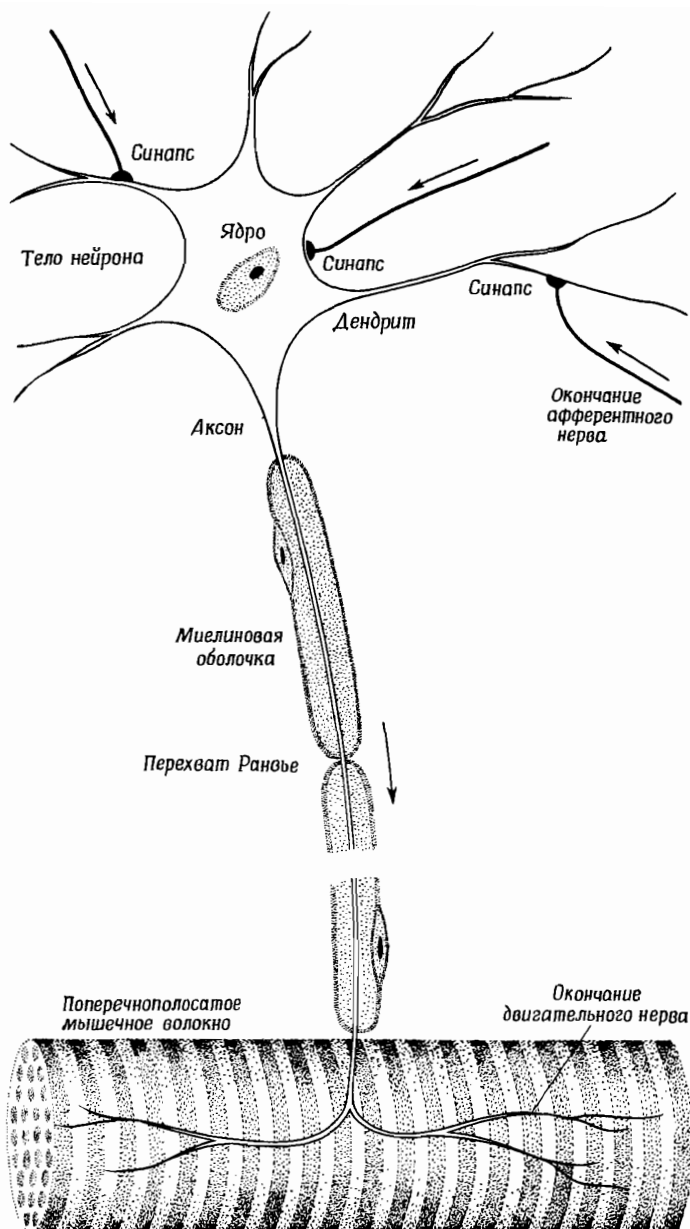
Сказанное выше можно резюмировать следующим образом: *прием* сигналов происходит в особых точках контакта на теле нейрона и его дендритах, *интеграция* входных сигналов осуществляется в этой же области, в поверхностной мембране тела нейрона, а *ответная реакция* — генерирование и дальнейшее проведение эфферентных сигналов — является функцией аксона.

Механизм, посредством которого нервные клетки выполняют эти три важные функции, был предметом успешных исследований, и значительная часть нашей книги будет посвящена обзору полученных при этом сведений.

Структурные отношения между нейронами и соседними клетками

Нейроны вступают в интимное соприкосновение с другими клетками не только в синапсах, где происходит передача сигналов. Большая часть поверхности нейрона покры-

¹ Аксоном называют как периферическое нервное волокно, т. е. необычайно удлинённый периферический отросток нервной клетки, соединяющий ее с органом чувств (афферентное волокно) или с мышцей (эфферентное волокно), так и эфферентный отросток центрального нейрона, т. е. тот его отросток, по которому сигналы идут в направлении от тела клетки.



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

Показаны некоторые из ее центральных (синаптических) и периферических (нервно-мышечных) соединений.

та тесно прилегающими к ней клетками (так называемыми сателлитами — глиальными или шванновскими клетками), функция которых до сих пор остается загадкой.

Нейрон связан со своими ближайшими соседями гораздо теснее, чем связаны между собой смежные мышечные волокна, которые разделены узким пространством, содержащим коллагеновые и другие соединительнотканые фибриллы.

Для экспериментальных целей можно выделить одиночные мышечные волокна в изолированном виде. С нервными волокнами сделать это, строго говоря, невозможно, и многочисленные важные эксперименты, которые были проведены на одиночных изолированных аксонах, фактически проводились на нервных волокнах, окруженных неотделимой от них оболочкой из шванновских клеток, плотно прилегающих к поверхности аксона.

В культуре ткани могут быть получены «голые» аксоны, но в процессе нормального эмбрионального развития нервные клетки и их отростки всегда приобретают покров из тонкого слоя клеток-сателлитов. Структурные отношения между этими клеточными компонентами до недавнего времени были предметом непрерывных споров.

Солидная школа гистологов, возглавлявшаяся Гансом Хельдом, оспаривала само представление об «индивидуальных» нейронах, т. е. о нейронах как отдельных и полных клеточных элементах. Хельд утверждал, что растущий аксон проникает внутрь цитоплазмы тех клеток, с которыми он вступает в связь, что вся нервная система по существу образует одно огромное синцитиальное¹ целое (нейропиль) и что между нею и тканями, деятельность которых она контролирует, устанавливается непрерывность цитоплазмы. Этому взгляду противостояла точка зрения Рамон-и-Кахала, который считал, что нервные клетки, хотя они и вступают в тесный контакт с другими клетками, структурно отделены от них и друг от друга и что цитоплазма соприкасающихся клеток полностью заключена внутри изолирующих

¹ Синцитием называют массу клеток, соединенных между собой тонкими цитоплазматическими отростками.

ее клеточных мембран. Этот исторический спор между сторонниками теорий межнейронного «контакта» и нейропильной «непрерывности» был в конце концов решен в пользу интерпретации Кахала, когда для изучения нервных клеток был применен электронный микроскоп с его необычайно высокой разрешающей способностью.

Оказалось, что нервные клетки и аксоны почти полностью окружены клетками-сателлитами (глиальными или шванновскими), но каждая клетка отделена от соседней и между смежными мембранами имеется узкая щель шириной обычно от 100 до нескольких сот ангстрем. На поперечном срезе шванновская оболочка периферического аксона обычно представляется настолько непрерывной и столь тесно прилегающей к аксону, что нетрудно понять твердое убеждение Хельда в том, что растущий аксон проходит сквозь цитоплазму шванновских клеток; и, пожалуй, тот длительный и ожесточенный спор, который возник между сторонниками двух теорий, можно считать вполне естественным, поскольку эти теории (как и многие другие) были основаны на интерпретации структур, лежащих за пределами разрешающей способности приборов, имевшихся в то время.

Высказывалось много предположений относительно функции этих клеток-сателлитов и возможного участия их в процессе передачи нервных импульсов. Иногда даже ставят вопрос о том, не является ли сам нервный импульс результатом активности слоя шванновских клеток, а не аксона. Это чрезвычайно маловероятно. Мы уже многое знаем о физической и химической основе потенциала действия и распространения этой электрической волны по нервным и мышечным волокнам, и ясно, что механизмы в обоих случаях по существу одинаковы и связаны с цилиндрической мембраной волокна. Мышечные волокна лишены слоя шванновских клеток, и в лучшем случае к ним лишь в немногих разрозненных участках примыкают отдельные клетки типа сателлитов. Большая часть поверхностной мембраны мышечного волокна не находится в тесной связи с поверхностью других клеток, и тем не менее оно способно генерировать распространяющиеся электрические сигналы того же типа, что и нервный импульс. В некоторых ганглиях беспозвоночных удавалось вводить отдельные регистрирующие элект-

роды в нервные клетки и в окружающие клетки глии [182]. В этих случаях можно было непосредственно показать, что импульсы вырабатываются только в самом нейроне, но не в клетках-сателлитах.

Второе предположение состояло в том, что глиальные клетки, окружающие тела центральных нейронов, участвуют не столько в инициации и передаче быстрых сигналов, сколько в длительном хранении информации, т. е. имеют отношение к «памяти» на клеточном уровне. Эта идея не лишена некоторой привлекательности, но в настоящее время память и глия имеют лишь одну действительно общую особенность: ни о той, ни о другой мы почти ничего не знаем.

Если нерв перерезать и тем самым отделить аксоны от тел нейронов, то периферические участки аксонов через несколько дней перестают проводить импульсы. Их структура разрушается, и остатки, по-видимому, перевариваются окружающими шванновскими клетками, которые размножаются и заполняют пространство, ранее занимаемое аксонами. В то же время центральный отрезок каждого из перерезанных нервных волокон проявляет тенденцию расти по направлению к периферии со скоростью нескольких миллиметров в сутки и после восстановления контакта с периферическими шванновскими клетками постепенно начинает восстанавливать и первоначальный канал связи с мышечными волокнами или сенсорными клетками. Этот процесс регенерации контролируется главным образом активностью клеточного ядра; еще важнее то, что и для нормального существования всего периферического аксона, часто очень длинного, необходимо сохранение цитоплазматической связи с телом нейрона и его ядром.

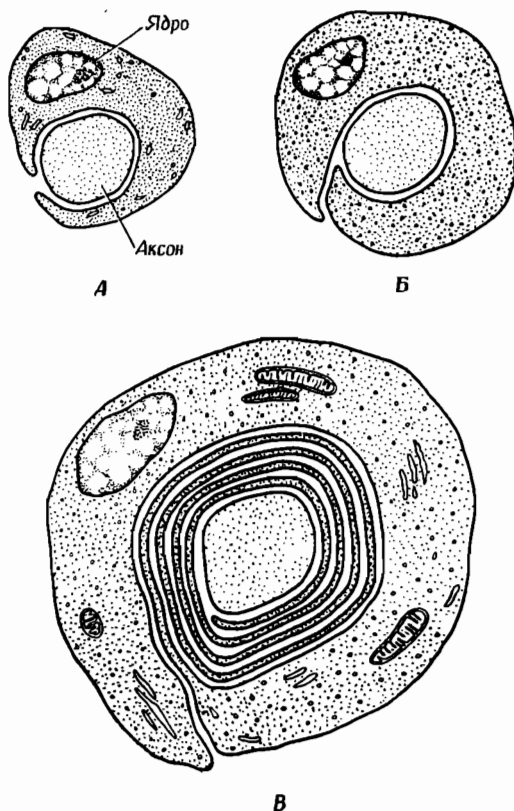
Было высказано предположение, что обладающие ядрами шванновские клетки, окружающие аксон на всем его протяжении, снабжают аксон какими-то метаболическими продуктами и тем самым компенсируют отдаленность этого отростка нейрона от его собственного ядра. (Для перехода веществ из тела нейрона в периферические участки длинных аксонов путем обычной диффузии потребовались бы месяцы или годы.) Эта гипотеза правдоподобна; она легко объясняет, почему такие же удлинённые мышечные волокна, в цитоплазме которых распределено достаточное число собственных ядер, могут обходиться без сплошной оболочки

из снабженных ядрами клеток-сателлитов. Следует, однако, помнить о том, что шванновские клетки сами по себе не способны поддерживать функцию и структурную целостность перерезанных аксонов; напротив, через несколько дней они даже начинают уничтожать остатки аксона. Жизненно важным центром снабжения и поддержания жизнедеятельности служит для аксона тело нервной клетки с его ядром, и до сих пор не удается объяснить, каким образом ядро постоянно снабжает периферические участки нейрона всем необходимым, в частности ферментами или средствами для построения ферментов на месте. Предполагают, что нужные вещества непрерывно транспортируются по аксоплазме и непрерывно расходуются на периферии. Мы еще не знаем, связан ли этот транспортный механизм с медленным продвижением и ростом в длину, наблюдаемым при регенерации перерезанного аксона, или же он основан на совершенно ином и, быть может, гораздо более быстром физико-химическом способе передвижения веществ.

Одна из функций клеток-сателлитов в настоящее время выяснена. Шванновские клетки образуют миелиновую оболочку — изолирующий покров, который мы находим во всех быстро проводящих возбуждение двигательных и чувствительных нервах у позвоночных животных. Работы Герена [96], Шмитта [223] и Робертсона [216] показали, что во время эмбрионального и постнатального развития шванновские клетки многократно обвиваются вокруг нервного волокна и в конце концов каждая из них формирует цилиндрическую «муфту», состоящую из многих витков шванновской цитоплазмы и мембраны, туго намотанных на аксон (фиг. 2) и покрывающих 1—2 мм его длины. Мембрана нервного волокна остается неприкрытой только в области *перехватов Ранвье* — небольших разрывов (около 1 мк) между смежными сегментами миелина.

Создание этой сегментированной оболочки имело огромное значение в эволюции нервной системы; как мы увидим, оно позволило во много раз увеличить число каналов, обеспечивающих максимальную скорость передачи импульсов, не требуя добавочного пространства для размещения «кабелей». Миелинизированные сегменты нервных волокон являются биологическими структурами, наиболее близкими (в миниатюрном масштабе) к морским подводным кабелям;

электрические сигналы проводятся в них по цилиндрическим аксонам, отделенным от проводящей тканевой жидкости концентрическими слоями изолирующей оболочки. Однако



Фиг. 2. Поперечные разрезы нервного волокна (аксона) и шванновской клетки.

А, Б и В — различные стадии развития миелиновой оболочки.

самый важный структурный компонент нервного волокна — это не миелиновая оболочка, а мембрана аксона, которая остается открытой в перехватах Ранвье. Именно здесь происходит *электрическое возбуждение* — важнейший биологи-

ческий процесс, автоматически усиливающий нервный импульс до его первоначальной величины.

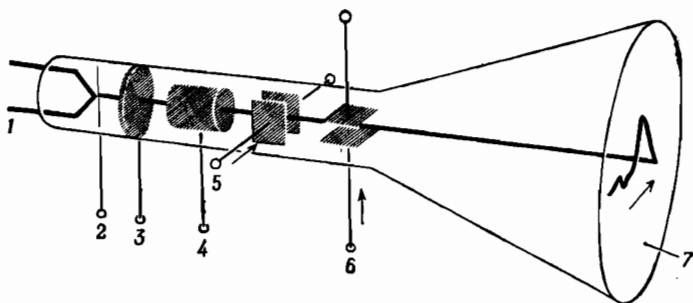
Уже много более века назад было известно, что деятельность нервов и мышц непосредственно связана с возникновением электрических токов. Теперь мы знаем, что электрический сигнал (*потенциал действия*, или *спайк*), который физиологи регистрировали в активных аксонах и мышечных волокнах, представляет собой не побочный результат, а существенную особенность распространяющегося сигнала — нервного импульса.

Электричество и нейрофизиология

Развитие современных представлений о процессах, происходящих в нервных структурах, в очень большой степени зависело от технических усовершенствований электрических и электронных приборов. Если вернуться к XVIII веку, то можно увидеть, что даже в ранний период изучения электричества знания о нем были тесно связаны с исследованиями на нервах и мышцах. Задолго до того, как были сформулированы законы Ома и Фарадея, еще до изобретения гальванометра и других чувствительных регистрирующих приборов, Луиджи Гальвани открыл форму электрического разряда, которую он связывал с генерированием электрических токов живой нервной и мышечной тканью. Вскоре против этой интерпретации выступил Алессандро Вольты, который показал, что электродвижущая сила в большинстве опытов Гальвани возникала в точках соприкосновения тканей с металлами. Знаменитый диспут между Гальвани и Вольты послужил стимулом, породившим — как в области физики и физической химии, так и в физиологии — целый поток экспериментов и идей, который с тех пор непрерывно продолжал расти и развиваться.

На протяжении многих лет сокращение, наблюдаемое при пропускании кратковременного электрического тока через изолированный нервно-мышечный аппарат лягушки, служило самым чувствительным индикатором для обнаружения коротких электрических импульсов. В середине XIX века Маттеуччи и Дюбуа-Реймон с помощью довольно инерционных, но чувствительных гальванометров установили, что нервы и мышцы способны сами по себе генерировать электродвижущие силы. Например, если раздавить один

участок нерва или мышцы, то поврежденная область становится электроотрицательной по отношению к неповрежденным частям и соединенный с тканью гальванометр регистрирует электрический ток. Дюбуа-Реймон показал также, что реакция мышцы на раздражение ее нерва серией элект-



Фиг. 3. Электронно-лучевая трубка (осциллоскоп). Катод 1 испускает электроны. Управляющая сетка, или «регулятор яркости», 2 контролирует величину потока электронов. Главный анод, или «электронная пушка», 3 ускоряет электроны. Фокусирующий анод 4 создает узкий электронный луч. Пара пластин горизонтального отклонения 5 осуществляет развертку во времени. Пара пластин вертикального отклонения 6 получает нервный сигнал от усилителя. 7 — флуоресцирующий экран.

рических ударов сопровождается кратковременным электрическим изменением в мышечной ткани, которое всегда состоит в уменьшении «тока повреждения». Применявшиеся в то время методы регистрации были слишком медленными для выявления истинной временной картины тех коротких электрических импульсов, которые связаны с активностью нервных и мышечных волокон. Дюбуа-Реймону и позже Л. Герману и И. Бернштейну с помощью различных остроумных приемов удалось выяснить, что электрическая активность клеток проявляется в форме коротких разрядов, каждый из которых длится всего несколько тысячных долей секунды. Однако точные и прямые измерения физиологи смогли произвести лишь тогда, когда были изобретены электронно-лучевая трубка, или осциллоскоп (фиг. 3), и термоионный усилитель. Электронно-лучевая трубка пред-

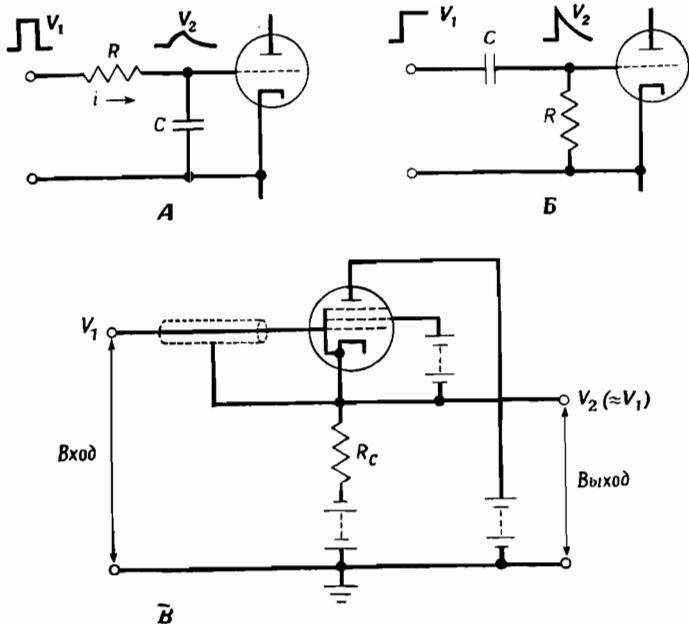
ставляет собой прибор, способный точно регистрировать мгновенные изменения потенциала (даже более быстрые, чем те, которых можно ожидать в живых клетках), но она обладает очень малой чувствительностью, и для заметного отклонения быстро перемещающегося электронного луча требуется довольно большое напряжение. Поэтому слабый сигнал (часто значительно слабее 0,001 в), отводимый от ткани, должен пройти несколько ступеней, или каскадов, усиления, прежде чем его можно будет зарегистрировать в виде существенного отклонения на экране осциллоскопа.

Некоторые технические вопросы

Соединяя ткань с усилителем и осциллоскопом, экспериментатор иногда непреднамеренно вносит искусственные временные задержки, искажающие и замедляющие сигнал, и в результате теряет многие из преимуществ, которые должен был дать ему регистрирующий прибор. Это очень важный момент, и, для того чтобы понять его, нам придется рассмотреть несколько элементарных электрических схем.

Предположим, что генерируемый тканью сигнал представляет собой очень быструю «прямоугольную волну» изменения потенциала с амплитудой 1 мв и длительностью 1 мсек (см. импульс V_1 , показанный на фиг. 4, А). На самом деле живые клетки не вырабатывают сигналов с таким мгновенным подъемом и спадом, но этот простой случай удобен для целей нашего обсуждения. Кроме того, сигналы такого рода легко получать искусственно, например с помощью ключа Морзе или подходящего генератора электронных импульсов. Представим себе, что мы хотим воспроизвести такой сигнал на экране осциллоскопа, дающего отклонение 0,5 мм на 1 в. Если бы мы приложили сигнал непосредственно к паре пластин вертикального отклонения, пятно на экране сдвинулось бы всего на 0,5 мк. Для того чтобы получить достаточное отклонение, скажем на 1 см, нужно усилить сигнал в 20 000 раз; этого легко достигнуть, введя между отводящими электродами и электронно-лучевой трубкой несколько каскадов термоионного усиления.

Для обеспечения отсчета времени в электронно-лучевой трубке используются пластины горизонтального отклонения. Если приложить к ним равномерно нарастающее нап-



Фиг. 4. А и Б — два типа искажения сигнала ($V_1 \rightarrow V_2$). А — искажение первого типа; оно может быть вызвано избыточным сопротивлением R в нерве или в отводящем электроде в сочетании с паразитной емкостью C между сеткой и катодом. Б — искажение второго типа, которое может вызываться поляризационной емкостью электрода C , сопряженной с сопротивлением утечки R между сеткой и катодом. Б — каскад катодного повторителя, уменьшающий эффект утечки (через емкость или сопротивление) между входной сеткой и катодом. Входной сигнал ΔV_1 вызывает изменение силы тока Δi , протекающего через лампу. Это изменение в свою очередь создает выходной сигнал ($\Delta V_2 = = i R_C$), который практически точно воспроизводит ΔV_1 и таким образом автоматически компенсирует изменение напряжения (и любой сопровождающий его ток) между сеткой и катодом. Обозначим через V_g разность потенциалов между сеткой и катодом. Тогда $\Delta V_1 - \Delta V_2 = \Delta V_g$ и $\Delta V_2 = \mu \frac{\Delta V_g R_C}{R_C + R_a}$, где μ — коэффициент усиления напряжения и R_a — внутреннее сопротивление лампы. Следовательно, $\Delta V_2 = \mu \frac{(\Delta V_1 - \Delta V_2) R_C}{R_C + R_a}$. Предположим, что нагрузочное сопротивление катода R_C сделано равным R_a и $\mu = 50$. В этом случае $\Delta V_2 = 25(\Delta V_1 - \Delta V_2)$, т. е. $\frac{\Delta V_2}{\Delta V_1} = 0,96$; это означает, что напряжение на катоде воспроизводит напряжение на сетке с точностью 96%.

ряжение, пятно будет перемещаться горизонтально слева направо с постоянной скоростью. Когда оно достигает крайнего положения, напряжение очень быстро отключается и пятно перескакивает влево. Можно синхронизировать эту «временную развертку» и сигнал таким образом, что последний будет появляться на определенном участке горизонтального пути примерно в центре экрана в виде одиночной волны. На практике ткань (нерв или мышцу) подвергают с этой целью раздражению электрическим ударом в определенный момент после начала смещения луча. Перемещая пятно по экрану периодически, скажем 20 раз в 1 сек, и каждый раз возбуждая сигнал в один и тот же момент этого перемещения, мы получаем неподвижную волну. В идеальном случае эта волна должна иметь точно такую же «прямоугольную» форму, как и первоначальный сигнал; иными словами, мгновенный подъем и мгновенный спад импульса должны регистрироваться без искажений. Практически этого не всегда легко достигнуть. Предположим, что ткань, генерирующая сигнал, имеет очень высокое внутреннее сопротивление или что высоким сопротивлением (например, 2 Мом) обладает один из отводящих электродов. Допустим далее, что входная лампа усилителя или провода, соединяющие ее с тканью, обладают значительной межэлектродной емкостью, скажем 100 пикофард ($1 \text{ пф} = 10^{-12} \text{ ф}$). Это просто означает, что изолирующий материал между входными электродами (воздух или твердый изолятор между проводами и вакуум между сеткой, катодом и анодом входной лампы) действует подобно диэлектрику между пластинами конденсатора, т. е. накапливает электрический заряд и обуславливает кратковременный ток смещения при быстром изменении разности потенциалов между электродами. В этом случае резкие скачки в начале и в конце сигнала не будут воспроизведены на экране осциллоскопа. Они будут сглажены, как показано на фиг. 4, А (V_2), так как входная емкость фактически действует как возникающий на мгновение шунт, пропускающий ток в начале и в конце сигнала, и полное изменение потенциала будет зарегистрировано только тогда, когда этот конденсатор полностью зарядится или снова разрядится. Этот процесс занимает некоторое время¹;

¹ При «ступеичатом» изменении входного напряжения на величину V_1 (фиг. 4, А) между сеткой и катодом возникает разность

он протекает по экспоненциальной кривой с *постоянной времени*, равной произведению суммарного сопротивления ткани и электродов на входную «емкость шунта». Произведение $1 \text{ ом} \cdot 1 \text{ ф}$ или $1 \text{ Мом} \cdot 1 \text{ мкф}$ равно 1 сек . Следовательно, в нашем примере постоянная времени равна $20 \text{ Мом} \cdot 100 \text{ нф} = 2 \text{ мсек}$; это означает, что наш сигнал будет резко искажен и ослаблен.

Искажений этого типа можно избежать несколькими различными способами. Но сначала необходимо выявить сам факт искажения. Для этого нужно просто надлежащим образом прокалибровать регистрирующую систему — приложить в качестве входного сигнала импульс напряжения с известной формой и амплитудой волны и сравнить его с волной, появляющейся на экране осциллографа. Для устранения искажающего действия входной емкости применяют короткие соединения и специальное входное устройство, называемое *катодным повторителем* (фиг. 4). Он представляет собой термоионную лампу с нагрузочным сопротивлением, расположенным между катодом и источником высокого напряжения. Провод, ведущий к сетке, обычно окружают экраном, также соединенным с катодом. Благодаря этому устройству сигнал передается на следующий каскад без усиления, но и без существенного искажения. Это достигается в результате того, что при каждом появлении сигнала на сетке лампы потенциал катода изменяется синхронно почти на ту же величину¹, т. е. «повторяет» потенциал сетки. Поэтому ток через входную емкость практически сводится к нулю (так как приложенная к ней разность потенциалов

потенциалов $V_2 = V_1 - iR$, где i — ток (в амперах) и R — сопротивление (в омах). Но $i = C \frac{dV_2}{dt}$, где C — емкость (в фарадах) и t —

время (в секундах). Следовательно, $V_2 = V_1 - RC \frac{dV_2}{dt}$; решение этого уравнения имеет вид

$$V_2 = V_1 \left[1 - \exp \left(- \frac{t}{RC} \right) \right].$$

¹ Например, если V_1 (фиг. 4, B) изменяется в положительную сторону, то проходящий через лампу ток возрастает, в результате чего V_2 также изменяется в положительную сторону. Чем больше коэффициент усиления лампы, тем ближе будут изменения V_2 к изменениям V_1 .

остается почти постоянной) и вредное действие этой емкости тем самым нейтрализуется. Выходное сопротивление катодного повторителя очень мало, и поэтому для соединения его со следующим каскадом можно пользоваться достаточно длинными проводами, не опасаясь искажений сигнала. (Следует помнить, что здесь существенно произведение сопротивления на емкость.) Разработан ряд более сложных методов автоматической компенсации искажений на входе; мы привели лишь весьма элементарное описание.

Рассматривая технические вопросы, уместно будет несколько подробнее рассказать об усилителях, стимуляторах и электродах.

Если бы нужно было регистрировать только короткие электрические импульсы, возникающие в нервных и мышечных клетках, то было бы достаточно (и удобно) применять усилитель с переходными емкостями, в котором источник высокого напряжения каждого каскада изолирован от входа следующего каскада с помощью конденсаторов, включенных между анодом одной усилительной лампы и сеткой следующей лампы. Такая емкостная связь упрощает конструкцию усилителя и его блока питания, но ограничивает возможности экспериментатора, не позволяя ему регистрировать медленные изменения потенциала и постоянные разности потенциалов между различными участками клеток или тканей. Дело, разумеется, в том, что переходные емкости не только блокируют нежелательную передачу постоянных высоких напряжений, создаваемых источниками питания, от одной лампы к другой, но и исключают также передачу постоянных или медленно изменяющихся разностей потенциалов с одного каскада усиления на следующий. Для того чтобы регистрировать такого рода медленные или стационарные электрические явления, приходится применять усилитель постоянного тока, в котором рабочие напряжения, подводимые к различным каскадам, должны быть тщательно рассчитаны и сбалансированы, так как все они влияют друг на друга. Усилитель постоянного тока надлежащей конструкции позволяет без искажений регистрировать все изменения потенциалов, с которыми можно встретиться при исследовании нервных или мышечных клеток; он охватывает диапазон частот синусоидальных

колебаний от «нуля» (т. е. постоянной разности потенциалов) примерно до 20 000 гц.

Здесь опять-таки необходимо применять надлежащие входные соединения и калибровать их, так как в противном случае преимущества хорошего усилителя постоянного тока легко могут быть утеряны. Если требуется регистрировать постоянные разности потенциалов, важно использовать так называемые *неполяризующиеся* электроды (например, покрытые хлористым серебром серебряные проволочки, погруженные в раствор хлористого серебра). Важно также выбрать такую входную лампу, у которой сопротивление между сеткой и катодом было бы практически бесконечно большим; это позволяет усиливать и регистрировать разности потенциалов, не вызывая в ткани электрического тока.

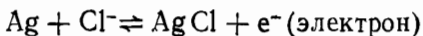
При использовании неизолированных, поляризующихся металлических электродов и входной лампы с небольшой утечкой между сеткой и катодом любая разность потенциалов в ткани порождает ток, проходящий через отводящие электроды и сопротивление утечки. Это приводит к поляризации в месте соприкосновения металлических электродов с тканевой жидкостью, и вскоре эти поляризующиеся контакты заряжаются и становятся источником противоположно направленной электродвижущей силы (э. д. с.), блокирующей дальнейшую передачу постоянных или медленно изменяющихся тканевых потенциалов. Поляризация по существу эквивалентна своего рода емкостной связи в месте соприкосновения металла с электролитом и может, таким образом, свести на нет то преимущество, которое дает специально сконструированный усилитель постоянного тока. «Емкостный эффект» возникает из-за нарушения непрерывности между двумя видами носителей электрического тока — электронами в металле и ионами в растворе электролита. Место соединения действует как изолирующий барьер, где накапливаются электрические заряды, постепенно создающие противоположно направленную э. д. с.

Следует отметить, что такого рода емкостное искажение и блокирование медленных сигналов противоположно рассмотренному выше емкостному шунтированию быстрых сигналов. Различие между этими явлениями легче всего понять с помощью схем, изображенных на фиг. 4, А и Б. В предыдущем случае (А) невидимая паразитная емкость *шунтиро-*

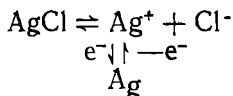
вала входную цепь, в результате чего быстрые изменения потенциала «обходили» усилитель. В случае Б, который мы рассматриваем сейчас, помехой служит другая невидимая емкость (обусловленная поляризацией электродов), на этот раз включенная *последовательно* со входом усилителя; она пропускает быстрые сигналы, но противодействует передаче медленных изменений потенциала и постоянных разностей потенциалов. Этот эффект зависит от скорости зарядки поверхностной емкости металлических электродов, или, другими словами, от количества электричества, протекающего через электроды. Это количество в свою очередь зависит от сопротивления утечки между сеткой и катодом входной лампы; произведение RC определяет временной ход процесса накопления заряда и, следовательно, момент времени, в который передача равномерного изменения потенциала будет практически блокирована. Предположим, что $C = 1$ мкф и R очень велико (скажем, равно 10 000 Мом); в этом случае заметной поляризации происходить не будет и даже очень медленные изменения потенциалов, продолжающиеся много секунд, можно будет регистрировать с помощью обычных проволочных электродов. Но если сопротивление утечки равно 1 Мом, то постоянная времени RC уменьшается до 1 сек и длительные изменения потенциала уже не будут регистрироваться. Существуют и другие причины, затрудняющие использование неизолированных проволочных электродов для отведения медленных или постоянных потенциалов; место соприкосновения металла с жидкостью само по себе создает разность потенциалов, которая обычно довольно неустойчива и изменяется, например, при местных колебаниях парциального давления кислорода.

По всем этим причинам лучше пользоваться обратимыми, или неполяризующимися, электродами (например, каломельными электродами или хлорированными серебряными проволочками), в которых перенос электрического тока через соединение металл/электролит может осуществляться непрерывно с помощью какой-либо обратимой химической реакции.

В случае электрода $Ag/AgCl$ эту реакцию можно написать так:



или



На поверхность металлического серебра осаждают хлористое серебро AgCl , растворимость которого очень мала. Такое покрытие создает значительный запас ионов Ag^+ и Cl^- и служит промежуточным звеном между электронной проводимостью в металле ($\text{Ag}^+ + e^- \rightleftharpoons \text{Ag}$) и ионным током (который обусловлен обменом ионами Cl^- между осадком и раствором). Такого рода систему часто называют *хлоридным электродом* или *электродом, обратимым в отношении ионов хлора*. Важный конечный результат протекающей в электроде реакции состоит в том, что становится возможным двусторонний поток электрических зарядов — от электронов в металле к ионам хлора в растворе и в обратном направлении. Поэтому поляризация сравнительно мало задерживает перенос зарядов, и прохождение тока не приводит к возникновению больших, противоположно направленных э. д. с. (в некоторых пределах, зависящих от величины поверхности электрода и от концентрации и подвижности ионов).

Электроды этого типа обладают некоторыми недостатками. В частности, они имеют значительное сопротивление и обычно могут пропускать лишь небольшие токи. Кроме того, во время длительного прохождения тока концентрация ионов хлора около электрода медленно изменяется, и это сопровождается постепенным увеличением небольшой противоположно направленной э. д. с. (как мы увидим позже, потенциал электрода изменяется пропорционально логарифму концентрации Cl^-). Однако этот эффект обычно очень невелик, и если не допускать разрушения покрытия из AgCl , то такой электрод можно считать практически не поляризующимся.

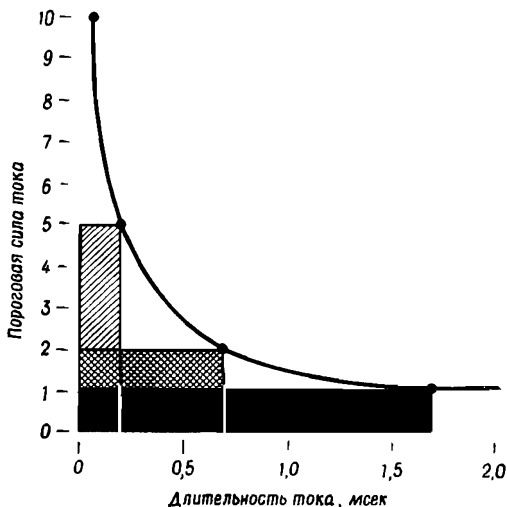
Электрическое раздражение

В физиологических экспериментах электроды применяют для двух главных целей — для регистрации биоэлектрических сигналов и разностей потенциалов и для раздражения нервных и мышечных клеток.

Тот факт, что нервные и мышечные волокна гораздо чувствительнее к электрическим токам и их легче возбуждать электрическими ударами, чем раздражителями иных типов, представляет большой интерес; конечно, он уже был известен таким пионерам этой области исследований, как Гальвани. Значение двух особо важных свойств нерва, а именно его возбудимости под действием электрических токов и способности генерировать токи при возбуждении, было полностью оценено физиологами XIX века. Л. Герман указывал, что ток, возникший в каком-либо возбужденном участке нерва, вероятно, был бы достаточен для возбуждения смежных участков волокна, т. е. для последовательной передачи возбуждения от одной точки к другой.

Много работ было посвящено детальному изучению законов электрического раздражения с целью выяснить, какого рода электрические импульсы наиболее эффективны в качестве раздражителей и каковы характерные различия в электровозбудимости нервных и мышечных волокон разного типа. Позже было показано, что электрическое раздражение вызывает быструю разрядку поверхностной клеточной мембраны и снижение ее потенциала до неустойчивого уровня, при котором происходит возбуждение. Наименьшая сила тока, достаточная для того, чтобы вызвать такой эффект, называется *порогом возбуждения*. Сама клеточная мембрана ведет себя как конденсатор с утечкой, постоянная времени которого определяется его собственными сопротивлением и емкостью. Для того чтобы короткий толчок тока мог изменить потенциал мембраны, через нее должно пройти некоторое минимальное количество электричества (измеряемое произведением силы тока на время). По мере сокращения длительности толчка необходимо увеличивать силу тока, чтобы он сохранял свою эффективность в качестве раздражителя. Примерная кривая соотношений между силой и длительностью тока представлена на фиг. 5. Для прямоугольных толчков большой длительности существует некоторая минимальная сила тока, достаточная для возбуждения; более слабый ток неэффективен при любой длительности. Это связано с тем, что мембранная емкость имеет утечку, и необходима какая-то минимальная сила тока, чтобы вызвать нужное смещение трансмембранной разности потенциалов.

Еще одно свойство возбудимых клеток состоит в том, что они рано или поздно «аккомодируются», или «адаптируются», к изменению, вызванному раздражителем. В случае электрического раздражения это значит, что постоянный



Фиг. 5. Кривая, отражающая зависимость между длительностью прямоугольных толчков раздражающего тока и его силой, необходимой для возбуждения нервного импульса. Показаны также площади, соответствующие произведениям «сила тока $\times$ время», для трех различных прямоугольных толчков тока.

ток вначале эффективен, но в дальнейшем утрачивает свою действенность. Ток, сила которого возрастает медленно, может остаться «незамеченным» и не вызвать возбуждения, даже если он постепенно достигнет величины, во много раз превышающей ту, при которой прямоугольный импульс уже эффективен.

По этой же причине неэффективен синусоидальный переменный ток очень низкой частоты: скорость изменения силы тока при этом слишком мала. Переменный ток очень высокой частоты тоже не вызывает возбуждения, так как его полупериоды слишком коротки для того, чтобы изменить мембранный потенциал (небольшой эффект каждого

полупериода снимается следующим полупериодом, во время которого ток течет в обратном направлении). Другими словами, при очень высоких частотах мембранный потенциал не может следовать за приложенным током и смещение потенциала оказывается незначительным. Интересно, что самой эффективной, а потому и самой опасной формой электрического раздражения является воздействие бытового и промышленного переменного тока, т. е. синусоидальных волн с частотой 50—60 *гц*.

В дальнейшем мы будем упоминать об электрическом раздражении без подробного его описания. Обычно это короткие удары или прямоугольные толчки тока длительностью менее 1 *мсек*, создаваемые с помощью электронных реле, в которых для быстрого включения и выключения тока в нужные моменты времени используются радиолампы или транзисторы. Импульс тока подводится к нерву через два электрода, которые опять-таки могут быть поляризующимися (металл без покрытия) или неполяризующимися (металл, покрытый одной из его солей, которая может обратимо обмениваться ионами с раствором). Если нужно воздействовать длительным током постоянной силы, лучше всего применять обратимые (неполяризующиеся) электродов и включать последовательно с ними большое сопротивление, чтобы небольшие изменения в сопротивлении электродов, обусловленные остаточной поляризацией, не могли заметно повлиять на силу тока. Для многих целей, однако, можно пользоваться голыми платиновыми проволочками; им даже отдают предпочтение, когда хотят просто воздействовать короткими импульсами, точная форма которых несущественна и которые остаются эффективными, даже если подвергаются значительному искажению в области контакта металл/жидкость.

Некоторые электрофизиологические наблюдения

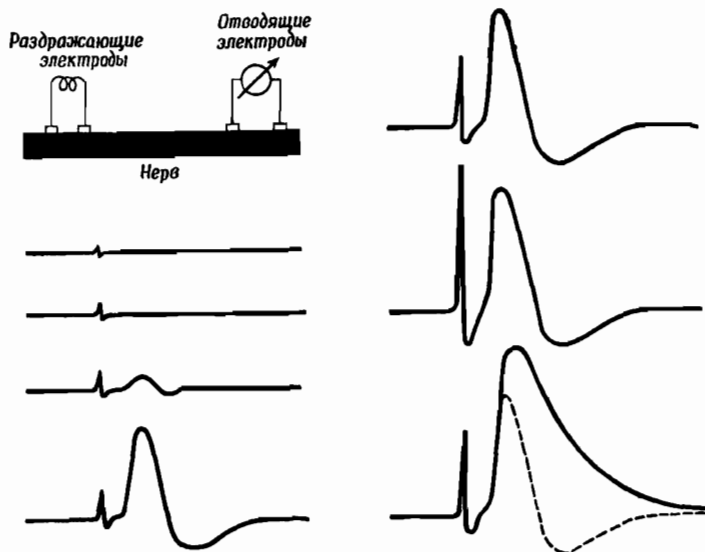
Для того чтобы ввести в курс дела тех, кто не знаком с основами электрофизиологии, полезно будет описать несколько простых электрофизиологических экспериментов. Вначале мы рассмотрим несложную технику работы с целым нервом, состоящим из многих параллельно идущих волокон, например с изолированным седалищным нервом лягушки.

После этого мы опишем эксперименты на одиночных волокнах. Технически они более трудны, но имеют то большое преимущество, что результаты их легче понять и значительно проще истолковать.

Если отпрепарировать нерв лягушки и поместить его в раствор Рингера (содержащий главным образом 0,7% NaCl и небольшие количества CaCl_2 и KCl), то он останется в этой среде живым в течение многих часов или даже дней; иными словами, он сохранит способность вырабатывать распространяющиеся электрические сигналы, вызывающие сокращение соединенных с ним мышечных волокон и, конечно, доступные регистрации с помощью усилителя и осциллоскопа. Мы вынимаем нерв из раствора и укладываем его на две пары электродов в герметически закрытой влажной камере, в которой на поверхности нерва будет сохраняться, не высыхая, пленка из раствора Рингера. Одна пара электродов соединена с импульсным стимулятором, а другая — с нашим регистрирующим прибором.

Начнем с нанесения очень слабых электрических ударов — настолько слабых, что они еще не вызывают возбуждения нервного волокна. Опыт обычно ставится так, чтобы электронный луч проходил по экрану трубки с той же частотой (например, 5 раз за 1 сек), с которой производится раздражение. Регулируя с помощью электронной схемы промежутки времени между началом горизонтального пробега луча и электрическим ударом, можно добиться того, чтобы последний регистрировался на экране в виде небольшого вертикального отклонения слева всегда на одном и том же месте. Это отклонение называют «артефактом раздражения»: оно вызывается просто небольшой утечкой тока от стимулятора, улавливаемой усилителем так же, как помехи от разного рода импульсных или искровых генераторов улавливаются телевизионным приемником. Артефакт раздражения, если он не слишком велик, оказывается очень полезным, так как точно отмечает тот момент, когда нерв получает электрический удар. При постепенном увеличении силы тока артефакт также увеличивается, и при достижении определенной пороговой силы появляется (с некоторой задержкой во времени) электрический сигнал нового типа — небольшое отклонение (фиг. 6). Это и есть *реакция нерва* — импульс, или потенциал действия, который возникает у

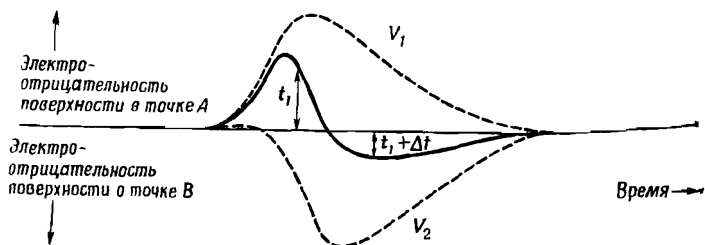
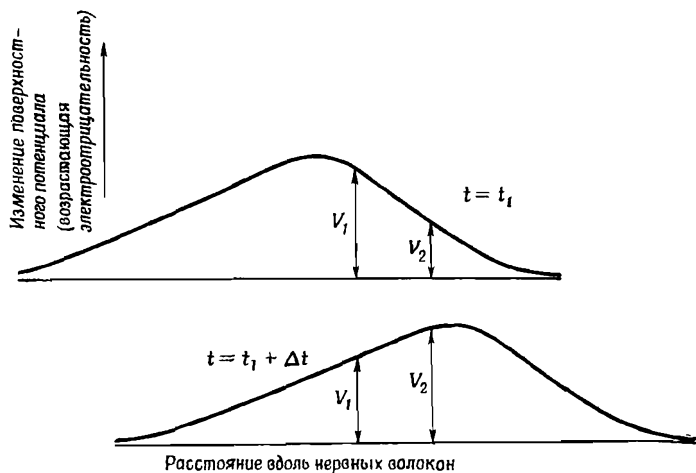
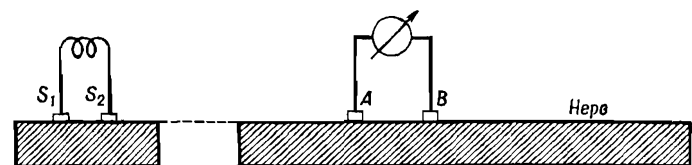
одного из раздражающих электродов и затем перемещается с конечной скоростью по направлению к отводящим электродам. Задержка обусловлена временем, необходимым для



Фиг. 6. Потенциалы действия, отведенные от целого изолированного нерва.

Сила раздражающего тока последовательно возрастает, начиная с верхней левой записи. В первых двух случаях сила тока ниже порога. В последней записи (внизу справа) «двухфазная» волна потенциала действия превратилась в «однофазную» в результате того, что дистальный отводящий электрод был помещен дальше, у мертвого конца нерва. (См. также фиг. 7.)

перемещения импульса от места его возникновения до ближайшего отводящего электрода. Импульс представляет собой волну отрицательного сдвига поверхностного потенциала, которая длится одну или несколько миллисекунд; иными словами, когда импульс проходит через определенную точку нерва, его поверхность в этой точке становится на короткое время электроотрицательной по отношению к последующим участкам (до которых импульс еще не дошел). Таким



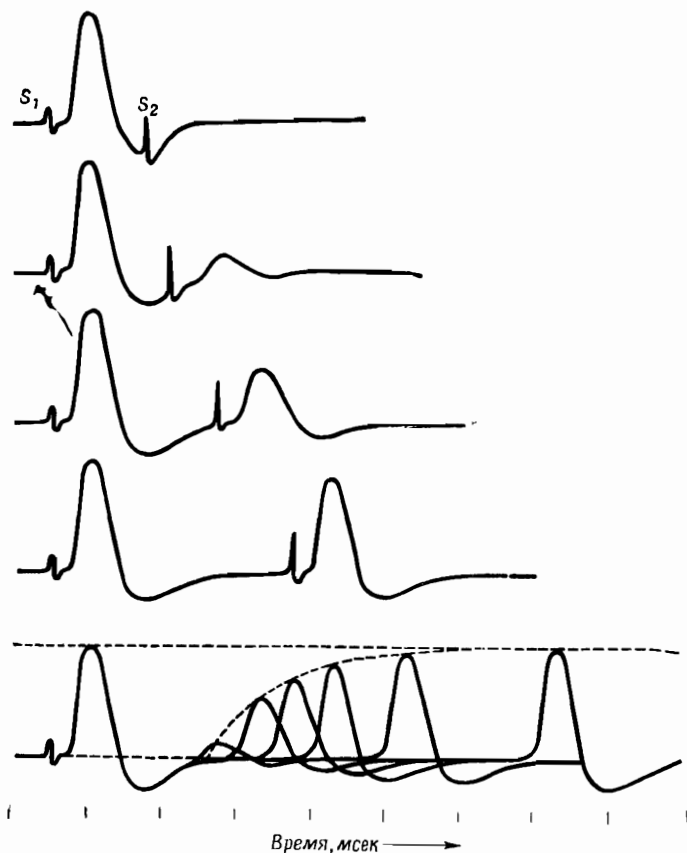
Фиг. 7. «Двухфазный» потенциал действия возникает в результате взаимного наложения волн поверхностной электроотрицательности, последовательно проходящих через две точки (А и В), в которых помещены отводящие электроды.

образом, сначала ближайший электрод становится отрицательным по отношению к более удаленному, а затем волна доходит до более далекого электрода, который становится электроотрицательным, в то время как в первой точке изменение потенциала уже затухает. В результате этого регистрируется *двухфазный* потенциал действия (фиг. 6 и 7). Если создать условия, не позволяющие импульсу доходить до второго электрода, например повредить нерв в промежуточном участке или воздействовать на него парализующим веществом, то можно зарегистрировать просто *однофазную* волну электроотрицательности, когда импульс проходит мимо первого электрода, после чего он вскоре угасает.

Дойдя до пороговой точки, мы продолжаем увеличивать силу раздражения и замечаем, что амплитуда потенциала действия быстро достигает максимума, после чего дальнейшее усиление тока уже не производит заметного эффекта. Максимальная амплитуда составляет 15—20 мкв; ее величина сильно варьирует в зависимости от условий регистрации, например от толщины и длины участка нерва между электродами.

После каждого прошедшего импульса нерв остается на одну или несколько миллисекунд в «рефрактерном» состоянии. В течение первых 1—2 мсек он не способен провести нового импульса, и только через несколько миллисекунд у него восстанавливается способность вырабатывать импульсы нормальной силы. Если во время каждого горизонтального пробега электронного луча производить второй удар через разные интервалы после первого, то можно определить степень восстановления, измеряя амплитуду второго ответа (фиг. 8). При очень малых промежутках между ударами (1—2 мсек) появляется только первый импульс; при больших интервалах можно увидеть вторую волну, амплитуда которой вначале невелика, но затем возрастает по мере удлинения промежутка между двумя волнами. Это очень важная особенность нервных клеток: она означает, что нервы могут передавать в отдаленные участки тела только такие сигналы, которые состоят из серии коротких стандартных импульсов ограниченной частоты. Импульсы как средство передачи информации можно сравнить со стандартными элементами сигнального кода (например, точками в коде Морзе).

На основании простого эксперимента только что описанного типа нелегко сказать, какой вид имеют сигналы отдельных клеток, т. е. одиночных аксонов. Седалищный нерв лягушки содержит тысячи волокон, упакованных в



Фиг. 8. Кривые, иллюстрирующие наличие рефрактерного периода в опыте на целом изолированном нерве. В случае, представленном на верхней записи, второе раздражение (S_2) было нанесено в период «абсолютной» рефрактерности, когда ни одно волокно не отвечает на него возбуждением. По мере увеличения интервала между S_1 и S_2 все большее число волокон возбуждается вторично.

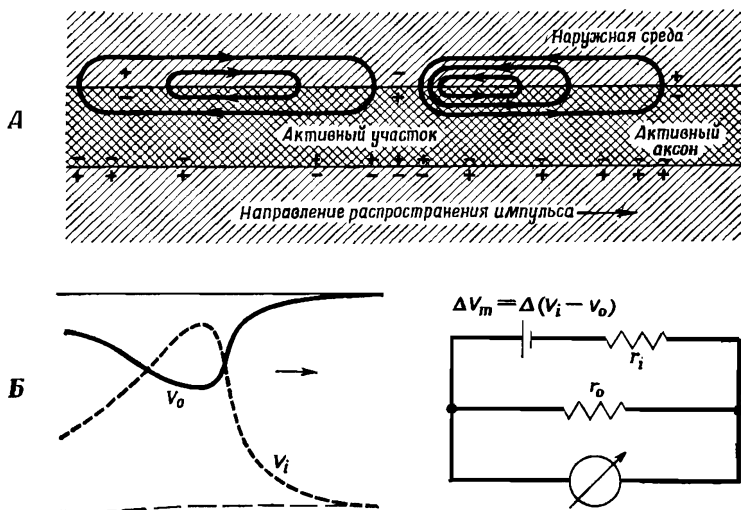
один пучок, а ведь каждое из них представляет собой аксон отдельного сенсорного или двигательного нейрона.

Почему электрический сигнал, регистрируемый отводящими электродами, увеличивается, когда мы увеличиваем силу раздражения? Потому ли, что при этом возбуждается все больше и больше аксонов, каждый из которых дает реакцию типа «все или ничего» (т. е. сигнал фиксированной амплитуды), когда приложенный электрический удар достигает пороговой для него величины? Или же отдельные волокна по мере усиления стимула реагируют все сильнее и создают более мощные сигналы на всем своем протяжении? Такого рода вопросы много лет оставались без ответа и порождали длительные споры, которые были разрешены только тогда, когда экспериментаторы научились работать с одиночными нейронами.

В настоящее время общеизвестно, что проводимый каждым аксоном импульс является событием типа «все или ничего», происходящим в результате изменения разности потенциалов между двумя сторонами клеточной мембраны, но 50—60 лет назад это было далеко недостоверно. Полезно будет несколько подробнее рассмотреть, *почему* потенциал действия, отводимый от поверхности пучка нервных волокон, должен изменяться при изменении силы раздражения. Дело в том, что в этом случае мы на самом деле регистрируем не изменение разности потенциалов между поверхностями клеточной мембраны, а понижение потенциала, вызываемое местными токами, протекающими вдоль наружной поверхности активных нервных волокон от покоящихся участков впереди и позади импульса к перемещающемуся активному центру.

Линии тока схематически показаны на фиг. 9, А. Мы во всех случаях придерживаемся обычного правила, по которому направлением электрического тока условно считают направление от положительного потенциала к отрицательному, т. е. вниз по градиенту потенциала. Это противоположно направлению, в котором движутся электроны в металлическом проводнике или отрицательные ионы в растворе электролита, но совпадает с перемещением положительных ионов (например, калия или натрия) вниз по градиенту потенциала. Такое правило установилось очень давно, еще до открытия ионов и электронов, но, поскольку оно до сих

пор остается общепринятым в учебниках физики, мы принимаем его и здесь. Таким образом, когда мы говорим, например, о токе, текущем через клеточную мембрану «внутри», мы имеем в виду просто перемещение положительных за-



фиг. 9. Регистрация потенциалов поверхностными электродами. Изменение наружного потенциала V_0 составляет лишь часть общего смещения мембранного потенциала V_m . Потенциал V_0 возникает в результате местных продольных токов во внешней среде (А), снижающих разность потенциалов на наружном сопротивлении r_o (Б).

рядов внутрь или отрицательных наружу. Мы не касаемся того, какие ионы переносят заряд или чем обусловлен ток — переносом ионов через мембрану (ионный ток) или просто изменением их количества с обеих сторон мембраны (емкостный ток).

Во время прохождения импульса токи действия текут по местным цепям (фиг. 9) от активного участка вдоль аксона с внутренней стороны мембраны, затем выходят наружу через соседние покоящиеся участки мембраны, направляются обратно по внешней среде и входят внутрь через активную мембрану, в результате чего цепь замыкается. Как видно

из приведенной схемы, *суммарный* продольный ток через каждое поперечное сечение равен нулю, так как в любом месте внутренние токи равны по силе и противоположны по направлению наружным. Но *плотность* продольного тока и продольная разность потенциалов между двумя точками не обязательно одинаковы внутри и снаружи. Внутренний осевой ток сконцентрирован в узкой трубке аксона, а наружный обычно распределен между интерстициальной жидкостью и неактивными нервными волокнами. Если возбуждены лишь несколько аксонов, то создаваемый ими ток будет растекаться по смежной ткани и плотность наружного тока окажется очень малой.

По существу нас интересует изменение мембранного потенциала отдельного нервного волокна (мембранный потенциал $V_m = V_i - V_o$, где V_i — потенциал внутренней стороны и V_o — потенциал наружной стороны мембраны). Но при отведении потенциала от целого нерва мы фактически регистрируем значительно меньшую величину. По закону Ома наружный продольный ток i_o определяется следующим образом:

$$i_o = \frac{-1}{r_o} \frac{dV_o}{dx}, \quad (1)$$

где V_o — потенциал на поверхности, $\frac{dV_o}{dx}$ — наружный градиент потенциала и r_o — сопротивление наружной среды (включая шунт из невозбужденных волокон) на единицу длины.

Знак минус введен в соответствии с нашим условным правилом и означает, что положительным считается направление тока вниз по градиенту потенциала (т. е. по отрицательному градиенту). Аналогичным образом внутренний продольный ток определяется по формуле

$$i_i = \frac{-1}{r_i} \frac{dV_i}{dx}. \quad (2)$$

Как уже было сказано, $i_o + i_i = 0$. Из уравнений (1) и (2) получаем

$$V_o = a - r_o \int i_o dx \quad (3)$$

и

$$V_i = b - r_i \int i_i dx = b + r_i \int i_o dx. \quad (4)$$

Здесь a и b — постоянные уровни потенциала снаружи и внутри аксона в период покоя, которые нас пока не интересуют. Если игнорировать эти константы, уравнения (3) и (4) дадут нам изменение потенциала, вызываемое продольным током, проходящим внутри аксона и вблизи его наружной поверхности.

Регистрируемый потенциал V_o начнет изменяться, как только импульс подойдет к месту расположения ближайшего отводящего электрода и создаст в этом участке продольный ток.

Из уравнений (3) и (4) следует, что изменение мембранного потенциала

$$\Delta (V_i - V_o) = (r_o + r_i) \int i_o dx,$$

тогда как регистрируемое изменение наружного потенциала

$$\Delta V_o = -r_o \int i_o dx.$$

Таким образом, мы наблюдаем лишь некоторую долю изменения мембранного потенциала, а именно

$$\frac{\Delta V_o}{\Delta (V_i - V_o)} = \frac{-r_o}{r_o + r_i}.$$

Точно так же, как при использовании обычного делителя напряжения, мы регистрируем здесь часть потенциала, которая зависит от отношения между сопротивлением наружного шунта r_o и суммой наружного и внутреннего сопротивлений $r_o + r_i$. Следует заметить, что знак изменения наружного потенциала будет отрицательным, т. е. противоположным знаку изменения мембранного потенциала $V_i - V_o$.

Если мы отводим потенциал от поверхности нервного пучка, содержащего 1000 одинаковых волокон, и импульс в каждом волокне сопровождается одним и тем же изменением

ем величины $V_i - V_o$, то чем большее число волокон возбуждается одновременно, тем больше будет потенциал, регистрируемый поверхностными электродами. Причина этого состоит в том, что отношение $r_o/(r_o + r_i)$ возрастает по мере того, как все большее количество волокон участвует в создании тока действия, вместо того чтобы служить лишь пассивными наружными шунтами.

Предположим, что к каждому аксону примыкает небольшое количество наружной шунтирующей жидкости, сопротивление которой равно сопротивлению аксоплазмы (внутреннего содержимого аксона). Если во всей тысяче аксонов нашего пучка одновременно возникнет импульс, то r_o будет равно r_i и отношение $r_o/(r_o + r_i)$ составит 0,5, так что мы будем регистрировать половину изменения мембранного потенциала. Если же возбудятся лишь 100 волокон, то r_i будет в 10 раз больше, чем в первом случае, а r_o уменьшится в соотношении 1000/1900 (так как к наружному шунту добавятся 900 невозбужденных аксонов). Поэтому $r_o/(r_o + r_i)$ составит теперь не 0,5, а $\frac{1}{1,9} / \left(\frac{1}{1,9} + 10 \right) = 0,05$. Таким образом, регистрируемый потенциал должен быть пропорционален числу возбужденных волокон и, следовательно, будет изменяться при изменении силы раздражения даже в том случае, если ответ каждого отдельного волокна является стандартной реакцией типа «все или ничего».

Это, однако, еще не доказывает, что импульс действительно представляет собой реакцию такого типа. Для того чтобы получить ясные данные по этому вопросу и иметь возможность более точно измерять сдвиги мембранного потенциала, нужен более прямой подход, связанный с использованием одиночных клеток.

Некоторые наблюдения на одиночных нервных и мышечных волокнах

Изолированное нервное или мышечное волокно, например волокно портняжной мышцы лягушки или гигантский аксон кальмара, помещают в подходящий солевой раствор (мышцу лягушки — в раствор Рингера, содержащий 115 мМ NaCl, 2 мМ KCl и 1,8 мМ CaCl₂, а нервное волокно кальмара или иного морского беспозвоночного — в обычную морскую воду). Как и раньше, применяют две пары электродов — одну для раздражения и другую для регистрации ответа. Электроды представляют собой покрытые хлоридом серебра серебряные проволочки, соединенные (через агар-агаровые солевые мостики) с различными пипетками. В каждой паре одна пипетка сделана из очень тонкой капиллярной трубочки, у которой диаметр кончика настолько мал, что его можно ввести внутрь волокна, а другая пипетка — из трубки обычных размеров, образующей жидкостный контакт с окружающим волокно раствором. Одна пара электродов соединена с импульсным стимулятором, который используется для раздражения клетки током. Другая пара отводит потенциалы от клетки к катодному повторителю, усилителю напряжения и осциллоскопу для регистрации разностей потенциалов. Кончики тонких капиллярных пипеток имеют диаметр около 0,5 мк и меньше. Эти пипетки наполнены концентрированным раствором KCl, что создает два важных преимущества. Прежде всего, концентрированный солевой раствор служит для того, чтобы по возможности уменьшить электродное сопротивление очень тонкой микропипетки, хотя его редко удается сделать значительно меньше 10—20 Мом. Как уже говорилось (фиг. 4), высокое сопротивление электродов может

вести к существенному искажению регистрируемого сигнала, особенно тогда, когда входная лампа усилителя создает емкостный шунт. При использовании электродов с сопротивлением 10—20 Мом важно иметь катодный повторитель, который нейтрализует ток между сеткой и катодом, что позволяет передавать сигнал с минимальным искажением или ослаблением.

Второе преимущество использования концентрированного раствора KCl состоит в том, что это позволяет избежать возникновения диффузионных потенциалов, обусловленных неодинаковой подвижностью различных ионов на границах разных электролитов.

При соприкосновении двух растворов, содержащих разные соли или одну и ту же соль в разных концентрациях, растворенные вещества диффундируют через границу между жидкостями. Диффузия (подобно броуновскому движению) представляет собой процесс беспорядочного теплового движения, при котором частицы — молекулы или ионы — обычно перемещаются независимо друг от друга. Если положительно заряженный ион какой-то соли обладает большей подвижностью, то он проявляет тенденцию передвигаться вниз по градиенту концентрации быстрее, чем его отрицательно заряженный партнер, но существенного разделения ионов при этом произойти не может, так как сразу же после начала диффузии между ними возникнет большая электростатическая сила притяжения. Таким образом, устанавливается временное равновесие между тепловым движением, под влиянием которого ионы, обладающие неодинаковой подвижностью, стремятся разделиться, и электродвижущей силой (диффузионным потенциалом, или потенциалом жидкостного соединения), противодействующей разделению противоположно заряженных ионов. Диффузионные потенциалы, как правило, значительно меньше (и потому менее подвержены изменениям при колебаниях температуры и т. п.), чем электродные потенциалы, возникающие на границе металл/жидкость или на границе между хлорированным серебряным электродом или каломельным электродом и раствором. Поэтому всегда желательно устраивать жидкостный контакт с нервом или мышцей с помощью пипетки и помещать металлические контакты дальше по цепи, причем так, чтобы они находились в постоянной среде.

Даже и в этом случае потенциал жидкостного соединения может вносить серьезные ошибки, когда в ходе эксперимента кончик регистрирующей пипетки вводят из наружного раствора в цитоплазму клетки, имеющую совсем иной ионный состав. Это создает весьма серьезную проблему, в связи с чем возникали большие споры относительно интерпретации измерений клеточных потенциалов.

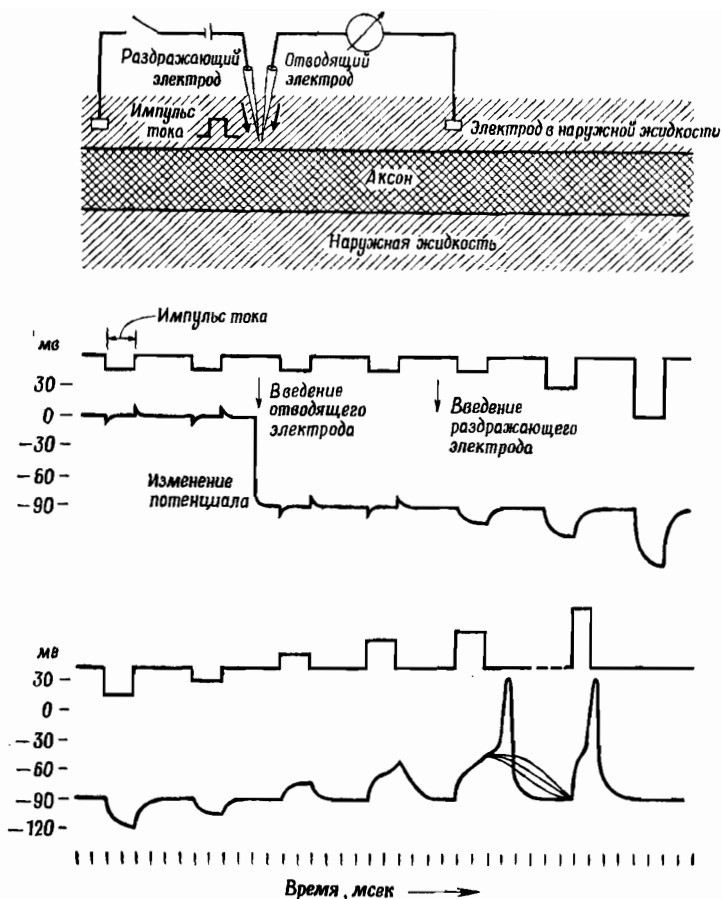
Применение концентрированного раствора KCl для устранения диффузионных потенциалов прочно вошло в практику; оно основано на том, что подвижность ионов калия и хлора почти одинакова. Если их концентрация намного выше концентраций веществ, растворенных в смежной среде, то быстрая диффузия ионов K^+ и Cl^- будет гасить любую разность потенциалов, которую могли бы создать эти вещества. Однако при использовании очень тонких пипеток возникают некоторые трудности, так как кончики их легко засоряются заряженными частицами, что приводит к непостоянству получаемых результатов. Ввиду этого необходимо тщательно подбирать пипетки и систематически проверять результаты измерений потенциала, проводя их с помощью различных пипеток.

После этого методического отступления вернемся к нашему эксперименту. Все электроды находятся у нас в солевой ванне. Вероятно, будет отмечаться небольшая разность потенциалов между двумя отводящими электродами, обусловленная асимметрией системы, но если эта разность постоянна, ее можно игнорировать. Теперь мы подводим тонкий отводящий электрод к одному из поверхностно расположенных волокон. В момент прокола его оболочки на экране осциллоскопа видно внезапное отклонение. Когда кончик микропипетки входит в цитоплазму, он оказывается в среде с более низким электрическим потенциалом, от -60 до -90 в по отношению к наружной жидкости. Обычно эта разность потенциалов остается на постоянном уровне все время, пока микроэлектрод находится внутри волокна, если только это волокно или связанные с ним нейроны не подвергаются раздражению. Это так называемый потенциал покоя, о существовании которого известно уже более ста лет, хотя раньше его измеряли с меньшей точностью и менее прямыми методами. Та же разность потенциалов обнаруживается во всех других точках, где бы мы ни ввели электрод

в покоящуюся клетку. Если не считать некоторых интересных исключений (например, в области многих синапсов и двигательных концевых пластинок — см. гл. 9), разности потенциалов никогда не отмечались *внутри* цитоплазмы: в покоящейся клетке они имеются только между цитоплазмой и наружной поверхностью клеточной мембраны.

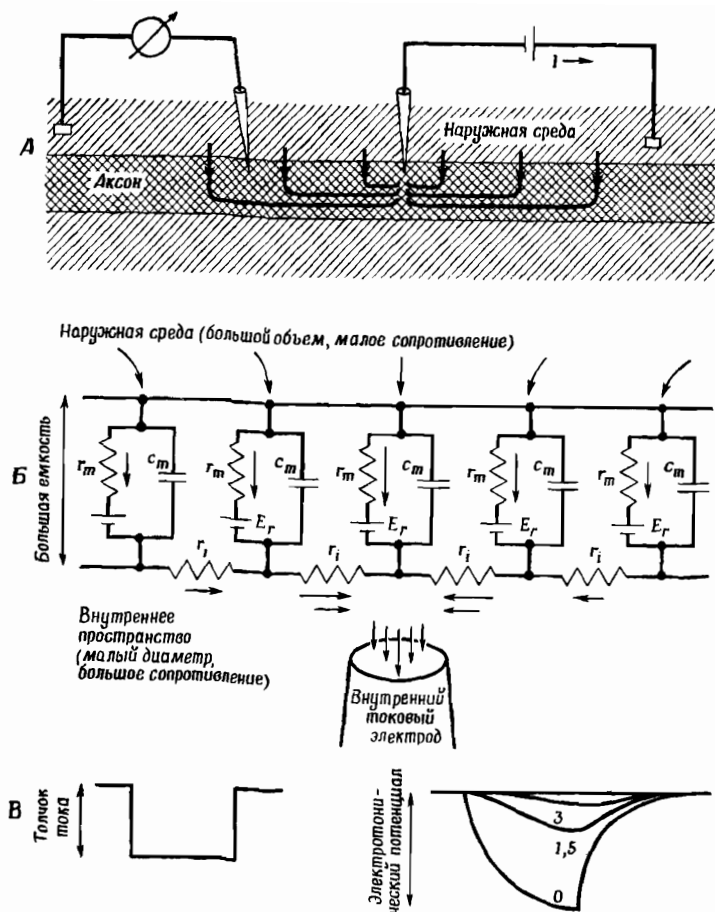
Продолжая наш эксперимент, мы используем вторую пару электродов и пропускаем кратковременный ток (скажем, силой 10^{-7} а и длительностью 2 мсек) с помощью тонкой пипетки, соединенной с катодом генератора импульсов. Мы приближаем микропипетку к тому же волокну и в конце концов вводим ее внутрь цитоплазмы на небольшом расстоянии (скажем, 50 мк) от введенного ранее отводящего электрода. До тех пор пока раздражающий электрод находится в наружном растворе, осциллоскоп не показывает никаких отклонений, кроме мгновенного «артефакта», улавливаемого паразитными емкостями в начале и в конце импульса. Но когда этот электрод проникает в цитоплазму, импульс тока начинает проходить через обладающую высоким сопротивлением поверхность волокна и при этом вызывает большое снижение потенциала, которое отмечается на экране осциллоскопа. Этот сигнал во временной развертке имеет характерную округленную форму, что отличает его от мгновенного подъема и спада «прямоугольного» раздражающего тока (фиг. 10 и 11). Такое подпороговое изменение потенциала, регистрируемое поблизости от раздражающего электрода и не распространяющееся дальше, уже давно известно под названием *электротонического потенциала* (несколько архаичный термин, до сих пор употребляемый за неимением лучшего).

Описанные выше наблюдения показывают, что поверхность волокна содержит слой, в котором имеется большой градиент потенциала (он составляет почти 0,1 в, причем внутренняя сторона электроотрицательна по отношению к наружной), и что электрическое сопротивление этого слоя достаточно высоко, чтобы при прохождении через него слабого тока (несколько десятых долей миллиампера) возникала большая разность потенциалов (около 50 мв). Если увеличивать расстояние по длине волокна между раздражающим и отводящим микроэлектродами, то окажется, что получаемый последним сигнал быстро затухает, уменьшаясь вдвое



Фиг. 10. Регистрация мембранного потенциала в точке раздражения.

Раздражающий и отводящий микроэлектроды вводят в аксон рядом и затем воздействуют прямоугольными толчками тока, вызывающими «электротонические» потенциалы и — в случае, если сила тока достаточна и он протекает через мембрану аксона изнутри наружу, — потенциалы действия.



Фиг. 11. Локальные (электротонические) изменения мембранного потенциала, вызываемые толчком тока. На схеме А показаны направление токов и положение раздражающего и регистрирующего электродов, введенных близко друг к другу в одиночный аксон. Б — электрическая схема, соответствующая распределенным сопротивлению и емкости аксоплазмы и мембраны аксона. В — прямоугольный толчок тока и вызываемое им изменение мембранного потенциала, записанные на разных расстояниях (0, 1,5 и 3 «постоянных длины») от раздражающего электрода (см. также стр. 94 и кривую на фиг. 18).

на каждом участке длиной 1—2 мм. Такого рода измерения проводили для определения «кабельных констант» волокна и особенно поперечного сопротивления утечки его поверхностной мембраны и продольного сопротивления цитоплазмы. Тот факт, что электрический импульс в волокне начинается и кончается более плавно, чем импульс раздражающего тока, показывает, что мембрана характеризуется определенным временем «зарядки». Она обладает свойствами «конденсатора с утечкой», напряжение которого отстает от изменений проходящего через него тока с постоянной времени, зависящей от емкости и сопротивления мембраны. Чем дальше от места возникновения сигнала мы его регистрируем, тем слабее он становится. Измеряя это ослабление, можно определить величину мембранной емкости.

Описанные явления наблюдаются тогда, когда импульсы тока направлены через мембрану волокна внутрь и повышают трансмембранную разность потенциалов по сравнению с уровнем покоя, т. е. *гиперполяризуют* мембрану. Если удвоить силу тока, электрический сигнал также увеличится вдвое, но его форма во времени и характер затухания по длине волокна не изменятся. Если изменить направление раздражающего тока на обратное и производить раздражение очень слабым током, то снова получится тот же локальный феномен, но с обратным знаком. Ток, проходящий через мембрану наружу, уменьшает разность потенциалов между ее поверхностями, т. е. деполяризует ее. Однако с увеличением силы тока электрический сигнал изменяет свой характер и начинает приближаться к точке электрической неустойчивости, называемой *порогом*.

В этой точке мембранный потенциал обычно составляет 50 мв с отрицательным полюсом внутри. Если снять приложенный ток, потенциал не возвратится тотчас же к своему устойчивому уровню покоя. Произойдет одно из двух: либо через некоторый небольшой, но непостоянный промежуток времени деполяризация уменьшится и исчезнет (местная реакция), либо потенциал будет автоматически стремительно возрастать и произойдет гораздо большее его изменение — возникнет *потенциал действия*, или *спайк*. Этот процесс уже не контролируется первоначально приложенным импульсом тока; это кратковременное самоусиливающееся изменение потенциала, которое превышает его по-

роговое смещение в 4—10 раз и переходит за нулевую линию¹. В наивысшей точке он достигает уровня 40—50 мв с положительным полюсом внутри, а затем быстро возвращается к уровню покоя. Если этот потенциал действия возник, то он распространяется по всей длине волокна с постоянной скоростью и без ослабления. Затем наступает короткий рефрактерный период — «период молчания» длительностью в одну или несколько миллисекунд, во время которого волокно не способно проводить второй сигнал. После этого система готова к повторному возбуждению и в ней может возникнуть следующий распространяющийся импульс.

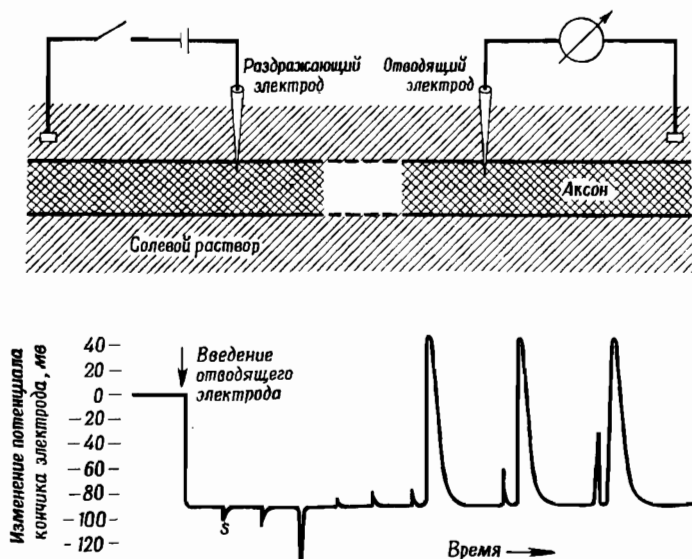
Если регистрировать электрическую реакцию нервного волокна на достаточном расстоянии (1 см и более) от точки раздражения, подпороговая реакция не отмечается вовсе. Но при силе раздражения выше пороговой к отводящему электроду придет распространяющийся потенциал действия «в полном виде», причем его амплитуда и форма не будут зависеть от вызвавшего его раздражения (фиг. 12). Это явление было названо реакцией типа «все или ничего»; так говорят о потенциале, распространяющемся по отдельному волокну, который можно зарегистрировать на любом расстоянии от места его первоначального возникновения. Реакция такого типа указывает на то, что мы имеем дело с процессом, который, будучи инициирован пусковым механизмом, в дальнейшем сам себя поддерживает.

Методика только что описанных экспериментов могла бы вызвать следующие сомнения: 1) возможно, что изолированная ткань, изучаемая в искусственной среде, дает аномальные реакции, и 2) введение в клетку микроэлектродов может серьезно расстроить систему, которую мы хотим исследовать.

Действительно, изолированные нервные и мышечные ткани, даже принадлежащие холонокровным животным, не находятся в идеальном стационарном состоянии. На протяжении многих часов функция их постепенно ухудшается. (Например, они теряют калий и поглощают из окружающей среды натрий; одновременно с этим потенциал покоя и по-

¹ Нулевой линией называют *уровень отсчета*, соответствующий потенциалу наружного раствора. Когда внутренний потенциал достигает нулевой линии, потенциалы с наружной и внутренней сторон мембраны становятся равными.

тенциал действия медленно уменьшаются.) Скорость этой деградации зависит от таких разнообразных факторов, как мастерство экспериментатора, достаточное или недостаточное снабжение ткани кислородом, толщина препарата, тем-



Фиг. 12. Реакция одиночного аксона.

Раздражение и регистрация производились с помощью внутриклеточных микроэлектродов, находившихся на большом расстоянии друг от друга. После введения регистрирующего электрода производили восемь очень коротких электрических толчков (s) различной полярности и силы. Если ток имеет надлежащее направление и его сила превышает критический пороговый уровень, возникает потенциал действия стандартной величины (реакция типа «все или ничего»).

пература и состав раствора, в котором он находится, и т. п.

Однако при надлежащих условиях ткань можно поддерживать в состоянии, достаточно стационарном для наших экспериментов. Например, если изолированную портняжную мышцу лягушки держать при низкой температуре (0—4° С) в растворе Рингера, то она может в течение нескольких дней давать ответы постоянной величины на электрическое раз-

дражение [114] и содержание в ней калия остается почти нормальным [71]. Гигантские аксоны кальмара можно выделять и сохранять в морской воде при комнатной температуре несколько часов, и за это время они способны провести несколько сот тысяч импульсов почти такой же амплитуды, как и в предварительных опытах *in situ* [121, 122]. Это особенно поразительно, если учесть, что такие аксоны фактически представляют собой лишь фрагменты одиночных клеток; они отделены от центрального тела клетки и ядра, а также от своих периферических разветвлений и соединений с мышцами. Эти волокна после их выделения не только остаются в достаточно нормальном функциональном состоянии, но их большая толщина позволяет производить на них различные внутриклеточные «хирургические» операции, вводить в них канюли и пипетки, имплантировать капиллярные электроды для раздражения и для регистрации ответов и перфузировать их внутренность искусственными растворами. Удивительные результаты такого рода получили Бейкер, Ходжкин и Шоу [7]; они показали, что можно механически выдавить большую часть аксоплазмы, заменив ее подходящим раствором солей калия, и после этого аксон все же сохраняет способность генерировать обычные серии потенциалов действия в течение 3—4 час.

Часто ставился вопрос о том, не теряет ли экспериментатор важных познавательных возможностей, ограничивая себя при изучении какого-либо физиологического механизма наблюдениями на изолированных тканях, клетках или частях клеток (например, аксонах). На этот вопрос нет общего ответа; ясно, что при таком подходе исследователь исключает ряд существенных факторов — например, взаимодействия между аксоном и клеточным ядром или между аксоном и соединенными с ним нервными и эффекторными клетками и, конечно, все гормональные влияния, исходящие от удаленных тканей. Такие факторы, несомненно, имеют огромное значение для длительных процессов роста, регенерации и поддержания изучаемых клеток в нормальном состоянии. Но столь же очевидно и то, что если нас интересует просто механизм возникновения нервного импульса и его передачи к мышечным волокнам и от них, то сохранение связей с другими частями организма не обязательно, и в большинстве случаев оно создавало бы для экспериментатора непреодоли-

мые трудности. Изолированный аксон сравнивали иногда с системой, снабженной аккумулятором, который может питать ее током в течение многих часов, но постепенно теряет эту способность при отсутствии устройства для подзарядки. Даже это не совсем верно, так как нервное волокно сохраняет способность «подзаряжать свои аккумуляторы»; используя энергию, освобождающуюся в процессе метаболизма, оно может активно выводить во внешнюю среду натрий против электрического и концентрационного градиентов [121]. Поэтому если искать грубую аналогию, то лучше сравнивать изолированный аксон с системой, содержащей как батарею аккумуляторов, так и устройство для их непрерывной подзарядки; если эта система медленно деградирует, то по иной причине — вероятно, отчасти потому, что в ней не восполняются запасы «топлива», а отчасти из-за недостаточного восстановления ее постепенно разрушающейся белковой структуры.

Второе возражение — относительно возможных повреждений мембраны, вызываемых внутриклеточными электродами, — можно снять с помощью сравнительно простых контрольных экспериментов (в которых, например, один электрод регистрирует электрические реакции во время введения второго электрода). При условии что кончик пипетки очень тонок, клетка имеет крупные размеры и окружающая ткань не создает механических помех, введение электрода внутрь клетки не вызывает никаких повреждений. Пипетки с диаметром кончика 0,5 мк, наполненные концентрированным раствором KCl, можно вводить в мышечные волокна поперечником 100 мк и держать там в течение многих минут, не вызывая снижения потенциала покоя более чем на 1—2% и не оставляя даже микроскопических следов местного повреждения. Но при попытках применять более толстые пипетки возникают все более серьезные местные повреждения, как только электрод проходит через клеточную мембрану или задевает за ее поверхность. *Преимущества* прямой регистрации потенциалов с обеих сторон мембраны поистине огромны. Разработка метода внутриклеточной регистрации вместе с использованием гигантских аксонов и меченых ионов фактически создала основу для поразительных успехов, достигнутых в этой области после 1939 г.

Мембранная теория возбуждения

Как показали эксперименты описанного выше типа, нервные и мышечные клетки способны запасать электрическую энергию и освобождать ее в форме коротких импульсов. Живые клетки содержат около 80% воды с некоторым количеством электролитов, но в них нет никаких металлических проводников. Поэтому ясно, что нам необходимо исследовать ионный состав клеток и окружающей их среды, — только тогда мы подойдем к пониманию процесса, в результате которого в них образуется электричество.

Многие из приводимых ниже сведений можно с одинаковым успехом извлечь из экспериментов, проводимых как на нервах, так и на мышцах, особенно на крупных аксонах головоногих (достигающих у кальмара толщины 1 мм) и мышцах лягушки. Нервные и мышечные волокна, несмотря на различие их функций, имеют ряд важных общих особенностей. Те и другие представляют собой длинные цилиндрические образования, способные проводить импульсы типа «все или ничего» по всей своей поверхности; благодаря этому мгновенное состояние возбуждения быстро распространяется по всей клетке от одного ее конца до другого. В нерве этот механизм служит для быстрой передачи сигналов на большие расстояния; в скелетных мышечных волокнах потенциал действия играет роль раздражителя, вызывающего сокращение, и быстрое распространение этого потенциала обеспечивает почти одновременное развитие напряжения по всей длине волокна. Нервные и мышечные волокна обладают и другими общими свойствами, которые схематически представлены на фиг. 13.

Распределения электролитов и разности электрических потенциалов между цитоплазмой и окружающей средой в обоих случаях весьма сходны.

В других отношениях между этими волокнами имеются важные различия (о некоторых из них мы уже упоминали). Прежде всего, нервное волокно представляет собой длин-

Мышца лягушки				Аксон кальмара			
Снаружи		Внутри		Снаружи		Внутри	
Na^+	120	Na^+	9,2	Na^+	460	Na^+	50
K^+	2,5	K^+	140	K^+	10	K^+	400
Cl^-	120	Cl^-	(3 - 4)	Cl^-	540	Cl^-	40-100
		(A^-)				Изэтионат $^-$	270
						Аспартат $^-$	75
-90 мв				-60 мв			

Фиг. 13. Концентрации электролитов (ммоль/л) и разности потенциалов между двумя сторонами клеточной мембраны

ный отросток клетки, уходящий далеко от ядра, но окруженный системой из шванновских клеток, которые содержат ядра. Мышечное же волокно — это самостоятельная клетка с многочисленными ядрами, распределенными по ее длине, и «голой» поверхностью; лишь в отдельных участках к ней примыкает небольшое число клеток-сателлитов [158]. Внутренняя организация мышечного волокна гораздо сложнее: оно представляет собой пучок миофибрилл, состоящих из упорядоченно расположенных протофибрилл, и в продольном направлении разделено на саркомеры с их различными поперечными полосами.

Цитоплазма представляет собой водянистый белковый гель, в котором 10—20% составляют плотные вещества, а остальное — вода. Содержание воды в клетке можно

изменять путем разведения или концентрирования наружного солевого раствора. Изолированный аксон кальмара или каракатицы довольно быстро регулирует содержание в нем воды в соответствии со средой: набухая или сжимаясь, он за несколько минут приходит к новому равновесию. Было много споров относительно того, чем обусловлено это осмотическое уравнивание — наличием полупроницаемой мембраны или набуханием и сжатием полиэлектrolитного геля, из которого состоит цитоплазма. Такое набухание и сжатие могло бы происходить и независимо от наличия поверхностной мембраны (см., например, [71, 150]). Многие исследователи (например, Конвэй [30]) полагают, что структурные белки клетки с их фиксированными электрическими зарядами и связанными с ними противоионами играют лишь небольшую роль в осмотическом балансе нервных и мышечных волокон, но количественные данные по этому вопросу пока еще недостоверны.

Хотя большую часть массы нервной или мышечной клетки составляет вода, которая находится в осмотическом равновесии с окружающей тканевой жидкостью, по химическому составу растворенных веществ и особенно по содержанию электролитов цитоплазма сильно отличается от наружной среды (фиг. 13). Снаружи главными ионными компонентами являются натрий и хлор; внутри клетки эти ионы составляют менее 15% всех электролитов. Натрий замещен здесь калием, концентрация которого примерно в 20—50 раз выше, чем в наружной жидкости. Внутриклеточные анионы еще не полностью идентифицированы; в гигантском аксоне кальмара содержится особый органический анион, изэтионат, в концентрации 270 мМ; в других нервных волокнах были обнаружены в значительных количествах глутаминовая и аспарагиновая кислоты. По расчетам Конвэя [30], отрицательные заряды создаются в мышце главным образом органическими фосфатами и аминокислотами и только 10% их связано со структурными белками, но Эрнст [71], Трошин [243] и Линг [189] утверждают, что большая часть внутренних отрицательных зарядов принадлежит протеинам полиэлектролитов; кроме того, они полагают, что ионы калия не просто служат противоионами к отри-

цательно заряженной коллоидной структуре, а обладают избирательным средством и химически связаны с протеинами.

Однако эта точка зрения кажется маловероятной ввиду следующих наблюдений Ходжкина и Кейнса [134]. Эти наблюдения мы рассмотрим подробно, так как они имеют решающее значение в связи с еще продолжающимися спорами относительно правильности представления о возбудимой мембране. Ходжкин и Кейнс исследовали: а) передвижение меченых ионов калия из наружного раствора в цитоплазму аксона каракатицы, б) скорость продольной диффузии и продольную электрофоретическую подвижность меченых ионов в цитоплазме этого аксона и в) скорость их перехода из аксона в окружающий раствор.

Полученные результаты можно резюмировать следующим образом. Перемешивание наружного и внутриклеточного меченого калия происходит очень медленно; для аксона толщиной 200 мк «полупериод» этого процесса составляет около 10 час. Если бы аксон вел себя просто как нить из коллоидного геля (например, из агара или желатины) толщиной 200 мк, то процесс перемешивания был бы более чем на половину закончен за несколько секунд, а не часов.

Какова же причина столь большого замедления? Существуют две возможности: либо 1) ионы калия настолько прочно связываются внутренними полиэлектролитами, что свобода их передвижения внутри клетки сильно ограничена, либо 2) у поверхности клетки (в мембране) имеется специальный барьер, который создает «узкое место» для диффузии и задерживает перемешивание внутренних и наружных ионов калия, хотя внутри и снаружи они вполне подвижны.

Ходжкин и Кейнс в своих экспериментах помещали небольшую капельку раствора с радиоактивным калием на средний участок изолированного нервного волокна и ждали, пока измеримое количество калия перейдет в аксоплазму. Спустя 2 час около 10% внутреннего калия оказывалось меченым. Тогда наружный раствор заменяли другим путем быстрой промывки аксона в обычной морской воде, и после этого начинался собственно эксперимент.

Через различные промежутки времени определяли продольный «профиль» радиоактивного участка аксона и из данных о распространении радиоактивности по аксону находили коэффициент диффузии внутренних ионов калия.

В другом эксперименте создавали продольную разность потенциалов между концами аксона и определяли скорость перемещения всего радиоактивного «пятна» к катоду. Это позволяло непосредственно измерить электрофоретическую подвижность внутриклеточных ионов. Обе величины (коэффициент диффузии и подвижность ионов) оказались всего лишь на несколько процентов ниже соответствующих величин для калия в морской воде. Из этого было ясно, что меченые ионы, проникшие в аксоплазму, и внутри клетки продолжали вести себя как свободные ионы с почти нормальной подвижностью. Таким образом, малую скорость обмена между клеткой и окружающей средой нельзя объяснить ограниченной подвижностью ионов в цитоплазме — она должна быть обусловлена каким-то поверхностным барьером¹.

Иногда указывают на то, что фазовая граница между проводящими средами могла бы сама по себе действовать как поверхностный барьер даже при отсутствии химически дифференцированной мембраны. Это верно в случае границы между поляризующимися металлическим электродом и раствором электролита, но трудно представить себе, какая здесь может быть аналогия с поверхностью водного полиэлектролитного геля, окруженного солевым раствором (особенно тогда, когда речь идет об обмене ионами, общими для обеих фаз и обладающими в них примерно одинаковой свободой передвижения).

Эти выводы из экспериментов Ходжкина и Кейнса оспаривались на том основании, что предварительное поглощение меченого калия клеткой было неполным и

¹ Можно было бы возразить, что понятия «поверхностный барьер» и «мембрана» не однозначны, но это привело бы к чисто семантическому спору. Слово «мембрана» в употреблении цитофизиологов означает просто предполагаемый поверхностный слой цитоплазмы, который в химическом и физическом отношении отличается от основной массы цитоплазмы и благодаря которому клетка приобретает особые свойства, такие, как возбудимость и способность экономно поддерживать разности ионных концентраций между внутренней областью клетки и внеклеточной средой.

составляло лишь около 10%. Трошин [244] считает, что эта цифра характеризует фракцию «свободного калия», которая, согласно сорбционной теории, подвергается быстрому обмену. В настоящее время Ходжкин и Кейнс получили дополнительные данные, измерив скорость выделения и поглощения меченых ионов; результаты измерений указывают на то, что до введения этих ионов внутри аксона фактически не было сколько-нибудь существенных «необмениваемых фракций» калия и что, по-видимому, величины коэффициента диффузии и электрофоретической подвижности относятся ко всему или почти всему внутриклеточному калию. Но даже если отбросить эти добавочные данные и предположить, что существуют быстро и медленно обменивающиеся фракции калия, это не изменит нашего вывода. Ведь если свободно подвижные меченые ионы калия в эксперименте Ходжкина и Кейнса принадлежат «быстрой» внутриклеточной фракции, то почему для их поглощения потребовалось 2 час, а не 1 сек? Перемещение этой фракции было быстрым *внутри* клетки, но очень медленным во время проникновения внутрь; таким образом, мы возвращаемся к нашему исходному пункту. Это создает огромную, пока еще не преодоленную трудность для противников мембранной теории.

Имеется и много других наблюдений, подкрепляющих эту теорию. Из них можно отметить измерения «кабельных констант» нервных и мышечных волокон [27, 74, 137, 154, 192], в результате которых было совершенно иным методом показано, что цитоплазма ведет себя как хороший электролитический проводник, отделенный от наружного солевого раствора изолирующим поверхностным слоем.

Но есть и еще более «осязаемые» факты, очень хорошо известные большинству тех, кто пробовал выделять одиночные мышечные волокна, и особенно тем, кто выполнял некоторые микрохирургические операции на гигантских аксонах кальмара. Например, с помощью довольно толстого (50 мк) капилляра, наполненного морской водой или раствором хлористого калия, можно пробуравливать длинные продольные каналы в аксоплазме этого аксона и двигать пипетку в разных направлениях, не нарушая способности аксона проводить нормальные импульсы. Как показали Бейкер, Ходжкин и Шоу, можно даже безна-

казанно выдавливать большую часть аксоплазмы через один из концов волокна и снова наполнять его цилиндрическую оболочку искусственным раствором солей калия. Но как только мы произведем местное повреждение поверхности волокна с ее внутренней или наружной стороны, например поцарапаем или проколем ее тем же капилляром, функция этого участка будет необратимо нарушена. Он утрачивает потенциал покоя, не отвечает на раздражение и не может проводить импульсы. Ясно, что у поверхности волокна находится какая-то специализированная структура, которая возбудима, легко подвержена повреждению и отличается по своим свойствам от остальной части клетки.

Для того чтобы объяснить, почему поверхностная мембрана ведет себя как ионный барьер, т. е. относительно плохо проводящий слой между двумя хорошо проводящими водными средами, можно предположить, что непрерывная фаза этой клеточной «кожи» состоит из жироподобного материала, т. е. что поверхностный слой в основном представляет собой обособленную липидную фазу (возможно, всего лишь бимолекулярный листок), отделяющую гель цитоплазмы от наружного раствора (см., например, [37]. Именно так Кол [24] и его сотрудники истолковали результаты измерений импеданса клеток для переменного тока. Кроме того, более поздние исследования кабельных свойств нервных и мышечных волокон, выполненные с использованием *коротких толчков постоянного тока* [27, 74, 137, 154, 192], привели их авторов к тем же общим выводам.

Эти результаты сведены в табл. 1. Можно видеть, что удельное сопротивление цитоплазмы в 1,5—3 раза выше, чем у наружной среды, но остается величиной того же порядка. Различие, возможно, обусловлено такими факторами, как неподвижность или малая подвижность некоторых внутренних анионов и наличие покрытых мембраной внутриклеточных частиц, которые не участвуют в переносе заряда и могут даже задерживать его. Другим фактором может быть пониженная активность внутриклеточного калия (этот фактор, видимо, не играет заметной роли в гигантских аксонах головоногих, но, возможно, имеет большее значение в других волокнах, особенно мышечных).

Таблица 1

Кабельные константы нервных и мышечных волокон
(при температуре около 20° С)

Волокно	Диаметр волокна, $\mu\text{к}$	Константа длины (при большом объеме наружной среды), мк	Постоянная времени, мсек	Сопротивление мембраны R_m , $\text{ом}\cdot\text{см}^2$	Емкость мембраны C_m , $\text{мкф}/\text{см}^2$	Удельное сопротивление цитоплазмы R_i , $\text{ом}\cdot\text{см}$	Удельное сопротивление наружной среды R_o , $\text{ом}\cdot\text{см}$
Аксон кальмара . .	500	5	0,7	700	1	30	22
Аксон омара	75	2,5	2	2000	1	60	22
Аксон краба	30	2,5	5	5000	1	60	22
Мышечное волокно лягушки	75	2	24* (10)	4000	6* (2,5)	200	87

* Мышечное волокно имеет два емкостных канала, которые заряжаются и разряжаются с различными скоростями [74]. Меньшая величина (2,5 мкф/см²), вероятно, соответствует емкости поверхностной мембраны; более длительный процесс зарядки, возможно, обусловлен емкостью саркоплазматического ретикулума.

Поверхность аксона обладает емкостью 1 мкф/см² [24, 25]. Для многих мышечных волокон получены гораздо большие величины, хотя в настоящее время есть основания полагать, что эти большие емкости образуются за счет системы сложных трубчатых и сетевидных канальцев, поверхность которых является продолжением клеточной мембраны [74]. Если для липидного материала, составляющего главную массу клеточной мембраны, считать характерной емкость 1 мкф/см² и принять для ее диэлектрической проницаемости величину около 6, то толщина этого слоя должна составлять около 50 Å¹. Этот материал

¹ Если рассматривать мембрану как тонкий изолятор между двумя растворами электролитов, то ее емкость на 1 см² определяется выражением $C = 1,1 \cdot k/4 \pi d \text{ нф}$, где d — толщина мембраны и k — ее диэлектрическая проницаемость (которая служит мерой степени ориентации ее молекул под влиянием электрического поля). При $k = 5,7$ (величины k для жиров обычно лежат между 2 и 7) и $C = 1 \text{ мкф}/\text{см}^2$ величина d будет равна $5 \cdot 10^{-7} \text{ см}$.

должен выдерживать разность потенциалов примерно около $0,1$ в, т. е. поле напряженностью $2 \cdot 10^5$ в/см. Не удивительно, что при усилении этого поля в 2—4 раза (путем искусственной гиперполяризации) начинают появляться признаки повреждения и пробоя изоляции [40—42, 119, 227].

Различного рода клеточные мембраны были исследованы в электронном микроскопе [216, 225]. В настоящее время полагают, что к собственно плазмалемме, которая на электронных микрофотографиях имеет вид двух параллельных темных линий, разделенных светлым промежутком шириной около $50 \text{ \AA}$, примыкает снаружи ряд добавочных соединительнотканых слоев (коллагеновые фибриллы и базальная мембрана, или «эктолемма»). Разрешение микроскопа и техника приготовления препаратов пока еще не позволяют видеть в самой мембране какие-либо детали или дифференцировку, кроме двойного контура. В настоящее время еще нет уверенности в том, что всю эту структуру следует отождествлять с постулированной нами физиологической мембраной. Возможно, что в будущем удастся выявить более тонкие детали плазмалеммы, и мы надеемся, что в конце концов в ней можно будет увидеть какую-то структурную дифференцировку.

Проводимость этого слоя оказывается крайне низкой по сравнению с проводимостью жидкости по обе его стороны. Обычно получали величины от $1 \cdot 10^{-4}$ до $10 \cdot 10^{-4} \text{ ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$. Для мембраны толщиной $50 \text{ \AA}$ это соответствует удельному сопротивлению порядка $10^{10} \text{ ом} \cdot \text{см}$, т. е. в 100 млн. раз большему, чем у окружающих ее растворов. Это означает очень низкую проницаемость клеточной мембраны для ионов; даже для небольших ионов — калия, натрия и хлора, — находящихся с обеих ее сторон, статистическая вероятность прохождения через мембрану должна составлять менее 10^{-8} .

Мембранный потенциал и избирательная проницаемость для ионов

Исследования с мечеными ионами и измерения электрических констант покоящегося волокна показали, что клетка состоит из хорошо проводящего электролитного

геля, окруженного изолирующей мембраной. Хотя ионная проницаемость этой поверхностной структуры очень низка, она обнаруживает поразительную избирательность по отношению к разным видам ионов. Это имеет огромное физиологическое значение, так как знак и величина трансмембранной разности потенциалов определяются относительной проницаемостью мембраны для важнейших неорганических ионов — натрия, калия и хлора. Это понял еще Бернштейн, который впервые использовал физико-химические представления Нернста и Оствальда для объяснения электрофизиологических явлений.

Главные факты и идеи, на основе которых были разработаны современные теории биоэлектрических явлений, очень просты. На границе между двумя растворами электролитов, содержащих ионы с различной подвижностью или в различных концентрациях, как правило, возникает разность электрических потенциалов. При отсутствии мембраны возникает потенциал жидкостного соединения, или диффузионный потенциал. Представим себе, что через пористый фильтр соприкасаются два разбавленных раствора NaCl , в одном из которых концентрация (или, точнее, средняя «активность») равна $0,1 \text{ M}$, а в другом $0,01 \text{ M}$. В этом случае тотчас же возникнет диффузионный потенциал, так как ионы Cl^- в водном растворе более подвижны, чем ионы Na^+ . Поэтому более разведенный раствор станет электроотрицательным по отношению к более концентрированному. Возникшую разность потенциалов можно вычислить по формуле

$$E = \frac{RT}{F} \frac{u-v}{u+v} \ln \frac{C_1}{C_2} = 2,3 \frac{RT}{F} \frac{u-v}{u+v} \log \frac{C_1}{C_2},$$

где R — универсальная газовая постоянная, T — абсолютная температура, F — число Фарадея (электрический заряд на 1 г-экв одновалентных ионов), u и v — подвижность ионов Na^+ и Cl^- соответственно вдоль градиента потенциала, C_1 и C_2 — концентрации соли (или, точнее, среднее геометрическое активности двух ионов) с обеих сторон фильтра. Величина RT/F при 20°C равна приблизительно 25 мв ; подвижность Cl примерно в 1,5 раза выше, чем у Na . Отсюда $(u-v)/(u+v) = -0,2$ и E равно примерно -12 мв .

Предположим, однако, что мы воспрепятствовали свободной диффузии, поместив на границе мембрану, избирательно пропускающую ионы хлора, но полностью задерживающую ионы натрия. Это, грубо говоря, равнозначно снижению u до нуля, так что разность потенциалов между двумя растворами получится в 5 раз большей — около 60 мв. В этом случае наше уравнение принимает простую форму известного уравнения Нернста

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_2}{C_1}.$$

Рассмотрим другой случай — границу между водными растворами NaCl и KCl одинаковой концентрации. Подвижность ионов калия (u_K) близка к подвижности ионов хлора (v) и примерно на 50% выше, чем у ионов натрия, u_{Na} . Поэтому возникает диффузионный потенциал, и раствор KCl становится электроотрицательным. Величину разности потенциалов можно определить из уравнения

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{u_{Na} + v}{u_K + v} = \frac{RT}{F} \ln \frac{\Lambda_1}{\Lambda_2},$$

где Λ_1/Λ_2 — отношение удельных проводимостей двух солевых растворов. В данном случае разность потенциалов достигает приблизительно — 5 мв.

Скажем несколько слов о методе измерения подвижности ионов в растворе. Абсолютная подвижность иона определяется как средняя скорость его миграции в электрическом поле напряженностью 1 в/см. Соответствующие величины для K^+ , Na^+ и Cl^- приведены в табл. 2. Это величины порядка нескольких микронов в 1 сек. Они были найдены путем измерения электропроводности разбавленных растворов солей, содержащих эти ионы, и определения числа переноса для каждого иона. Число переноса — это доля общего тока, переносимая данным ионом. Ее можно определить различными способами, например путем титрования количества иона, мигрирующего к электроду за определенное время, или по перемещению видимой границы между двумя растворами электролитов, содержащими общий ион.

Таблица 2

Подвижность некоторых важных ионов [29]

Ион	Атомный вес	Радиус иона в кристалле, Å	Лимитирующая проводимость в H_2O^*	Абсолютная подвижность в H_2O , $(\text{мк/сек})/(\text{в/см})$	Степень гидратации (расчетная)
Li^+	6,94	0,6	38,69	4,01	6
Na^+	23,00	0,95	50,11	5,2	4,5
K^+	39,096	1,33	73,52	7,64	2,9
Cl^-	35,46	1,81	76,34	7,91	2,9
Br^-	79,92	1,95	79,92	8,28	2,4
I^-	126,93	2,16	76,8	7,96	0

* Лимитирующая проводимость равна эквивалентной проводимости, экстраполированной на очень сильно разбавленный раствор, в $10^3 \text{ ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 25° C .

При сравнении подвижностей ионов щелочных металлов Li, Na и K выясняется интересное обстоятельство. Чем меньше атомный вес, тем ниже скорость движения иона. На первый взгляд это кажется странным. Можно было бы ожидать, что чем меньше размеры частицы растворенного вещества (безразлично, заряженной или нейтральной), тем легче она будет перемещаться среди молекул водного растворителя. Сопротивление, которое встречает такая частица, обусловлено трением ее поверхности о молекулы растворителя, и это относится как к беспорядочному тепловому движению, так и к направленной миграции в электрическом поле.

Попутно можно отметить, что под влиянием приложенного электрического поля ион приобретает некоторую постоянную среднюю *скорость* (а не постоянное ускорение). Это объясняется тем, что его движению препятствует только сопротивление трения, а массой, или инерцией, иона можно пренебречь.

На самом деле подвижность ионов и ионная проводимость определяются не диаметром атомов металла, а размерами наружной «оболочки» из молекул воды, с которой ион металла образует комплексную связь и которая перемещается вместе с ионом через водную среду. Чем меньше атом, находящийся внутри оболочки, тем сильнее он «гид-

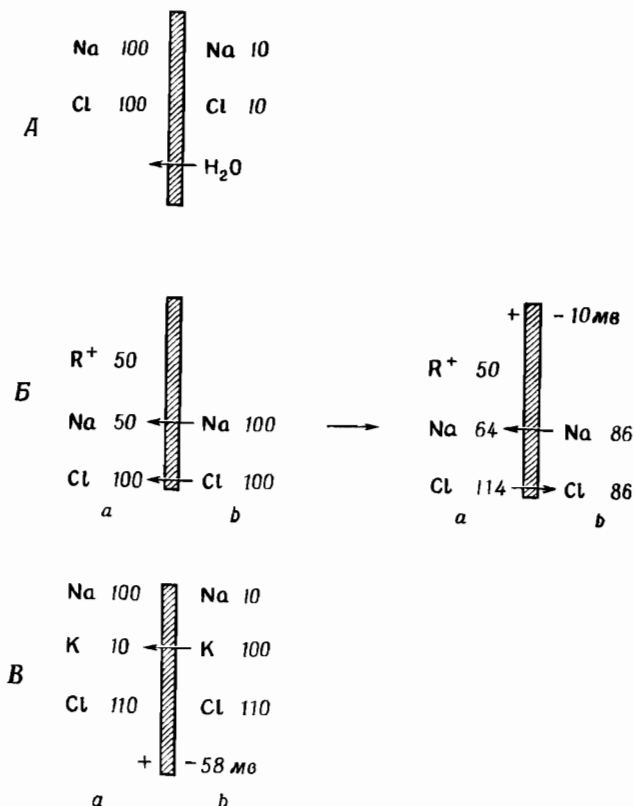
ратируется», т. е. притягивает молекулы воды, и поэтому тем больше будет «водяное облако», которое он тянет за собой. Именно поэтому ион калия, несмотря на большую величину самого атома этого металла, может двигаться в воде быстрее, чем ион лития. Делались попытки вычислить размер гидратированного иона и число связанных с ним молекул воды (табл. 2); для наших целей достаточно отметить, что чем больше степень гидратации или сольватации иона, тем меньше скорость его движения.

Вернемся теперь к рассмотрению жидкостного соединения. Предположим, что мы поместили между двумя растворами полупроницаемую пористую мембрану. Возникающие при этом разности потенциалов будут зависеть от особенностей этой мембраны и от концентраций ионов с обеих ее сторон. Мы рассмотрим три различных случая (фиг. 14).

1. Поры в мембране могут быть настолько малы, что через них будут проходить только молекулы воды, а ни одно из растворенных веществ пройти не сможет. В этом случае никакой миграции ионов не будет и не возникнет никакого диффузионного потенциала. Если концентрации солей с обеих сторон неодинаковы, вода будет стремиться проходить через мембрану из более разбавленного раствора в более концентрированный (заметим, что концентрация молекул воды в разбавленном растворе выше). Этот осмотический ток воды может привести к возникновению электрокинетической разности потенциалов, которая зависит от электростатического заряда на стенках пор мембраны и от скорости течения воды.

2. Поры в мембране могут быть настолько велики, что через них проходят все молекулы и ионы умеренной величины, а задерживаются только крупные коллоидные частицы вроде белковых молекул. В этом случае будет происходить диффузия и возникнут диффузионные потенциалы, величина которых зависит от дифференциальной подвижности ионов внутри пор и от их концентраций с обеих сторон мембраны (см. стр. 63). Такая система не находится в стационарном состоянии, а постепенно приближается к нему, если только концентрационные градиенты не поддерживаются каким-то процессом активного «перекачивания» ионов.

Присутствие заряженных коллоидных частиц с одной стороны мембраны должно влиять на конечное распределение более мелких, проходящих сквозь поры ионов и при известных условиях приводить к установлению так называемого *равновесия Доннана*. Рассмотрим случай, представленный на фиг. 14, Б, где мембрана пропускает Na^+ и Cl^- , но непроницаема для крупного катиона R^+ . Предполагается, что мембрана и стенки обоих резервуаров неподатливы и способны выдерживать большое гидроста-



фиг. 14. Различные типы мембран и влияние их свойств на распределение электролитов и потенциала. Концентрации указаны в ммоль/л. Объяснение см. в тексте.

тическое давление. Распределение ионов в начале эксперимента показано на фиг. 14, Б, слева. Ион Na^+ будет диффундировать из b в a , и вначале за ним будет следовать Cl^- , хотя движение Cl^- направлено «вверх», против образующегося и все более возрастающего концентрационного градиента. Этот процесс будет продолжаться до тех пор, пока разность концентраций, заставляющая Na переходить из b в a , не будет уравновешена противоположно направленной силой, заставляющей Cl переходить из a в b . Эти две силы уравновесят друг друга тогда, когда отношения концентраций для Na и Cl по обе стороны мембраны будут удовлетворять равенству

$$\frac{[\text{Na}]_a}{[\text{Na}]_b} = \frac{[\text{Cl}]_b}{[\text{Cl}]_a},$$

или

$$[\text{Na}]_a [\text{Cl}]_a = [\text{Na}]_b [\text{Cl}]_b.$$

В этот момент наступает равновесие. Теперь общая осмотическая концентрация в a выше, чем в b , и стремление молекул воды переходить в a вниз по своему собственному концентрационному градиенту будет сбалансировано развившимся в a гидростатическим давлением, равным разности осмотических давлений с двух сторон мембраны.

Во время этого равновесного состояния стремление Na^+ переходить из b в a будет равно стремлению Cl^- переходить из a в b . Перемещения, приводящего к разделению этих ионов, происходить не будет; ему препятствует образование электростатической разности потенциалов между двумя сторонами мембраны, которая в точности уравновешивает концентрационный градиент ионов, способных к диффузии. Величина этой разности определяется по формуле Нернста

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}]_b}{[\text{Na}]_a} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Cl}]_a}{[\text{Cl}]_b}.$$

3. Третий случай, который нам нужно рассмотреть,— это случай избирательной проницаемости мембраны для ионов. Как уже говорилось, здесь возникает большая разность потенциалов, чем при жидкостном соединении, так как мембрана гораздо эффективнее в смысле избира-

тельного влияния на перемещение ионов, чем водный растворитель в случае «свободной» границы. Рассмотрим крайний случай — предположим, что в мембране имеются очень узкие поры, наиболее крупные из которых пропускают гидратированные ионы калия, но не натрия (которые примерно в полтора раза больше). Кроме того, стенки этих пор содержат фиксированные отрицательные заряды, так что входить в них или проходить насквозь могут только положительные ионы, а небольшие анионы вроде Cl^- задерживаются.

Если мы поместим с двух сторон растворы, содержащие неодинаковые смеси NaCl и KCl (как на фиг. 14, В), то через каналы в мембране смогут диффундировать только ионы калия, но никакой миграции происходить не будет, так как тенденция небольшого числа диффундирующих ионов к передвижению в сторону меньшей концентрации тотчас же приведет к созданию задерживающей их электростатической силы. Присутствие NaCl просто поддерживает осмотическое равновесие. Результатом удаления NaCl было бы возникновение гидростатического давления или, в случае податливости структур, — осмотического тока воды в отделение, содержащее 0,1 М KCl .

Для равновесного состояния величина разности потенциалов снова определяется формулой Нернста (только вместо полных концентраций следует брать активности ионов)

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{K}]_b}{[\text{K}]_a} \approx 60 \text{ мв.}$$

Здесь уместно будет отметить, что уравнение Нернста — это самое известное и чаще всего приводимое в биологической литературе уравнение. Все различные теории биоэлектрических явлений основываются на том или ином варианте этой чрезвычайно полезной формулы. Ее первоначальный вывод базировался на простых термодинамических принципах, определяющих состояние электрохимического равновесия между *электрической работой*, необходимой для перемещения небольшого количества ионов через границу в одном направлении, и *осмотической работой*, необходимой для перемещения того же количества ионов в противоположном направлении.

Электрическая работа, требуемая для переноса 1 моль калия (или любого другого одновалентного иона) против разности потенциалов E , равна EF (произведению этой разности потенциалов на заряд 1 моль одновалентного иона).

Осмотическую работу, необходимую для перемещения 1 моль калия из области концентрации $[K]_a$ в область, где его концентрация, $[K]_b$, в 10 раз выше, легче всего оценить, проведя аналогию с работой, выполняемой при обратимом (т. е. чрезвычайно медленном и изотермическом) сжатии 1 г-экс идеального газа до 1/10 его первоначального объема. Газ находится в цилиндре с подвижным поршнем. Механическая работа W равна произведению силы на расстояние; для очень малого перемещения δl поршня действующая сила равна давлению газа p , помноженному на площадь A поперечного сечения цилиндра. Отсюда произведенная работа δW равна $pA\delta l$, или $p\delta v$, где v — объем газа. Предположим, что мы увеличиваем силу, действующую на поршень, очень медленно; тогда работа W по сжатию газа от объема v_1 до v_2 равна

$$W = \int_{v_2}^{v_1} p dv. \quad (5)$$

Согласно закону газового состояния, p и v связаны между собой обратно пропорциональной зависимостью

$$pv = RT.$$

Отсюда $p = RT/v$, и уравнение (5) можно изменить следующим образом:

$$W = RT \int_{v_2}^{v_1} \frac{dv}{v} = RT (\ln v_1 - \ln v_2) = RT \ln \frac{v_1}{v_2}.$$

При сжатии газа концентрация его молекул увеличилась в 10 раз. В точности те же рассуждения применимы к осмотической работе, производимой при концентрировании молекул растворенного вещества (т. е. при «перемещении их в область более высокой концентрации»).

Предположим, что наш поршень сделан из неподатливой полупроницаемой мембраны, обладающей свойствами,

описанными для случая 3 (стр. 68); иными словами, она пропускает только молекулы воды и ионы калия. Вначале с обеих сторон этого полупроницаемого поршня находится 10 мМ раствор KCl. Начнем теперь очень медленно увеличивать давление, так, чтобы молекулы воды успевали выходить через поры без повышения температуры, а молекулы растворенного вещества постепенно концентрировались в цилиндре. Если это делается обратимо, осмотическая работа будет определяться по формуле

$$W = RT \ln \frac{[K]_2}{[K]_1}.$$

Во время этого процесса ионы калия стремятся диффундировать через полупроницаемый поршень и создают равновесный потенциал, который в точности компенсирует «диффузионное давление». Это равновесие определяется условием равенства электрической и осмотической работы, а именно

$$EF = RT \ln \frac{[K]_2}{[K]_1},$$

что снова приводит нас к уравнению Нернста.

Здесь возникает один практический вопрос. Как лучше всего измерять такие равновесные потенциалы и любые другие разности потенциалов между двумя сторонами полупроницаемых мембран? Стандартная методика была описана на стр. 43. В ней используется концентрированный раствор KCl, образующий мостик между внутренностью клетки и обратимым электродом (например, хлорированной серебряной проволокой, которая может быть погружена прямо в раствор KCl, наполняющий пипетку, или в промежуточный солевой мостик, содержащий смесь раствора Рингера с агаром). Концентрированный раствор KCl применяют с целью уменьшить до минимума диффузионный потенциал, неизбежно возникающий в месте жидкостного соединения между кончиком пипетки и цитоплазмой. Все другие электродные и контактные потенциалы, которые могут существовать в регистрирующей системе (например, у жидкостного соединения между толстым наружным электродом и раствором Рингера), не имеют никакого значения. Они автоматически исклю-

чаются, если измерять только внезапные изменения потенциала, происходящие в момент введения электрода в клетку и еще раз в момент его извлечения. Это позволяет правильно определять мембранный потенциал при условии, что небольшой диффузионный потенциал у кончика не изменяется, когда микроэлектрод вводят из наружного раствора в цитоплазму. Иногда такие изменения все же происходят, и это ведет к ошибочным результатам. Они, вероятно, вызываются «засорением» кончика пипетки (диаметр которого составляет лишь долю микрона) электрически заряженными внутриклеточными частицами. Трудно представить себе, как можно было бы полностью исключить такие ошибки при измерении мембранных потенциалов, но в большинстве экспериментов с тщательным перекрестным контролем можно ожидать, что результаты будут верными с точностью до $1-2 \text{ мВ}^1$.

Важно, конечно, избегать шунтирования клеточной мембраны измерительным прибором, которое приводит к утечке тока из клетки и тем самым нарушает существующее равновесное, или стационарное, состояние. Кроме того, следует учесть, что сопротивление кончика микроэлектрода (плюс сопротивление клетки) очень высоко; оно достигает многих мегом, и поэтому для регистрации полной э. д. с. входное сопротивление измерительного устройства должно быть порядка сотен мегом. С этой целью можно компенсировать мембранный потенциал при помощи потенциометра, включенного последовательно с трансмембранной разностью потенциалов. Прохождение тока между сеткой и катодом входной лампы усилителя можно компенсировать, применяя катодный повторитель, как указывалось на стр. 25.

Теория биоэлектрических явлений Бернштейна

Юлиус Бернштейн был одним из великих пионеров экспериментальной нейрофизиологии XIX века. С помощью чрезвычайно остроумного механического метода

¹ Для исключения ошибок, вызываемых электродными контактными потенциалами, пользуются методом внутренней перфузии [7], при котором цитоплазму в аксоне кальмара заменяют искусственным солевым раствором.

(с применением баллистического гальванометра, который соединяли с тканью на короткие промежутки времени) ему удалось приблизительно определить, как протекает во времени потенциал действия, задолго до того, как появились безынерционные регистрирующие приборы. В 1902 г. он выдвинул важную теорию биоэлектрических явлений, основанную на физико-химических концепциях Нернста и Оствальда.

Бернштейн полагал, что в состоянии покоя клеточная мембрана избирательно проницаема только для калия и что эта избирательность утрачивается во время возбуждения, когда на короткое время открываются многочисленные «поры», пропускающие в равной мере и другие небольшие ионы, например Na и Cl. У этой теории было много достоинств. Она, по-видимому, объясняла, каким образом покоящаяся клетка экономно поддерживает градиент концентрации ионов: ведь если один только калий может перемещаться вниз по своему градиенту, то возникает электростатическая сила, противодействующая этой тенденции. Таким образом, получали свое объяснение существование потенциала покоя, его электрический знак и приблизительная величина. Теория Бернштейна позволяла также предсказать (по крайней мере качественно) снижение потенциала покоя при увеличении наружной концентрации калия и учитывала в общем виде влияние температуры на мембранный потенциал и известные в то время электрические изменения при прохождении импульса.

Прошло почти 40 лет, прежде чем теория Бернштейна была серьезно поставлена под сомнение. В 1939 г. Ходжкин и Хаксли установили, что возбуждение приводит не просто к уничтожению потенциала покоя, а к его кратковременной инверсии; это нельзя было объяснить без существенного видоизменения концепции Бернштейна. Еще через два года Бойль и Конвэй опубликовали важную работу, которая показала, что волокно скелетных мышц проницаемо не только для калия, но и для хлора и что его осмотическое и электрохимическое поведение можно объяснить наличием частично проницаемой мембраны с «порами», «величина» которых допускает прохождение ионов размером меньше иона натрия. Создавалось впечатление, что мышечное волокно подчиняется законам равновесия Дон-

нана и его поверхностная мембрана по существу непроницаема для крупных органических анионов, синтезируемых внутри клетки, и для наружных ионов натрия, а проходящие через нее ионы (главным образом K и Cl) распределяются в соответствии с соотношением $[K]/[K]_o = [Cl]_o/[Cl]$. Эта теория весьма успешно объясняла многие факты, но представление о непроницаемой для натрия мембране пришлось отвергнуть, когда было исследовано перемещение меченых ионов в мышечной ткани [109, 172, 185].

Эксперименты с радиоактивными изотопами показали, что фактически потоки и натрия и калия через поверхностную мембрану находятся в состоянии динамического равновесия и что перенос обоих ионов происходит примерно с одинаковой скоростью.

В связи с этим возникли две важные проблемы. Во-первых, как можно примирить результаты изотопных исследований с нашими выводами об избирательной проницаемости (избирательной ионной проводимости) мембраны, сделанными на основании измерений электрических потенциалов? Во-вторых, если учесть большую силу, требуемую для перехода натрия внутрь (электрохимический потенциал равен приблизительно $90 \text{ мв} + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Na]_o}{[Na]_i} = 0,15 \text{ в}$), то встает вопрос: каким образом клетка поддерживает свой ионный состав и свой отрицательный внутренний потенциал, несмотря на непрерывный обмен всех главных ионов, имеющих малые размеры?

Чтобы ответить на первый вопрос, рассмотрим одиночное мышечное волокно; многие существенные данные для этого случая получены Ходжкином и Горовицем [123].

В мышечном волокне происходит непрерывный перенос через клеточную мембрану как натрия, так и калия в обоих направлениях. Однако механизм транспорта отдельных ионов неизвестен. Это существенно, так как окончательная интерпретация результатов измерения переноса меченых ионов будет в очень большой степени зависеть от того, какой механизм лежит в основе этого процесса. Возможно, например, что ионы связываются специфическими молекулами-переносчиками, которые допускают обмен Na и K на другие ионы в отношении 1 : 1, так что

в итоге общий баланс анионов и катионов не изменяется и электрического тока не возникает [245, 246]. Такой процесс сопряженной «обменной диффузии» заметно сказывался бы на результатах изотопных экспериментов, но не обязательно проявлялся бы при электрофизиологических измерениях. Позднее мы рассмотрим это обстоятельство более подробно, а сейчас сделаем самое простое из возможных предположений — допустим, что наблюдаемые потоки натрия и калия в большей своей части обусловлены независимым передвижением отдельных ионов через клеточную мембрану. Иными словами, мы будем пока предполагать, что миграция натрия и калия через мембрану носит такой же характер, как и в свободном растворе, т. е. их потоки пропорциональны градиентам концентраций и градиентам электрического потенциала, а главное отличие состоит в том, что материал мембраны оказывает очень большое сопротивление, т. е. очень мало проницаем для этих ионов.

Эта малая проницаемость может быть обусловлена малым коэффициентом распределения (очень низкой концентрацией ионов внутри мембраны), сильно пониженной подвижностью ионов или обоими этими факторами. Тогда проницаемость для каждого вида ионов определяется выражением $P = (u\beta/a)(RT/F)$, где u — электрофоретическая подвижность, β — коэффициент распределения между мембраной и раствором и a — толщина мембраны. Имеющиеся данные не позволяют нам разделить факторы u и β , но оценить величину P можно. Следует отметить, что P имеет размерность *скорости* (см/сек), т. е. такую же, как ионная проводимость и отношение коэффициента диффузии к толщине мембраны.

Если рассмотреть четыре компонента ионного потока, представленные в табл. 3, станет очевидным, что передвижение натрия изнутри наружу отличается от трех остальных компонентов тем, что оно направлено как против концентрационного градиента, так и против градиента электрического потенциала. Этот процесс выведения натрия представляет собой по существу самостоятельную проблему. Ключ к ее пониманию был найден, когда Ходжкин и Кейнс [135, 136] показали, что выведение натрия обусловлено активным процессом секреции,

при котором ионы натрия выводятся из клетки за счет какой-то метаболической реакции, служащей источником энергии. Однако передвижение калия, а также передвижение натрия внутрь являются, можно полагать, пассивными процессами, и их можно предположительно рассматривать как указание на обычную диффузию Na и K через материал мембраны. Поэтому мы будем использовать их как показатели для определения ионной проницаемости.

Таблица 3

Потоки меченых ионов в мышечном волокне лягушки*

	Поток меченого иона, 10^{-12} моль/см ² /сек	
9,2 мМ Na _i	$\begin{array}{c} \xrightarrow{\sim 3,5} \\ \xleftarrow{3,5} \end{array}$	120 мМ Na _o ¹
140 мМ K _i	$\begin{array}{c} \xrightarrow{8,8} \\ \xleftarrow{5,4} \end{array}$	2,5 мМ K _o
$E \approx -90$ мв		

* Измерения производились на изолированных волокнах. Волокна не находились в полностью стационарном состоянии, так как они каждую секунду теряли около $3,4 \cdot 10^{-12}$ моль K на 1 см² (для волокна диаметром 100 мк это составляет потерю около 3,6% внутреннего калия за 1 час).

Для нейтральных молекул (и для ионов при отсутствии электрического поля) проницаемость (см/сек) определяется как отношение потока к концентрации¹ (скорости поглощения к наружной концентрации или скорости выделения к внутренней концентрации). Для положительных ионов, передвигающихся *против* электрического поля (изнутри наружу) или *по направлению* поля (снаружи внутрь), потоки не пропорциональны одной лишь концентрации; последнюю нужно умножить на коэффициент,

¹ Обычно берут концентрацию, так как во многих случаях точные величины коэффициентов активности неизвестны.

отражающий влияние электрического поля, которое уменьшает или увеличивает вероятность проникновения отдельных ионов через мембрану. Если принять упрощающее предположение о «постоянном поле», как это сделали Голдмэн [98] и Ходжкин и Катц [133], то этот коэффициент для одновалентных ионов будет равен

$$\frac{EF/RT}{1 - e^{-EF/RT}},$$

где E — трансмембранная разность потенциалов, которая берется с положительным знаком, когда электрическое поле помогает движению ионов, и с отрицательным, когда оно противодействует ему. Для передвижения Na и K внутрь этот коэффициент равен 3,7, а для передвижения наружу 0,102.

Тогда мы получаем следующие величины проницаемости для калия: из данных о выведении калия

$$P_K = \frac{\text{Количество выведенного K}}{[K]_i \cdot 0,102} = \frac{8,8 \cdot 10^{-12} \text{ моль/см}^2/\text{сек}}{(140 \cdot 10^{-6} \text{ моль/см}^3) \cdot 0,102} = 6,2 \cdot 10^{-7} \text{ см/сек},$$

из данных о поглощении калия

$$P_K = \frac{\text{Количество поглощенного K}}{[K]_o \cdot 3,7} = \frac{5,4 \cdot 10^{-12} \text{ моль/см}^2/\text{сек}}{(2,5 \cdot 10^{-6} \text{ моль/см}^3) \cdot 3,7} = 5,8 \cdot 10^{-7} \text{ см/сек}.$$

Таким образом, величины проницаемости для калия, полученные из данных о выведении и о поглощении этого иона, весьма удовлетворительно согласуются между собой.

Для натрия можно использовать только данные о поглощении:

$$P_{Na} = \frac{\text{Количество поглощенного Na}}{[Na]_o \cdot 3,7} = \frac{3,5 \cdot 10^{-12} \text{ моль/см}^2/\text{сек}}{(120 \cdot 10^{-6} \text{ моль/см}^3) \cdot 3,7} = 7,9 \cdot 10^{-9} \text{ см/сек}.$$

Отсюда отношение b между величинами проницаемости для натрия и для калия ($P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$) приблизительно равно

$$\frac{7,9 \cdot 10^{-9}}{6 \cdot 10^{-7}} = 0,013.$$

Таким образом, мы получили ответ на первый вопрос: результаты измерений потоков меченых ионов вполне согласуются с выводами, основанными на измерениях электрических потенциалов, а именно с представлением о том, что в покое клеточная мембрана гораздо более проницаема (в отношении 75 : 1) для калия, чем для натрия.

Отношение b мало, но им нельзя пренебречь. Если бы b равнялось нулю, потенциал покоя был бы выше измеренной величины на 12 мв ($E_{\text{K}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K]_o}{[K]_i} = -102$ мв вместо -90 мв¹) и ионы калия в клетке и в наружной среде находились бы в равновесии между собой. В действительности потенциал покоя не достигает уровня калиевого равновесия, и в экспериментах на изолированных мышечных волокнах наблюдалось небольшое, но постоянное снижение количества калия в клетке. Если принять, что в покоящейся мышечной ткани ионы хлора находятся в равновесии (т. е. $[Cl]_o/[Cl]_i = e^{EF/RT}$ [31, 121]), то наблюдаемый потенциал покоя E совпадает с величиной, вычисленной из данных табл. 3 по следующей формуле [121]:

$$\begin{aligned} E &= \frac{RT}{F} \ln \frac{[K]_o + b [Na]_o}{[K]_i + b [Na]_i} = \\ &= 58 \text{ мв} \cdot \lg \frac{2,5 + 0,013 \cdot 120}{140 + 0,013 \cdot 9,2} = -89 \text{ мв}, \end{aligned} \quad (6)$$

¹ Обычно принято измерять мембранный потенциал как разность между внутренним и наружным потенциалами. Поэтому E_{K} в норме имеет знак минус.

Иногда возникает неясность при употреблении понятий «потенциал покоя» и «потенциал действия», которые обычно относятся к измеряемым амплитудам независимо от их электрического знака. Так, например, если говорят, что потенциал покоя «ниже» уровня калиевого равновесия, то это просто означает, что величина -90 мв по абсолютной величине меньше величины -102 мв. Что касается относительных уровней потенциала, то потенциал покоящейся мембраны, конечно, на 12 мв менее отрицателен, т. е. «выше», чем E_{K} .

что хорошо согласуется с наблюдаемой величиной —90 мв.

И наоборот, если отношение проницаемостей b выводят из наблюдаемой величины E и уравнения (6), то b оказывается в хорошем согласии с величиной, найденной по измерениям потоков меченых ионов. При этой малой величине b уравнение (6) согласуется также с тем фактом, известным со времени экспериментов Бернштейна и изученным количественно Р. Эдрианом [4], что потенциал покоя можно очень значительно уменьшить, повысив наружную концентрацию калия, тогда как при повышении наружной концентрации натрия он заметным образом не снижается.

До сих пор наш теоретический анализ электрофизиологических и изотопных данных о мышечных волокнах оказывался успешным и давал взаимно согласующиеся результаты. Тем не менее есть основание думать, что положенное в его основу представление о независимости миграции ионов Na и K через мембрану является слишком упрощенным. Оно приложимо не ко всем тканям, и возможно, что даже в мышечных волокнах передвижение Na и K в значительной части осуществляется с помощью более сложных механизмов, в которых перенос или обмен ионов через мембрану не протекает независимо, а основан на специфическом взаимном сопряжении.

Как уже говорилось, возникли бы явные противоречия, если бы мы попытались применить нашу формулу для проницаемости к процессу выведения натрия. В этом случае для « P_{Na} » мы имели бы

$$\frac{\text{Количество выведенного Na}}{[Na]_i \cdot 0,102} \approx$$

$$\approx \frac{3,5 \cdot 10^{-12} \text{ моль/см}^2/\text{сек}}{(9,2 \cdot 10^{-6} \text{ моль/см}^3) \cdot 0,102} \approx 3,7 \cdot 10^{-6} \text{ см/сек.}$$

Таким образом, мы получили бы парадоксальный результат: оказалось бы, что проницаемость для натрия в направлении изнутри наружу почти в 500 раз больше, чем в направлении снаружи внутрь. Такой результат просто показывает, что предположение о независимой миграции

ионов при наличии электрических и концентрационных градиентов неприменимо к выведению натрия, который передвигается против обоих градиентов. Либо ионы натрия активно выводятся из клетки, так что этот процесс уравнивает их просачивание внутрь, либо потоки натрия ни в том, ни в другом направлении не подчиняются закону независимого передвижения ионов, а тесно сопряжены между собой в процессе так называемой «обменной диффузии». Эти возможности не исключают друг друга, но в настоящее время данные в пользу второго механизма довольно скудны и менее убедительны, чем данные о существовании «насоса», активно выводящего натрий.

Проводя исследования на аксонах головоногих, Ходжкин и Кейнс нашли, что даже результаты измерения потоков калия не согласуются с теорией независимой миграции ионов. Оказалось, что поглощение калия частично зависит от метаболизма клетки и тесно сопряжено с активным выведением натрия, а остальная часть потока калия пассивна и непосредственно связана с электрическим потенциалом и градиентом концентрации этого иона. Но были получены некоторые указания на конкуренцию между противоположно направленными потоками, как если бы ионы калия передвигались «гуськом» через узкие каналы (или последовательно вдоль цепи из нескольких реактивных участков).

Предположим, что каналы в мембране несколько шире самих гидратированных ионов калия и по длине канала помещаются три или четыре иона. Если меченый ион в результате случайного столкновения попадет в канал с наружной стороны, то эта цепочка ионов сместится и один ион, вероятно, выйдет в цитоплазму. В результате число ионов внутри клетки увеличится на единицу за счет внешних ионов, но меченый ион не перейдет внутрь. Если в результате следующего столкновения какой-то ион случайно войдет в канал изнутри, то меченый ион может быть вытолкнут и вернется в наружную среду; таким образом, его шансы на три или четыре последовательных продвижения по направлению внутрь невелики. Однако вероятность его проникновения в клетку сильно возрастет, если будет приложено добавочное электрическое поле, помогающее каждому продвижению внутрь и

противодействующее обратному перемещению. В такого рода системе наблюдается явное расхождение между калиевой проводимостью, измеренной электрическим методом, и диффузионным потоком меченых ионов. Проводимость оказывается в 3—4 раза выше, чем можно было бы предсказать на основании потока радиоактивного индикатора в случае независимого передвижения отдельных ионов через мембрану [136].

Мембранная теория вызвала немало возражений, основанных на химических, в частности изотопных, данных о кинетике ионных потоков. Изменения их во времени обычно не соответствуют простой экспоненциальной кривой, которой можно было бы ожидать исходя из гипотезы о «двух отсеках» (наружный раствор и внутренность клетки, разделенные мембраной). Чтобы объяснить отклонения от кинетики первого порядка, было высказано предположение, что совокупность внутриклеточных ионов разделена на две или несколько фракций, или клеточных «отсеков», с различной степенью «обмениваемости». Следует признать, что представление о двух простых отсеках — клеточном и внеклеточном, — разделенных малопроницаемой мембраной, слишком упрощенно и во многих случаях фактически не соответствует действительности. Например, наличие сопровождающей ткани (слоя шванновских клеток вокруг гигантского аксона и т. п.) и окруженных мембранами внутриклеточных структур (митохондрий, ядер, эндоплазматического ретикулума) должно существенно усложнять дело даже при работе с одиночным нервным или мышечным волокном. При использовании цельной ткани, например мышцы, состоящей из многих сотен волокон разной толщины, возникают добавочные усложнения, так как может оказаться, что мы имеем дело с неоднородной популяцией клеток, у которых время достижения равновесия весьма различно. Все, что в настоящее время можно сказать, — это то, что убедительно интерпретировать данные о кинетике ионных потоков удавалось только в редких случаях и что отклонения от кинетики первого порядка не являются неожиданными и сами по себе не противоречат обрисованным выше представлениям о роли мембраны.

Натриевый насос

Пожалуй, самым важным результатом изотопных экспериментов на покоящихся нервных клетках явился тот установленный Ходжкином и Кейнсом [135] факт, что переход натрия из цитоплазмы в наружный раствор против электрохимического градиента можно обратимо «выключить» с помощью ингибиторов обмена веществ (динитрофенола, азида, цианида). После этого процесс перекачивания ионов можно снова «включить», введя в клетку специфические субстраты, служащие источником энергии, — аденозинтрифосфат (АТФ) и аргининфосфат [23]. Эти наблюдения были сделаны на изолированных аксонах головоногих; в отношении мышц такой ясности нет, и вопрос о значении метаболизма покоя для откачивания натрия из мышечных волокон все еще остается спорным. Линг [189] отрицает такую связь, тогда как Штейнбах [228], Десмедт [54], Кейнс и Майзель [174], Конвэй с сотр. [32] и Ди и Кернан [38] получили данные в пользу ее существования.

Несомненно, что в нервном волокне выведение натрия контролируется какой-то метаболической реакцией, в которой важную роль играет расщепление АТФ, в результате чего выделяется большое количество энергии. Еще один факт, открытие которого имело большое значение, состоит в том, что ингибиторы влияют только на выведение (меченых) ионов натрия; поглощение их, связанное с перемещением их вниз по градиенту и не требующее затраты энергии, при действии ингибиторов не изменяется или почти не изменяется.

Это дает общий ответ на наш вопрос относительно поддержания ионного состава (стр. 74). Стационарное состояние покоящейся клетки и ее большие градиенты электрохимического потенциала поддерживаются за счет непрерывно идущего «основного обмена». Он доставляет свободную энергию, которая каким-то неизвестным образом используется для выведения ионов натрия из клетки с такой же скоростью, с какой они могут входить внутрь через малопроницаемую для них клеточную мембрану.

Детальный механизм натриевого насоса еще далеко не ясен. Был поставлен ряд интересных вопросов, на которые мы имеем пока лишь неполные ответы.

Первый вопрос состоит в следующем: действует ли насос как непосредственный источник тока, отделяющий натрий от других ионов и переносящий положительные заряды наружу? Тогда он представлял бы собой «топливный элемент», в котором химическая реакция непосредственно создает э. д. с. между двумя сторонами клеточной мембраны и заставляет также и другие диффундирующие ионы (например, калий и хлор) распределяться между наружной и внутренней средами в соответствии с их электрическими зарядами и перемещаться до тех пор, пока их концентрация не придет в равновесие с э. д. с. Стационарное состояние такой системы сохранялось бы все время, пока клетка поддерживает внутреннюю концентрацию своих недиффундирующих анионов и активно выводит натрий.

Но секреция натрия могла бы быть и электронейтральным процессом. Так обстояло бы дело, если бы выведение иона Na обязательно сопровождалось выведением какого-то аниона или если бы насос действовал как ионообменник, в котором переход каждого иона Na изнутри наружу сопряжен с переходом внутрь иона K . В этом случае возникновение разности потенциалов было бы косвенным следствием — результатом накопления калия внутри клетки и дифференциальной проницаемости мембраны для ионов натрия и калия (стр. 77).

В настоящее время имеются различного рода данные, часть которых говорит в пользу насоса, непосредственно создающего потенциал, а часть — в пользу «концентрационного» насоса. Вполне возможно, что мы имеем здесь дело не с исключаяющими друг друга процессами, а с механизмом, обладающим некоторыми особенностями насосов того и другого типа.

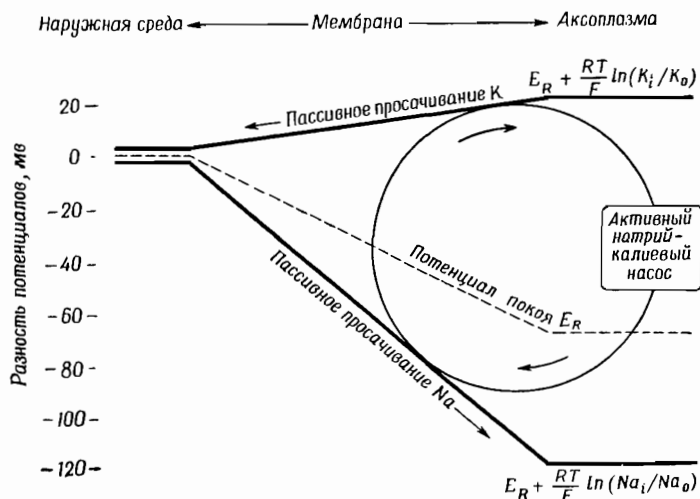
Коннели [28] в экспериментах на нервах лягушки установил, что при определенных условиях, когда натрий особенно интенсивно перемещается против градиента, мембранный потенциал, по-видимому, поднимается значительно выше уровня калиевого равновесия. Эти наблюдения трудно объяснить, если не предположить, что вы-

ведение натрия может непосредственно создавать э. д. с. у поверхности волокна.

Вместе с тем Ходжкин и Кейнс в экспериментах на аксонах головоногих показали, что выведение натрия можно практически остановить с помощью ингибиторов обмена и это не приводит тотчас же к изменению потенциала покоя. Начинаящееся медленное прогрессирующее уменьшение э. д. с. является просто результатом постепенного перемешивания Na и K, которому теперь ничто не противодействует и которое ведет к медленному сглаживанию градиентов ионных концентраций. Очевидно, что работа натриевого насоса не играет или почти не играет прямой роли в создании э. д. с. покоя в этих нервах. Кроме того, оказалось, что скорость выведения натрия не изменяется при повышении потенциала покоя на 40 мв. Однако она обнаруживает тесную корреляцию с содержанием ионов Na внутри клетки. По-видимому, активность насоса автоматически регулируется любым отклонением внутренней концентрации натрия от того низкого уровня, который она должна поддерживать.

Гипотеза о специфическом натрий-калиевом насосе получила веское подкрепление, когда было обнаружено, что те же самые метаболические яды, которые подавляют выведение натрия, замедляют также и перемещение ионов калия *внутрь* клетки (но не из клетки наружу). Кроме того, Ходжкин и Кейнс [135] показали, что при удалении из наружной среды ионов калия активное выведение натрия в значительной степени тормозится. Естественный вывод из этих экспериментов состоит в том, что как накопление калия в клетке, так и выведение натрия в значительной степени осуществляет единый сопряженный транспортный механизм (фиг. 15). Молекулярные силы, при помощи которых специфические процессы секреции ионов сопрягаются с какой-то метаболической реакцией (связанной, вероятно, с расщеплением АТФ), нам еще не известны. Интересным первым шагом к решению этой проблемы явилось открытие того, что мембраны гемолизированных и «реконструированных» эритроцитов («теней» эритроцитов) содержат фермент, гидролизующий АТФ и обладающий некоторыми из тех характерных «направленных» свойств, которые можно было бы приписать агенту,

ответственному за активный перенос ионов. Эта АТФ-аза не только находится у поверхности клетки, но и активируется, как выяснилось, наружным калием и внутренним натрием [97]. Кроме того, ее действие тормозят низкие

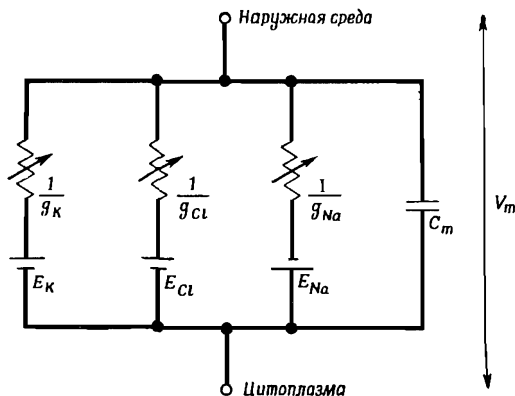


фиг. 15. Электрохимические градиенты и ионные насосы, действующие в противоположных направлениях. Электрохимические разности потенциалов заставляют калий просачиваться через клеточную мембрану наружу, а натрий — внутрь. Распределение ионов поддерживается активным секреторным процессом, требующим непрерывного притока энергии. (Замечание: пунктиром показан трансмембранный градиент электрического потенциала.)

концентрации сердечных гликозидов (например, убаина или дигитонина), известных как мощные ингибиторы активного переноса Na и K в нерве и мышце [60, 213] (см. также [222, 226, 249]).

Подводя итоги, мы можем сказать, что стационарное состояние аксона, т. е. неравное распределение ионов и поддержание разности потенциалов по обе стороны мембраны, требует расходования метаболической энергии для выведения натрия, просачивающегося в клетку, и одновременного накопления калия в цитоплазме. Первичным результатом этого процесса оказывается создание и под-

держание больших трансмембранных градиентов ионных концентраций. Поддержание потенциала покоя является уже вторичным следствием; оно обусловлено тем, что в покое мембрана аксона обладает гораздо более высокой проводимостью для калия (а в случае мышечного волокна — как для калия, так и для хлора), чем для натрия.



фиг. 16. Эквивалентная электрическая схема мембраны нервной или мышечной клетки. (Из [121], видоизменено.) $E_K = (-70) - (-100)$ мв (с отрицательным полюсом внутри); $E_{Na} = (+50) - (+65)$ мв; $E_{Cl} = (-45) - (-90)$ мв.

Ионные проводимости мембраны могут быть представлены с помощью эквивалентной электрической схемы, изображенной на фиг. 16. Такого рода представление оказалось очень полезным при объяснении не только происхождения мембранного потенциала покоя, но и весьма многообразных электрических изменений, происходящих во время возбуждения нервного или мышечного волокна и при действии возбуждательных или тормозных передатчиков в синапсах.

Следует отметить, что работа натриевого насоса (и его возможная *прямая* роль в создании мембранного потенциала) на схеме фиг. 16 не представлена (см. фиг. 15). Здесь отображены только пути пассивной диффузии ионов,

которые, согласно современным данным, играют доминирующую роль в определении уровня мембранного потенциала и его быстрых изменений.

Потенциал ионного равновесия, ионная проводимость и мембранный потенциал

На фиг. 16 детально представлен одиночный мембранный элемент кабельной структуры, изображенной на фиг. 11. На схеме показаны три отдельных проводящих канала, соответствующих трем преобладающим неорганическим ионам. Здесь можно видеть, что мембрана обладает некоторым сопротивлением утечки для каждого из них; эти сопротивления подвержены независимым физиологическим изменениям (см. ниже). Каждому каналу свойственна характерная для него э. д. с., которую называют *равновесным потенциалом* для данного иона. Эта э. д. с. соответствует той трансмембранной разности электрических потенциалов, которая в точности уравнивает стремление иона диффундировать по градиенту его концентраций (или, вернее, его химической активности). Таким образом, для положительных ионов, например Na и K, эта электрическая полярность противоположна разности концентраций. Для хлора же электрическая полярность и концентрационный градиент имеют одинаковое направление. Величина э. д. с. определяется уравнением Нернста, т. е., например, $E_{Na} = \frac{RT}{F} \ln ([Na]_o / [Na]_i)$. (За нулевой потенциал, т. е. за уровень отсчета, принимают потенциал наружной жидкости; внутренность покоящейся клетки имеет *отрицательный* потенциал, так как трансмембранную разность потенциалов в покое определяют как $V_i - V_o$)¹

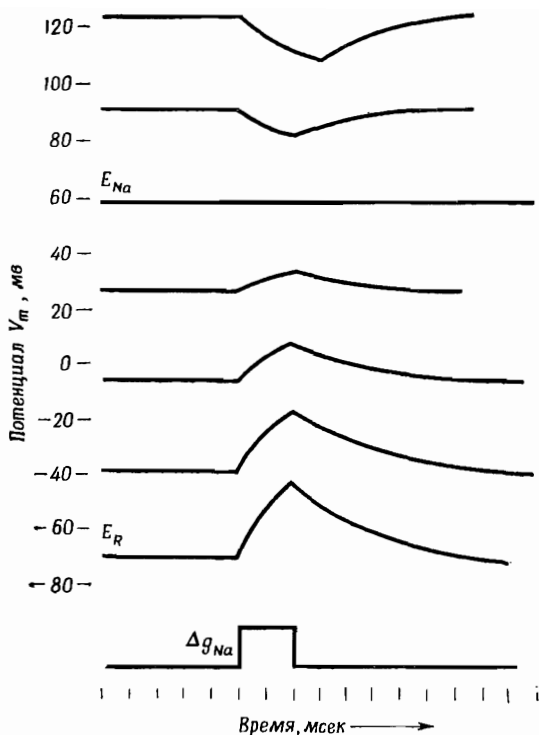
Действительная величина трансмембранной разности потенциалов (при отсутствии приложенной э. д. с. или

¹ Если не иметь постоянно в виду этих условных правил, может возникнуть путаница в терминологии; например, следует помнить, что при повышении *внутреннего потенциала* (который становится при этом менее отрицательным) разность потенциалов *между двумя сторонами мембраны* уменьшается, и тогда говорят, что мембрана деполяризована.

«электрического насоса») должна лежать где-то между крайними значениями, определяемыми равновесными потенциалами для натрия и калия. Если одна из ионных проводимостей преобладает, мембранный потенциал приближается к э. д. с. соответствующего канала.

Представим себе, что в результате какого-то химического воздействия или иного нарушения проводимость одного канала (например, натриевого) временно возрастает на величину Δg_{Na} . Это ведет к появлению добавочного тока $(E_{\text{Na}} - V_m) \Delta g_{\text{Na}}$, который изменяет заряд на мембранной емкости и смещает V_m в сторону E_{Na} (первоначальная величина dV/dt равна $(E_{\text{Na}} - V_m) \cdot \Delta g_{\text{Na}} / C$). Очевидно, что знание равновесных потенциалов весьма важно для выяснения природы кратковременных изменений проницаемости. Если искусственно смещать V_m на различные величины, пропуская, например, через мембрану постоянные токи разной силы, то найдется некоторая нулевая точка, при переходе за которую знак добавочного тока и изменения потенциала изменится на обратный (фиг. 17). В нашем примере эта точка инверсии будет достигнута при $V_m = E_{\text{Na}}$; этот простой «метод нулевой точки» позволяет установить, открываются ли те или иные ионные «ворота» при данной физиологической реакции.

В мышце нормальный потенциал покоя очень близок к E_{Cl} , быть может, идентичен этой величине [121]; это позволяет предполагать, что ионы хлора перераспределяются пассивно до тех пор, пока их концентрационный градиент не придет в равновесие с градиентом потенциала. Ионы калия находятся в почти полном, но все же не полном равновесии: наблюдаемая разность потенциалов несколько ниже того уровня, при котором исключалась бы утечка ионов калия в направлении их концентрационного градиента. Ионы натрия находятся очень далеко от электрохимического равновесия. Все это ведет к тому, что в представленной на фиг. 16 системе течет постоянный ток, идущий изнутри наружу через калиевый канал (ионы K выходят из клетки) и снаружи внутрь через натриевый канал (ионы Na входят в клетку), причем эти два ионных тока равны по силе и противоположны по направлению. Потенциал покоя значительно ближе к E_{K} , чем к E_{Na} ;



фиг. 17. Изменение потенциала V_m модели мембраны (см. фиг. 16), вызываемое кратковременным, фиксированным по величине повышением проницаемости для натрия (Δg_{Na}). E_R — потенциал покоя; E_{Na} — уровень натриевого равновесия. Первоначальные уровни V_m были установлены путем пропускания через мембрану постоянных направленных наружу токов различной силы. (Необходимо иметь в виду, что при построении этих кривых для простоты предполагалось, что после смещения мембранного потенциала не происходит никаких изменений в ионной проницаемости, кроме Δg_{Na} . В отношении большинства нервных и мышечных клеток это предположение неверно; действительный эффект более сложен, так как деполяризация ведет к дальнейшим изменениям проницаемости и к возникновению потенциалов действия.)

это обусловлено тем, что проницаемость и ионная проводимость для натрия ниже, чем для калия. Для поддержания системы в стационарном состоянии натриевая и калиевая «батареи» (в зависимости от разностей концентраций этих ионов) должны «подзаряжаться». Это и делает непрерывно ионный насос, описанный на стр. 82 (на фиг. 16 он не представлен), который в свою очередь получает энергию от обмена органических фосфатов. Таким образом, здесь сопряжены два процесса — непрерывное расходование метаболической энергии и пополнение за ее счет ионного резервуара. Последний представляет собой готовый к использованию запас электрохимической энергии, способный питать нервную клетку в периоды интенсивной передачи сигналов.

Схема на фиг. 16 формально указывает на то, что быстрые изменения мембранного потенциала, происходящие, например, под влиянием импульса или синаптической активации, вызываются изменениями в ионной проводимости, а не в ионной э. д. с. Последняя зависит от внутренних и наружных концентраций ионов, которые при физиологических условиях могут изменяться лишь очень медленно. Нужно заметить, однако, что это упрощенная схема. Ею можно воспользоваться для объяснения быстрых электрических изменений, но она не обязательно приложима к медленным, кумулятивным изменениям потенциала во время длинных залпов импульсов (потенциалам последействия). Вполне возможно, что такие сдвиги зависят от постепенного изменения содержания ионов в клетке (особенно в волокнах небольшого диаметра с малым отношением объема к поверхности) или в ее ближайшем окружении (особенно при наличии «узких мест» для диффузии между ближним к клетке слоем и основным объемом наружной среды, например при наличии соединительнотканых прослоек, шванновских клеток и т. п.). Такие случаи подробно рассматривали Франкенгейзер и Ходжкин [89] и Ритчи и Штрауб [215].

Схема фиг. 16 очень просто объясняет еще один важный момент, приводящий иногда к недоразумению. При изучении «синаптических потенциалов» часто сталкиваются с тем, что активность большого числа отдельных нервных окончаний или даже еще более мелких пресинаптических

«единиц» вызывает в эффекторной клетке (например, двигательном нейроне или мышечной концевой пластинке) небольшие однотипные изменения потенциала (см. стр. 159). В известных пределах все эти малые сдвиги потенциала *аддитивны*, хотя они и возникают *параллельно* во многих близко расположенных участках одной и той же постсинаптической мембраны клетки. Разумеется, дело здесь в том, что каждое из этих отдельных изменений потенциала является результатом небольшого повышения мембранной проводимости и что такие изменения параллельных проводимостей аддитивны и приводят к появлению добавочного ионного тока.

Ионная проницаемость и ионная проводимость

Понятия «ионная проводимость» и «ионная проницаемость» часто употребляют как однозначные, но в действительности это не одно и то же, хотя проницаемость, как мы определили ее на стр. 76, имеет ту же размерность, что и проводимость (*см/сек*). Правда, эти два свойства тесно связаны между собой, и на практике быстрые изменения одного из них обычно сопровождаются такими же изменениями другого. Согласно теории «постоянного поля» Голдмэна [98] и Ходжкина и Катца [133], зависимость между проницаемостью для калия P_K и мембранной проводимостью g_K ($\text{ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$) для очень слабого калиевого тока определяется соотношением

$$g_K = \frac{P_K F^3 E [K]_o}{R^2 T^2 (1 - e^{-EF/RT})},$$

где E — трансмембранная разность потенциалов и $[K]_o$ — наружная концентрация калия. Калиевая проводимость — это не просто константа: она зависит не только от проницаемости для калия P_K , но и от числа и распределения ионов калия с обеих сторон и внутри мембраны. Физическое различие между проводимостью и проницаемостью станет ясным, если мы представим себе мысленный эксперимент с каким-то посторонним анионом A^- , который в обычных условиях отсутствует и поэтому не вносит ника-

кого вклада в нормальную мембранную проводимость, но для которого мембрана обладает очень высокой проницаемостью ($P_A \gg P_K, P_{Cl}$). Если бы мы заменили этим анионом наружный хлор, то проводимость мембраны стала бы значительно выше, хотя в проницаемости ее никаких изменений не произошло бы.

Возникновение импульса

Два фактора, играющие роль в проведении импульса: кабельная проводимость и возбуждение

Нервные и мышечные волокна представляют собой цилиндрические проводники, окруженные поверхностными мембранами, изолирующими их от наружного раствора электролитов. Это придает волокнам свойства, аналогичные свойствам морского подводного кабеля. Характеристические константы кабеля были приведены в табл. 1.

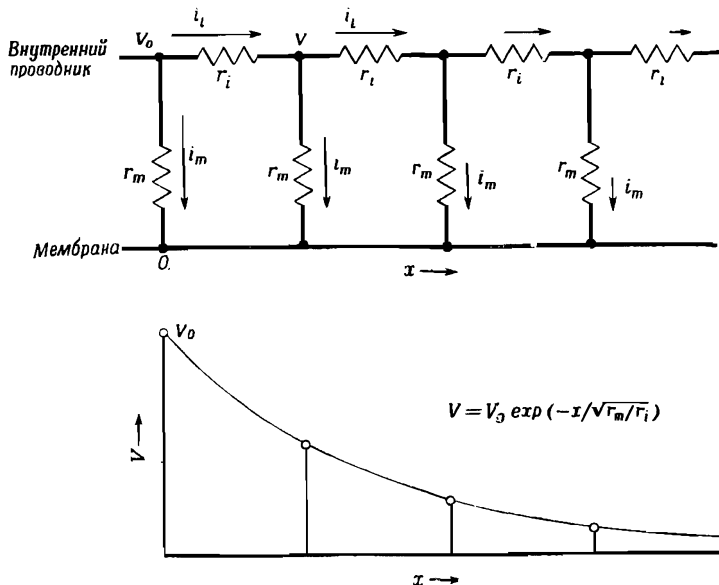
В настоящее время ясно, что в количественном отношении эта аналогия не заходит очень далеко. Электропроводность аксоплазмы — тонкой нити из электролитного геля — во много миллионов раз меньше электропроводности металлической жилы дальнего морского кабеля; гораздо хуже и изолирующие свойства оболочки аксона, толщина которой измеряется миллимикронами, а не миллиметрами, как у кабеля. Это приводит к тому, что короткий подпороговый сигнал не может пройти вдоль волокна больше 1—2 мм, не подвергаясь резкому искажению и ослаблению из-за утечки тока через емкость и сопротивление поверхностной мембраны и из-за рассеяния энергии в аксоплазме.

Это легче будет понять, если мы рассмотрим потери, вызываемые сопротивлением аксоплазмы и утечкой тока через мембрану (фиг. 18). В случае аксона, погруженного в большой объем проводящей жидкости, наружным сопротивлением можно пренебречь и наружный потенциал считать постоянным. Внутреннее сопротивление на единицу длины обозначим r_i (ом/см), а проводимость мембраны на единицу длины — $1/r_m$ (ом⁻¹/см). Предположим, что в одной точке аксона приложен сигнал с амплитудой V_0 (трансмембранная разность потенциалов). Его распро-

странение вдоль по аксону зависит от силы продольного тока i_l в аксоплазме:

$$i_l = -\frac{1}{r_l} \frac{dV}{dx} \quad (7)$$

[ср. уравнение (2)].



Фиг. 18. Распространение потенциала и тока вдоль кабеля, обладающего сопротивлением. Объяснение см. в тексте.

С увеличением расстояния x продольный ток уменьшается из-за утечки в наружную среду через проводимость мембраны. Эта часть составляет мембранный ток i_m . Отсюда

$$-\frac{di_l}{dx} = i_m = \frac{V}{r_m}. \quad (8)$$

Из уравнений (7) и (8) получаем

$$\frac{r_m}{r_l} \frac{d^2V}{dx^2} = V.$$

Общее решение этого дифференциального уравнения имеет вид

$$V = A \exp\left(\frac{-x}{\sqrt{r_m/r_i}}\right) + B \exp\left(\frac{+x}{\sqrt{r_m/r_i}}\right).$$

Но $V = 0$ при $x = \infty$; следовательно, $B = 0$. Учтя, что $V = V_0$ при $x = 0$, получаем частное решение

$$V = V_0 \exp\left(\frac{-x}{\sqrt{r_m/r_i}}\right).$$

Таким образом, электрический сигнал экспоненциально затухает с увеличением расстояния x , ослабляясь до $1/e$ при $x = \sqrt{r_m/r_i}$ (эта величина называется *константой длины*). Как и следовало ожидать, чем выше сопротивление мембраны и чем ниже сопротивление аксоплазмы, тем дальше распространяется сигнал. Величины r_m и r_i находятся в обратном отношении к диаметру волокна. Их зависимость от удельных сопротивлений 1 см^2 мембраны (R_m) и 1 см^3 аксоплазмы (R_i) выражается следующим образом:

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi\rho},$$

$$r_i = \frac{R_i}{\pi\rho^2},$$

где ρ — радиус волокна. Следовательно, константа длины равна $\sqrt{r_m/r_i}$, т. е. она пропорциональна корню квадратному из толщины волокна. Например, у *безмякотного* аксона диаметром 30 мк с $R_m = 5000 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$ и $R_i = 50 \text{ ом} \cdot \text{см}$ константа длины равна $2,7 \text{ мм}$. В случае коротких импульсов ослабление сигнала оказывается гораздо более значительным, так как большая часть тока отводится через емкость мембраны.

Несмотря на все эти невыгодные обстоятельства, непрерывная кабельная связь между соседними участками волокна является необходимым фактором в процессе передачи электрических изменений от одной точки к другой. Предположение об этом впервые возникло в связи с теорией местных цепей Германа и было экспериментально

подтверждено Ходжкином [117] (см. также [188, 192, 195, 234, 235]).

Более того, можно с полным правом сказать, что кабельные свойства нейрона служат физической основой всех интегративных процессов в синапсах центральной нервной системы. Например, пространственная суммация (или вычитание) синаптических эффектов, взаимодействующих в эффекторной клетке, основана на распространении подпороговых электрических сигналов по клеточной мембране. А поскольку синапсы тесно сгруппированы в пределах доли миллиметра (на теле нейрона), местная интеграция таких сигналов может осуществляться за счет подпороговых кабельных свойств мембраны. Совершенно иную проблему, однако, составляет анализ механизма, благодаря которому импульсы, приходящие к пресинаптическим окончаниям, способны возбуждать местные ответы на поверхности эффекторной клетки. Ибо две клетки разделены своими мембранами и узкой межклеточной щелью, и это отсутствие структурной непрерывности (позже мы рассмотрим этот вопрос подробнее), по-видимому, во многих случаях исключает всякую возможность кабельной связи между двумя нейронами. Кабельный механизм проведения, видимо, не участвует в передаче сигналов *через* большинство синапсов, хотя он несомненно служит основой *интеграции* местных сообщений, уже переданных на одну и ту же эффекторную клетку.

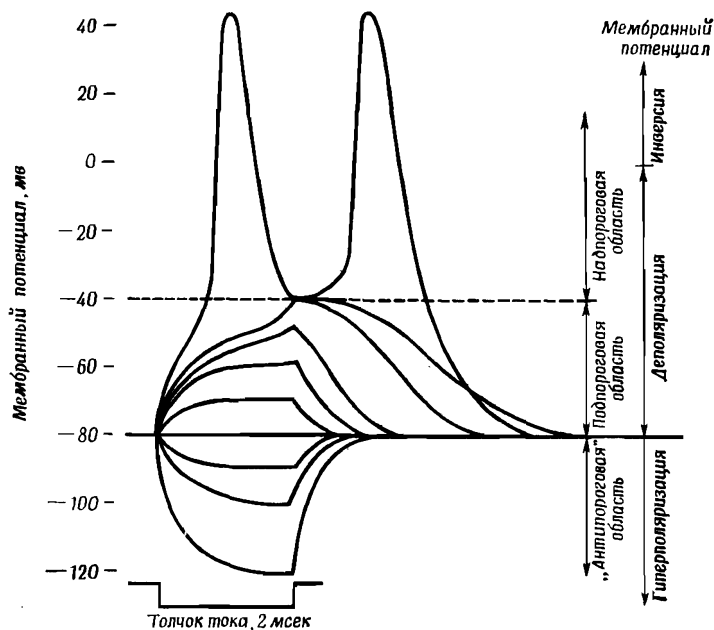
Возвращаясь к периферическому аксону или мышечному волокну, мы должны рассмотреть вопрос о том, каким образом клетка восполняет дефекты своих кабельных свойств и обеспечивает передачу сигналов на большие расстояния без их ослабления. Важный факт, подсказывающий решение этого вопроса, выяснился при изучении возбуждения импульса электрическим током. Методика этих экспериментов во многом сходна с показанной на фиг. 10. Когда через мембрану волокна пропускают в направлении внутрь кратковременный ток, происходит смещение мембранного потенциала. Поверхностная емкость заряжается до более высокой разности потенциалов, но после прекращения тока мембранный потенциал вновь быстро падает до исходного стационарного уровня. При обратном направлении тока мы получаем сходную картину

противоположной полярности, если только сила тока невелика. Но по мере того как трансмембранная разность потенциалов снижается от нормальной величины 70—90 мв примерно до 60 мв или немного ниже, наблюдаемый эффект изменяется. Смещение мембранного потенциала возрастает несоразмерно с силой приложенного тока, и после окончания раздражения первоначальный потенциал восстанавливается не сразу. При небольшом дальнейшем увеличении силы тока это явление становится гораздо более выраженным, и наконец при определенной силе тока мембранный потенциал — в отсутствие посторонних влияний — некоторое время сохраняет постоянную величину, а затем либо стремительно растет, переходя в распространяющийся импульс, либо просто возвращается к исходному уровню. Семейство кривых, показанное на фиг. 19, весьма характерно для локальных событий, ведущих к возникновению распространяющегося импульса во всех возбудимых тканях, и неоднократно отмечалось, что сходное поведение можно наблюдать у самых разнообразных неодушевленных физических и химических систем, содержащих компоненты, необходимые для регенеративной цепной реакции.

В возбудимой клетке снижение мембранного потенциала, если заставить его перейти определенную точку устойчивости (порог), ведет к автоматическому кратковременному усилению первоначального смещения (потенциалу действия). Но семейство кривых, сходное с фиг. 19, можно было бы получить и для взрывчатой газовой смеси (например, смеси водорода с кислородом), если графически отображать изменения температуры газа (вместо величины мембранного потенциала) в подходящей временной шкале. «Раздражителем» для нашей газовой смеси было бы подведение тепла (вместо электрического тока).

Рассмотрим сначала смещение системы «вниз», т. е. удаление ее от точки воспламенения. Для этого мы охлаждаем систему, отнимая у нее некоторое постоянное количество тепла в каждую единицу времени. Когда температура смеси опускается ниже уровня окружающей среды, тепло (при отсутствии совершенной термоизоляции) начинает переходить в нее из этой среды. Поэтому скорость охлаждения постепенно уменьшается, пока при некоторой более

низкой температуре не будет достигнуто равновесие (при этой температуре количество отнимаемого тепла равно количеству тепла, поступающего в систему из более теплой окружающей среды). Когда мы прекратим охлаждение,



Фиг. 19. Возникновение импульса в результате местной деполяризации.

При действии толчка тока фиксированной длительности (2 мсек), но различной силы и направления возникают изменения мембранного потенциала, представленные семейством кривых на этом графике.

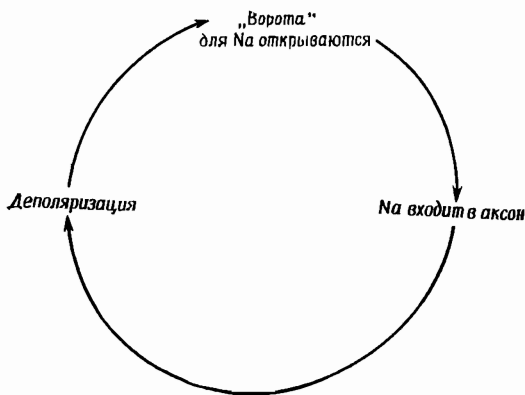
приток тепла будет продолжаться и температура газа постепенно возвратится к уровню окружающей среды.

Если же медленно *подводить* к газу тепло, температура газа будет подниматься выше окружающей температуры примерно с такой же скоростью, а после прекращения притока тепла возвратится к первоначальному уровню. Но по мере приближения к точке воспламенения смеси некоторые молекулы водорода и кислорода начнут реакци-

ровать между собой и создавать добавочное тепло, способствующее дальнейшему повышению температуры. В самой точке воспламенения будет достигнут уровень неустойчивого равновесия. Если мы в этот момент остановим приток тепла, газ будет продолжать «тлеть» и в течение какого-то неопределенного времени его спорадические молекулярные реакции будут доставлять ровно столько тепла, сколько его теряется в результате теплоотдачи, так что температура будет поддерживаться на опасном неустойчивом уровне выше температуры окружающей среды. Незначительное замедление химической реакции приведет к тому, что система вернется к температуре окружающей среды, а незначительное ускорение — к тому, что горение будет само себя усиливать и перейдет во взрыв, так что температура быстро возрастет до очень высокого максимума и снизится только тогда, когда смесь полностью выгорит. Легко видеть ограниченность этой грубой аналогии. Это «кинетическая модель», которая показывает, что семейство кривых типа тех, которые изображены на фиг. 19, с тремя различными областями («антипороговой», подпороговой и надпороговой), можно получить для любой взрывной реакции. Но она ничего не говорит о физико-химической природе возбуждения нерва, и если мы продолжим аналогию слишком далеко, она введет нас в заблуждение. Ясно, например, что после проведения импульса нервное волокно в отличие от газовой смеси остается в сохранности и готово к многократному повторению того же процесса с интервалами 1—2 м/сек.

Таким образом, остается неразрешенным вопрос: какова природа регенеративного процесса, в результате которого частичная деполяризация мембраны автоматически усиливается? Ответ был получен в серии экспериментов на гигантском аксоне кальмара [121], в которой было показано, что натриевая проводимость g_{Na} является функцией мембранного потенциала. При нормальном потенциале покоя величина g_{Na} очень мала, но при понижении потенциала она возрастает. Почему это происходит, мы еще не знаем, но этот факт имеет огромное значение, ибо в результате этого ионы натрия быстрее проникают внутрь аксона и, переноса через мембрану свой положи-

тельный заряд, способствуют еще большему снижению потенциала покоя (фиг. 20). А это в свою очередь приводит к увеличению проницаемости мембраны для натрия; таким образом, процесс может стать «взрывоподобным». Интересно отметить, что добавочный натриевый ток возни-



Фиг. 20. Схема возможного механизма взаимного усиления двух процессов — деполяризации мембраны и повышения ее проницаемости для натрия.

кает, несмотря на положительный сдвиг потенциала аксоплазмы, т. е. вопреки закону Ома. Иными словами, мембрана благодаря характерному для нее изменению проницаемости оказывает «отрицательное сопротивление» ионам натрия на определенном участке вольт-амперной характеристики.

Возвращаясь на момент к нашей аналогии со взрывчатым газом, мы видим, что *регенеративным* фактором в мембране аксона (соответствующим экзотермическому взаимодействию молекул газа) служит повышение натриевой проводимости. Восстанавливающим фактором (который соответствует потере тепла) служит проводимость каналов для калия и хлора, благодаря которой смещенный потенциал стремится вернуться к своему исходному уровню. «Точка воспламенения» системы (пороговый потенциал) достигается при условии, что после окончания толчка раздражающего тока скорость поступления натрия ока-

зывается достаточно высокой, чтобы скомпенсировать одновременное выделение калия и поглощение хлора и тем самым поддерживать деполяризацию в состоянии неустойчивого равновесия. Незначительное уменьшение натриевого тока приведет к затуханию активности волокна (т. е. местной, или подпороговой, реакции), а небольшое увеличение направленного внутрь потока натрия приведет к тому, что изменение потенциала и связанное с ним повышение натриевой проводимости будут быстро нарастать и смещать мембранный потенциал по направлению к уровню натриевого равновесия E_{Na} (фиг. 16 и 19). Таким образом, теоретически поступление натрия могло бы и дальше преобладать над всеми другими ионными потоками до тех пор, пока цитоплазма не приобретет достаточного положительного потенциала (примерно от $+50$ до $+60$ мв по отношению к наружной среде), чтобы уравновесить градиент химического потенциала ионов Na. Практически же во время потенциала действия этот уровень никогда не достигается полностью, так как, во-первых, «ворота» для натрия открываются лишь на короткий период и, во-вторых, после этого быстро следует увеличение калиевой проводимости, которое начинает сказываться вблизи пика потенциала действия и ускоряет возвращение системы к состоянию покоя.

Здесь мы лишь кратко подытожим те выводы, которые были сделаны на основании ряда поразительных экспериментов А. Л. Ходжкина, А. Ф. Хаксли и их сотрудников [126]. На ключевую роль ионов натрия во время электрического возбуждения впервые указали эксперименты Овертона [211], проведенные в начале нашего столетия; этот исследователь установил, что возбудимость мышцы находится в специфической зависимости от присутствия ионов натрия в среде, и даже высказал предположение, что источником электрических токов, генерируемых во время нервной и мышечной активности, мог бы служить взаимный обмен ионами Na и K через клеточную мембрану. Связь возбуждения с повышением проницаемости мембраны давно предвидел также Бернштейн, который представлял себе это как быстрый прорыв ионного барьера. Такой взгляд получил веское подкрепление в экспериментах Кола и Кертиса [26], показавших, что прохождение

нервного импульса сопровождается резким увеличением ионной проводимости. Когда были открыты медленно нарастающие подпороговые реакции и их постепенный переход в импульс [5, 49, 118, 151, 153, 219, 220], стало ясно, что здесь действует какой-то регенеративный фактор и что возбуждение мембраны, вероятно, связано с «отрицательным сопротивлением» для какого-то иона или сочетания ионов. Ходжкин и Хаксли [125] и Кол и Кертис [26] обнаружили, что потенциал действия представляет собой не волну *деполяризации* (что было основой гипотезы Бернштейна), а кратковременную *инверсию* потенциала покоя; это указывало на инверсию характерной избирательности мембраны для ионов (т. е. инверсию отношения P_{Na}/P_K). В связи с этим был проведен ряд тщательных исследований на нервных и мышечных волокнах различных типов [88, 126—128, 131—133, 171, 173, 210, 251].

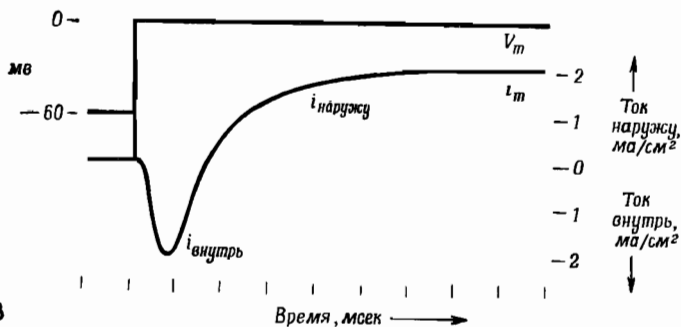
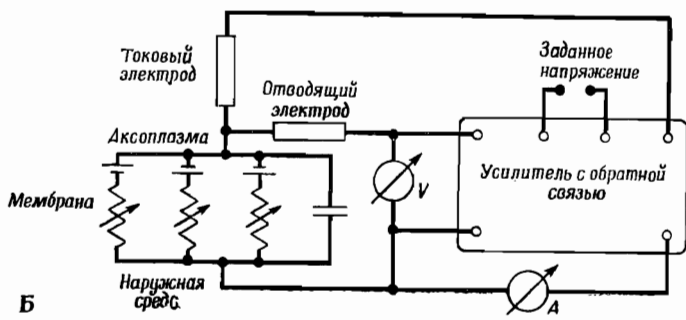
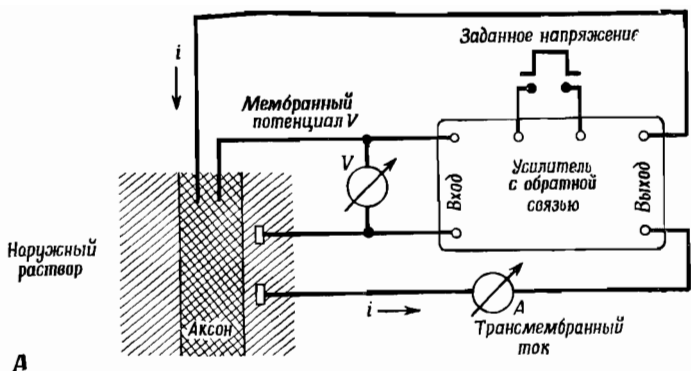
Во всех исследованных случаях после удаления из наружной среды натрия возбудимость быстро и необратимо исчезала. В отличие от потенциала покоя (для которого необходим калий, но не натрий) трансмембранная разность потенциалов на вершине потенциала действия и максимальная скорость его нарастания находятся в прямой зависимости от наружной концентрации натрия.

Ионная теория потенциала действия позволяет предсказать минимальное количество ионов натрия, которое должно войти внутрь аксона во время подъема волны возбуждения, и эквивалентное количество калия, которое должно в порядке обмена выйти наружу во время ее спада. Оно представляет собой просто электрохимический эквивалент числа кулон, необходимых для смещения мембранного потенциала с уровня покоя до вершины спайка и обратно, т. е. равно примерно $0,1 \text{ в} \cdot 1 \text{ мкф/см}^2 / \text{фарадей} = 10^{-12} \text{ моль/см}^2$. Это соответствует перенесенному положительному заряду в чистом виде; практически во время подъема волны возбуждения в аксон должно войти большее количество натрия, чтобы уравновесить возрастающий противоток ионов калия.

Эти предсказания были проверены в экспериментах с мечеными ионами [171, 173], в которых сравнивались ионные потоки в периоды покоя и продолжительной им-

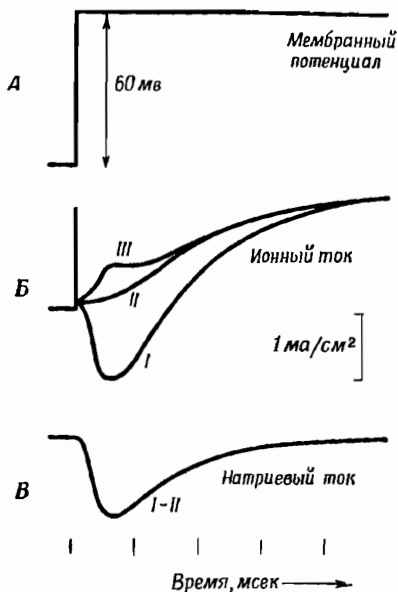
пульсной активности. Кроме того, для измерения сдвигов внутриклеточных концентраций натрия и калия был очень остроумно применен метод радиоактивационного анализа (изолированные нервные волокна после покоя или проведения большого числа импульсов подвергали бомбардировке нейтронами, а затем определяли содержание в них Na и K). Наконец, с помощью тонких стеклянных микроэлектродов, избирательных в отношении Na или K, Хинке [116] удалось наблюдать изменение внутриклеточной активности катионов после залпа импульсов. Эти различные методы дали очень сходные результаты, а именно показали, что за один импульс гигантский аксон поглощает от $3 \cdot 10^{-12}$ до $4 \cdot 10^{-12}$ моль натрия на 1 см^2 и теряет то же количество калия. Таким образом, общее количество натрия, входящее внутрь волокна, несомненно, более чем достаточно для создания электрического тока, необходимого для нервного сигнала.

Важные новые данные в пользу натриевой теории были получены в результате применения метода фиксации напряжения (фиг. 21) [25, 131]. Этот метод дает возможность подавлять автоматическое, взрывоподобное развитие потенциала действия и вызывать контролируемые изменения мембранного потенциала. С этой целью к двум электродам, находящимся с двух сторон мембраны, присоединяют усилитель с обратной связью, который автоматически посылает ток, необходимый для смещения мембранного потенциала и поддержания его на любом желаемом уровне. Например, мембрану можно внезапно полностью деполяризовать, т. е. вызвать падение трансмембранной разности потенциалов с нормального уровня покоя до нуля (фиг. 22). В возникающем при этом токе можно различать три отдельные фазы. Вначале наблюдается мгновенная волна тока, направленного наружу, которая обусловлена разрядкой мембранной емкости; за несколько микросекунд клетка теряет приблизительно $6 \cdot 10^{-8} \text{ к/см}^2$ электричества. В результате этого мембранная емкость оказывается полностью разряженной, и поэтому последующий ток должен быть приписан ионам, проходящим через каналы проводимости в мембране. Вторая фаза представляет собой волну тока, направленного *внутрь* (т. е. поглощения катионов аксоплазмой или выведения из нее анионов); его



Фиг. 21. Метод фиксации напряжения (схемы А и Б) и результаты измерений тока, протекающего через мембрану при смещенном потенциале (В).

максимальная величина достигает нескольких миллиампер на 1 см^2 . Следует заметить, что направление этого тока противоречит закону Ома (положительный ток идет внутрь аксона, хотя потенциал аксоплазмы поднялся с -60 мв до 0). Эта фаза также кратковременна, несмотря на поддерживаемую деполяризацию; за $1-2 \text{ мсек}$ она переходит в фазу длительного тока, направленного на-



Фиг. 22. Измерение трансмембранных ионных токов методом фиксации напряжения [121, 127]. Мембранный потенциал аксона кальмара внезапно смещают с уровня -60 мв до нуля (график А). Возникающий при этом ионный ток (график Б; ток, направленный наружу, представлен отклонением кривой вверх) регистрируют при трех различных условиях: I — аксон находится в морской воде; II — $\frac{9}{10}$ натрия в наружной среде заменено холином (что приблизительно уравнивает активность натрия с обеих сторон мембраны); III — наружный натрий полностью заменен холином. Кривая II показывает задержку нарастания калиевого тока. График В — разность между кривыми I и II, которая отражает величину натриевого тока, направленного наружу, и ход ее изменения во времени для аксона, находящегося в морской воде при $8,5^\circ \text{ С}$.

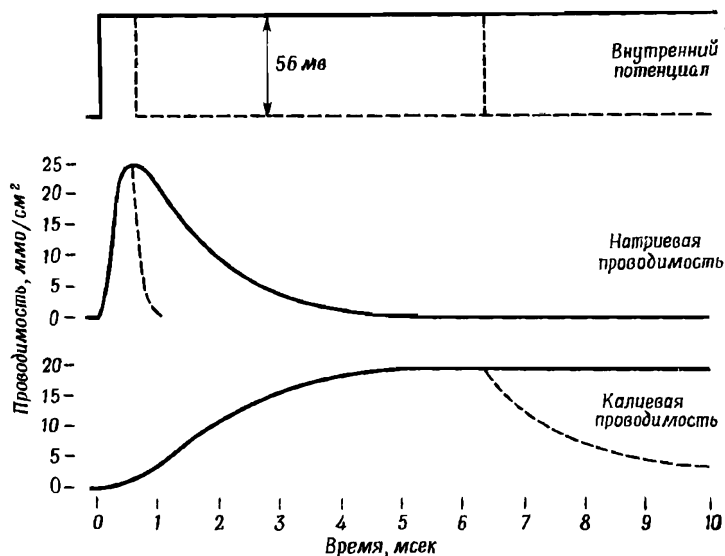
ружу, который течет до тех пор, пока поддерживается деполяризованное состояние мембраны (плотность этого тока составляет несколько миллиампер на 1 см^2). Направление его соответствует закону Ома, но плотность очень велика, что указывает на сильное падение сопротивления мембраны. Природу этой третьей фазы установили Ходжкин и Хаксли, которые с помощью изотопного метода показали, что длительный направленный наружу ток можно полностью объяснить электрохимически эквивалентным выходом ионов калия из аксоплазмы. Таким образом, длительным результатом деполяризации мембраны является, по-видимому, большое увеличение ее проницаемости для калия (хотя это и происходит с некоторым запаздыванием).

Природа кратковременного тока, направленного внутрь, была выяснена путем определения его нулевой точки, т. е. той разности потенциалов, при которой этот ток изменяет свое направление. Этот «равновесный уровень» был достигнут при $E = \frac{RT}{F} \ln \frac{Na_o}{Na_i}$. В обычных условиях E составляет около 50 мв (с положительным полюсом внутри), что недалеко от максимальной величины потенциала действия. Если наружную концентрацию натрия уменьшить, например, путем замены NaCl холинхлоридом или сахарозой, то нулевая точка этого тока понижается в соответствии с уравнением Нернста: она всегда следует за равновесным потенциалом для ионов натрия.

Таким образом, мы заключаем, что внезапно вызванная и поддерживаемая деполяризация приводит сначала к быстрому повышению натриевой проводимости, но это лишь кратковременный эффект, который уже через несколько миллисекунд сменяется повышенной калиевой проводимостью (фиг. 23).

Особый интерес представляет тот факт, что величины проницаемости для Na и K изменяются не одновременно: их изменения имеют различные временные характеристики и не совпадают по фазе. Даже в деполяризованном состоянии мембрана продолжает дифференцировать эти два вида ионов, но отношение проводимостей Na/K в этот период временно инвертируется. В нормальных условиях, когда не принимается никаких мер для фиксации напряжения,

первоначальное изменение (повышение натриевой проводимости) представляет собой регенеративный процесс, ведущий к самоусиливающемуся нарастанию потенциала действия. Последующие события (а именно «выключение», или «инактивация» механизма переноса натрия и переход



Фиг. 23. Изменения натриевой проводимости g_{Na} и калиевой проводимости g_{K} при деполяризации в 56 мВ [121].

Сплошные кривые (построенные на основании результатов, схематически представленных кривыми I и II на фиг. 22) отражают изменения при длительном сдвиге потенциала. Пунктирные кривые показывают эффект реполяризации мембраны в два различных момента времени, отмеченных пунктирными вертикальными линиями вверх.

к стадии резко повышенной калиевой проводимости) протекают как самозатухающий процесс. Они приводят к ускоренному выходу ионов калия из аксоплазмы. В результате внутренний потенциал быстро падает до первоначального уровня, а затем автоматически следует восстановление первоначальных ионных проводимостей. Таким образом, повышение калиевой проводимости — это про-

цесс с отрицательной обратной связью, который постепенно сам себя останавливает. Он приводит к быстрому окончанию цикла активности и восстановлению нормальной возбудимости аксона, так что аксон уже спустя 1—2 мсек готов к проведению нового импульса. Можно отметить, что существование рефрактерного периода (стр. 36) обусловлено кратковременным состоянием, при котором «ворота» для натрия закрыты, а для калия широко открыты. В этом состоянии мембранный потенциал автоматически сдвигается по направлению к точке E_K , лежащей на уровне покоя или даже ниже (т. е. с более отрицательной величиной внутри), с которой его трудно сместить, и регенеративный механизм оказывается временно выключенным. Но как только мембранный потенциал возвращается к своему основному уровню, рефрактерный период заканчивается.

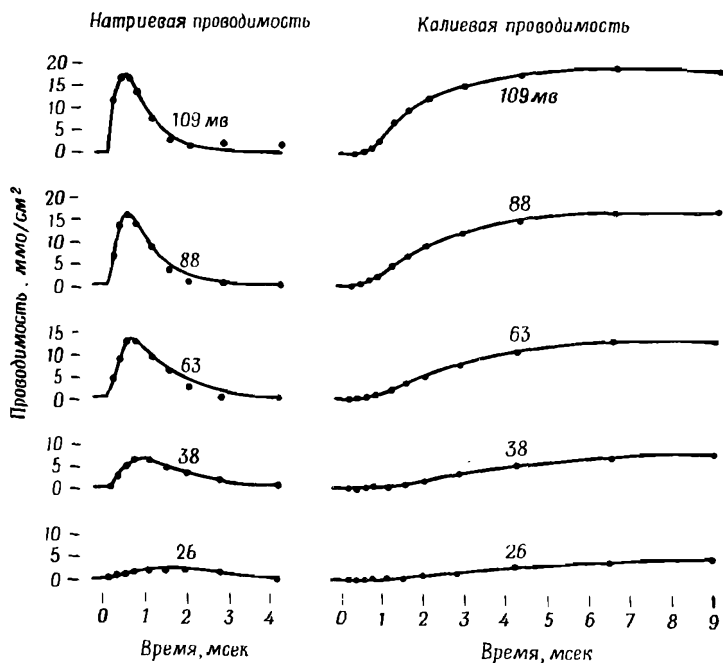
Количественная реконструкция потенциала действия и механизма его проведения

Одно важное достоинство метода фиксации напряжения заключается в том, что он дает возможность точно измерить изменения ионной проводимости, или проницаемости, при различных ступенчатых сдвигах мембранного потенциала. Был произведен полный комплекс измерений при различных степенях деполяризации, что позволило определить амплитуды токов Na и K и ход их изменений во времени на всем физиологическом диапазоне уровней потенциала; путем анализа были выделены три процесса: 1) повышение проницаемости для натрия, 2) снижение проницаемости для натрия (инактивация) и 3) повышение проницаемости для калия (фиг. 22—24). Из измерений, подобных представленным на фиг. 23 и 24, были вычислены константы скоростей для этих трех процессов и составлен ряд эмпирических уравнений, описывающих их зависимость от уровня мембранного потенциала.

На основе найденных количественных отношений можно было предсказать изменения мембранного потенциала, происходящие при нормальных условиях (без фиксации напряжения) в ответ на электрическое раздражение, и

оказалось, что эти предсказания поразительно точно согласуются с экспериментальными данными [128].

Например, поведение потенциала в области порога и выше, характеризуемое семейством кривых, изображенных на фиг. 19, точно описывается уравнениями ионной теории.



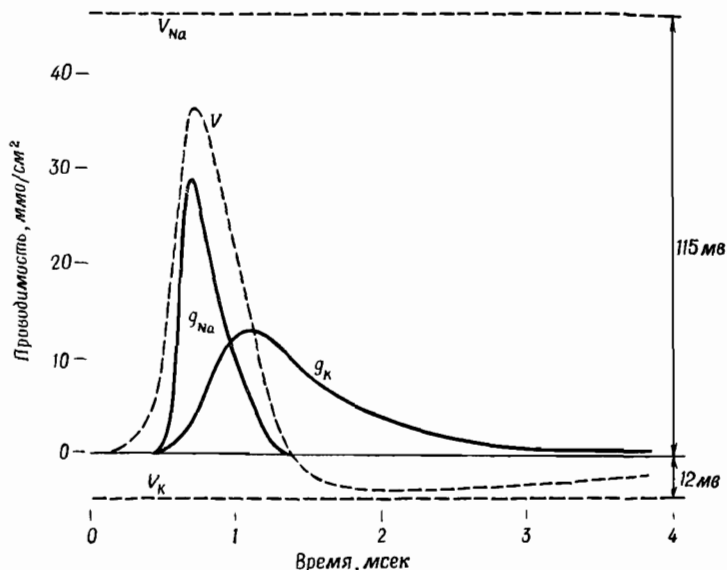
фиг. 24. Повышение натриевой и калиевой проводимости при пяти различных смещениях мембранного потенциала [121].

Величина внезапной деполяризации указана цифрой при каждой кривой. Наблюдения проводились при температуре 6° С.

В частности, с этой теорией количественно согласуются автоматическое развитие спайка типа «все или ничего» в надпороговой области и лежащие в его основе циклы изменений натриевой и калиевой проводимости.

Измерения при фиксации напряжения проводились на длинном цилиндрическом отрезке мембраны аксона в

условиях единообразного контроля напряжения по всей его длине. На основе полученных результатов можно было вычислить процесс распространения волны потенциала вдоль аксона. Путем «подведения» электрического



Фиг. 25. Теоретические кривые распространяющегося потенциала действия (кривая V) и изменений натриевой и калиевой проводимости, основанные на экспериментально найденных константах для $18,5^\circ \text{C}$ [30]. Вычисленная величина общего количества поглощенного аксоном натрия составляет $4,33 \cdot 10^{-12}$ моль/см²; для потери калия была получена величина $4,26 \cdot 10^{-12}$ моль/см². Вычисленная скорость проведения импульса равна $18,8$ м/сек (наблюдаемая скорость $21,2$ м/сек).

импульса к теоретическому кабелю, свойства которого (сопротивление внутреннего проводника, распределенная емкость мембраны и зависимость мембранных проводимостей от потенциала) идентичны свойствам аксона, удалось вычислить форму потенциала действия, характеристики его как процесса типа «все или ничего», количества обмениваемых ионов и скорость проведения возбуждения (фиг. 25). При этом оказалось, что повышение натриевой

проводимости служит самоусиливающимся звеном, играющим роль не только в возникновении потенциала действия, но и в распространении активности из одной точки в другую со скоростью, зависящей от сопротивления и емкости кабельной линии.

Быстрое восстановление первоначального мембранного потенциала, показанное на фиг. 25, не является универсальным феноменом; в ряде случаев, особенно при развитии электрической реакции в сердечной мышце, повышения проницаемости для калия в качестве второй фазы не происходит и натриевая проводимость не исчезает полностью. Вследствие этого в потенциале действия сердечной мышцы появляется положительное плато деполяризации, функциональное значение которого состоит в том, что создается достаточно долго действующий стимул для систолического сокращения мышечных волокон.

После того как волна потенциала действия прошла и первоначальные уровни потенциала, ионной проводимости и возбудимости восстановились, сохраняется лишь одно остаточное изменение — очень небольшое уменьшение запаса внутриклеточного калия. Натрий проникает в цитоплазму, и калий выходит из нее в количестве $3\text{--}4 \cdot 10^{-12}$ моль на 1 см^2 клеточной поверхности (стр. 103). Если говорить о концентрации ионов, то внутреннее содержание калия в аксоне кальмара понижается при этом примерно на 10^{-6} . Это очень небольшая потеря, которую натрий-калиевый насос, работающий в слегка ускоренном темпе, мог бы возместить за несколько секунд. Не удивительно, что даже при выключении этого насоса с помощью ингибиторов обмена аксон кальмара способен генерировать несколько сотен тысяч импульсов просто за счет накопленного в нем запаса ионов, без перезарядки [122]. У большинства возбудимых клеток активность носит лишь периодический характер (например, некоторые нервные клетки работают только днем), и процессы химической «перезарядки» используются для того, чтобы создавать и в течение длительного времени поддерживать резерв свободной энергии, а не с целью немедленного восполнения потерь или восстановления ионных концентраций в каждый промежуток между импульсами. На этом принципе «коротких вспышек высокой активности,

за которыми следуют длительные периоды химической подзарядки», основана работа скелетных мышц и большинства наших нейронов (естественно, за исключением тканей, функционирующих ритмически, например сердца, дыхательных мышц и связанных с ними нервных клеток).

Величина заряда, переносимого во время импульса через 1 см^2 мембраны, примерно одинакова для различных безмякотных нервных волокон. Это обусловлено приблизительным постоянством мембранной емкости (1 мкф/см^2) и постоянством амплитуды потенциала покоя и потенциала действия у различных клеток. Поэтому изменение внутриклеточной концентрации и процентная потеря калия в очень тонком аксоне (диаметром, скажем, $0,5 \text{ мк}$) будут примерно в 1000 раз больше, чем в гигантском аксоне кальмара. Таким образом, способность нервного волокна передавать сигналы в известной степени зависит от его толщины: чем тоньше волокно, тем больше оно будет нуждаться в непрерывном притоке метаболической энергии для выведения ионов натрия и обратного поглощения ионов калия, перешедших соответственно внутрь и наружу за периоды интенсивной импульсации.

А. В. Хилл [112] и его сотрудники, применявшие чрезвычайно чувствительные методы регистрации, обнаружили, помимо длительного повышения теплопродукции в период восстановления, еще и раннюю кратковременную фазу теплового обмена. Она представляет особый интерес, так как либо сопровождает импульс, либо очень быстро следует за ним. Это явление «начальной теплопродукции» указывает на то, что непосредственно после самого изменения проницаемости или даже одновременно с ним происходит какая-то химическая реакция. Общее количество тепла, освобождаемое в этой ранней фазе, ничтожно, и Хилл высказал предположение, что если имеет место процесс реорганизации мембраны, сколько-нибудь связанный с химическим расщеплением вещества, из которого она построена, то он может затрагивать лишь небольшое число разбросанных участков на молекулярном уровне. К тому же общему выводу привел совершенно иной, электрофизиологический подход. Кол и Кёртис [26] обнаружили резкое падение сопротивления мембраны во время возбуж-

дения: сопротивление 1 см^2 мембраны снижалось с 1000 ом примерно до 20 ом , а емкость оставалась на уровне 1 мкф/см^2 . Но для поверхностного слоя толщиной $50 \text{ \AA}$ этот результат означает, что его удельное сопротивление все еще в 10^6 раз выше сопротивления окружающей среды (до изменения проницаемости оно было в 10^8 раз выше; см. стр. 62). Основная масса вещества мембраны сохраняет свои диэлектрические свойства и продолжает вести себя как изолирующий конденсатор постоянной емкости. По-видимому, изменение ионной проводимости происходит в нескольких разбросанных участках, в совокупности занимающих менее 1% поверхности аксона. Судя по величине мгновенной утечки Na и K во время импульса ($3\text{--}4 \cdot 10^{-12} \text{ моль/см}^2$), в среднем эти пункты разделены расстояниями $70 \text{ \AA}$ и в каждом происходит перенос всего одного иона. Если бы этот процесс осуществлялся в результате активации специальных «молекул-переносчиков», каждая из которых переносит большое число ионов, то ионный поток был бы сконцентрирован в гораздо меньшем числе участков, значительно более удаленных друг от друга.

Одна из немногих оставшихся крупных проблем касается физико-химической природы изменений проводимости и механизма ее электрической регуляции.

Нахманзон [208] утверждал, что возбуждение мембраны и лежащие в его основе изменения проницаемости обусловлены местным освобождением и последующим расщеплением ацетилхолина. Но хотя это представление вызвало большой интерес, оно пока еще не имеет достаточного экспериментального обоснования (обсуждение этого вопроса см. в других работах [45, 46, 157¹]).

¹ Нахманзон построил свою теорию на основе экспериментов, показавших, что дозы ингибиторов холинэстеразы, достаточные для торможения внутриклеточного гидролиза ацетилхолина, блокируют импульсы в нерве и мышце. Столь далеко идущие выводы Нахманзона были подвергнуты критике; по мнению многих исследователей, они не могут быть приняты без подкрепления их более прямыми данными. Тем временем и основные фактические утверждения Нахманзона были опровергнуты хорошо задуманными экспериментами Фенга и Хси [82, 83], сопровождавшимися тщательным контролем. С помощью необратимого ингибитора холинэстеразы (тетраэтилпирофосфата) Фенг и Хси показали, что в иервах и мышцах лягушки подавление активности этого фермента не приводит к уменьшению величины потенциала действия.

Проведение импульса

Регенеративный процесс проникновения натрия в аксон приводит к реакции типа «все или ничего», как только потенциал превысит пороговую величину (т. е. неустойчивую «точку воспламенения» системы). При этом мембрана аксона может подвергнуть пороговое изменение, равное, скажем, 20 мв, 5-кратному усилению, автоматически компенсируя тем самым недостатки своей кабельной структуры. Возникшее большое изменение потенциала распространяется по всей длине аксона без уменьшения амплитуды. Если воздействовать на участок аксона каким-либо местноанестезирующим веществом, например прокаинам, то регенеративное проникновение натрия внутрь становится невозможным, тогда как пассивные кабельные свойства ткани изменяются незначительно. Оказалось, что для блокады проведения импульса необходимо, чтобы был парализован участок некоторой минимальной длины. Это объясняется тем, что потенциал действия, приходящий к невозбудимому участку, служит мощным электрическим раздражителем, обладающим большим избытком мощности (примерно 5 : 1). Если невозбудимый участок слишком короток (скажем, 1 мм), то потенциал действия, хоть и ослабленный в результате пассивного кабельного проведения, все еще сохранит на другом конце этого участка достаточную силу, чтобы вновь возбудить мембрану и продолжить свой путь дальше.

В сравнении с передачей сообщений по эффективному кабелю нервный сигнал типа «все или ничего» обладает одним очевидным и важным недостатком. Для передачи сообщений аксон может использовать лишь стандартную

волну, амплитуда и форма которой могут изменяться в очень узких пределах. Нервный импульс — это фактически просто стереотипный элемент кода, подобный точке в азбуке Морзе. Это означает, что за короткий промежуток времени по одному волокну может быть передано лишь очень немного информации, и везде, где необходимо передавать детальную информацию (как, например, по каналу между глазом и мозгом), требуется огромное число параллельных линий.

В различных чувствительных нервных окончаниях специфические раздражители деполяризуют концевые веточки аксона и таким образом возбуждают последовательность импульсов типа «все или ничего» в отдельных волокнах [1—3, 19, 55, 100, 105, 110, 155, 202, 224].

Скорость проведения импульса зависит от быстроты, с которой мембранная емкость на участке впереди импульса разряжается до порогового уровня. А это в свою очередь зависит как от кабельных констант волокна (главным образом от его поверхностной емкости и от продольных сопротивлений аксоплазмы и окружающей среды), так и от «резерва мощности» импульса (т. е. от того, насколько генерируемый им ток превышает пороговую величину для возбуждения покоящегося волокна). Так как скорость распространения волны зависит от продольной электропроводности внутренней области аксона, она тесно коррелирует с толщиной волокна. *Теоретически* в безмякотных аксонах и мышечных волокнах скорость проведения должна при прочих равных условиях возрастать пропорционально квадратному корню из диаметра волокна [120, 221]¹.

¹ Выражение «при прочих равных условиях» означает, что при сравнении волокон различного размера их удельные электрические свойства предполагаются одинаковыми (это относится, например, к постоянным времени, *удельным* емкостям и сопротивлениям мембраны и цитоплазмы и плотности тока на единицу площади мембраны). В этом случае имеют место следующие соотношения:

1. Величина продольного тока i_l внутри аксона определяется выражением [см. уравнение (7)]

$$i_l = - \frac{1}{r_l} \frac{dv}{dx},$$

где r — сопротивление аксоплазмы на 1 см длины аксона, v — внутренний потенциал. Далее

Это не всегда оправдывается на опыте, и некоторые авторы склоняются в пользу линейной зависимости. Как бы то ни было, общепризнано, что один из способов увеличить скорость передачи сигналов состоит в том, чтобы понизить осевое сопротивление кабеля путем увеличения диаметра

$$r_l = \frac{4R_l}{\pi D^2},$$

где D — диаметр волокна, R_l — удельное сопротивление аксоплазмы, которое предполагается одинаковым у сравнимых волокон разного диаметра.

Если аксон погружен в большой объем жидкости, наружным сопротивлением и, следовательно, наружным потенциалом можно пренебречь.

2. Величина трансмембранного тока i_m на единицу длины равна

$$i_m = - \frac{di_l}{dx} = \frac{1}{r_l} \frac{d^2v}{dx^2} = \frac{\pi D^2}{4R_l} \frac{d^2v}{dx^2}.$$

Плотность этого тока на единицу поверхности определяется по формуле

$$I_m = \frac{D}{4R_l} \frac{d^2v}{dx^2}.$$

Если воля потенциала распространяется с постоянной скоростью θ , то

$$\frac{dv}{dx} = \frac{1}{\theta} \frac{dv}{dt}$$

и

$$\frac{d^2v}{dx^2} = \frac{1}{\theta^2} \frac{d^2v}{dt^2}.$$

Отсюда

$$I_m = \frac{D}{4R_l \theta^2} \frac{d^2v}{dt^2}.$$

Если удельные свойства мембраны остаются одинаковыми для волокон различной толщины, то временной ход волны потенциала, проходящей через любую данную точку, и плотность тока через мембрану во время прохождения этой волны также остаются одинаковыми (тогда как длина волны при изменении скорости изменяется). Следовательно, величина D/θ^2 постоянна, т. е. скорость проведения θ пропорциональна квадратному корню из диаметра волокна.

волокна. Именно это решение избрала природа для удовлетворения потребности в высокоскоростной передаче импульсов у некоторых беспозвоночных. Например, быстрое движение кальмара при бегстве от опасности контролируется небольшим числом гигантских аксонов, иннервирующих обширную мускулатуру его мантии, которая действует как «реактивный двигатель». Однако для животного, которому нужна не только быстрота реакции, но и огромное число информационных каналов для достижения тонкой градации сенсорных и двигательных сообщений, гигантские аксоны оказались бы непригодными. Ясно, например, что в зрительном нерве, где требуется больше миллиона параллельных аксонов для быстрой передачи зрительной информации, не хватило бы места для большого числа гигантских волокон.

Решением, которое было найдено нервной системой позвоночных, явилось образование миелинизированного аксона, в котором кабельные потери сильно снижены благодаря миелиновой оболочке.

У волокна, не покрытого миелином (аксона или мышечной клетки), мембрана либо относительно свободно соприкасается с наружной проводящей средой (в случае мышечного волокна), либо одета очень тонким слоем сопутствующих (шванновских) клеток, между которыми имеются многочисленные щели с низким сопротивлением; через эти щели поверхность аксона соприкасается с лимфатической жидкостью. Регенеративный процесс возбуждения, как полагают, происходит во многих участках, разбросанных вдоль всей мембраны и расположенных либо случайным образом, либо в местах разрывов между шванновскими клетками.

В отличие от этого миелинизированный аксон снабжен сегментированной изолирующей оболочкой, обладающей малой емкостью. По данным электронной микроскопии каждый сегмент формируется из многочисленных спиральных витков мембраны шванновской клетки, которая туго наматывается на цилиндр аксона. Вся эта система гораздо более сходна с морским подводным кабелем, чем безмякотное волокно. На протяжении каждого сегмента, покрытого миелином, происходит обычная пассивная кабельная передача потенциала действия. На таком отрезке

длиной 1—2 мм сигнал несколько ослабляется, но не очень сильно, и релейный механизм действует только на отдельных участках, а именно в области каждого перехвата Ранвье, где мембрана на небольшом протяжении не покрыта миелином [87, 88, 140, 234, 235]. Таким образом, создается канал, передающий сигналы гораздо быстрее и со значительно меньшей затратой метаболической энергии, чем безмякотный аксон того же диаметра, и это позволяет разместить в тонком пучке большое число отдельных высокоскоростных каналов связи.

Возможности обобщения ионной теории

Наиболее детальные и убедительные данные в пользу важной роли ионов натрия и калия в проведении нервного импульса получены на особо благоприятном, но довольно необычном объекте — на препаратах гигантского аксона кальмара. Параллельные эксперименты неизбежно менее строгого характера проводились и на многих других возбудимых тканях и при этом были действительно обнаружены некоторые границы применимости натриево-калиевой теории. В скелетных мышцах позвоночных (способных к быстрому сокращению), мякотных и безмякотных нервных волокнах и сердечной мышце роль натрия в процессе электрического возбуждения, по-видимому, очень близка к той, которую он играет в аксоне кальмара.

Но это обобщение, видимо, не распространяется на потенциалы действия, регистрируемые в мышцах ракообразных и некоторых проводящих возбуждение клетках растений. Как обстоит дело в этих клетках, еще не вполне выяснено. В кинетическом отношении процесс возбуждения здесь как будто бы совершенно аналогичен представленному выше (фиг. 19), но природа главных ионных каналов иная. По-видимому, регенеративным фактором служит здесь не проникновение внутрь натрия, а выделение какого-либо аниона (Cl^- у *Nitella* [95]) и поглощение двухвалентного катиона, например кальция [77].

В большинстве исследованных до сих пор проводящих нервных и мышечных клеток натрий является в нормальных условиях единственным ионом, способным порождать регенеративный направленный внутрь ток во время воз-

буждения, но во всех случаях были найдены и другие, нефизиологические катионы, которыми с успехом можно было заменить натрий. Из них наиболее известен литий, способность которого заменять натрий в процессе электрического возбуждения мышцы впервые продемонстрировал Овертон [211]. В некоторых клетках регенеративный процесс, блокированный путем удаления натрия, может быть восстановлен с помощью различных ионов четвертичного аммония и родственных соединений, но механизм их действия еще не ясен: быть может, эти органические ионы просто занимают место натрия и проходят через мембрану по обычным натриевым каналам, но возможно, что они видоизменяют свойства мембраны таким образом, что какие-то другие ионы, например кальций, приобретают способность создавать направленный внутрь регенеративный ток или существенно усиливать его.

Проведение с декрементом

У нормального аксона или скелетного мышечного волокна имеется строго определенная «точка воспламенения» — пороговый потенциал, при котором скачкообразно возникает импульс типа «все или ничего», распространяющийся затем без ослабления, или декремента. Однако мы знаем, что в основе этого явления лежит процесс, который может изменять свою интенсивность непрерывно и определяется нелинейной зависимостью между потенциалом и ионной проницаемостью мембраны. Как уже давно известно, в вольт-амперной характеристике мембраны и в связанной с нею местной реакции эта зависимость ясно проявляется даже в подпороговой области. Влияние регенеративного, но все еще порогового поглощения натрия на вызванную внешним воздействием деполяризацию состоит в увеличении наклона вольт-амперной характеристики, и это в некоторых отношениях имитирует местное повышение сопротивления мембраны. Таким образом, появление местной реакции связано с более дальним распространением сдвига потенциала из места его возникновения; это изменение распространяется с декрементом, но с большей эффективной постоянной длины, чем при меньших или противоположных изменениях потенциала.

В некоторых тканях (а при определенных аномальных условиях — во всех тканях) регенеративный процесс слишком слаб, чтобы поддерживать проведение импульса без добавочной энергии, доставляемой каким-либо внешним стимулом (или взаимодействием синаптического передатчика). Так обстоит дело во многих мышцах членистоногих и, может быть, также в телах и дендритах некоторых нейронов. Такое состояние можно сравнить с состоянием мембраны аксона в период частичной рефрактерности, когда *натриевый* механизм в значительной степени инактивирован, а *калиевый* действует в полную силу. В этом состоянии нет критического порога и реакция типа «все или ничего» не наблюдается. При раздражении возникают потенциалы действия, у которых скорость нарастания и высота пика зависят от силы вызвавшего их раздражения и которые постепенно ослабевают и затухают на протяжении нескольких миллиметров длины волокна. По существу они представляют собой усиленную форму местной реакции и отличаются от обычного местного потенциала только тем, что продолжают возрастать после окончания короткого электрического удара и вскоре заканчиваются повышенным выведением калия (или каким-либо аналогичным процессом восстановления исходного электрохимического состояния). Лоренте де Но и Кондоурис [193] высказали предположение, что такие ослабленные потенциалы действия имеют существенное функциональное значение; например, если таким образом ведут себя дендриты центральных нейронов, то декрементные спайки могли бы играть значительную роль в интеграции возбуждений в конвергирующих синапсах, усиливая обычное местное распространение подпороговых потенциалов в постсинаптическом нейроне.

Передача импульсов внутри клеток и через границы между клетками

В предыдущей главе мы рассматривали механизм передачи сообщений в пределах отдельных клеток. Это по существу двустадийный процесс, основанный 1) на кабельных свойствах клетки, которые, несмотря на их несовершенство, позволяют электрическим сигналам распространяться на небольшие расстояния, и 2) на электрохимическом релейном механизме, встроенном в клеточную мембрану, который автоматически усиливает сигнал до его полной величины на всем протяжении линии и тем самым компенсирует несовершенства кабельной структуры.

Что происходит в синапсе (стр. 12), когда импульс достигает окончания нервного волокна? Согласно нейронной теории (стр. 15), синапс представляет собой функциональный контакт между двумя возбудимыми клетками, цитоплазма каждой из которых заключена в отдельную мембрану. Этот взгляд был убедительно подкреплён электронно-микроскопическими данными, которые показали наличие не только обособленных мембран, но и щели между пресинаптической и постсинаптической клетками, достигающей во многих случаях ширины около 150—200 Å.

В нервно-мышечном соединении позвоночного это межклеточное пространство ещё шире и образует «разрыв» от 500 до 1000 Å. Оно разделено фиброзным слоем (базальной мембраной), непрерывность которого можно проследить над всей поверхностью мышечного волокна. Такого рода структурная организация кажется несовместимой с наличием кабельного электрического соединения между клетками. Если предположить, что электрическое сопротивление и ёмкость синаптических мембран и межклеточ-

ных пространств примерно такие же, что и на остальном протяжении волокна, то мы увидим, что ток действия, создаваемый двигательными нервными окончаниями, мог бы деполяризовать мышечную мембрану не более чем на какую-то долю микровольта (стр. 138).

Однако подобные расчеты недостоверны, так как электронные микрофотографии ничего не говорят нам об электрических свойствах мембраны и межклеточных пространств: вполне возможно, что синаптические соединения обладают совершенно особыми свойствами. Кроме того, разные синапсы сильно различаются между собой по структуре. В некоторых синапсах имеются участки, где мембраны сильно сближены, а в соединениях определенных типов описано фактическое слияние пресинаптической и постсинаптической мембран [8, 105, 106]. Такие особенности представляют большой интерес; по-видимому, они связаны с двумя различными механизмами передачи — химическим и электрическим, которые действуют в синапсах разного типа [156]. В последнее время накапливается все больше данных, позволяющих предполагать, что слияние мембран (так называемое «плотное соединение») служит структурной основой электрической связи между двумя клетками.

К одним из самых интересных структур, выявленных с помощью электронного микроскопа, относятся так называемые пресинаптические пузырьки. Плотные скопления их были найдены во многих нервных окончаниях как в периферической, так и в центральной нервной системе. Массы пузырьков диаметром около 500 Å сосредоточены вблизи мест синаптического контакта в тех нервных окончаниях, функция которых основана на освобождении специфического вещества-передатчика.

Открытие пресинаптических пузырьков совпало с физиологическим открытием, показавшим, что передатчик возбуждения — ацетилхолин — секретируется окончаниями двигательных нервов в виде отдельных мелких гранул, содержащих много молекул. Было высказано предположение, что пузырьки и есть те структурные еди-

ницы, которые ответственны за эту «квантованную» секрецию [43, 44, 212]¹.

Электрическая и химическая передача в синапсах

Спор между сторонниками теории *непрерывности* и теории *контакта* имеет любопытную параллель в области физиологии. Согласно теории функциональной непрерывности, передача импульсов через синапсы по существу является продолжением того процесса, с помощью которого импульсы распространяются в пределах каждой отдельной клетки. Этой теории противостоял взгляд, согласно которому в синаптической передаче должны участвовать химические передатчики, или медиаторы: внутриклеточный механизм распространения возбуждения с помощью электрических токов в пресинаптических окончаниях прекращает свое действие, и здесь освобождаются специальные вещества-передатчики, которые и контролируют синаптический процесс. Наличие замкнутых концевых мембран и внеклеточных пространств между двумя клетками должно было бы воспрепятствовать передаче нервных сигналов с помощью обычного электрического механизма, если в синапсах мембраны обладают такими же изолирующими свойствами, а межклеточный материал — такими же проводящими свойствами, как и в других участках клетки.

Несмотря на недостоверность ряда моментов, с которыми связана эта аргументация, интересно рассмотреть некото-

¹ Эта гипотеза первоначально была основана на экспериментальных результатах, полученных на нервно-мышечном соединении, и позже была распространена на многие другие синапсы «химического действия». В каждом конкретном случае такой перенос может быть оправдан только при наличии необходимых данных, говорящих о «квантованном» освобождении передатчика и о терминальной локализации пресинаптических пузырьков. Делались попытки пойти дальше и путем обобщения классифицировать все нейронные структуры, содержащие пузырьки, как «пресинаптические окончания с химической передачей». Это представление трудно было бы защищать без прямых данных, так как пузырьки, хотя они и характерны для таких окончаний, несомненно, встречаются не только в них. Было бы поистине удивительным, если бы такие простые субклеточные образования, как пузырьки, которые можно найти не только в нервных, но и в эндотелиальных клетках, не выполняли в различных ситуациях самые разнообразные функции.

рые ее следствия в количественном аспекте. Мы знаем порядок величины кабельных констант — сопротивления утечки R_m и емкости C_m мембраны аксона и проводимости аксоплазмы R_i . Это величины порядка $R_m = 2000 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$, $C_m = 1 \text{ мкф/см}^2$ и $R_i = 200 \text{ ом} \cdot \text{см}^1$. Когда нервный импульс движется по безмякотному волокну диаметром, скажем, 5 мк, то он в каждой точке своего пути встречает плохо изолированный кабель с входным импедансом около 20 Мом^2 . Для активации мембраны непосредственно впереди импульса в нее должен входить ток, достаточный для того, чтобы понизить существующий трансмембранный потенциал покоя примерно на 20 мв. При достижении этого уровня происходит возбуждение, а в результате возбуждения изменение потенциала, вызванное кабельными токами от приближающейся волны активности, усиливается примерно в 5—10 раз, так что создается ток, достаточный для подобного же возбуждения следующего участка.

Любой физический или химический агент, препятствующий этому автоматическому процессу усиления (например, местное охлаждение, давление, прокаин), будет действовать как местноанестезирующее средство и блокировать проведение импульса [117]. Из-за большой «резервной мощности» нормального импульса обычно недостаточно бывает сделать аксон невозбудимым в одной «точке» или в одном перехвате Ранвье. Пока кабельные свойства волокна остаются неизменными, пассивное электрическое распространение потенциала позволяет импульсу «перепрыгнуть» через короткий невозбудимый участок. Если только сигнал не будет ослаблен более чем в 5 раз, по другую

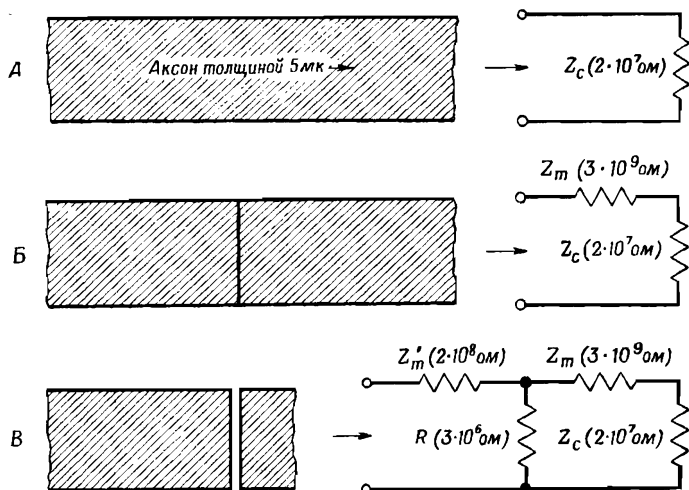
¹ R_m — удельное поперечное сопротивление единицы площади (1 см^2) мембраны, C_m — удельная емкость единицы площади мембраны и R_i — удельное сопротивление 1 см^3 вещества аксоплазмы. (Следует заметить, что с увеличением поверхности сопротивление мембраны уменьшается, а емкость возрастает; отсюда и единицы измерения $\text{ом} \cdot \text{см}^2$ и мкф/см^2 .)

² Входной импеданс Z находят по следующей формуле:

$$Z = \sqrt{R_m R_i / (2\pi^2 \rho^3 \sqrt{1 + 4\pi^2 f^2 R_m^2 C_m^2})},$$

где ρ — радиус волокна и f — частота переменного тока, при которой определяется Z (при потенциалах действия с обычной временной характеристикой f составляет примерно 250 гц).

сторону «блокады» будет достигнут пороговый уровень и проведение импульса возобновится. Чтобы создать непреодолимую блокаду, нужно анестезировать волокно на достаточном протяжении (обычно требуется один или несколько миллиметров); только тогда сигнал, переходящий



Фиг. 26. Входной импеданс для импульса в аксоне (А) и в «модельных синапсах» (Б и В).

Z_c — входной импеданс аксона; Z_m — импеданс концевой мембраны в покое; Z'_m — импеданс концевой мембраны во время активности.

через блокированный участок путем пассивного распространения, будет ослабляться до уровня ниже порогового [117, 152].

Проведение импульса можно было бы блокировать и другим способом — путем местного нарушения электрической непрерывности кабельной структуры. Представим себе, что мы перекрыли внутреннее пространство аксона толщиной 5 μm поперечной мембраной-перегородкой, как показано на фиг. 26, Б. Если бы эта перегородка имела такое же удельное сопротивление, как и поверхностная мембрана, то это значило бы, что после кабеля с импедансом 20 Мом ток будет встречать сопротивление не менее

3000 Мом. Таким образом, эффективность тока действия составляла бы теперь меньше 1% первоначальной величины, и проведение импульса, несомненно, оказалось бы невозможным.

Предположим теперь, что мы перерезали аксон, закрыли концы обоих отрезков мембранами, обладающими обычными электрическими свойствами, и разделили щелью шириной 150 Å. У нас получился бы межклеточный контакт, или синапс, такого типа, какой был описан во многих различных тканях. Положение теперь гораздо хуже, чем в случае одиночной перегородки. Легко показать, что если синаптические структуры сходны по своим физическим свойствам с остальными частями клетки, то электрическая передача будет совершенно неэффективной, за исключением, быть может, случая очень толстых, «гигантских» волокон.

При такой перерезке аксона вместо одного непрерывного кабеля получаются две кабельные структуры, электрическое соединение которых осуществляется через сеть, характеризующуюся очень большими потерями. Эта сеть состоит из последовательного импеданса концевой пресинаптической мембраны, параллельно включенного сопротивления промежутка шириной 150 Å и еще одного последовательного импеданса, обусловленного концевой постсинаптической мембраной. Предположим, что пресинаптическая мембрана будет активирована и ее сопротивление упадет с 2000 до 40 ом·см². Даже и в этом случае нервный импульс будет ослаблен таким синапсом до величины $[(3 \cdot 10^6)/(2 \cdot 10^8)] \cdot [(2 \cdot 10^7)/(3 \cdot 10^9)] = 10^{-4}$. Во многих синапсах возможность прямой электрической передачи кажется еще менее реальной. К ним относятся нервно-мышечные соединения позвоночных, в которых промежуток между двумя клетками еще шире и мышечное волокно, будучи много толще нервного, обладает гораздо более низким входным импедансом и требует значительно большего тока, чем могут дать иннервирующие мышцу разветвления аксона.

Но существуют и такие соединения, которые обладают более благоприятными электрическими свойствами, чем волокна толщиной 5 мк, которые мы рассматривали до сих пор. Интересно, что сопротивление R промежутка

шириной $150 \text{ \AA}$ остается на постоянном уровне около $3 M_{om}$ независимо от диаметра контактирующих клеток ($R = \zeta/8\pi d$, где ζ — удельное сопротивление заполняющего промежутка материала и d — ширина промежутка). Но импеданс концевой мембраны изменяется обратно пропорционально квадрату диаметра волокна. Поэтому для сегментарных синапсов в системе гигантских волокон червя или членистоногого ослабление сигнала при переходе через перегородки составило бы $1 : 10$ вместо $1 : 10\,000$, что уже приближает нас к области величин, при которых электрическая передача становится возможной. Все, что здесь требуется, — это небольшое дальнейшее понижение импеданса концевой мембраны, и тогда будет достигнута наблюдаемая непрерывность передачи в обоих направлениях.

Относительно синапса между тонкими волокнами диаметром 5 мк мы пришли к выводу, что электрическая передача через промежуток шириной $150 \text{ \AA}$ здесь полностью исключена. Однако наши расчеты были основаны на предположении, что терминальные мембраны и материал межклеточного промежутка обладают примерно такими же электрическими свойствами, что и другие участки клеток. Возможно, что это неверно, и стоит задать себе вопрос: насколько пришлось бы уменьшить сопротивление изоляции на концах, чтобы обеспечить дальнейшую передачу сигнала с помощью электрического механизма? Можно подсчитать, что его потребуется понизить с $2000 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$ до величины менее $1 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$; это ниже обычно встречающихся величин для мембран аксонов, но еще в пределах возможного.

Другим способом преодоления тупика у такого синапса могло бы быть образование тончайших цитоплазматических мостиков. Предположим, что в наших синапсах между клетками имелись бы такого рода мостики толщиной около $100 \text{ \AA}$. Сколько таких мостиков необходимо для того, чтобы кабельный ток от пресинаптического волокна мог возбудить постсинаптическую область? Ответ: около 20, т. е. по одному мостику на 1 мк^2 , и они заняли бы меньше $1/10\,000$ поперечного сечения промежутка. С помощью электронного микроскопа таких мостиков выявлено не было, но еще не исключено, что редкие неболь-

шие соединения этого рода могут существовать в синапсах специального типа (например, в контактах между волокнами сердечной мышцы), хотя технически выявить их трудно.

Есть достаточные данные о том, что синаптические промежутки не лишены некоторых структурных деталей [51, 52]. В ряде случаев, например в работе Грея и Уитейкера [101] с тканевыми фрагментами, а также де Робертиса и сотр. [53], было даже обнаружено, что постсинаптическая мембрана прочнее прикреплена к пресинаптическим окончаниям, чем к остальной оболочке собственной клетки. Однако рассмотреть тонкие детали таких соединений еще не удалось. Задача выяснения природы структурных связей между синаптически контактирующими клетками очень важна; необходимо удостовериться в том, что здесь действительно не существует редко разбросанных цитоплазматических мостиков малой толщины.

До сих пор мы рассматривали — в гипотетическом плане — два способа, при помощи которых природа могла бы обеспечить непрерывность электрической передачи возбуждения между двумя клетками, несмотря на их видимую структурную обособленность. Известно несколько случаев, когда контактирующие клетки в электрическом отношении ведут себя подобно «синцитию» (некоторые гладкие мышцы, сердечная мышца и гигантские нервные волокна беспозвоночных с их межсегментными перегородками). В этих случаях смежные клетки образуют электрические кабельные соединения с достаточно малым внутренним сопротивлением, и импульсы, по-видимому, одинаково легко проводятся здесь в обоих направлениях. Единственные структурные модификации, которые были описаны в некоторых из этих электрических синапсов и которые могут иметь отношение к нашей проблеме, — это определенные участки, где межклеточная щель сильно сужена и наблюдается даже слияние обеих мембран. Для того чтобы между клетками могла осуществляться электрическая связь, такие участки мембран должны иметь очень низкое сопротивление, т. е. в них должно быть либо много отверстий молекулярного размера (это первая возможность, упомянутая на стр. 127), либо небольшое число крупных отверстий (вторая возможность, рассмотренная выше). Следует надеяться, что дальнейшие успехи электронной

микроскопии позволяют сделать выбор между этими гипотезами.

Межклеточные соединения в сердце и в гигантских волокнах нервных тяжей беспозвоночных в действительности нельзя называть синапсами. В функциональном отношении эти ткани ведут себя как *синцитиальное целое*, в котором возбуждение распространяется из одной клетки в другую таким же способом, как и в пределах одной клетки. В отличие от этого термином «синапс» принято обозначать лишь те межклеточные соединения, которые позволяют волне возбуждения (или вообще какому-либо возбудительному или тормозному влиянию) передаваться только в одном, но не противоположном направлении¹. Синапсы служат «клапанами», пропускающими сигналы лишь в одном направлении; именно благодаря этому свойству синаптических соединений нервные волокна используются в нормальных условиях почти исключительно для одностороннего проведения импульсов (хотя они вполне способны одинаково легко проводить импульсы в обоих направлениях).

Но даже если ограничиться рассмотрением синапсов с односторонней проводимостью, нам не удастся прийти к общему выводу относительно способа их действия. Экспериментальные исследования показали, что в различных синапсах действуют механизмы различного типа, которые делятся на две главные группы — электрические и химические.

Электрическая передача в возбудительных и тормозных синапсах

Убедительные данные об электрическом механизме получили Фёршпэн и Поттер [93] для возбудительного синапса в брюшной нервной цепочке речного рака и Фурукава и Фёршпэн [94] для тормозного соединения с большой маутнеровской клеткой в головном мозгу золотой рыбки.

¹ Интересное исключение было найдено Мартином и Пайларом [199, 200]: как установили эти авторы, синапсы в ресничном ганглии цыпленка обеспечивают настолько тесное «электрическое сопряжение», что токи действия эффективно распространяются как в ортодромном, так и в антидромном направлении.

Брюшная нервная цепочка речного рака содержит крупные синаптические соединения между «гигантскими волокнами», проходящими вдоль нервных тяжей правой и левой стороны, и сегментарными двигательными аксонами, иннервирующими быструю сгибающую мускулатуру «хвоста». Импульсы передаются через это соединение с гигантского волокна на двигательный аксон, но не в обратном направлении. При исследовании тонкой структуры синапса у двигательного аксона обнаруживаются небольшие луковичеобразные отростки, которые плотно входят в пресинаптические «гнезда», т.е. небольшие впячивания в поверхности гигантского аксона. По данным де Лоренцо [50], Хама [105] и Робертсона [217], мембраны в этом «шаровом» соединении тесно сближены и в некоторых местах кажутся слившимися.

Фёршпэн и Поттер исследовали электрическую проводимость этого синапса, вводя электроды по обе стороны в него таким образом, чтобы пропускать ток и измерять изменения потенциала между внутренними поверхностями пресинаптической и постсинаптической мембран. Они нашли, что синаптическое соединение действует как хороший электрический выпрямитель и пропускает ток лишь из пресинаптической аксоплазмы в постсинаптическую, но не в обратном направлении. В эксперименте можно было передавать подпороговые электрические «сигналы» с одной клетки на другую при условии, что внутренний потенциал пресинаптического волокна был более высоким (более положительным), чем у постсинаптического. Для этого вызывали либо деполяризацию пресинаптического аксона (т.е. делали его внутренний потенциал *менее* отрицательным), либо гиперполяризацию постсинаптического аксона (для чего его внутренний потенциал делали *более* отрицательным). Иными словами, это межнейронное соединение способно передавать *деполяризацию* (а следовательно, и потенциал действия) в *нормальном* направлении и *гиперполяризацию* (вызванную приложенным током) в *антидромном* направлении.

Это открытие представляет большой интерес. То, что нервные и мышечные мембраны могут действовать как выпрямители электрического тока, было известно уже давно, но здесь впервые удалось обнаружить, что выпря-

мительное свойство мембранного контакта способно обеспечить одностороннее проведение импульса через синаптическое соединение.

Чем больше мы узнаем о свойствах различных синапсов, тем меньше мы склоняемся к тому, чтобы делать какие-либо обобщения относительно механизма их действия! В звездчатом ганглии кальмара есть «гигантские синапсы» между окончаниями большого центрального аксона и гигантским двигательным аксоном, иннервирующим мускулатуру мантии, что внешне напоминает ситуацию в нервной цепочке рака. Однако Хагивара и Тасаки [104] в серии экспериментов, сходных с опытами Фёршпэна и Поттера, не смогли обнаружить никаких признаков прямой электрической передачи в синапсе кальмара, и их результаты заставляют предполагать, что в этом межнейронном соединении нет измеримой «кабельной передачи» ни в том, ни в другом направлении. Интересно, между прочим, что по данным электронной микроскопии [106] этот синапс отличается от синапсов речного рака и обнаруживает сходство с более обычным типом: в нем видны характерные скопления пузырьков около пресинаптической мембраны и обе клеточные мембраны, по-видимому, полностью разделены и нигде не сливаются.

В более поздней работе Фурукава и Фёршпэн [94] исследовали синапс на маутнеровском нейроне золотой рыбки, в котором токи действия от пресинаптических волокон непосредственно вызывают *торможение*. Было известно, что при определенных условиях токи действия нервного волокна могут «затормаживать» соседнее волокно, т. е. понижать его возбудимость [166, 196]. Чтобы наблюдать этот эффект, нужно повысить электрическое сопротивление вокруг волокна: тогда токи действия вызывают большие изменения потенциала на наружной поверхности аксона и значительная часть тока проходит через соседнюю покоящуюся клетку. Такие условия создаются при помещении отпрепарированного пучка аксонов в электроизолирующую среду, но in situ, где клетки окружены токопроводящей межклеточной средой, этот эффект отсутствует или очень мал. Фёршпэн и Фурукава [92] показали, что так называемая аксонная чашечка маутнеровской клетки представляет собой специализированный участок с боль-

шим межклеточным сопротивлением (возможно, обусловленным плотной упаковкой нервных или глиальных клеток). Если поместить в эту область электрод, то он регистрирует очень большие наружные потенциалы действия от прилегающих нервных клеток. Когда залп импульсов приближается к маутнеровской клетке по плотно упакованным пресинаптическим нервным разветвлениям, исходящий из них ток действия повышает потенциал на поверхности маутнеровской клетки на много милливольт (до 18 мв). В этой области через постсинаптическую мембрану внутрь клетки входит значительный ток (выходящий из клетки в более удаленных, не синаптических участках). Это ведет к гиперполяризации клетки в той области, где она наиболее возбудима и где обычно возникают импульсы, и тем самым к эффективному торможению. Фурукава и Фёршпэн указывают, что в тех же или очень близко расположенных синапсах маутнеровской клетки действует и другой, совсем иного рода тормозной процесс, который связан с освобождением химического передатчика и оказывает более медленное и длительное воздействие на постсинаптическую мембрану.

Примеры химической передачи в синапсах

Первое убедительное доказательство химической передачи нервных импульсов получил Отто Лёви в 1921 г. [190]. Как известно, импульсы блуждающего нерва тормозят сокращение сердечной мышцы (снижают его амплитуду и частоту). Лёви показал, что при раздражении сердечной ветви блуждающего нерва в жидкости, заполняющей полость сердца лягушки, появляется какое-то тормозящее вещество. Путем простого переноса этой жидкости пипеткой можно вызвать сходное торможение другого сердца. Лёви назвал это вещество «Vagusstoff» и позже идентифицировал его как ацетилхолин. Лёви и его сотрудники показали, что оно выделяется в ничтожных количествах. Оно чрезвычайно активно, но быстро гидролизуется специфическим ферментом (или группой ферментов) — холинэстеразой. Активность этого фермента можно подавить рядом специфических ингибиторов, и Лёви и Навратил [191] впервые показали, что мощное фармакологическое

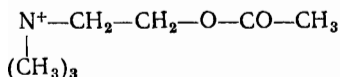
действие хорошо известного лекарственного вещества эзерина, или физостигмина, основано именно на том, что он ингибирует холинэстеразу: под его влиянием обычно кратковременное синаптическое действие ацетилхолина, освобождаемого миллионами различных нервных окончаний в процессе их нормальной деятельности, становится более длительным и интенсивным.

Сердечная мышца иннервируется волокнами двух антагонистических типов: ветвями парасимпатического блуждающего нерва, замедляющего ее сокращения, и симпатическими волокнами, ускоряющими их. Лёви показал, что импульсы симпатических волокон также вызывают освобождение химического медиатора, влияние которого можно перенести на другое сердце. Он назвал его «ускоряющим веществом»; другие авторы называли его «симпатином». За много лет до этого Эллиот [68] указал на близкое сходство между действием адреналина и эффектом раздражения симпатических нервов, и казалось более или менее ясным, что «ускоряющим» передатчиком служит адреналин или какое-то химически родственное ему вещество. (Позже оно было идентифицировано Эйлером [72] как норадреналин.)

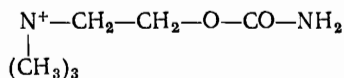
Ниже приведены химические формулы различных химических медиаторов и других веществ, влияющих на синаптическую передачу.

Холинэргическая система

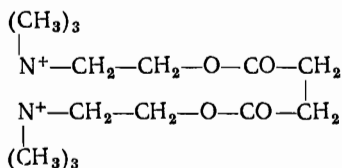
Ацетилхолинподобные вещества



Ацетилхолин

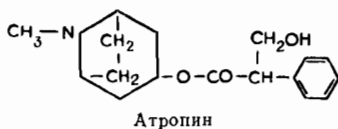
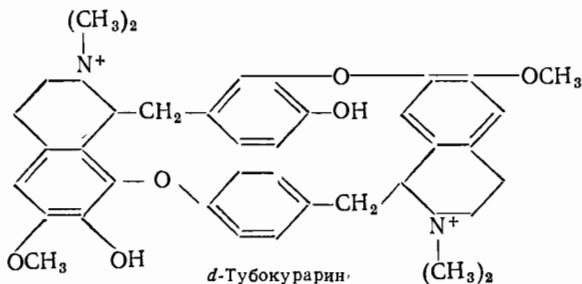


Карбахол

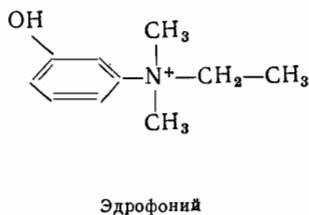
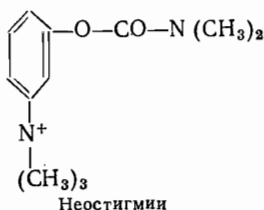
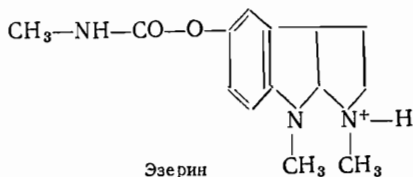


Сукцинилхолин

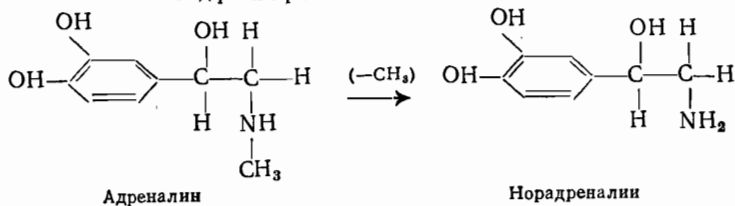
Агенты, блокирующие действие ацетилхолина



Ингибиторы холинэстеразы
(агенты, потенцирующие действие ацетилхолина)



Адренэргическая система





Открытие Отто Лёви явилось началом целого направления экспериментальных исследований, продолжающихся до сих пор, а именно изучения химической передачи в синапсах. Сюда относятся такие разнообразные проблемы, как поиски различных веществ-передатчиков и попытки идентифицировать их, выяснение путей внутриклеточного синтеза таких веществ, механизма освобождения их под действием импульсов (особый случай нейросекреции) и, наконец, механизма их постсинаптического действия (соединение со специфическими молекулами-рецепторами и индукция физико-химических изменений в клеточной мембране, ведущих к возбуждению или торможению).

Первоначальный эксперимент Лёви был удивительно прост; он выявил также один из моментов, ограничивающих возможности этого экспериментального подхода. Вещество-передатчик освобождается при нервных импульсах в таких ничтожных количествах, что его можно обнаружить и идентифицировать только биологическими тестами — методом, который обладает очевидными недостатками по сравнению с прямой химической идентификацией. Сердце лягушки оказалось особенно благоприятным объектом для таких экспериментов ввиду его очень высокой чувствительности, а также потому, что в этой мышце передатчики выделяются в количестве, достаточном для непосредственного обнаружения их действия на втором таком же сердце. В большинстве других случаев, исследованных позже, достичь этого не удалось. Количества ацетилхолина, освобождаемые двигательными нервами или пресинаптическими волокнами в симпатическом ганглии, настолько малы и он так сильно разбавляется в перфузионной жидкости, что действие его невозможно испытывать на ткани того же типа; для тестов приходится пользоваться

ся значительно более чувствительными объектами (спинная мышца пиявки, прямая мышца живота лягушки или сердце).

Современное состояние данных в пользу химической передачи в синапсах можно охарактеризовать следующим образом. Очень веские данные получены для нервно-мышечной и вегетативной нервной системы позвоночных. В этих случаях выделение химических передатчиков было обнаружено путем испытания перфузионной жидкости, собранной во время пресинаптической стимуляции, и активные вещества были идентифицированы (насколько это позволяет метод множественных фармакологических тестов) как ацетилхолин — в нервно-мышечной системе и в парасимпатической нервной системе и норадреналин или адреналин — в симпатических нервных окончаниях. Более полно эти данные для нервно-мышечного соединения будут изложены позже.

Было исследовано много других типов синапсов — в центральной нервной системе позвоночных и беспозвоночных [62, 65, 93, 236, 238] и в гладкой мускулатуре [21, 22]; вывод о химической передаче в гладких мышцах был сделан на основании убедительных, хотя и косвенных, данных, полученных главным образом при анализе электрических и фармакологических реакций эффекторных клеток. Во многих из этих случаев химическая природа предполагаемого вещества-передатчика остается неизвестной, но в некоторых из них удалось показать, что электрические изменения, вызываемые возбуждающими или тормозными нервными импульсами, можно довольно точно имитировать, воздействуя на синаптическую область рецепторной клетки ничтожными количествами специфических веществ. Таким образом было показано, что возбуждающим передатчиком в центральных синапсах позвоночных [66] и моллюсков [170, 237], вероятно, является ацетилхолин и что в других пунктах нервной системы моллюсков это же вещество действует как тормозной передатчик [238]. Есть также веские основания предполагать, что γ -аминомасляная кислота служит тормозным медиатором в мышцах ракообразных, а глутаминовая кислота или родственная ей аминокислота играет роль возбуждательного агента в некоторых межнейронных синапсах, а у ракообразных — в нервно-мышечном соединении [176, 233].

Передача импульсов с нерва на мышцу

Роль ацетилхолина

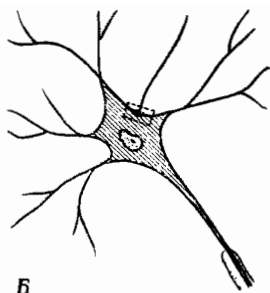
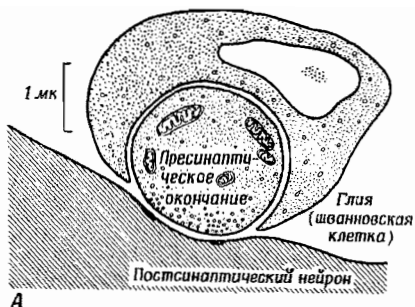
Нервно-мышечное соединение было изучено весьма детально, и это дало много сведений, полезных для понимания процесса химической передачи в нейронных синапсах вообще. Его функция состоит в том, чтобы передавать импульсы с относительно очень мелких двигательных нервных окончаний на крупное мышечное волокно и заставлять его сокращаться. В большинстве мионевральных соединений в мышцах позвоночных за каждым нервным импульсом следует такой же импульс в мышечных волокнах, который быстро распространяется в обе стороны по направлению к сухожилиям, обеспечивая достаточно синхронную активацию сократимых белков от одного конца волокна до другого. Таким образом, мионевральное соединение позвоночного служит гораздо более простой цели, чем центральные синапсы нейронов или периферические возбуждающие и тормозные нервно-мышечные контакты у ракообразных, где происходит интеграция конвергирующих сигналов и где эффект одного нервного импульса лежит обычно значительно ниже порога возбуждения эффекторной клетки. Грубо говоря, нервно-мышечное соединение позвоночного играет роль простого реле. Можно рассматривать его также как устройство для согласования импедансов — род преобразователя импульсов, который дает на выходе электрический ток, достаточный для того, чтобы поднять выше порога потенциал мышечной мембраны, обладающей малым импедансом.

Как уже было отмечено, на основании одних лишь структурных данных можно сказать, что существование эффективной электрической кабельной связи между нер-

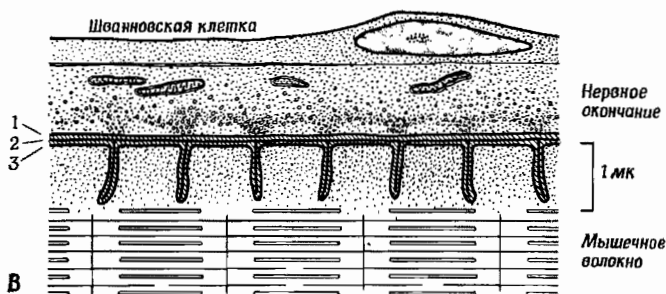
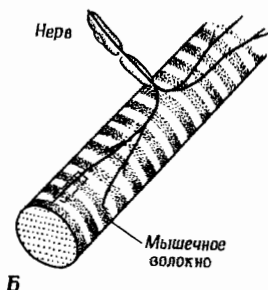
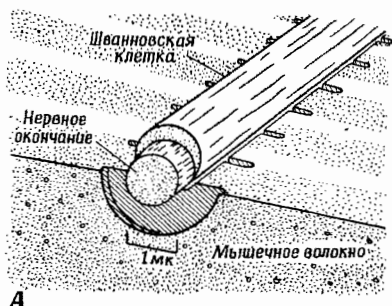
вом и мышцей крайне маловероятно. В скелетной мышце лягушки миелиновое нервное волокно распадается на целый «куст» концевых безмякотных веточек толщиной примерно $1,5 \text{ мк}$, которые проходят в мелких бороздках поверхности мышечного волокна на протяжении около 100 мк . На всем этом концевом участке нерв образует синаптическое соединение с мышечным волокном. Во многих местах внутри нервных окончаний электронный микроскоп позволяет видеть обычные скопления пузырьков диаметром $500 \text{ \AA}$ (фиг. 27). Пресинаптическая и постсинаптическая мембраны разделены межклеточным промежутком, содержащим базальную мембрану. Поверхность мышечного волокна образует правильный ряд складок, расположенных под прямым углом к концевой веточке нерва.

Посмотрим, каковы возможности электрической передачи импульса через типичное мионевральное соединение в одном из самых толстых мышечных волокон лягушки (150 мк в поперечнике). Для короткого импульса тока, например такого, какой создается потенциалом действия нерва, сопротивление (входной импеданс) мышечного волокна составляет менее $50\,000 \text{ ом}$. Для того чтобы возбудить волокно, его мембранный потенциал покоя нужно понизить с 90 мв примерно до 50 мв , а для этого требуется импульс тока силой несколько менее 10^{-6} а . (Позже мы увидим, что при химической передаче во многих концевых пластинках создается ток силой $2\text{—}3 \cdot 10^{-6} \text{ а}$, и, таким образом, процесс обладает достаточной «резервной мощностью».)

Какую силу тока могут обеспечить нервные окончания при электрической передаче? Будем считать, что суммарная длина l синаптических разветвлений нерва у одной концевой пластинки равна примерно 1 мм , а «синаптическая поверхность» (обращенная к мышечному волокну) вычисляется по формуле $\pi r l \approx 2,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2$. Если нервная мембрана создает направленный наружу импульс тока плотностью порядка 1 а/см^2 (обычная величина для безмякотного нерва и для мышцы), то это даст суммарный ток $2,3 \cdot 10^{-8} \text{ а}$. Если бы даже весь этот ток входил в мышечное волокно в синаптической области (что могло бы произойти в случае непрерывности протоплазмы между нервом и мышцей) и, таким образом, мог деполяризовать мышечную мембрану, то и тогда он мог бы изменить потенциал всего лишь



II



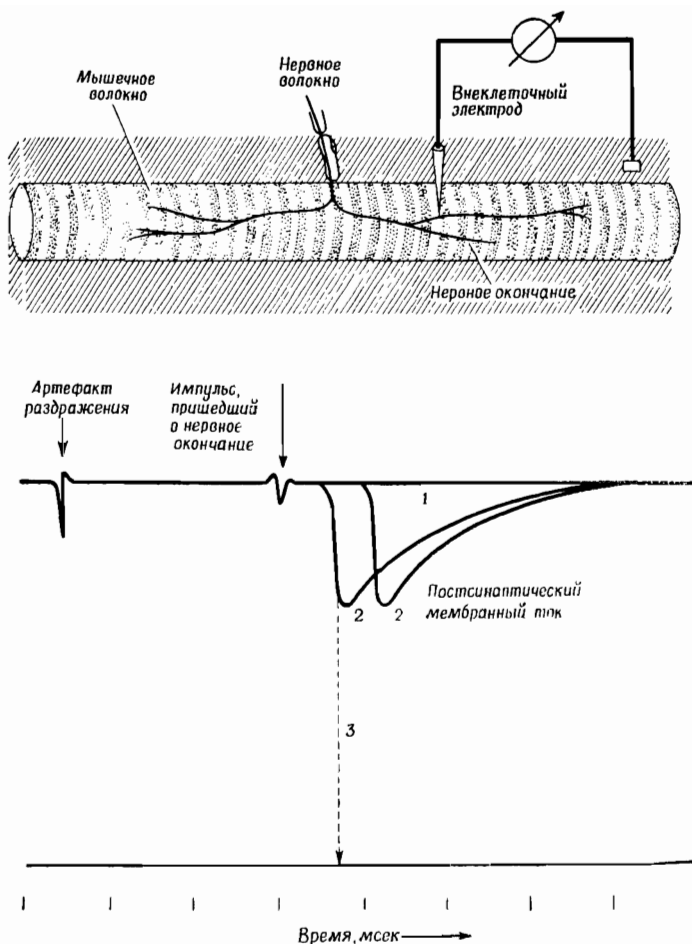
Фиг. 27. Схемы синаптических структур (масштаб показан лишь приблизительно).

I. Межнейронный синапс: А — строение пресинаптического окончания; Б — расположение синапса на теле нейрона. II. Нервно-мышечное соединение лягушки: А — отдельный участок соединения; Б — общее расположение окончаний двигательного аксона на мышечном волокне (участок, изображенный на схеме А, указан небольшим прямоугольником); В — схематический рисунок, сделанный по электронной микрофотографии продольного среза мышечного волокна: 1 — концевая мембрана аксона; 2 — «базальная мембрана», лежащая в промежутке между нервным и мышечным волокнами; 3 — складчатая постсинаптическая мембрана мышечного волокна.

на 1—2 мс. Однако в действительности из-за наличия межклеточного промежутка шириной более 500 Å и импеданса постсинаптической мембраны (фиг. 26 и 27) условия для распространения тока значительно хуже. Если удельное сопротивление промежутка имеет величину порядка 100 ом·см, то изменение потенциала в нем составит всего лишь 40 мкв. Тогда ток, входящий в мышечное волокно, будет ослаблен до величины порядка 10^{-11} а и сможет изменить его мембранный потенциал лишь на ничтожную величину (менее 1 мкв).

Несмотря на весьма ориентировочный характер приведенных расчетов, ясно, что отсутствие структурной непрерывности в рассмотренном нами синапсе делает электрическую кабельную передачу крайне маловероятной; импедансы нервных окончаний и мышечного волокна настолько «не согласованы», что даже в случае непрерывности цитоплазмы трудно было бы представить себе систему, менее приспособленную для электрической передачи сигналов!

Было сделано несколько попыток проверить это в эксперименте. Если на нерв вблизи его синапса воздействовать подпороговым током, он не вызывает заметного изменения местного потенциала в мышечном волокне [181] (см. также стр. 169). Когда возникает импульс, он распространяется до окончаний немиелинизированных веточек и возбуждает импульс в мышечном волокне. Если поместить микроэлектрод точно против синаптического контакта между нервом и мышцей, то можно зарегистрировать два отдельных электрических изменения (фиг. 28): сначала электрический ток, генерируемый импульсом в концевом разветвлении аксона, а затем, спустя 0,5—0,8 мсек, еще один такой же ток, который возникает в постсинаптической мембране [163, 164]. Эти два события не только разделены во времени; постсинаптическое изменение можно, кроме того, избирательно снять либо с помощью определенных веществ, например кураре, либо путем понижения концентрации кальция или повышения концентрации магния. Обнаруженная задержка в местах мионеврального контакта — явление постоянное и очень важное: оно ясно указывает на отсутствие электрической непрерывности в синапсе. Очевидно, кабельный процесс в пресинаптическом



Фиг. 28. Точечное отведение от поверхности нервно-мышечного соединения.

При недостатке кальция и повышенной концентрации магния постсинаптическое отклонение может отсутствовать («нулевая» реакция 1) или иметь вид «квантовой» реакции 2. В нормальных условиях происходит значительно большее отклонение 3, приводящее к мышечному спайку.

окончании прекращается, и какой-то иной, неэлектрический процесс служит промежуточным звеном между прибытием нервного импульса и возникновением электрического сигнала в мышечном волокне.

Химическая природа этого промежуточного процесса была раскрыта в работе сэра Генри Дэйла и его сотр. [18, 36], которые показали, что в результате раздражения двигательного нерва выделяется ацетилхолин и что это вещество оказывает очень сильное стимулирующее действие на скелетную мышцу. Для того чтобы установить роль ацетилхолина как химического передатчика, или медиатора, необходимо было показать: 1) что он выделяется из какого-то *пресинаптического* участка, 2) что он действует в каком-то *постсинаптическом* участке и 3) что количество его, выделяемое нервом, достаточно для инициации импульса в мышце.

Освобождение ацетилхолина пресинаптическими структурами

Известно, что двигательные нервные волокна и их окончания содержат ацетилхолин и ферментную систему (холинэстеразу), необходимую для синтеза этого вещества. В тканях содержится также мощный фермент, гидролизующий ацетилхолин. В области нервно-мышечного соединения, особенно на его постсинаптической поверхности, этот фермент — ацетилхолинэстераза — находится в высокой концентрации, и его присутствие легко можно выявить гистохимическими методами [34, 175]. Именно из-за этого фермента трудно продемонстрировать выделение ацетилхолина в циркулирующую или перфузионную жидкость, так как передатчик разрушается раньше, чем он попадает в собирающий сосуд. По этой причине Дэйл, Фельдберг и Фогт в своих классических экспериментах с перфузией вводили в систему ингибитор эстераз (эзерин); при этом условии ацетилхолин обнаруживался в перфузионной жидкости всякий раз, когда раздражали нерв.

Освобождение ацетилхолина вызывается импульсами в двигательных аксонах, а не активностью мышцы. Это было показано различными способами. При раздражении

хронически денервированной мышцы ацетилхолин не появляется [36]. Если же раздражать двигательный нерв в присутствии кураре, блокирующего активацию мышечных волокон, нервный импульс, приходящий в окончания аксона [163], вызывает освобождение обычного количества ацетилхолина [36, 70, 178]. При условии что импульсы доходят до нервных окончаний, ацетилхолин выделяется даже тогда, когда мышечные волокна перерезаны с обеих сторон от области концевых пластинок [214].

Вместе с тем выделение ацетилхолина сильно снижается и нервно-мышечная передача оказывается блокированной, если уменьшить концентрацию кальция или повысить концентрацию магния [39], несмотря на то что нервные импульсы приходят в двигательные окончания обычным образом [162, 165].

Количество ацетилхолина, которое можно собрать во время раздражения двигательного нерва, составляет, по оценке Крневича и Митчелла, несколько миллионов молекул на один импульс (в расчете на одну концевую пластинку). Аналогичные эксперименты с тем же общим результатом проводились и на других тканях (исследовали, например, освобождение ацетилхолина пресинаптическими структурами в симпатических ганглиях).

С помощью иного экспериментального подхода была сделана интересная попытка определить локализацию участков, в которых накапливается ацетилхолин в нервной ткани. Ткань головного мозга разделяли на фракции в высокоскоростной центрифуге и определяли содержание в них ацетилхолина, а также исследовали их в электронном микроскопе; наибольшая концентрация ацетилхолина была найдена в фракции, содержащей большое число изолированных нервных окончаний. Позже эта фракция была подвергнута дальнейшему анализу, и как Уитейкер [248], так и де Робертис [52] сообщили, что ацетилхолин содержится в пузырьках пресинаптических окончаний.

Все эти данные приводят к выводу, что ацетилхолин синтезируется и накапливается в двигательных нервных окончаниях, из которых он освобождается под действием нервного импульса, и что последующие события в мышце не прибавляют ничего существенного к процессу его выделения. Для этого механизма необходимы ионы кальция,

тогда как кураре производит свое блокирующее действие на более позднем этапе передачи возбуждения — по-видимому, на постсинаптической стороне.

Постсинаптическое действие ацетилхолина

Чтобы в некоторых отношениях имитировать действие нервного импульса, можно взять микропипетку (стр. 43), наполнить ее довольно концентрированным раствором ацетилхолина и подвести это вещество путем ионсфореза к постсинаптической области нервно-мышечного соединения. Если микропипетка подведена к синаптическому участку поверхности волокна, то для деполяризации мышечного волокна и возникновения в нем импульса достаточно очень малых количеств ацетилхолина — по оценкам ряда авторов [43, 290], всего лишь 10^{-16} — 10^{-15} моль. В нормальном мышечном волокне только область концевой пластинки столь чувствительна к ацетилхолину; если отодвинуть пипетку на какую-нибудь долю миллиметра, то потребуется значительно увеличить дозу, чтобы получить заметный эффект, а большая часть поверхности волокна, по-видимому, вообще нечувствительна к такому химическому раздражению. Как мы увидим позже, это состояние локально ограниченной чувствительности можно изменить экспериментальным путем; например, когда нерв перерезан и дегенерирует или после хирургического повреждения мышечного волокна химическая чувствительность распространяется вдоль поверхности волокна [205, 240, 241]. В период хронической денервации мышцы млекопитающего все волокно может приобрести высокую чувствительность к ацетилхолину. Для нас сейчас интересно прежде всего то, что ацетилхолин оказывает возбуждающее действие не только при наличии, но и при отсутствии пресинаптических аксонов, т. е. что для этого действия наличие нерва не обязательно.

Чувствительность мышцы к ацетилхолину можно сильно уменьшить с помощью ряда веществ, среди которых наибольшей известностью пользуется кураре (см. стр. 134). По-видимому, алкалоиды кураре (и многие другие соединения четвертичного аммония) химически конкурируют с ацетилхолином в отношении связывания с какой-то

реактивной молекулой мембраны (которую из-за недостаточности химических сведений обычно называют просто молекулой-рецептором). Этот процесс, вероятно, аналогичен конкурентному торможению ферментов: ацетилхолин играет роль нормального субстрата, а кураре — конкурентного ингибитора. Количественное изучение этих конкурентных отношений показывает, что они довольно хорошо согласуются с кинетическими уравнениями Михаэлиса — Ментен [149]. Важно то, что нервно-мышечную блокаду, вызываемую кураре, можно в основном или даже полностью объяснить постсинаптическим действием этого вещества, т. е. тем, что оно препятствует действию ацетилхолина. Это согласуется с выводом, сделанным в предыдущем разделе, о том, что кураре не влияет или мало влияет на освобождение ацетилхолина пресинаптическими структурами и что основная локализация его воздействия должна быть постсинаптической.

Действие ацетилхолина на синаптическую область мышечного волокна можно усилить с помощью разнообразных ингибиторов холинэстеразы. Например, если применить «сдвоенную» микропипетку с ацетилхолином в одном канале и быстродействующим ингибитором холинэстеразы тензилоном в другом, то определенная небольшая доза ацетилхолина вызовет гораздо более сильную и длительную деполяризацию мышечного волокна в том случае, когда ацетилхолин «защищен» от ферментативного гидролиза дозой тензилона из второго канала пипетки. Эта *потенциация* (т. е. усиление) действия ацетилхолина — эффект высокоспецифический и не наблюдается, если вместо ацетилхолина применить какой-нибудь устойчивый эфир холина (вроде карбамилхолина или декаметония). Эти вещества также деполяризуют поверхность концевой пластинки, но они не расщепляются местной тканевой эстеразой и поэтому ингибитор эстеразы не усиливает их действия.

Ввиду высокоспецифического потенцирующего эффекта ингибиторов холинэстеразы чрезвычайно важно было исследовать их действие на нервно-мышечную передачу. Это было сделано Брауном, Дэйлом и Фельдбергом [18], которые показали, что, когда эстеразу ингибируют эзерином, реакция мышцы на одиночный нервный импульс

становится более сильной и длительной. Потенциал действия в мышце начинает возникать повторно, и вместо одиночного сокращения появляется кратковременный тетанус. Однако объяснение этого результата оказалось более сложным, чем оно представлялось вначале. Мэсленд и Уигтон [201] и Фенг и Ли [84] показали, что в нервно-мышечном препарате млекопитающего (кошки) действие эзерина и других веществ, обладающих антихолинэстеразной активностью, не ограничено мышечным волокном и повторное возбуждение наблюдается также в концевых разветвлениях нерва. Таким образом, реакция на эзерин у кошки ставит нас перед довольно сложной ситуацией, в которой участвуют как пресинаптические, так и постсинаптические структуры, и становится очень трудно определить места первичного и вторичного действия ингибитора.

В экспериментах с мышцей лягушки подобных трудностей не встречается [84]; главный эффект ингибиторов холинэстераз при введении их в умеренных дозах состоит здесь просто в усилении и продлении постсинаптической деполяризации независимо от того, вызвана она нервным импульсом или введенным извне ацетилхолином. Антидромного нервного импульса не возникает, но удлинение потенциала концевой пластинки, т. е. изменение постсинаптического потенциала, выражено очень резко [79].

Такова в общих чертах фармакологическая характеристика нервно-мышечного соединения. Основные особенности ее совместимы с представлением о том, что ацетилхолин действует как передатчик возбуждения от нерва к мышце. При более детальном изучении действия фармакологических агентов обнаруживаются различные побочные эффекты; выяснилось, например, что кураре, ацетилхолин или эзерин в высоких концентрациях оказывают также некоторое влияние на нервные окончания и мышечные волокна и что большая доза кураре слегка тормозит холинэстеразную активность, тогда как большая доза эзерина блокирует рецепторы ацетилхолина. Ни одно из веществ не является «абсолютно» специфичным, но известная специфичность проявляется в различии относительных концентраций, при которых каждое из них производит определенный эффект. Поэтому не удивительно, что ве-

щество, конкурирующее с ацетилхолином за присоединение к ферменту, в более высокой концентрации может также конкурировать с ним за присоединение к молекуле-рецептору.

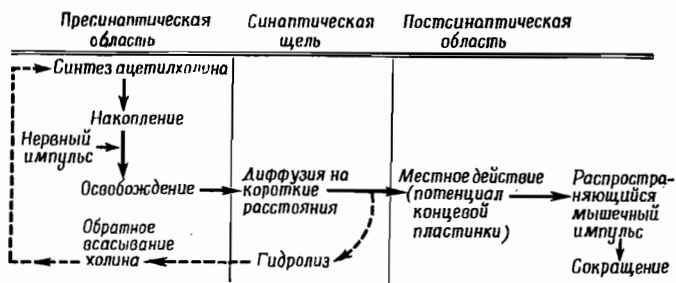
Достаточно ли освобождающегося количества ацетилхолина для возбуждения мышечного волокна?

На этот вопрос нельзя было бы ответить с помощью несложного эксперимента, вроде того, какой произвел Отто Лёви на сердце лягушки. Причина этого проста: освобождение и действие ацетилхолина в скелетных мышцах — процессы в высокой степени локализованные, они ограничены ничтожной долей объема перфузируемой ткани. Очень малое количество ацетилхолина высокоэффективно лишь сразу после его освобождения, пока он остается сконцентрированным в небольшом пространстве между нервной и мышечной мембранами. В результате диффузии ацетилхолин переходит в окружающую жидкость, где разбавляется до очень низкой концентрации, действие которой можно выявить только на более чувствительном препарате (стр. 135).

Наилучший способ состоит в сравнении количества ацетилхолина, освобождаемого одним импульсом в одной концевой пластинке, с количеством, необходимым для возбуждения мышечного волокна при микроинъекции ацетилхолина в концевую пластинку. Это, конечно, не совсем верное сравнение, так как при попытке собрать ацетилхолин путем перфузии неизбежны его потери и, что более существенно, еще не создан такой метод искусственного введения ацетилхолина, который был бы так же эффективен, как и нормальный процесс освобождения его из нервных окончаний. Микропипетку можно подвести очень близко к самому чувствительному участку концевой пластинки, но пресинаптическая мембрана нервного окончания расположена еще ближе. Кроме того, при нервном импульсе ацетилхолин освобождается в дискретных участках, распределенных по всей области синаптического контакта (стр. 160), а при выходе из тонкой микропипетки он насыщает только ту небольшую часть концевой пластинки, которая окажется ближе всего к кончику микро-

пипетки. Количества ацетилхолина, которые удается выделить в экспериментах с перфузией, составляют примерно $5 \cdot 10^6$ молекул на один импульс на одну концевую пластинку, тогда как для искусственного возбуждения мышечного волокна нужны количества порядка 10^7 — $5 \cdot 10^8$ молекул. Все, что можно сказать, — это то, что различие между этими цифрами не чересчур велико; оно даже поразительно мало, если учесть большую разницу в условиях эксперимента.

Процессы, происходящие при нервно-мышечной передаче, можно представить следующей схемой:



Мы уже упоминали о существовании в нервных окончаниях особой ферментной системы, ацетилирующей холин. По-видимому, непрерывное пополнение запасов холина в нервных окончаниях зависит главным образом от способности их всасывать холин из межклеточного пространства. Работы Бёркса и Макинтоша [11,12] показали, что при многократном раздражении симпатических ганглиев запас ацетилхолина в них быстро истощается, если их не снабжать непрерывно холином, растворенным в перфузионной жидкости. В нервных окончаниях имеется группа веществ, называемых *гемихолинами*, которые препятствуют поглощению холина; это приводит к постепенному истощению его внутриклеточного запаса, так что через небольшой промежуток времени передача импульсов становится невозможной.

Было высказано предположение, что быстрое всасывание холина осуществляет специфический транспортный механизм, встроенный в пресинаптическую мембрану, и

что постсинаптический гидролиз ацетилхолина выполняет две важные функции: он не только прекращает местное действие передатчика, но и дает свободный холин, который может быть вновь поглощен и использован для синтеза передатчика пресинаптическим окончанием.

Два этапа синаптической передачи из тех, которые были схематически показаны выше, исследованы достаточно подробно и получены количественные данные, представляющие общий интерес. Это, во-первых, пресинаптический механизм (нейросекреция), посредством которого нервный импульс приводит к освобождению из клетки специфического химического агента, и, во-вторых, постсинаптический механизм, с помощью которого это вещество изменяет свойства мембраны таким образом, что происходит деполяризация волокна, достаточная для возникновения распространяющегося импульса. Проблемы, связанные с последним механизмом, касаются не только всех синапсов химического действия, но и вообще всех тех рецепторных структур (например, хеморецепторов), в которых специфическое вещество вызывает в мембране изменение, ведущее к импульсу.

Постсинаптический процесс: природа потенциала концевой пластинки

Скелетные мышечные волокна обладают электрической возбудимостью такого же рода, что и нервные волокна. При надпороговой деполяризации мембраны возникает импульс, распространяющийся по всему волокну так, как было описано в гл. 5. Первоначальную деполяризацию можно вызвать искусственно (например, пропуская электрический ток от внутриклеточного электрода наружу через мышечную мембрану). Это называют *прямым* электрическим раздражением мышцы в отличие от нормального процесса *непрямой* активации через посредство двигательного нерва. Как уже было сказано (стр. 140), импульс, приходящий к нервным окончаниям, не имеет достаточной силы, чтобы деполяризовать мышечное волокно непосредственно своим током действия, и с целью преодолеть этот «тупик» нервные окончания секретируют химический медиатор — ацетилхолин. Будучи перенесено через синапти-

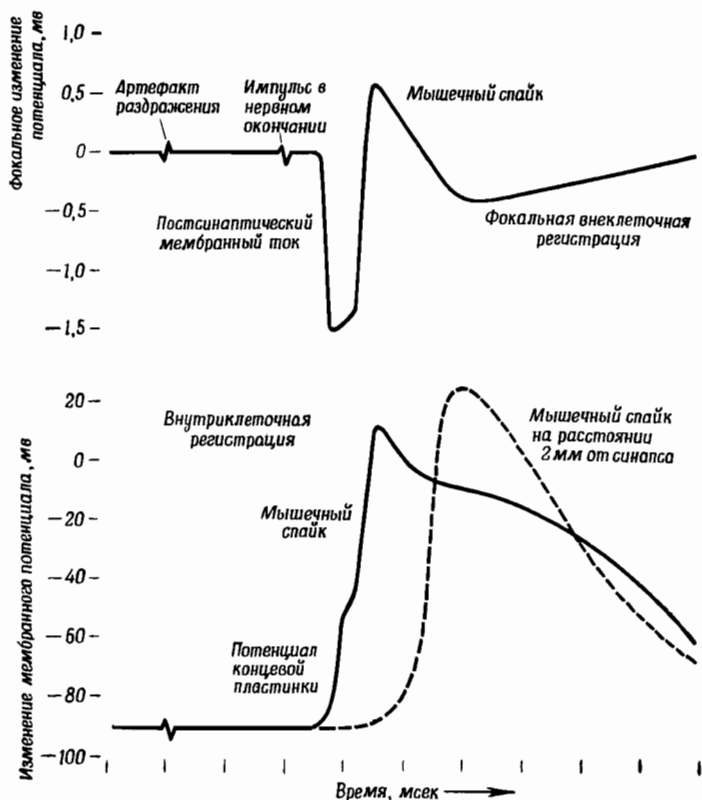
ческую щель (путем диффузии или, возможно, с помощью какого-то более специфического транспортного механизма), это вещество вызывает требуемую местную деполяризацию мышечного волокна.

Данные в пользу такого представления были получены путем регистрации изменений постсинаптического потенциала в нервно-мышечном соединении и сравнения локального эффекта нервного импульса с результатом местного воздействия ацетилхолина. После прибытия нервного импульса в мышечном волокне (мышца лягушки, 18°C) не регистрируется никаких электрических изменений примерно в течение $0,7$ мсек, и в этот период быстро развивается местная деполяризация, т. е. потенциал концевой пластинки, который за $0,5$ мсек успевает достичь порога возбуждения (фиг. 29). В этот момент возникает новый потенциал действия, распространяющийся от синапса с постоянной скоростью. При введении небольшой дозы кураре нервный импульс по-прежнему доходит до нервно-мышечного соединения, но последующий потенциал концевой пластинки оказывается уменьшенным. При достаточной дозе он не достигает порога возбуждения, и поэтому никакого потенциала действия в мышечном волокне не возникает. Если количество кураре продолжать увеличивать, потенциал концевой пластинки будет становиться все меньше и меньше и в конце концов его уже нельзя будет обнаружить. Как говорилось выше, блокирующая доза кураре не влияет или лишь незначительно влияет на освобождение ацетилхолина под действием нервного импульса [36]; но если ввести ацетилхолин в концевую пластинку и измерить вызванную этим местную деполяризацию, то окажется, что кураре сильно уменьшает ее — почти в такой же степени, как и потенциал концевой пластинки [47, 99].

Дальнейшим подтверждением явились результаты экспериментов с ингибиторами холинэстеразы. Такие мощные ингибиторы, как простигмин, эзерин, тензилон и т. п., вызывают большое увеличение амплитуды и длительности как потенциала концевой пластинки, так и искусственных «ацетилхолиновых потенциалов» [48, 99, 168], причем наблюдается хорошее количественное соответствие между обоими эффектами. Ввиду химической специфичности фер-

мента и малых концентраций ингибиторов, необходимых для получения таких результатов, эти данные нужно считать весьма вескими.

Наконец, существуют различные факторы, которые препятствуют выделению ацетилхолина нервными оконча-



Фиг. 29. Возникновение импульса в нервно-мышечном соединении [79, 163].

Нижние кривые показывают изменение мембранного потенциала в концевой пластинке (сплошная линия) и на расстоянии 2 мм от нее (пунктир). Верхняя кривая (обратить внимание на иной масштаб шкалы напряжения) приблизительно отражает ход изменений фокального поверхностного потенциала во времени,

ниями, но мало влияют непосредственно на чувствительность постсинаптической мембраны и не блокируют поступление импульсов в окончания аксона. К таким факторам относятся так называемый колбасный яд (токсин *Bacillus botulinus*) [17] и определенные изменения в ионной среде (понижение концентрации кальция и повышение концентрации магния). Под их влиянием потенциал концевой пластинки сильно уменьшается или исчезает, в то время как ацетилхолиновый потенциал (искусственно вызываемый путем местного воздействия ацетилхолином) практически не изменяется. Уменьшение потенциала концевой пластинки в каждом синапсе носит очень интересный характер: это изменение происходит «ступенчато», или «квантованно», что открывает неожиданную новую особенность механизма освобождения передатчика (см. ниже).

Учитывая все эти факты, можно, по-видимому, с полной уверенностью заключить, что потенциал концевой пластинки вызывается специфическим воздействием ацетилхолина. Те же эксперименты говорят нам, что это вещество не участвует в последующих электрических процессах — возникновении и распространении мышечного спайка. Для того чтобы удостовериться в этом, достаточно ввести микроэлектрод в мышечное волокно в области концевой пластинки и раздражать поочередно нерв и непосредственно мышечное волокно. Кураре и антихолинэстеразы в умеренных дозах, глубоко изменяющие электрическую реакцию на нервные импульсы, не будут оказывать никакого влияния на величину и быстроту подъема мышечного спайка, вызываемого прямым приложением тока, и не изменят при прямом раздражении ни уровень порога, ни подпороговые потенциалы.

Кинетика действия химического передатчика

После того как мы убедились, что первичное изменение потенциала, вызываемое в мышце нервным импульсом, обусловлено действием ацетилхолина, можно поставить вопрос о физико-химической основе этого действия.

В кураризированной мышце потенциал концевой пластинки имеет форму простой волны, которая поднимается

за 1 мсек и длится около 20 мсек. Она распространяется на несколько миллиметров вдоль поверхности волокна и, подобно всякому подпороговому изменению потенциала, искажается и ослабляется, поскольку мышечное волокно обладает свойствами кабеля с утечкой. Было изучено изменение этого потенциала во времени и распространение его по волокну; оказалось, что по прошествии первых нескольких миллисекунд изменение его представляет собой пассивный спад, определяемый просто кабельными константами мышечного волокна, скоростью «растекания» электрического заряда по его длине и утечкой заряда через поверхность волокна [67, 74, 79, 154, 179, 230].

Начальная активная фаза, во время которой передатчик реагирует с постсинаптической мембраной и деполяризует ее, длится около 5 мсек, причем большая часть активности приходится на первые 2—3 мсек. Эти цифры относятся к нормальной и к кураризированной мышце; после обработки ее каким-либо ингибитором холинэстеразы активный период продолжается гораздо дольше и передатчик может поддерживать местную деполяризацию мембраны в течение целых 100 мсек. В этих условиях количество ацетилхолина, освобождаемое при одном импульсе (около 10^{-17} моль), вызывает переход через постсинаптическую мембрану примерно 10^{-7} кулон электрического заряда (что соответствует суммарному переходу не менее 10^{-12} моль одновалентных ионов).

Как осуществляется такое большое усиление местного тока (или ионного потока)? В простой форме на этот вопрос можно ответить следующим образом: ацетилхолин реагирует с рецепторными молекулами в постсинаптической мембране и так изменяет ее свойства, что она становится высокопроницаемой для небольших ионов (например, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ и ряда ионов четвертичного аммония R_4N^+); это сопровождается снижением сопротивления мембраны и возникновением ионного тока через «активированный» участок поверхности. Величина этого эффекта возрастает с увеличением локальной концентрации ацетилхолина и числа доступных молекул рецептора. Поэтому она будет наибольшей тогда, когда ацетилхолин выделяется в непосредственной близости к рецепторам, когда исключен его местный ферментативный гидролиз и, конечно, когда

отсутствует конкурирующий агент типа кураре, блокирующий доступ ацетилхолина к рецепторам.

Деполаризация (например, в форме потенциала концевой пластинки), вызываемая в норме ацетилхолином, происходит в результате поглощения волокном ионов натрия; но, так как одновременно увеличивается проницаемость мембраны для калия, переход ионов К изнутри наружу не дает потенциалу концевой пластинки перейти за нулевой уровень. Однако при смещении мембранного потенциала мышечного волокна более чем на 10—20 мВ с отрицательным сдвигом внутри этот потенциал (и вызывающий его ионный ток) изменяет свой знак. На практике это проще всего показать в эксперименте со «столкновением», в котором вызывают непосредственным раздражением мышечный спайк, смещающий мембранный потенциал с -90 до $+35$ мВ, и одновременно в нерве возбуждают импульс с таким расчетом, чтобы он дошел до концевой пластинки и вызвал освобождение ацетилхолина в заданные моменты во время прохождения мышечного импульса [40—42]. Таким способом и было найдено, что нулевая точка потенциала концевой пластинки лежит в области между -10 и -20 мВ. Ниже этого уровня (т. е. ближе к потенциалу покоя) в результате воздействия ацетилхолина суммарный ток течет через мембрану *внутрь* и поэтому деполаризует волокно; выше этого уровня суммарный ток направлен наружу и потенциал изменяется в обратную сторону по сравнению с нормальным потенциалом концевой пластинки. Эти выводы были подтверждены во многих других экспериментах (например, со смещением мембранного потенциала при помощи постоянного тока и искусственным введением ацетилхолина [6] и с фиксацией напряжения (см. стр. 103), использованной для прямого определения суммарного ионного тока [232].

Точка инверсии знака для тока концевой пластинки (около -15 мВ) очень существенно отличается от потенциала «натриевого равновесия» E_{Na} (приблизительно $+50$ мВ.) Истолковать этот факт помогает электрическая модель мембраны, показанная на фиг. 16. Нулевая точка потенциала концевой пластинки не соответствует равновесному потенциалу какого-либо одного из трех главных ионных каналов, но наблюдаемое положение нулевой точки

можно было бы объяснить, если бы под действием передатчика открывались одновременно несколько каналов, например для Na и K или для Na, K и Cl. Эту проблему тщательно изучали А. Такеучи и Н. Такеучи [231, 232] в экспериментах, в которых они по отдельности изменяли концентрацию каждого из трех ионов в среде и выясняли, как это влияет на положение нулевой точки. Они пришли к выводу, что передатчик — ацетилхолин — повышает проницаемость концевой пластинки для Na и K одновременно и примерно в одинаковой степени, но совсем или почти совсем не изменяет ее проницаемость для иона хлора.

Был открыт еще один важный факт: оказалось, что изменение ионной проницаемости или проводимости, вызываемое передатчиком, не зависит от мембранного потенциала мышечного волокна [79, 23, 231, 232]. Иными словами, данное количество ацетилхолина вызывает местный ток, величина которого прямо пропорциональна $(E-15)$ мВ, где E — трансмембранная разность потенциалов (наружный потенциал минус внутренний). Это опять-таки отличает механизм действия химического медиатора от механизма электрического возбуждения, при котором изменение ионной проницаемости существенно зависит от уровня мембранного потенциала (и поэтому может стать регенеративным).

Действие ацетилхолина на электрические свойства двигательной концевой пластинки сравнивали с введением «шунта» или «коротким замыканием» между обеими сторонами мембраны. Это довольно удачное сравнение, так как в нормальных условиях передатчик смещает мембранный потенциал в сторону деполяризации, к низкой величине, приблизительно соответствующей диффузионному потенциалу, который мог бы быть достигнут, если бы мембранный барьер был в каком-то месте разрушен. Но мы теперь знаем, что в действительности ионная проницаемость активной концевой пластинки повышается не для всех ионов, хотя для различных мелких ионов она повышена почти одинаково. Это можно было бы представить себе как образование ионных каналов, «белковая выстилка» которых несет фиксированные отрицательные заряды и тем препятствует прохождению анионов.

В мышце лягушки передатчик, несомненно, производит мощный эффект закорачивания. Он быстро деполяризует мышечную мембрану до порогового уровня и во время вызванного этим спайка даже противодействует инверсии знака мембранного потенциала. При регистрации электрических явлений в области активной концевой пластинки обнаруживается сложная последовательность изменений потенциала (фиг. 29), являющихся общим результатом двух взаимодействующих процессов: 1) действия передатчика (одновременное повышение натриевой и калиевой проводимости), под влиянием которого мембранный потенциал смещается до -15 мв и удерживается на этом уровне в течение 1—2 мсек, и 2) возникновения потенциала действия (последовательное повышение сначала натриевой, а потом калиевой проводимости), который быстро поднимается до $+50$ мв и затем возвращается к уровню покоя. Эти два процесса происходят в смежных участках одной и той же клеточной мембраны и создают комбинированный эффект, который можно подвергнуть анализу и разделить на составляющие при помощи упомянутых выше экспериментов «со столкновением». Было измерено также сопротивление мембраны во время этих изменений. Оказалось, что передатчик вызывает очень большое повышение проводимости мембраны, независимое от того, которое происходит при спайке, вызванном прямым раздражением, и добавляющееся к нему. По своему электрическому эффекту воздействие передатчика поистине эквивалентно кратковременному «проколу» мембраны, открывающему путь для ионов с проводимостью $2-3 \cdot 10^{-5}$ мо [42, 79].

Квантовая природа химической передачи

Спонтанное освобождение ацетилхолина как квантованный нейросекреторный процесс

В предыдущей главе говорилось о том, что синаптическая область мембраны мышечного волокна является чрезвычайно чувствительным «детектором» малых количеств ацетилхолина. Это ее свойство можно выявить с помощью микроэлектродов, даже не производя вообще никакого раздражения мышцы. В 1950 г. Фэтт и Катц [78] обнаружили, что в синаптической области изолированной «покоящейся» мышцы спонтанно появляются очень малые потенциалы с амплитудой около 0,5 мВ, которые возникают в случайные моменты времени со средней частотой около одного в секунду.

Отдельные разряды возникают в строго ограниченных «точечных» участках, разбросанных вдоль концевых синаптических разветвлений аксона. Эти электрические изменения эквивалентны мгновенному местному повышению мембранной проводимости примерно на 10^{-7} мо и связанному с ним импульсу тока (направленного внутрь) силой около 10^{-8} а [46, 232]. Амплитуда возникающего при этом изменения потенциала варьирует в зависимости от толщины мышечного волокна. Чем тоньше волокно, тем выше его входной импеданс и, следовательно, тем сильнее деполяризация, вызываемая данным импульсом тока [167].

Кроме того, что эти разряды возникают спонтанно и беспорядочно и очень слабы, они, по-видимому, ничем не отличаются от потенциалов концевой пластинки, вызываемых нервными импульсами; например, кураре также подавляет их, а ингибиторы холинэстеразы увеличивают их амплитуду и длительность при тех же дозах и примерно в такой же степени. Их называют *миниатюрными* потен-

циалами концевой пластинки [80], и почти нет сомнения в том, что они обусловлены локальным воздействием очень малых количеств ацетилхолина на небольшие участки постсинаптической мембраны. Это явление отмечено у позвоночных в нервно-мышечных соединениях всех типов; как выяснилось, сходные спонтанные потенциалы возникают и в межнейронных синапсах центральной нервной системы, где химические передатчики еще не идентифицированы [160].

В нормальных условиях все миниатюрные потенциалы много ниже порога возбуждения мышечного волокна и поэтому остаются локализованными и не вызывают сокращения. Но когда их амплитуда увеличивается под влиянием ингибиторов холинэстеразы, они в некоторых волокнах изредка поднимаются выше порогового уровня и приводят тогда к видимым самопроизвольным сокращениям.

Хотя все эти эффекты регистрируются в постсинаптической области — в мышечном волокне, — ясно, что мышечная концевая пластинка служит просто чувствительным детектором процесса секреции ацетилхолина двигательными нервными окончаниями. Об этом свидетельствует целый ряд наблюдений. Во-первых, спонтанная местная активность исчезает через несколько дней после перерезки двигательного нерва — в то же время, когда происходит распад нервных окончаний¹. Во-вторых, колбасный яд, необратимо блокирующий выделение ацетилхолина из нервных окончаний, также вызывает исчезновение миниатюрных потенциалов концевой пластинки [17, 240, 241]. Наконец, их частота непосредственно контролируется мембранным потенциалом нервных окончаний, но не потенциалом мышечного волокна [40, 41].

Таким образом, имеются очень веские данные, свидетельствующие о том, что двигательные нервные окончания даже в «покое» находятся в состоянии спорадической «секреторной активности» и выделяют небольшие количества ацетилхолина со случайными интервалами и средней час-

¹ У лягушки за этим периодом следует возобновление спонтанной активности, но разряды возникают с очень малой частотой. Это сопровождается, а быть может, и вызывается местной пролиферацией терминальных шванновских клеток, которые устанавливают «синаптические контакты» с мышечным волокном [10, 207].

тотой около одной порции в секунду. Нервный импульс на короткое мгновение очень сильно повышает эту активность, так что менее чем за 1 мсек происходит несколько сотен такого рода единичных событий¹.

Естественно, что выдвигалось немало гипотетических соображений относительно возможной функции спонтанной микросекреции передатчика нервными окончаниями. Высказывали, например, предположение, что таинственное «трофическое» влияние, с помощью которого нейрон регулирует возбудимость и метаболизм иннервируемого им мышечного волокна, осуществляется путем непрерывной секреции ацетилхолина даже при отсутствии нервных импульсов. Но фактические данные совсем не говорят в пользу такого представления [206]. В сущности все, что можно сейчас сказать, — это то, что некоторое количество вещества-передатчика, непрерывно синтезируемого и накапливающегося в нервных окончаниях, «прорывается» в синаптическое межклеточное пространство и вызывает небольшие, но доступные для выявления сдвиги постсинаптического потенциала.

Возник вопрос, не обусловлены ли спонтанные разряды утечкой ацетилхолина из нервных окончаний путем диффузии отдельных молекул. Это было быстро исключено, когда испытали действие ацетилхолина при его местном введении. Небольшая доза ацетилхолина, подведенная к концевой пластинке с помощью ионофореза или к более обширному участку путем диффузии из окружающей среды, вызывает местную деполяризацию, величина которой зависит от дозы, а изменение во времени — от расстояния и

¹ Изменение проводимости мембраны, связанное с каждым из этих событий, ограничено очень малым участком (площадью несколько квадратных микронов; см [163]). Следовательно, в таком участке постсинаптической мембраны должно происходить очень большое изменение ионной проницаемости. В случае равномерного изменения на площади 10 мк^2 при величине $\Delta g = 10^{-7} \text{ мо}$ [45, 46, 232] сопротивление R_m измененного участка мембраны будет составлять всего лишь $1 \text{ ом} \cdot \text{см}^2$. Возможно, что площадь еще меньше, и тогда эффект будет еще большим. (Теоретический предел устанавливается значением, к которому стремится сопротивление мембраны с небольшим «отверстием» ($R_m=0$). При удельном сопротивлении окружающей среды $100 \text{ ом} \cdot \text{см}$ отверстие диаметром $0,1 \text{ мк}$ обладало бы сопротивлением 10^7 ом .)

быстроты внесения передатчика. Потенциалы, возникающие под действием одной или нескольких молекул ацетилхолина, явно находятся далеко за пределами разрешающей способности применяемого метода регистрации, и приходится заключить, что такие дискретные изменения потенциала, как миниатюрные потенциалы концевой пластинки, могут вызываться только воздействием целой порции ацетилхолина, содержащей много (возможно, тысячи) молекул. Кроме того, эта порция должна быть сильно сконцентрирована и выброшена очень близко к рецепторам, ибо длительность вызываемой ею реакции (импульса тока) очень мала и несовместима с диффузией на расстояние более ~ 1 мк.

Таким образом, мы имеем здесь дело не с «молекулярной утечкой», а со спонтанным квантованным освобождением, при котором сконцентрированные многомолекулярные порции ацетилхолина выделяются в случайные моменты времени по типу «все или ничего» из дискретных точек концевой мембраны аксона. Это «квантовые» события типа «все или ничего» на субклеточном уровне; они совершенно отличны от потенциала действия, при котором реакция типа «все или ничего» охватывает каждый раз целую клетку.

Высказывали предположение [78], что малые участки концевых разветвлений аксона могут давать электрические разряды спонтанно (быть может, в результате случайных флуктуаций их мембранного потенциала) без обязательного распространения импульса в более крупные ветви аксона. Однако это трудно согласовать с тем фактом, что спонтанные миниатюрные потенциалы концевой пластинки, возникающие в близких точках одной и той же концевой веточки аксона (скажем, на расстоянии 10—15 мк друг от друга), не синхронизованы (как это было бы в случае индукции их местным потенциалом действия), а появляются совершенно независимо [163]. Как бы то ни было, такое объяснение отпало, когда было установлено, что спонтанная активность концевой пластинки продолжается даже после деполяризации нервов и мышц в растворе с высоким содержанием калия и при исключении из среды натрия, т. е. в условиях, при которых электрическая возбудимость полностью уничтожается [44].

Другое предположение состояло в том, что квантованное освобождение передатчика обусловлено активацией какой-то специфической молекулы, действующей как своего рода «ацетилхолиновые ворота» в пресинаптической мембране, которые на момент открываются и позволяют некоторому количеству ацетилхолина выйти наружу. Это еще не исключено, но некоторые соображения делают такую гипотезу сомнительной. Если бы это было так, то *величина* кванта ацетилхолина определялась бы длительностью некоторого процесса, протекающего в мембране аксона, а именно временем, в течение которого «ворота открыты» или молекула, переносящая ацетилхолин, находится в активированном состоянии. Однако многочисленные эксперименты [14, 40, 164, 165, 186, 187, 197] ясно показали, что изменения мембраны, связанные с нервным импульсом, не влияют на величину кванта. Единственное, что при этом *действительно* изменяется, — это частота, или вероятность выделения порции медиатора (она возрастает в несколько сот тысяч раз). Точно так же и деполяризация нервных окончаний, вызываемая приложением тока, повышает частоту, но не влияет на амплитуду миниатюрных потенциалов. Таким образом, величина квантов ацетилхолина остается постоянной, несмотря на большие различия в состоянии клеточной мембраны, через которую они выделяются. Это сделало гипотезу о роли «переносящей системы» или «ворот» в мембране малопривлекательной и навело на мысль, что структурный коррелят миниатюрных потенциалов лучше искать не в поверхностной мембране, а среди других компонентов клетки.

Тем временем с помощью электронного микроскопа были открыты характерные пресинаптические «пузырьки», и естественно возникло предположение, что это и есть те внутриклеточные частицы, в которых сохраняется передатчик и из которых он освобождается дискретными порциями по типу «все или ничего». По-видимому, можно представить себе, что при некоторых столкновениях между пузырьками и поверхностью аксона их мембраны «прорываются» и содержимое пузырька изливается в синаптическую щель.

Частота такого процесса должна была бы зависеть от двух факторов: 1) от частоты столкновений и 2) от числа

реактивных молекул в мембранах пузырьков и аксона. Огромное увеличение скорости секреции во время импульса можно было бы объяснить, если бы число реактивных участков в мембране аксона увеличивалось в 10 раз при деполяризации на 15 мВ [187].

Статистическая микроструктура потенциала концевой пластинки

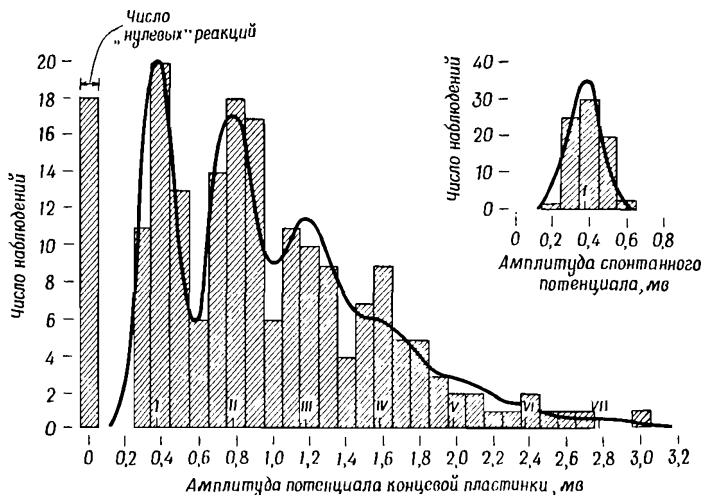
Современное представление о механизме выделения передатчика в значительной степени опирается на одно фундаментальное открытие, а именно на то, что спонтанный миниатюрный потенциал концевой пластинки вместе с лежащим в его основе изменением мембранной проводимости является элементарной единицей действия передатчика и что большой потенциал, возникающий под влиянием нервного импульса, складывается из целого числа таких элементарных компонентов.

Эта концепция получила убедительное подтверждение, когда выяснилось, что число таких компонентов, составляющих реакцию в одном нервно-мышечном соединении, можно изменять, варьируя наружные концентрации магния и кальция. Кальций служит необходимым «кофактором»: без него деполяризация нервных окончаний не приводит к увеличению секреции ацетилхолина. Магний конкурирует с кальцием и действует как ингибитор этого процесса.

Если понизить концентрацию кальция в среде и добавить магний, то количество выделяемого при одном импульсе ацетилхолина можно довести до очень низкого уровня, и при этом сразу выявляется статистический характер микроструктуры реакции концевой пластинки. Снижение потенциала оказывается *ступенчатым*, что соответствует отпадению отдельных миниатюрных «единиц». Когда число составляющих реакцию элементов невелико, у потенциалов, вызываемых последовательными импульсами, обнаруживаются заметные случайные флуктуации амплитуды, и в отдельных случаях реакция полностью выпадает.

Различными группами исследователей был произведен статистический анализ таких реакций. Рассмотрим в ка-

честве примера работу Бойда и Мартина [14]. Производилась регистрация потенциалов отдельной концевой пластинки — сначала была записана серия из 78 спонтанных миниатюрных потенциалов, а затем 198 реакций на оди-



Фиг. 30. Гистограммы амплитуд вызванных и спонтанных (вверху справа) потенциалов концевой пластинки млекопитающего [14]. Пики в распределении амплитуд вызванных потенциалов соответствуют амплитудам, кратным среднему значению ($0,4$ мв) амплитуды спонтанных миниатюрных потенциалов. К гистограмме спонтанных миниатюрных потенциалов была подобрана гауссова кривая и на ее основе вычислено теоретическое распределение вызванных потенциалов концевой пластинки. Слева указано ожидаемое число «нулевых» реакций.

ночные нервные импульсы, повторяющиеся с интервалом в несколько секунд. Амплитуды всех потенциалов были измерены и представлены на гистограмме (фиг. 30). Средняя величина спонтанных потенциалов составляла $0,4$ мв со стандартным отклонением $\pm 0,086$ мв. Амплитуды индивидуальных реакций на импульсы флуктуировали в гораздо большей степени. В 18 случаях реакция полностью отсутствовала («нулевая» реакция), а в остальных потенциал варьировал в пределах от $0,3$ до $3,0$ мв. В пределах этих величин был обнаружен ряд пиков, ясно выраженных

в областях 0,4, 0,8 и 1,2 мв. Среднее значение амплитуды, вычисленное с учетом всех реакций (включая 18 «нулевых»), составляло 0,933, т. е. было в 2,33 раза больше среднего спонтанного потенциала.

Таков «сырой» материал. Применяя закон Пуассона, проверим правильность следующих предположений: 1) что каждая реакция складывается из целого числа (0, 1, 2 и т. д.) единиц, средняя величина и дисперсия которых идентичны средней величине и дисперсии спонтанных потенциалов, и 2) что каждая «элементарная реакция» (т. е. освобождение одного кванта) представляет событие с очень малой статистической вероятностью p (т. е. $p \ll 1$). Иными словами, каждый импульс, приходящий в нервные окончания, вызывает освобождение небольшого числа порций ацетилхолина из очень большого числа возможных; для каждой отдельной порции вероятность освобождения все время остается очень малой и не зависит от освобождения любой другой порции.

Если эти предположения верны, то должна быть применима теорема Пуассона, с помощью которой можно установить, как должны распределяться наши 198 импульсов по числу освобожденных ими порций ацетилхолина, т. е. в каком числе случаев можно ожидать освобождения 0, 1, 2 и т. д. порций. Закон Пуассона говорит нам, что если *среднее* число порций, освобождаемых одним импульсом, равно m , то вероятность p того, что будет освобождено любое данное число x (0, 1, 2, ...) порций, определяется по формуле

$$p_x = \frac{m^x}{x!} e^{-m}.$$

Для достаточно большого числа наблюдений N (в нашем случае 198) величина Np_x должна быть близка к действительно наблюдаемому числу реакций, связанных с освобождением x квантов и, следовательно, образованных суммированием x миниатюрных потенциалов¹.

Таким образом, если мы знаем среднее число m порций ацетилхолина, освобождаемых при одном импульсе, то мы можем рассчитать число реакций, состоящих из 0, 1,

¹ Обратите внимание на то, что здесь фигурируют два различных вида чисел: x — число квантов, освобождаемых одним импульсом, и n_x — число импульсов, освобождающих x квантов.

2, ... , x единиц. Если верно предположение (1), то средняя величина m для нашей серии из 198 реакций определяется выражением¹

$$m = \frac{\text{Средняя амплитуда реакции}}{\text{Средняя амплитуда спонтанных потенциалов}} = \frac{0,933 \text{ мв}}{0,4 \text{ мв}} = 2,33. \quad (9)$$

Согласно теореме Пуассона, наши реакции должны распределяться следующим образом:

	Наблюдалось фактически
$n_0 = 198e^{-m} = 19$	18
$n_1 = mn_0 = 44$	44*
$n_2 = \frac{m}{2} n_1 = 52$	55
$n_3 = \frac{m}{3} n_2 = 40$	36
$n_4 = \frac{m}{4} n_3 = 24$	25
$n_5 = \frac{m}{5} n_4 = 11$	12
$n_6 = \frac{m}{6} n_5 = 5$	5
$n_7 = \frac{m}{7} n_6 = 2$	2
$n_8 = \frac{m}{8} n_7 = 1$	1
$n_9 = \frac{m}{9} n_8 = 0$	0

* Эта и все последующие цифры не совсем точны; они были получены в результате деления гистограммы (фиг. 30) на ряд последовательных интервалов, центрированных около амплитуд, кратных 0,4 мв.

¹ Это простое выражение можно применять только при условии, что m мало и величина реакции не превышает нескольких милливольт. Для более сильных реакций должна быть введена поправка, так как в отличие от квантованных изменений проводимости миниатюрные потенциалы остаются линейно аддитивными лишь в ограниченных пределах. Для того чтобы учесть это, нужно умножить правую часть выражения (9) на $1/(1 - v/75)$, где v — средняя амплитуда реакций в милливольт [197].

Простым и прямым критерием правильности теории может служить число нулевых реакций n_0 . Если сосчитать число положительных и нулевых реакций и определить *средние* амплитуды вызванных и спонтанных потенциалов (при большом числе наблюдений это надежная процедура, дающая точный ответ), то это дает нам два независимых способа определения m : во-первых, из выражения (9) и, во-вторых, из формулы закона Пуассона, согласно которой

$$e^{-m} = \frac{n_0}{N} = \frac{\text{Число нулевых реакций}}{\text{Число импульсов}}. \quad (10)$$

Таким образом,

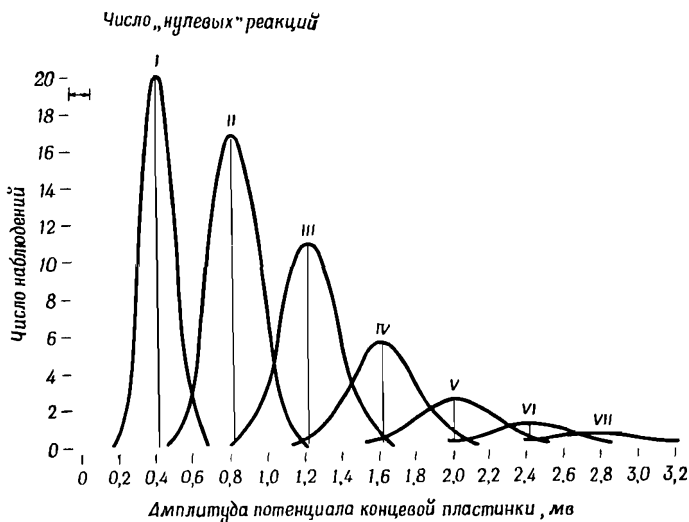
$$\begin{aligned} \frac{\text{Средняя амплитуда реакции}}{\text{Средняя амплитуда спонтанных потенциалов}} &= \\ &= \ln \frac{\text{Число импульсов}}{\text{Число нулевых реакций}}. \end{aligned} \quad (11)$$

В нашем примере величина m , найденная из выражения (9), равна $0,933 \text{ мв}/0,4 \text{ мв} = 2,33$, а выражение (10) дает $m = 198/18 = 2,4$.

Уравнение (11) проверялось рядом исследователей для широкого диапазона значений потенциала в опытах с нервно-мышечными препаратами лягушки и млекопитающих и во всех случаях было найдено превосходное согласие с теорией [14, 40, 186, 187].

Формулу Пуассона можно также применить и к более подробной гистограмме амплитуд (фиг. 30). Сделать это немного сложнее, так как сама величина миниатюрного «элементарного» потенциала несколько варьирует: чем больше число x таких элементарных компонентов, тем большей должна быть статистическая изменчивость наблюдаемых амплитуд. Однако построить на основе чисел Пуассона (т. е. $n_1, n_2, \dots, n_x$) гистограмму амплитуд совсем не трудно; нужно просто следовать четкому статистическому правилу, проиллюстрированному на фиг. 31. Мы строим отдельную гистограмму для каждого распределенного по Пуассону числа квантов x , а затем складываем их вместе. Отдельные гистограммы определяются тремя параметрами: общим числом попадающих в данный класс реакций n_x , их средней амплитудой vx , где v — средняя амплитуда

спонтанных потенциалов, и дисперсией σ^2x , где σ — стандартное отклонение миниатюрного потенциала (предполагается нормальное распределение этих потенциалов).



Фиг. 31. Метод получения кривой, проведенной на фиг. 30 [14]. Было вычислено распределение Пуассона для средней величины m (средняя амплитуда вызванных потенциалов концевой пластинки, деленная на среднюю амплитуду спонтанных потенциалов). Найденные по этому закону вероятности в свою очередь были заменены гауссовыми распределениями, центрированными относительно величин, кратных средней амплитуде спонтанных потенциалов (см. фиг. 30). Алгебраическое суммирование ординат дает кривую, показанную на фиг. 30.

Мы подробно описали процедуру статистического анализа, так как его результат позволяет с полной уверенностью утверждать, что 1) миниатюрный потенциал концевой пластинки представляет собой «квант действия» в нервно-мышечном синапсе и 2) величина порции ацетилхолина остается одной и той же при всех условиях — как при спонтанной секреции в периоды полного покоя двигательного аксона, так и во время пика активности его мембраны, когда к двигательным окончаниям приходит импульс.

Освобождение ацетилхолина как форма нейросекреции, контролируемая электрическими изменениями

Конечный эффект, вызываемый нервным импульсом, состоит в большом увеличении интенсивности нейросекреторного процесса, все время протекающего спонтанно, и проявляется в изменениях постсинаптического потенциала. Миниатюрные потенциалы концевой пластинки служат чувствительным индикатором скорости, с которой происходит выделение порций ацетилхолина, и поэтому изучение факторов, определяющих частоту миниатюрных потенциалов, должно пролить свет на механизм этого процесса.

Был установлен один важный факт, что при деполяризации нервных окончаний путем приложения тока и повышения концентрации калия частота импульсации градуально увеличивается [41, 156, 159]. Этот эффект количественно исследовал Лайли [187], который заключил, что частота миниатюрных потенциалов при деполяризации возрастает экспоненциально, увеличиваясь в 10 раз при снижении разности потенциалов на 15 мВ. Лайли указал, что если экспоненциальная зависимость существует на всем протяжении нарастания и спада потенциала действия в концевом участке аксона и если освобождение ацетилхолина следует за изменением пресинаптического потенциала без задержки во времени, то это вполне могло бы объяснить возникновение нормального потенциала концевой пластинки, т. е. освобождение нескольких сот квантов за долю миллисекунды.

Кальций и магний изменяют величину показателя в экспоненте. Кальций увеличивает, а магний уменьшает эффект данной деполяризации [40, 41], что позволяет объяснить их влияние на освобождение ацетилхолина нервными импульсами. Гипотеза Лайли имеет много привлекательных сторон, но она основана на довольно широкой экстраполяции данных, охватывающих лишь сравнительно узкий интервал изменений потенциала. Роль деполяризации как одного из факторов, регулирующих процесс выделения ацетилхолина, несомненна, но количественные и временные отношения здесь требуют дальнейшего изучения¹.

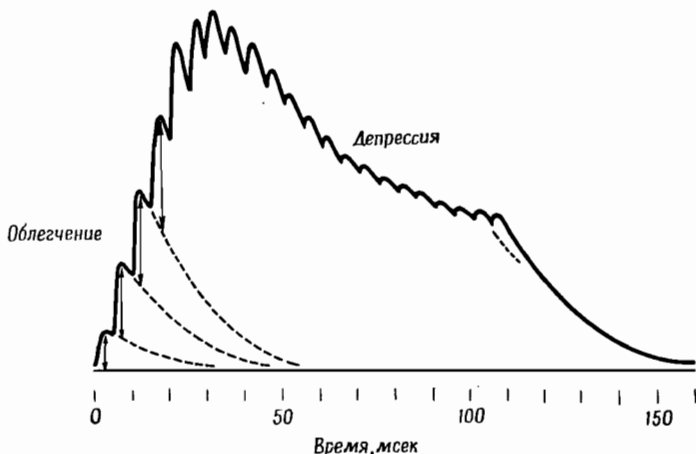
¹ Недавняя работа Катца и Миледи [164] показала, что фактически существует измеримая временная задержка между прибытием потенциала действия и освобождением передатчика.

Эти эксперименты дали интересный побочный результат. Пропуская через концевой участок нерва электрический ток, можно деполяризовать нервные окончания в такой степени, что выход ацетилхолина и частота миниатюрных потенциалов увеличатся в 100 раз или больше (для чего, по оценке Лайли, требуется деполяризация более чем на 30 мв). И тем не менее постоянный сдвиг потенциала ни в малейшей мере не передается мышечному волокну; все, что можно зарегистрировать, — это миниатюрные потенциалы, частота которых во время пропускания тока возрастает. В такого рода наблюдениях очень ясно обнаруживаются особые свойства нервно-мышечного соединения, в котором кабельная передача полностью заменена квантованной секрецией химического медиатора. Скорость его освобождения регулируется электрическими изменениями в нервном окончании, и он деполяризует постсинаптическую мембрану путем специфического химического воздействия.

Кумулятивные эффекты повторных нервных импульсов

До сих пор мы ограничивались рассмотрением элементарных процессов, связанных с прибытием к синапсу и передачей одиночных двигательных нервных импульсов. Но одна из характерных особенностей синапса состоит в том, что его «передаточная способность» в отличие от относительного постоянства нервного импульса подвержена очень большим изменениям, многие из которых вызываются медленно затухающими эффектами последствия предшествующих импульсов. Например, в кураризированной мышце лягушки амплитуда потенциалов концевой пластинки, вызываемых повторными нервными импульсами, вначале растет (второй потенциал может быть почти вдвое больше первого), достигает максимума после 6—10 разрядов и затем постепенно уменьшается. Начальное увеличение отдельных потенциалов (фиг. 32) называют «облегчением», а постепенное уменьшение их известно под различными названиями вроде «нервно-мышечной депрессии» или «торможения Введенского». Еще один хорошо известный феномен — это так называемая «постактивационная потенциация», т. е. длительное увеличение передаточной силы отдельных импульсов, наблюдаемое *после* периода интен-

сивной активности нерва. Все это важные модификации синаптического процесса, и с ними могут быть связаны более чем 10-кратные различия в величине потенциала концевой пластинки. Статистический анализ типа описанного на стр. 164 показал, что эти различия возникают на пресинаптической стороне и что они зависят от большего или



Фиг. 32. Последовательные изменения постсинаптических потенциалов (например, потенциалов концевой пластинки) во время бомбардировки повторными импульсами. Кривая иллюстрирует явления облегчения и последующей депрессии.

меньшего *числа* освобождаемых квантов ацетилхолина, в то время как величина кванта не изменяется. Возможно, что относительно небольшие изменения в амплитуде нервного спайка и локальные колебания концентрации ионизированного кальция могли бы вызывать значительные изменения в количестве освобождающегося передатчика.

Дель Кастильо и Катц [45] в обзоре по этому вопросу указывают, что все полученные до сих пор экспериментальные данные об изменении выхода ацетилхолина затрагивали число, но не величину дискретных порций. Однако авторы высказали предположение, что их *величину* можно было бы, вероятно, уменьшить путем подавления механизма внутриклеточного синтеза ацетилхолина.

Выдвигалась гипотеза о том, что ацетилхолин синтезируется в нервных окончаниях одними частицами (микро-сомами), а накапливается в других (возможно, в пузырьках), из которых освобождается путем процесса типа «все или ничего». Представим себе, что «пузырьки» аккумулируют ацетилхолин из окружающей цитоплазмы, где содержание его невелико, и в значительной степени концентрируют его, после чего он готов для освобождения. Это было бы весьма эффективным механизмом для выделения большого количества передатчика из очень малого участка концевой мембраны аксона. Однако концентрация ацетилхолина в пузырьках зависела бы от содержания его в окружающей их среде (совершенно так же, как концентрация калия в мышечном волокне зависит от уровня его во внешней среде). Предположим, что накопление передатчика сравнимо по своей скорости и эффективности с аккумуляцией калия мышечной клеткой; тогда если в случае мышечного волокна толщиной 100 мк для достижения равновесия требуется время порядка часов, то для пузырька диаметром 500 Å достаточно было бы нескольких секунд. Исходя из этого, можно ожидать, что величина кванта ацетилхолина и миниатюрных потенциалов будет зависеть от непрерывного внутриклеточного синтеза передатчика и будет уменьшаться в случае уменьшения его внутриклеточного запаса. Существует ряд факторов (лишение глюкозы, блокада всасывания холина гемихолинием № 3), о которых сообщалось, что они нарушают синтез ацетилхолина *in vivo*. Различные исследователи испытывали их действие на нервно-мышечное соединение лягушки и млекопитающего [198, 242], но до самого последнего времени результаты были отрицательными, т. е. никакого уменьшения величины квантов обнаружить не удавалось. Лишь недавно Эльмквист, Квастель и Теслеф [69] сообщили о положительном результате. Они нашли, что под действием малых доз гемихолиния № 3 амплитуда миниатюрных потенциалов при длительном раздражении нерва постепенно уменьшается, тогда как их статистическое распределение по амплитудам в потенциале концевой пластинки остается без изменения.

Передача сигналов через межнейронные синапсы

Изучая нервно-мышечное соединение у позвоночных, мы получили немало сведений, которые помогут нам в понимании гораздо более сложного поведения синапсов в центральной нервной системе. Наши знания о центральных синапсах основаны преимущественно на изучении мотонейронов в спинном мозгу кошки [62—65]. Весьма вероятно, что во многих синаптических соединениях этих двигательных нервных клеток действует химический механизм передачи. Некоторые изменения постсинаптических потенциалов, несомненно, обусловлены изменениями в ионной проницаемости и имеют характерную точку инверсии (нулевую точку), подобную нулевой точке потенциала концевой пластинки. Кроме того, есть данные, говорящие о «квантовом» характере освобождения возбуждательных и тормозных передатчиков, которое приводит к появлению спонтанных и вызванных потенциалов, сходных с миниатюрными потенциалами концевой пластинки [166]. Это служит веским основанием предполагать воздействие химических передатчиков, но до тех пор, пока эти вещества не идентифицированы, вопрос нельзя считать решенным.

Основное функциональное различие между нервно-мышечным соединением и большинством межнейронных соединений в центральной нервной системе состоит в том, что первое действует как простое реле, при помощи которого импульс передается безотказно и с минимальной задержкой от одной нервной клетки к большому числу мышечных волокон, тогда как межнейронные синапсы используются, как правило, для транскрипции пресинаптических импульсов в градуальные подпороговые изменения потенциала мембраны постсинаптического нейрона. Это различие носит *количественный* характер. Его можно объяснить тем, что область синаптического контакта между двумя нейронами обычно гораздо меньше двигательной концевой пластинки. Мембрана центрального нейрона — это главное место «интеграции» сообщений, которые сходятся к нему от многих

других нервных клеток и производят одни — возбуждающее, другие — тормозящее действие. В этой главе мы рассмотрим механизмы, с помощью которых осуществляется интеграция этих конвергирующих входных сигналов.

Вспомним некоторые простые «общие принципы». Во-первых, все возбуждающие и тормозные нервные импульсы сходны между собой; их антагонистическое действие зависит исключительно от особых свойств соответствующих синапсов. Во-вторых, все процессы интеграции в постсинаптической клетке должны ограничиваться *подпороговой* областью изменений мембранного потенциала. Мембрана нейрона способна «перерабатывать» любое число местных изменений потенциала и вычитать или складывать их, пока суммарный результат не превышает порогового значения. При достижении порога возникает импульс, который распространяется вдоль по аксону и мгновенно аннулирует все другие поступающие сообщения. Таким образом, прием и интеграция сигналов — это местный градуальный процесс, который ведет к смещению мембранного потенциала нервной клетки по направлению к порогу разрядки или препятствует такому смещению. В отличие от импульса — сигнала типа «все или ничего», который должен обладать высоконадежным механизмом распространения и большой стабильностью амплитуды, — процесс внутринейронной интеграции протекает на подпороговых уровнях мембранного потенциала.

Имеются данные о том, что во многих нервных клетках пункты приема сигналов пространственно отделены от места возникновения импульсов: они расположены на теле нейрона и дендритах, тогда как импульсы возникают у основания аксона [62, 73, 92, 103]. Кроме того, дендриты и тело нейрона, по-видимому, обладают относительно низкой электрической возбудимостью, т. е. высоким порогом возбуждения, и это обеспечивает клеточной мембране сравнительно широкий рабочий диапазон для местных подпороговых изменений.

Нервно-мышечная система ракообразных

При изучении нервно-мышечного соединения позвоночного мы познакомились с химическим механизмом передачи,

аналогичным тому, который, по всей вероятности, действует во многих центральных синапсах; но здесь нет специальной организации, свойственной центральному нейрону с конвергирующими на нем многочисленными входными сигналами. Интересной и значительно более адекватной моделью может служить нервно-мышечная система ракообразных [250]. Здесь одно мышечное волокно получает множественную иннервацию от возбуждательных и тормозных аксонов, окончания которых конвергируют на многих участках мышечной мембраны. Конечным результатом интеграции этих конвергентных и антагонистических нервных сигналов является мышечное сокращение определенной силы и быстроты, подобно тому как конечный результат множественных синаптических воздействий на тело двигательного нейрона выразится в импульсации его аксона.

Изучение нервно-мышечной системы ракообразных с ее периферическими интегративными механизмами сильно способствовало нашему пониманию центральных синаптических процессов [56—58, 81, 250]; ввиду простой синаптической организации этой системы рассмотрение ее послужит полезным введением в проблемы центральной нервной активности. У многих мышц ракообразных мы находим «двойную иннервацию» особенно простого типа: все мышечные волокна снабжены ветвями двух аксонов-антагонистов, один из которых вызывает сокращение, а другой препятствует ему. У позвоночных большинство мышечных волокон иннервировано в одном микроскопическом участке (двигательной концевой пластинке), расположенном посередине волокна; в этом участке и возникает новый импульс, который распространяется затем в обоих направлениях к сухожильным концам мышц и вторично возбуждает сократительный аппарат внутри каждого волокна (см. гл. 11). У ракообразных же сокращение мышечных волокон вызывается не самораспространяющимся импульсом, а основано на совершенно ином механизме. У них многие волокна неспособны генерировать высокоамплитудные потенциалы действия типа «все или ничего», с которыми мы встречаемся в аксонах и в мышцах позвоночных. В этом отношении (в смысле возможности возникновения спайков с большим резервом мощности) мышечные волокна ракообразных обладают лишь слабо выраженной электрической возбуди-

мостью (см. выше, стр. 120). Поэтому они нуждаются в рассредоточенной иннервации: нервные окончания разбросаны по всей их длине и вызывают на всей поверхности волокна одновременное электрическое изменение, в результате которого в сократительном аппарате возникает градуальная местная реакция. Эта рассредоточенная иннервация позволяет мышце обходиться без собственного механизма распространения возбуждения; нервный импульс доходит до всей поверхности волокна практически одновременно и может поэтому вызывать синхронное и эффективное развитие напряжения в мышце. Кроме того, благодаря отсутствию реакции типа «все или ничего» каждое волокно может сокращаться с различной силой, определяемой эффектом суммации последовательных нервных импульсов, подкрепляющих друг друга, и антагонистическим взаимодействием двух аксонов. Таким образом, мышечное волокно ракообразного в значительной мере обладает интегративной способностью, характерной для центрального нейрона (которой лишены скелетные мышечные волокна позвоночных).

Мы не будем здесь рассматривать цепь событий, в результате которых деполяризация поверхностной мембраны приводит к сокращению внутренней массы мышечного волокна. Это будет сделано в следующей главе (стр. 198). В настоящий момент нас интересует, каким образом возбуждательные и тормозные нервные волокна вызывают противоположные эффекты в постсинаптической мембране и какого рода взаимодействие происходит между ними.

При раздражении *возбуждательного* аксона, иннервирующего мышцу ракообразного, одиночный нервный импульс вызывает лишь небольшую деполяризацию мышечного волокна и не дает никакой видимой сократительной реакции. Изменение потенциала напоминает потенциал концевой пластинки в сильно кураризированной мышце позвоночного с тем отличием, что оно не ограничено одним участком, а происходит на всем протяжении мышечного волокна. При многократном раздражении, например при залпе из 20 нервных импульсов частотой 50 *имп/сек*, амплитуда последовательных отклонений потенциала быстро нарастает (облегчение, стр. 169) и создается сильная деполяризация мышечной мембраны. Это сопровождается постепенно рас-

тущим напряжением мышцы. Скорость увеличения этих рассредоточенных «потенциалов концевой пластинки» определяется приходящими нервными импульсами и в свою очередь регулирует быстроту и силу сокращения.

При раздражении *тормозного* аксона получается совсем иной эффект: сокращение мышцы внезапно прекращается и наступает ее расслабление, как будто перестают поступать возбуждающие импульсы, хотя на самом деле оба аксона подвергаются раздражению одновременно и продолжают давать импульсы.

«Торможение» — один из самых поразительных синаптических процессов, механизм которого в течение ряда поколений был для физиологов загадкой, но стал гораздо более ясным в результате недавних исследований, особенно работ Эклса и его сотрудников [33, 62, 63, 65]. Известно, что существуют по крайней мере две различные микроскопические локализации тормозного воздействия (одна — в пресинаптических концевых участках возбуждающего аксона и другая — в постсинаптической мембране клетки-эффектора) и что тормозной нервный импульс может блокировать различные дискретные звенья цепи возбуждательного процесса [63, 85, 86]. В этих отношениях свойства нервно-мышечных контактов ракообразных весьма сходны со свойствами центральных синаптических соединений [58, 181].

Постсинаптические эффекты

Когда тот или иной передатчик, например ацетилхолин, выделяется из нервного окончания и локально взаимодействует с постсинаптической клеткой, он вызывает повышение ионной проводимости, или проницаемости мембраны. Это весьма общее положение; оно относится не только к мионевральным синапсам позвоночных, в которых ацетилхолин действует как возбуждательный передатчик, но и к водителю ритма сердца, где освобождающийся под действием импульсов блуждающего нерва ацетилхолин вызывает *торможение*. Оно относится также ко многим центральным синапсам, в которых происходит выделение ацетилхолина и других неидентифицированных медиаторов, производящих возбуждающее действие [170, 236, 238]. Возбуждательный передатчик в нервно-мышечных соединениях ракообразных

неизвестен, но имеются веские указания на то, что тормозящим веществом служит γ -аминомасляная кислота [176]. Ее концентрация сравнительно высока в тормозных (но не возбуждающих) нервных волокнах, и при ее искусственном введении она производит все известные тормозные эффекты.

Основное различие между возбуждательным и тормозным эффектами в постсинаптической мембране можно сформулировать очень просто. Возбуждательный эффект сопровождается деполяризацией: мембранный потенциал смещается по направлению к порогу или дальше порогового уровня, в результате чего возникают потенциалы действия (и/или мышечные сокращения). При тормозном эффекте потенциал остается ниже порога или смещается по направлению к подпороговой области, в которой не может возникнуть никакой активной реакции (спайка или сокращения). Оба эффекта вызываются повышением ионной проводимости; разница между ними в том, на какие именно «ионные ворота» воздействует передатчик.

Для того чтобы разобраться в этом, обратимся еще раз к трехканальной схеме, приведенной на фиг. 16. Предположим, что активная реакция возникает тогда, когда трансмембранная разность потенциалов, составляющая в покое -70 мв, снижается до -50 мв. Это может произойти в результате химически индуцированного повышения ионной проводимости, но *только* в том случае, если этот эффект распространяется на натриевый канал. В противном случае ионы натрия не могли бы переходить внутрь и невозможна была бы быстрая деполяризация мембраны, необходимая для возбуждательной реакции. Если бы под действием передатчика открывались каналы только для К и Cl, то это способствовало бы стабилизации мембранного потенциала на уровне покоя или около него, что приводило бы к торможению¹. Эффект был бы более или менее сходен с тем, что происходит во время рефрактерного периода после импульса в аксоне кальмара (см. стр. 108),

¹ Торможение часто сопровождается умеренной «гиперполяризацией», т. е. увеличением трансмембранной разности потенциалов по сравнению с исходным уровнем. Это объясняется тем, что в норме мембрана не бывает совершенно непроницаемой для ионов натрия, так что при избирательном открытии канала для калия мембранный потенциал приближается к E_K , что и ведет к гиперполяризации.

когда, грубо говоря, «ворота» для натрия плотно закрыты, а для калия широко открыты.

Мы воспользовались схемой фиг. 16, чтобы показать в принципе, каким образом сходные изменения проводимости различных ионных каналов могли бы вызвать противоположные эффекты. Следует заметить, однако, что во многих случаях (в том числе в возбуждательных синапсах мышц ракообразных) специфические каналы еще не идентифицированы. Возможно, что в некоторых случаях важную роль в создании синаптического тока играют другие ионы, не представленные на фиг. 16 (например, Са или Mg).

Накоплено уже много данных, подтверждающих представление об *общем ионном механизме*, лежащем в основе синаптического возбуждения и торможения. В этих двух случаях конечные эффекты имеют противоположный знак и мембранный потенциал может быть смещен в противоположных направлениях, но это зависит просто от того, какие ионные каналы увеличивают свою проводимость под действием передатчика. В сердце ацетилхолин вызывает гиперполяризацию и тормозит его ритмические сокращения, так как повышает проводимость *только* (или по крайней мере преимущественно) для калия, что ведет к смещению мембранного потенциала до -80 мв; в двигательной концевой пластинке тот же ацетилхолин вызывает деполяризацию и появление мышечного импульса, так как одновременно повышает проницаемость *и* для калия *и* для натрия, что ведет к смещению потенциала в противоположном направлении до -15 мв. Аналогичные изменения проводимости, вероятно, лежат и в основе действия нервных импульсов на мышечное волокно ракообразного и на спинальный мотонейрон; антагонистические, тормозные эффекты в этих клетках обусловлены избирательным или преимущественным повышением проницаемости для хлора [13,33].

Облегчение

Одно из характерных свойств нервно-мышечных систем ракообразных (и многих центральных нервных синапсов) состоит в том, что эффективность возбуждательных импульсов сильно возрастает при их повторении. Этот феномен, называемый *облегчением*, обусловлен сочетанием двух факторов.

Одним из них является суммация последовательных изменений потенциала в постсинаптической мембране — каждый импульс вызывает подпороговую деполяризацию, которая добавляется к тому, что осталось от предшествующих изменений потенциала. Но еще важнее то, что на протяжении серии импульсов увеличивается количество передатчика, освобождающееся при каждом импульсе. Это явление, наблюдаемое в *нормальной* мышце ракообразного, очень сходно с тем, которое можно получить в мышце позвоночного, поместив ее в среду с высокой концентрацией магния и низкой концентрацией кальция. Кроме того, Дудель и Каффлер [57] показали, что здесь действует тот же квантовый механизм освобождения передатчика. Они открыли спонтанные «синаптические потенциалы» в мышце речного рака (см. также [59]), аналогичные миниатюрным потенциалам концевой пластинки, и с помощью статистического анализа, описанного на стр. 164, установили, что и здесь реакция, вызванная нервным импульсом, складывается из целого числа элементарных потенциалов, причем распределение их чисел можно статистически предсказать на основании закона Пуассона. На протяжении серии нервных импульсов *число* квантов, составляющих отдельную реакцию, постепенно возрастает; это указывает на то, что импульсы становятся все более и более эффективными в отношении освобождения квантов передатчика.

Пресинаптическое торможение

Дудель и Каффлер [58] в ходе своих исследований сделали неожиданное открытие: оказалось, что у ракообразного *тормозной* нервный импульс совершенно независимо от своего прямого влияния на ионную проницаемость мышечной мембраны (стр. 176) способен еще подавлять выделение возбуждательного передатчика аксоном-антагонистом. Этот процесс стали называть «пресинаптическим торможением», подразумевая под этим какого-то рода взаимодействие между тормозными и возбуждательными нервными окончаниями, обусловленное, вероятно, существованием специальной синаптической связи между ними.

Установленный в эксперименте факт состоял в том, что число элементарных возбудительных потенциалов в мышечном волокне сильно снижается, когда возбуждающему нервному импульсу предшествует с интервалом в несколько миллисекунд импульс в тормозном аксоне. Возможно, что тормозной аксон посылает концевые ветви не только прямо к мышечному волокну, но и к разветвлениям возбудительного нерва, с которыми они вступают в контакт, причем в тех и других контактах выделяется один и тот же передатчик — возможно, γ -аминомасляная кислота. Если бы он в обоих случаях избирательно повышал проницаемость мембраны для ионов хлора, то он не только стабилизировал бы мембранный потенциал мышечного волокна и противодействовал здесь любому деполяризующему влиянию, но таким же образом уменьшал бы амплитуду потенциала действия в возбудительных нервных окончаниях и тем самым снижал секрецию возбудительного передатчика [55, 178].

Значение этих наблюдений в том, что они выявили неожиданный механизм синаптического взаимодействия, который, как теперь оказывается, очень широко распространен в центральной нервной системе [63]. Можно подозревать, что существуют пресинаптические взаимодействия различного знака (т. е. не только торможение, но и облегчение, или «уменьшение торможения») и что они важны не только для текущей сигнализации, но и при выработке долговременных «условных» связей в нервной системе (стр. 189).

Подытожим наши современные знания о нервно-мышечных соединениях ракообразных. Возбудительные нервные импульсы приводят к освобождению квантов вещества-передатчика, который повышает проницаемость мышечной мембраны для ионов (вероятно, для натрия и других катионов) и деполяризует ее, вызывая сокращение. Если деполяризация превышает определенный уровень, она может сделаться регенеративной и вызвать более сильное и быстрое сокращение. Однако мышечные волокна, как правило, не генерируют потенциалов действия и не нуждаются в механизме распространения импульса, так как они иннервированы на всем своем протяжении.

Кроме того, мышечные волокна ракообразных имеют и тормозную иннервацию. Тормозные импульсы вызывают освобождение передатчика (возможно, γ -аминомасляной кислоты), выполняющего две различные функции: 1) он действует непосредственно на мышечное волокно, повышая его проницаемость для ионов хлора и стабилизируя или приближая к уровню покоя мембранный потенциал; 2) он воздействует на терминальные (или претерминальные) разветвления возбуждающего нерва таким образом, что уменьшает амплитуду импульса и тем самым косвенно снижает секрецию возбуждательного передатчика.

Оба тормозных механизма сильно ослабляют действие возбуждательных нервных импульсов и таким образом подавляют активацию сократительного аппарата¹.

Центральные нейроны

После введения в практику метода внутриклеточной регистрации нам удалось значительно больше узнать об основных синаптических механизмах центральных нейронов; новые данные были получены главным образом в исследованиях на спинальных мотонейронах млекопитающих [62, 65, 75, 76, 86].

Элементарные процессы в центральных синапсах не очень сильно отличаются от рассмотренных нами ранее, но их организация и пространственное распределение на поверхности эффекторного нейрона и разветвлений его дендритов гораздо более сложны и добавляют еще одну степень свободы для интегрирующей способности нервной клетки.

В настоящее время считается, что эфферентный импульс возникает около места отхождения аксона (так называемый аксонный холмик, или «начальный сегмент» нервного волокна). По-видимому, это обусловлено большим градиентом электрической возбудимости в мембране нейрона. У основания аксона порог наиболее низок, а у тела нейрона и у крупных дендритов он значительно выше и повышается вплоть до полной невозбудимости в более удаленных раз-

¹ Не исключено, что тормозной передатчик влияет также на цепь событий, связывающих деполяризацию с сокращением. Некоторые указания на это получили Хойл и Вирсма [138].

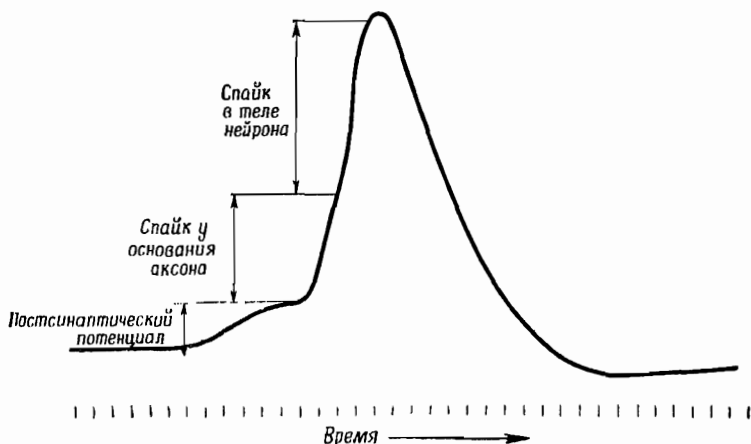
ветвлениях дендритной системы. Последний вывод основан на постулатах и подобных предсказаниях, а не на прямых данных. Действительно, если не предполагать особых локальных свойств мембраны, трудно понять, какую полезную роль в интегративной функции нейрона могли бы играть тонкие концевые участки дендритов.

Разветвления дендритов могут находиться на расстоянии до 1 мм от тела нейрона и аксонного холмика. Их толщина составляет один или несколько микронов, т. е. они более чем в 10 раз тоньше тела клетки. Есть данные о том, что синаптическое воздействие на центральные нейроны носит «квантовый» характер и что в результате спонтанного освобождения передатчика тело нейрона может деполяризоваться на 1—2 мВ [160] (ср. [184]). Местная деполяризация, вызываемая спонтанной секрецией передатчика в терминальном дендритном синапсе, вероятно, выражена значительно сильнее, так как изменение потенциала тем больше, чем меньше клетка, и возрастает с увеличением «входного импеданса» кабельной структуры ([167]; стр. 124). Входной импеданс тела клетки составляет всего лишь несколько мегом; в кончике дендрита он может достигать 100 Мом. Поэтому в концевых участках дендритов можно ожидать больших спонтанных изменений потенциала, и в них легко должны были бы возникать импульсы, что нарушало бы стабильность и интегративную функцию всего нейрона, если бы порог возбуждения этих участков не был очень высоким.

С другой стороны, если концевые участки действуют просто как пассивные кабели с утечкой, у которых удельное сопротивление мембраны составляет несколько тысяч $\text{ом} \cdot \text{см}^2$ (величина, найденная для тела нейрона), то возникающее в них изменение синаптического потенциала будет настолько ослабляться, что не сможет оказать заметного влияния на состояние аксонного холмика. Эта ситуация представляет загадку, удовлетворительного решения которой еще не найдено. Возможно, что сопротивление мембраны дендрита, так же как и порог возбуждения, возрастает по мере удаления от тела нейрона.

Для возникновения в двигательной нервной клетке импульса (который вызовет сокращение иннервируемых ею мышечных волокон) требуется, чтобы баланс возбуждатель-

ных и тормозных импульсов, приходящих к ее входным синапсам, был достаточным для деполяризации аксонного холмика на 15—20 мв. Следовательно, с помощью электрода, введенного в тело клетки, должны быть зарегистрированы три последовательных отклонения (фиг. 33): сначала



Фиг. 33. Возникновение двигательного нервного импульса в результате сильного афферентного «моносинаптического» возбуждения.

Запись получена с помощью внутриклеточного микроэлектрода, введенного в тело мотонейрона. Каждое деление на шкале времени соответствует 0,1 мсек.

подпороговый постсинаптический потенциал, затем внезапное резкое увеличение деполяризации, связанное с возникновением импульса в самом возбудимом участке — в месте отхождения аксона, и наконец, когда эта деполяризация достигнет порога возбуждения для тела нейрона, резкий подъем, обусловленный регенеративным спайком, развивающимся в мембране тела недалеко от места регистрации. К такому выводу пришли Фуортес, Френк и Бэккер [91] и Экклс [62] на основании тщательного анализа этих трех компонентов и их временных отношений; он получил широкое признание, хотя выдвигались и другие интерпретации [75, 76].

Начальную деполяризацию (известную под названием *возбудительного постсинаптического потенциала*) сравнивали с потенциалом концевой пластинки в скелетной мышце. Между ними существует ряд аналогий, и вполне вероятно, что лежащие в их основе ионные механизмы сходны. Так, например, точка инверсии возбудительного постсинаптического потенциала (стр. 154) близка к уровню полной деполяризации (нулевого трансмембранного потенциала), т. е. недалеко от равновесного уровня потенциала концевой пластинки. Ее нельзя определить с такой же степенью точности, так как синаптическая деполяризация начинается во многих пунктах, разбросанных по поверхности не только тела клетки, но и дендритов, и электрические методы смещения мембранного потенциала не позволяют воздействовать на все эти участки одинаковым образом. Поэтому найденная точка инверсии обычно оказывается несколько более удаленной от потенциала покоя, чем «истинный» уровень равновесия [20].

Центральное торможение

Как и в нервно-мышечной системе ракообразных, в синаптических соединениях спинальных мотонейронов найдены по меньшей мере два различных типа тормозного действия.

Первоначальные наблюдения Экклса и сотр. [16] указывали на то, что синаптическое торможение можно объяснить гиперполяризацией, т. е. увеличением мембранного потенциала под действием тормозного передатчика. Это изменение потенциала называют *тормозным постсинаптическим потенциалом*. Такое изменение вычитается из любой синаптической поляризации и соответственно затрудняет смещение мембранного потенциала нейрона по направлению к порогу возбуждения. Впоследствии оказалось, что точка инверсии у тормозного постсинаптического потенциала всего лишь на 10 мВ ниже, чем у потенциала покоя мотонейрона, и в сильной степени зависит от внутриклеточной концентрации хлора. Диффузии ионов Cl^- из введенного в нейрон микроэлектрода, наполненного KCl, уже достаточно, чтобы вызвать инверсию знака тормозного постсинаптического потенциала, т. е. переход от гиперполяри-

зации к деполяризации [33]. Интенсивное изучение действия различных анионов показало, что не только Cl^- , но практически все анионы, размер которых в гидратированном состоянии меньше некоторой определенной величины, влияют на амплитуду тормозного постсинаптического потенциала и могут вызывать его инверсию, если вводить их путем ионофореза внутрь нервной клетки. Общий вывод из этих экспериментов состоит в том, что тормозной передатчик «открывает ворота» для ионов хлора и других отрицательно заряженных ионов такой же или меньшей величины. При этом мембранный потенциал приближается к уровню калиевого равновесия и закрепляется на этом уровне, который в норме близок к потенциалу покоя или слегка сдвинут в отрицательную сторону. Чем больше деполяризована мембрана, тем больше ионов хлора будет переходить внутрь (способствуя восстановлению потенциала и удалению его от порога возбуждения). Этот эффект очень сходен с прямым тормозящим действием нервных импульсов на мышечные волокна ракообразных.

Еще одна аналогия с нервно-мышечной системой ракообразных выявилась, когда было установлено, что тормозящее действие афферентных нервных импульсов на мотонейроны нельзя полностью объяснить их постсинаптическим влиянием [63, 86]. В обеих системах посланный в надлежащее время тормозной импульс способен сильно уменьшить возбудительный постсинаптический потенциал (деполяризацию), вызываемый последующим возбудительным импульсом. В спинном мозгу этот эффект обычно настолько сильно выражен и длителен, что его никак нельзя было бы объяснить одним лишь постсинаптическим изменением проницаемости для хлора. Кроме того, это уменьшение деполяризации заметно даже тогда, когда трансмембранная разность потенциалов эффекторной клетки искусственно поднята значительно выше уровня равновесия для хлора. При этих условиях сам тормозной постсинаптический потенциал проявляется как деполяризация, и тем не менее суммарный постсинаптический эффект сильно снижается под действием тормозного импульса. Это может быть объяснено пресинаптическим воздействием того же типа, какое было продемонстрировано Дуделем и Каффлером [58] у ракообразного.

Экклс обнаружил весьма постоянную корреляцию между тремя явлениями, которые, по-видимому, неизменно бывают связаны друг с другом. Раздражение какого-либо пути, состоящего из тормозных нервных волокон, вызывает длительную *деполяризацию в возбуждательных* нервных окончаниях. Это сопровождается снижением порога электрической возбудимости в концевых участках возбуждательных аксонов и резким уменьшением возникающих при их разрядке возбуждательных постсинаптических потенциалов в эффекторном нейроне. Кажется вероятным следующее объяснение этого тормозного «синдрома». Тормозные нервные окончания образуют синапсы и воздействуют не только на эффекторные нейроны, но и на пресинаптические концевые участки возбуждательных аксонов. Это «пресинаптическое действие» приводит к изменению ионной проницаемости и частичной деполяризации, в результате чего местная возбудимость становится более высокой, но одновременно уменьшается амплитуда пресинаптического спайка и соответственно число порций выделяемого возбуждательного передатчика. Для каждого отдельного звена этой цепи событий можно найти многочисленные аналогии в других синаптических соединениях, но детали механизма пресинаптического торможения все еще остаются невыясненными. Особенно интересно было бы определить точку инверсии для пресинаптической деполяризации и узнать, с какими изменениями ионной проницаемости она связана¹.

¹ Это могло бы быть увеличение проницаемости для Cl^- , как при постсинаптическом торможении, но тогда, чтобы объяснить деполяризацию и повышение возбудимости, пришлось бы предположить для возбуждательных нервных окончаний необычно низкие величины потенциала равновесия для хлора. Можно было бы также предположить, что изменение проницаемости сходно с тем, которое лежит в основе возбуждательного постсинаптического потенциала, но это кажется еще менее вероятным. Как бы то ни было, этот пресинаптический эффект, по-видимому, очень легко мог бы вести к появлению добавочных возбуждательных импульсов. (Высказывали даже предположение, что примером подобного явления служат так называемые «заднекорешковые рефлексy».) Таким образом, мы имеем пока еще загадочный феномен: деполяризующее воздействие, способное сдвинуть потенциал возбуждательных нервных окончаний почти до уровня пороговой неустойчивости, видимо, используется для создания мощного и стойкого тормозного эффекта.

В дополнение к этим двум тормозным процессам, широкая распространенность которых установлена большим количеством наблюдений, постулировались и иные типы тормозных механизмов; было показано, что один из них, а именно механизм *прямого электрического*, или *эфантического*, типа, действительно существует в одном особом случае — у маутнеровского нейрона [94] (стр. 131). Вполне вероятно, что по мере дальнейшего изучения различных типов нервных синапсов будут выявляться и другие разновидности и комбинации тормозных процессов.

Интересно, что одна из теорий торможения, очень широко обсуждавшаяся 50 лет назад, по существу не получила подтверждения в новейших исследованиях. Это была попытка объяснить центральные тормозные процессы на основе аналогии с периферическим явлением, известным как *торможение Введенского*. Оно состоит в том, что при слишком быстром приходе последовательных импульсов к мионевральному синапсу наблюдается сильное угнетение нервно-мышечной передачи. По аналогии утверждали, что для возбуждения и торможения эффекторного нейрона может использоваться один и тот же *афферентный аксон* — что эффект зависит просто от частоты импульсации. Сомнительно, чтобы такого рода процесс — «угнетение в результате перегрузки» — играл существенную роль в нормальной синаптической интеграции. Как экспериментальный феномен, однако, он представлял для многих исследователей значительный интерес, и обсуждение роли различных факторов в торможении все еще продолжается [218].

Торможение Введенского может быть обусловлено снижением эффективности как пресинаптического, так и постсинаптического процесса. Нервные волокна могут проводить импульсы со значительно большей частотой, чем мышечные; возбудимость аксона восстанавливается быстрее, т. е. у двигательного нерва рефрактерный период короче, чем у мышцы. Если нервный импульс придет к мионевральному синапсу в то время, когда мышечное волокно находится еще в состоянии рефрактерности, то он просто вызовет местный потенциал концевой пластинки. В результате мышечная мембрана останется во время рефрактерного периода деполяризованной, и это еще больше задержит восстановление нормальной возбудимости и ионной про-

нищаемости (стр. 111). Прибытие новых нервных импульсов в достаточно быстрой последовательности будет поддерживать местную деполяризацию и таким образом, вместо того чтобы вызывать мышечные импульсы, продлит состояние невозбудимости. Это один из факторов, которыми может быть обусловлено торможение Введенского.

Другие факторы связаны с двигательным нервом и его окончаниями. Как показали Крневич и Миледи [177], около внутримышечных точек ветвления нервного волокна имеются участки, в которых при высокой частоте раздражения легко возникает блокада нервного импульса. Кроме того, при высокочастотной бомбардировке повторными импульсами механизм освобождения ацетилхолина — после начального периода усиления (облегчения) — становится все менее эффективным, так что после 10—20 импульсов количество освобождаемого передатчика может оказаться недостаточным для возбуждения мышечного волокна. Наконец, в особых условиях (например, при введении в среду ингибиторов холинэстераз) становится возможным накопление такого избытка ацетилхолина, что сами рецепторы концевой пластинки приходят в состояние рефрактерности (или химической десенсибилизации) и уже не могут поддерживать местной деполяризации. Этот последний фактор до сих пор был убедительно продемонстрирован только в случае длительного искусственного воздействия химическими веществами [169, 239]; может ли локальное и кратковременное выделение передатчика, вызванное серией нервных импульсов, вести к его достаточному накоплению, пока еще неясно.

Наконец, теоретически возможно, что нервные импульсы вызывают иногда синаптическое торможение в результате освобождения вещества, конкурирующего с возбуждающим передатчиком. Аналогичный процесс *конкурентного торможения* хорошо известен в химии ферментов; молекула ингибитора не разрушается и не перестраивается, но, присоединяясь к рецепторной группе фермента, конкурентным образом вытесняет молекулу субстрата и тем самым блокирует нормальную ферментативную реакцию. Такого рода механизм лежит в основе действия некоторых блокирующих веществ. Например, курарин конкурирует с ацетилхолином за присоединение к рецепторам концевой пластинки

и таким образом препятствует передаче нервного импульса. До сих пор, однако, нет никаких данных о том, что и синаптическое торможение обусловлено аналогичной конкурентной блокадой. Можно представить себе, что в особых случаях аксоны-антагонисты сходятся в одном и том же микроскопическом участке клетки-эффектора и вступают в конкурентное взаимодействие, но экспериментальным путем таких явлений не обнаружено.

Центральное облегчение

Так же как и в периферической нервно-мышечной системе, освобождение передатчика из окончаний центрального аксона под действием нервного импульса может сильно возрасть в результате повторной активации. Такие явления объединяют под названием *облегчение* (каждый предыдущий импульс облегчает передачу следующего) или *постактивационная потенция* (способность к передаче импульсов сильно увеличивается после длительного периода активности). Интересная особенность этих процессов состоит в том, что изменение ограничивается обычно окончаниями, проводившими импульсы, и не распространяется на другие синапсы того же нейрона-эффектора. Таким образом, если на нейрон конвергируют, скажем, 10 возбуждающих аксонов, а в импульсной бомбардировке участвовал только аксон А, то лишь один он обнаружит большую способность к передаче в последующий период облегчения; остальные синапсы затронуты не будут.

Этот ограничительный момент отличает процесс облегчения от гораздо более сложного механизма *обусловливания* (выработки условной связи), при котором согласованное во времени появление импульсов в *двух* конвергирующих путях облегчает последующую передачу их по одному из этих путей. Мы до сих пор ничего не знаем о клеточных механизмах, лежащих в основе таких долговременных изменений, с которыми связано обусловливание и «обучение», и по существу все еще занимаемся поисками адекватных аналитических методов, которые позволили бы подойти к решению этой проблемы. Существует поразительный разрыв между нашим пониманием кратковременных событий в нервных и мышечных клетках (проведение

импульса, синаптическая передача, мышечное сокращение) и нашим незнанием тех важных долговременных изменений в нервных путях, которые лежат в основе «памяти» и образования новых функциональных связей.

Существуют две вероятные локализации долговременных синаптических изменений в клетке:

1. В *постсинаптической* области чувствительность клеточной мембраны к веществу-передатчику может варьировать в широких пределах. Это показано экспериментально в случае скелетной мышцы, чувствительность которой к ацетилхолину можно сильно повысить путем денервации или перерезки [161, 203, 205, 206, 240, 241] и понизить путем реиннервации [204]. По-видимому, эти изменения возникают в результате химических изменений поверхностной клеточной мембраны, и весьма вероятно, что на белковую структуру клеточной поверхности каким-то образом влияют другие клетки, с которыми данная клетка вступает в синаптическое соединение.

2. В *пресинаптической* области освобождение передатчика под действием импульса столь же изменчиво и зависит от целого ряда динамических факторов. Скорость синтеза передатчиков, их распределение и сохранение в нервных окончаниях, эффективность механизма их высвобождения через клеточную мембрану — все это факторы, зависящие от специфического белкового обмена клетки, которые могли бы быть подвержены медленным длительным изменениям.

Высказывались также интересные предположения относительно физико-химического механизма обратной связи, через которую серия импульсов могла бы влиять на обмен белков и нуклеиновых кислот в клетке, но в настоящее время это еще слишком темная область, чтобы в ней были полезны далеко идущие гипотезы.

Инициация мышечного сокращения

До сих пор, обсуждая свойства клеточной мембраны, мы рассматривали нервные и мышечные волокна для удобства как идентичные образования, и экспериментальные данные, полученные на тех и на других, были представлены читателю как почти «взаимозаменяемые». Действительно, «быстрые» волокна скелетной мышцы млекопитающего очень сходны с аксонами (особенно с немиелинизированной разновидностью аксонов) своей способностью генерировать потенциалы действия в любой точке и проводить их в обоих направлениях от одного конца до другого. В обоих случаях поверхностная мембрана клетки обладает специальным механизмом, благодаря которому она может быстро и безотказно передавать электрические сигналы и обеспечивать таким образом очень быстрое распространение возбуждения по всей клетке. В нерве этот процесс служит для передачи сигнала на большое расстояние, например на другой конец длинного периферического аксона. В мышце потенциал действия, распространяющийся со скоростью нескольких метров в секунду, обеспечивает достаточно быструю «мобилизацию» находящегося внутри клетки сократительного аппарата.

Для того чтобы создать эффективное механическое усилие, все части мышечного волокна должны развивать активное напряжение одновременно. Предположим, что мышечное волокно длиной 5 см иннервировано одной концевой пластинкой, находящейся посередине, и в нем возникают импульсы, проводимые со скоростью 5 м/сек. Каждый импульс вызывает одиночное сокращение, при котором напряжение достигает максимума, скажем, через 30 мсек,

а затем примерно за такое же время уменьшается вдвое. Разница во времени возбуждения между серединой волокна и его обоими концами составляет всего 5 мсек, что дает лишь небольшое отставание по фазе в развитии напряжения и не снижает значительным образом силу, действующую на сухожилие.

В некоторых длинных мышечных волокнах это отставание по фазе еще меньше, так как волокно снабжено двумя или тремя концевыми пластинками, расположенными на расстояниях 1—2 см друг от друга. Поскольку импульс в мякотном двигательном нерве распространяется гораздо быстрее, чем последующий потенциал действия в мышечном волокне, наличие большого числа концевых пластинок обеспечивает еще большую синхронизацию сокращения.

У многих беспозвоночных животных распространения потенциала действия вдоль мышечных волокон не происходит и синхронная активация всего волокна достигается благодаря тому, что многочисленные двигательные нервные окончания распределены по всей длине мышечного волокна. Необходимость в таком устройстве, видимо, возникла у этих животных по совсем иной причине: оно нужно им для того, чтобы обеспечить тонкую регуляцию и градуацию мышечной активности при минимальном числе двигательных нервных каналов. У членистоногих большинство мышц (например, крупные мышцы клешни омара) иннервируется очень малым числом двигательных аксонов (некоторые только одним) и одним тормозным аксоном. (Те и другие не миелинизированы и принадлежат к самым толстым периферическим аксонам, чем достигается необходимая скорость проведения импульса; см. стр. 115.) Если бы каждое мышечное волокно было снабжено только одной или двумя концевыми пластинками и поэтому должно было для повсеместной активации генерировать свой собственный распространяющийся импульс, то вся мышца могла бы отвечать на каждый нервный сигнал только реакцией типа «все или ничего». Поскольку, однако, иннервация распределена по всей поверхности волокна, необходимость в распространяющемся по мышечному волокну импульсе стандартной амплитуды отпадает и импульс такого типа заменен нераспространяющейся, градуальной формой электрической реакции (сходной с потенциалом концевой пластин-

ки; см. стр. 175), амплитуда которой регулируется частотой последовательных нервных импульсов и взаимодействием двигательного аксона с тормозным.

Во многих мышцах лягушки часть волокон сходна по своим электрическим и механическим реакциям с мышцами ракообразных и совершенно отлична от «быстрых» волокон, преобладающих в скелетных мышцах. Это система так называемых *тонических*, или «медленных», волокон, для которых характерно очень медленное развитие напряжения в ответ на повторные нервные импульсы. Такие волокна отличаются по своей проницаемости для различных ионов от «быстрых» волокон; их потенциал покоя относительно невысок (60 мв вместо 90 мв), и они неспособны создавать потенциал действия регенеративного типа. Подобно мышечным волокнам ракообразных, они имеют разбросанную иннервацию с синапсами, расположенными по всей их длине. Нервные импульсы (приходящие по особой системе тонких аксонов) вызывают в таких волокнах деполяризацию различной степени, во многих отношениях сходную с потенциалом концевой пластинки [20, 183] и возникающую, так же как и этот потенциал, в результате освобождения дискретных порций ацетилхолина концевыми участками нервов.

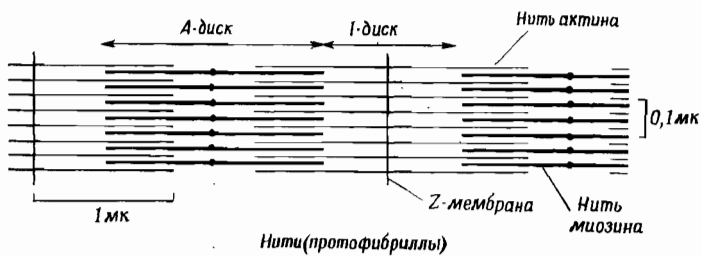
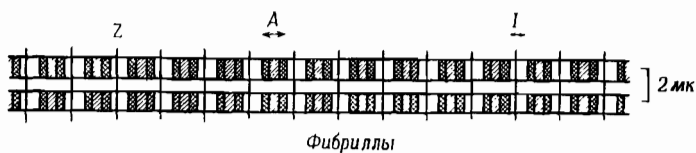
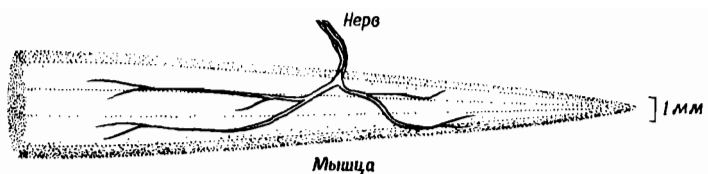
Однако в любых мышечных волокнах (как «быстрых», так и «медленных») первым звеном цепи событий, ведущих к развитию напряжения и к сокращению, всегда служит смещение мембранного потенциала в сторону деполяризации — будет ли оно местным и градуальным или распространяющимся и «квантовым».

Мы не будем подробно описывать здесь механизм самого сокращения. В этой области сделано много поразительных успехов, заслуживающих рассмотрения в отдельной книге [139, 140, 144]. После передачи нервного импульса мышечные волокна освобождают энергию в форме тепла и механической работы, количества и временные отношения которых были измерены и проанализированы с большой точностью А. В. Хиллом. Этот исследователь [113, 115] показал, что энергия, освобождаемая одним импульсом, не имеет predetermined постоянной величины, а характерным образом изменяется в зависимости от силы, противодействующей сокращению мышцы. По-видимому, суще-

ствуется автоматический механизм, посредством которого приложенная к мышце растягивающая сила регулирует скорость освобождения химической энергии. При длительном стационарном сокращении количество выделенной энергии линейно зависит от $b(P_0 - P)$, где b — характеристическая константа скорости сокращения мышцы, P_0 — максимальная сила, которой мышца может противодействовать, и P — действительная сила, которую она преодолевает при сокращении.

Активное укорочение мышечных волокон происходит в результате взаимодействия и движения белковых нитей, описанных Ф. Б. Штраубом и А. Сцент-Дьёрди [229] под названиями актина и миозина. Новые и очень интересные косвенные данные о возможном механизме действия этих сократительных белков были получены в электронно-микроскопических исследованиях Х. Э. Хаксли [143, 145]. Хэнсон и Хаксли [107, 108] обнаружили, что мышечные волокна содержат белковые нити двух типов — толстые, состоящие из миозина, и тонкие — из актина (фиг. 34 и 35). Каждая толстая нить построена из длинных L-образных молекул миозина [145], загибающиеся концы которых могут взаимодействовать с соседними нитями актина и образовывать с ними временные поперечные связи. Белки этих двух типов образуют две регулярные системы нитей, из которых одни входят в промежутки между другими и могут двигаться между ними (фиг. 35); когда мышцу растягивают, эти две системы выдвигаются одна из другой подобно звеньям подзорной трубы; во время укорочения мышечного волокна они глубже внедряются одна в другую. По-видимому, во время сокращения поперечные мостики между нитями миозина и актина многократно и быстро образуются и разворачиваются, причем белковые молекулы расположены в пространстве таким образом, что в результате возникает направленное движение обеих систем нитей навстречу друг другу, и это приводит к быстрому укорочению всей мышцы или к развитию активного напряжения.

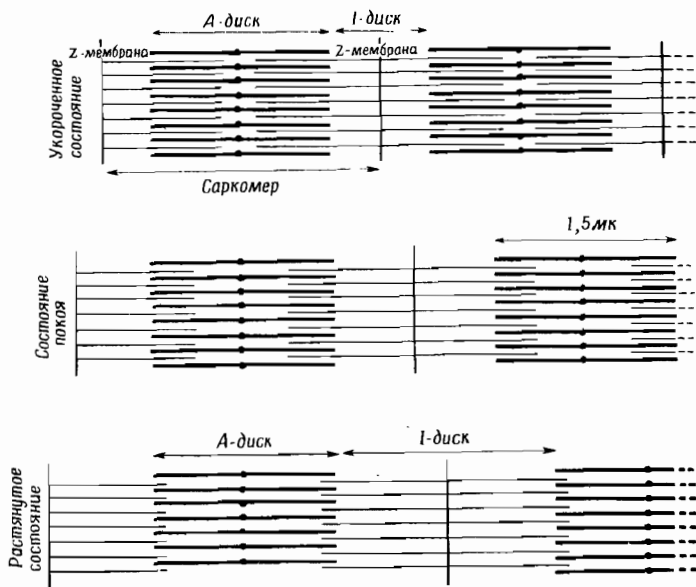
Наши знания в области физической химии мышечного сокращения все еще фрагментарны. Видимо, ключевой химической реакцией, связанной с активным укорочением, является расщепление АТФ под действием ферментативноак-



Фиг. 34. Структурная организация поперечнополосатой мышцы млекопитающего.

тивного участка молекулы миозина, а расслабление происходит при обратном процессе — ресинтезе АТФ.

Более прямое отношение к нашей теме имеет следующий вопрос: как происходит возбуждение сократительной системы? Каковы те промежуточные звенья, через посредство



Фиг. 35. Схема, иллюстрирующая «теорию скользящих нитей». Такая структура характерна для скелетных мышц млекопитающих (см. также фиг. 34).

I-диск: нити актина (тонкие, длиной около 1 мк) по обе стороны от Z-мембраны.

A-диск: нити миозина (толстые, длиной около 1,5 мк) плюс частично заходящие за них нити актина.

которых потенциал действия — или, в более общем случае, местная деполяризация клеточной мембраны — активирует сократительные белковые нити и вызывает освобождение механической энергии?

По этому вопросу в новейшей литературе также появился ряд интересных, хотя пока еще фрагментарных указаний. Ясно, что стимулом для сокращения обычно слу-

жит деполяризация поверхностной мембраны; она является необходимым, но не достаточным условием. В ионной среде, содержащей около 2 мМ кальция, мышечное волокно начинает развивать напряжение, когда его мембрана деполяризована, скажем, с 90 до 50 мв; при падении мембранного потенциала до 40 мв напряжение приближается к максимуму [124]. Если мембранный потенциал внезапно понизить и поддерживать на низком уровне, например путем добавления к среде кальция, то напряжение быстро достигает максимального плато, а затем начинает ослабевать. Иными словами, сократительный механизм приспособляется, или «аккомодируется», к длительно измененному электрическому состоянию таким образом, что это напоминает «инактивацию» регенеративного процесса возбуждения поверхностной мембраны (стр. 107).

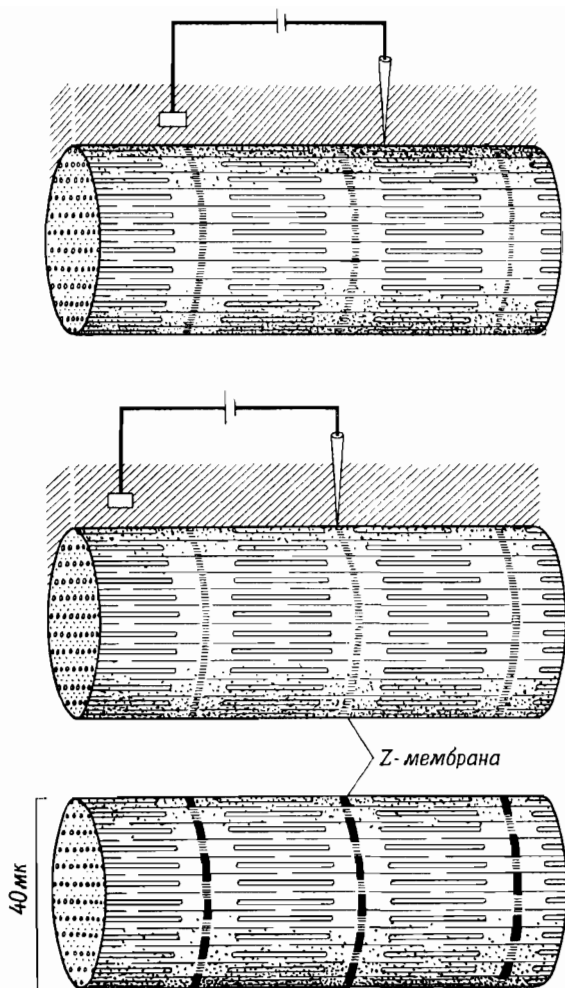
В мышцах некоторых типов для процесса сокращения оказалось необходимым присутствие кальция. Это особенно ясно в отношении сердечной мышцы лягушки, в которой сократительный эффект деполяризации (т. е. потенциала действия) быстро и обратимо устраняется путем удаления кальция из среды. Люттгау и Нидергерке [194] показали, что область значений мембранного потенциала, при которых происходит сокращение сердца, можно сдвинуть в ту или другую сторону, изменив наружную концентрацию ионов, особенно кальция и натрия. Кальций является необходимым «кофактором» в процессе инициации сердечного сокращения; натрий служит «конкурентным ингибитором» и противодействует эффекту кальция. Чем выше отношение Ca/Na , тем меньшая деполяризация необходима для возбуждения сократительной реакции; если отношение Ca/Na достаточно велико, волокна сердечной мышцы сокращаются даже при нормальном уровне потенциала покоя.

Точное место воздействия кальция все еще с достоверностью не известно. Если гомогенизировать мышечную ткань и подвергнуть ее дифференциальному центрифугированию, то можно выделить фракцию, содержащую пузырьки и другие фрагменты так называемого *эндоплазматического ретикулула* (внутриклеточной сети узких канальцев, которая, как полагают, передает возбуждение от поверхности клетки к находящимся внутри контракильным структурам). Чрезвычайно важно то, что эти пузырьки

in vitro активно аккумулируют и сохраняют кальций [61, 111, 247].

Для проведения возбуждения от поверхностной мембраны к внутренним белковым нитям, несомненно, требуется какой-то специальный механизм. Диффузия какого-либо химического агента с поверхности в центральную часть клетки была бы слишком медленной, и более вероятно, что существует особый проводящий аппарат, по которому электрическое возбуждение, созданное потенциалом действия, распространяется в глубь волокна. Возможно, что каналыцы ретикулума в электрофизиологическом отношении представляют собой продолжение поверхностной мембраны и таким образом проводят изменение потенциала внутрь [90]. На эту возможность указывают полученные недавно данные об электрической емкости мышечного волокна, которая оказалась в несколько раз большей, чем у безмякотных нервных волокон того же диаметра [74]. По-видимому, емкость мембраны состоит из двух параллельных компонент. Одна из них составляет около 2 мкф/см^2 и соответствует обычной мембране, покрывающей, как и у аксона, все волокно; но, кроме того, имеется еще один параллельный канал емкостью около 5 мкф , содержащий небольшое сопротивление, присоединенное последовательно. Эта вторая величина, возможно, соответствует добавочной емкости, создаваемой стенками каналыцев ретикулума, а сопротивление, быть может, возникает в узких полостях этих каналыцев и их соединений с наружной жидкостью.

В работе А. Ф. Хаксли и Р. Э. Тейлора [142] были получены интересные дополнительные данные о существовании особого электрического пути, ведущего от поверхности волокна к сократительному аппарату. Оказалось, что электрическое раздражение очень малых участков поверхностной мембраны эффективно только в некоторых точках, расположенных в виде кольца в определенной области каждого саркомера (фиг. 36). По-видимому, мембрана возбуждается только в тех местах, где определенные разветвления ретикулярной системы (триады) вступают в контакт с поверхностью волокна. В этих местах кратковременная деполяризация мембраны может вызывать локальное сокращение, в котором участвуют белковые нити только одного саркомера; при увеличении поверхностной деполяризации оно



Фиг. 36. Локальная активация сократительного механизма в результате фокальной деполяризации поверхности волокна в мышце лягушки.
Укорочение может быть вызвано только при раздражении определенных участков Z-мембраны (на нижней схеме эти участки зачернены).

распространяется внутрь по направлению к оси волокна. При этом нет никаких признаков того, что реакция сократительного аппарата является регенеративной, т. е. относится к типу «все или ничего». Об этом свидетельствует также плавная зависимость между мембранным потенциалом и активным напряжением, развиваемым мышечными волокнами в деполяризующих растворах с высоким содержанием калия [124].

Подведем итоги. Специфическую реакцию мышечных волокон — развитие механического усилия и движение — вызывает быстрая деполяризация клеточной мембраны, принимающая форму либо распространяющегося потенциала действия, либо распределенного по большой поверхности потенциала нервно-мышечного соединения. Между этим электрическим изменением в мембране и вызываемой им реакцией существует ряд промежуточных звеньев, сведения о которых пока еще фрагментарны. Крупные волокна скелетных мышц снабжены специальной системой внутриклеточных мембранных каналов, служащих, вероятно, для проведения возбуждения внутрь и тем самым для уменьшения расстояния между пунктами электрического изменения и местами, где возникает химическая и механическая реакция. Химические процессы, протекающие с участием ионов кальция и на более поздних стадиях связанные с расщеплением АТФ, в конце концов приводят к взаимодействию между нитями актина и миозина, в результате которого развивается мышечное усилие.

Интересно отметить некоторые особенности, одинаково свойственные как инициации мышечного сокращения, так и возникновению потенциала действия и освобождению химического передатчика в нервном окончании. Во всех трех случаях первичным событием является деполяризация клеточной мембраны. Но одной деполяризации еще не достаточно; она становится эффективным стимулом и вызывает различные специфические следствия только в присутствии кальция независимо от конечного результата — будет ли это повышение проницаемости для натрия [121], облегчение секреции квантов ацетилхолина [159] или активация молекул миозина [140].

Заключение

В этой небольшой книге были рассмотрены некоторые проблемы клеточного возбуждения — одни достаточно подробно, другие более поверхностно. Мы полагали, что для вводного ознакомления с предметом лучше всего было сосредоточить внимание на нескольких вопросах, уже выясненных в результате проведенных экспериментальных исследований, кратко упомянуть о том, что остается неясным, и уклониться от детального рассмотрения проблем, до решения которых еще так далеко, что даже самое подробное их обсуждение в лучшем случае привело бы лишь к сомнительным оценкам ряда конкурирующих гипотез.

Сейчас трудно предсказать наиболее плодотворные пути изучения физиологии нервно-мышечных и синаптических процессов. Главные достижения и пробелы в наших современных знаниях более или менее очевидны. Многие из классических описательных терминов, такие, как «порог», «потенциал действия», «рефрактерный период», «аккомодация», «торможение» и «возбуждение», в значительной степени истолкованы в понятиях физической химии клеточных мембран, и при желании их можно было бы заменить более научными (хотя и менее удобными) выражениями.

Вместе с тем, когда мы говорим о химических реакциях, лежащих в основе возбуждения и синаптической передачи, нам все еще приходится иметь дело с неизвестными вещами (например, «рецепторами», «ионными насосами» и «переносчиками»). Кроме того, наше увлечение методами быстрой регистрации электрофизиологических явлений, отлично приспособленными для изучения импульсов и кратковременных синаптических процессов, не способствовало тому,

чтобы мы нашли подход к очень важным проблемам долговременных взаимодействий и изменений в нервной системе. Микрохимия нервной функции находится еще в младенческом состоянии, хотя уже начинается разработка ряда мощных методов [146—148]. Несомненно, традиционные микроэлектрические методы дадут еще много интересных результатов, позволят раскрыть неожиданные связи между нейронными путями и выявить новые синаптические механизмы. Следует, однако, надеяться, что микрохимия ускорит свой прогресс и будет вносить все больший вклад в изучение нервной системы.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. A d r i a n E. D., The basis of sensation, the action of the sense organs, Christophers Ltd., London, 122 pp., 1928.
2. A d r i a n E. D., The mechanism of nervous action, Oxford University Press, London, 103 pp., 1932.
3. A d r i a n E. D., The physical background of perception, Clarendon Press, Oxford, 95 pp., 1947.
4. A d r i a n R. H., The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle, *J. Physiol. (London)*, **133**, 631—658 (1956).
5. A u g e r D., F e s s a r d A., Sur une variation négative graduable et non propagée obtenue par stimulation sous-liminaire d'une cellule végétale, *Compt. Rend. Soc. Biol.*, **118**, 1059—1060 (1935).
6. A x e l s s o n J., T h e s l e f f S., A study of supersensitivity in denervated mammalian skeletal muscle, *J. Physiol. (London)*, **147**, 178—193 (1959).
7. B a k e r P. F., H o d g k i n A. L., S h a w T. I., Replacement of the axoplasm of giant nerve fibres with artificial solutions, *J. Physiol. (London)*, **164**, 330—354 (1962).
8. B e n n e t M. V. L., A l j u r e E., N a k a j i m a Y., P a p a s G. D., Electrotonic junctions between teleost spinal neurons: electrophysiology and ultrastructure, *Science*, **141**, 262—264 (1963).
9. B e r n s t e i n J., Untersuchungen zur Thermodynamik der bioelektrischen Ströme, *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, **92**, 521—562 (1902).
10. B i r k s R., K a t z B., M i l e d i R., Physiological and structural changes at the amphibian myoneural junction, in the course of nerve degeneration, *J. Physiol. (London)*, **150**, 145—168 (1960).
11. B i r k s R. I., M a c i n t o s h F. C., Acetylcholine metabolism at nerve endings, *Brit. Med. Bull.*, **13**, 157—161 (1957).
12. B i r k s R. I., M a c i n t o s h F. C., Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion, *Can. J. Biochem.*, **39**, 787—827 (1961).
13. B o i s t e l J., F a t t P., Membrane permeability change du-

- ring transmitter action in crustacean muscle, *J. Physiol. (London)*, **144**, 176—191 (1958).
14. B o y d I. A., M a r t i n A. R., The end-plate potential in mammalian muscle, *J. Physiol. (London)*, **132**, 74—91 (1956).
15. B o y l e P. J., C o n w a y E. J., Potassium accumulation in muscle and associated changes, *J. Physiol. (London)*, **100**, 1—63 (1941).
16. B r o c k L. G., C o o m b s J. S., E c c l e s J. C., The recording of potentials from motoneurons with an intracellular electrode, *J. Physiol. (London)*, **117**, 431—469 (1952).
17. B r o o k s V. B., An intracellular study of the action of repetitive nerve volleys and of botulinum toxin on miniature end-plate potentials, *J. Physiol. (London)*, **134**, 264—277 (1956).
18. B r o w n G. L., D a l e H. H., F e l d b e r g W., Reactions of the normal mammalian muscle to acetylcholine and eserine, *J. Physiol. (London)*, **87**, 394—424 (1936).
19. B u l l o c k T. H., Initiation of nerve impulses in receptor and central neurons, in "Biophysical Sciences — A Study Program", pp. 504—514, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 248, ИЛ, М., 1961.)
20. B u r k e W., G i n s b o r g B. L., The action of the neuromuscular transmitter on the slow fibre membrane, *J. Physiol. (London)*, **132**, 599—610 (1956).
21. B u r n s t o c k G., H o l m a n M. E., The transmission of excitation from autonomic nerve to smooth muscle, *J. Physiol. (London)*, **155**, 115—133 (1961).
22. B u r n s t o c k G., H o l m a n M. E., Effect of denervation and of reserpine treatment on transmission at sympathetic nerve endings, *J. Physiol. (London)*, **160**, 461—469 (1962).
23. C a l d w e l l P. C., H o d g k i n A. L., K e y n e s R. D., S h a w T. I., The effects of injecting "energy-rich" phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **152**, 561—590 (1960).
24. C o l e K. S., Permeability and impermeability of cell membranes for ions, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **8**, 110—122 (1940).
25. C o l e K. S., Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane, *Arch. Sci. Physiol.*, **3**, 253—258 (1949).
26. C o l e K. S., C u r t i s H. J., Electric impedance of the squid giant axon during activity, *J. Gen. Physiol.*, **22**, 649—670 (1939).
27. C o l e K. S., H o d g k i n A. L., Membrane and protoplasm resistance in the squid giant axon, *J. Gen. Physiol.*, **22**, 671—687 (1939).
28. C o n n e l l y C. M., Recovery processes and metabolism of nerve, in "Biophysical Sciences — A Study Program," pp. 475—484, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 211, ИЛ, М., 1961.)
29. C o n w a y B. E., Electrochemical data, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, 1952.

30. Conway E. J., Calculation of the idiomolar value and its electrostatic equivalent in normal mammalian skeletal muscle, *Irish J. Med. Sci.*, ser. 6, No. 293, 216—224 (1950).
31. Conway E. J., Nature and significance of concentration relations of potassium and sodium ions in skeletal muscle, *Physiol. Rev.*, **37**, 84—132 (1957).
32. Conway E. J., Kernan R. P., Zadunaisky J. A., The sodium pump in skeletal muscle in relation to energy barriers, *J. Physiol. (London)*, **155**, 263—279 (1961).
33. Coombs J. S., Eccles J. C., Fatt P., The specific ionic conductances and the ionic movements across the motoneuronal membrane that produce the inhibitory post-synaptic potential, *J. Physiol. (London)*, **130**, 326—373 (1955).
34. Couteaux R., Localization of cholinesterases at neuromuscular junctions, *Intern. Rev. Cytol.*, **4**, 335—375 (1955).
35. Curtis H. J., Cole K. S., Membrane resting and action potentials from the squid giant axon, *J. Cellular Comp. Physiol.*, **19**, 135—144 (1942).
36. Dale H. H., Feldberg W., Vogt M., Release of acetylcholine at voluntary motor nerve endings, *J. Physiol. (London)*, **86**, 353—380 (1936).
37. Davson H., Danielli J. F., The permeability of natural membranes, Cambridge University Press, London, 361 pp., 1943.
38. Dee E., Kernan R. P., Energetics of sodium transport in *Rana pipiens*, *J. Physiol. (London)*, **165**, 550—558 (1963).
39. Del Castillo J., Engbaek L., The nature of the neuromuscular block produced by magnesium, *J. Physiol. (London)*, **124**, 370—384 (1954).
40. Del Castillo J., Katz B., Quantal components of the endplate potential, *J. Physiol. (London)*, **124**, 560—573 (1954).
41. Del Castillo J., Katz B., Changes in end-plate activity produced by pre-synaptic polarization, *J. Physiol. (London)*, **124**, 586—604 (1954).
42. Del Castillo J., Katz B., The membrane change produced by the neuromuscular transmitter, *J. Physiol. (London)*, **125**, 546—565 (1954).
43. Del Castillo J., Katz B., On the localization of acetylcholine receptors, *J. Physiol. (London)*, **128**, 157—181 (1955).
44. Del Castillo J., Katz B., Local activity at a depolarized nerve-muscle junction, *J. Physiol. (London)*, **128**, 396—411 (1955).
45. Del Castillo J., Katz B., Biophysical aspects of neuromuscular transmission, *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, **6**, 121—170 (1956).
46. Del Castillo J., Katz B., Localization of active spots within the neuromuscular junction of the frog, *J. Physiol. (London)*, **132**, 630—649 (1956).
47. Del Castillo J., Katz B., A study of curare action with an electrical micromethod, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **146**, 339—356 (1957).

48. Del Castillo J., Katz B., Interaction at end-plate receptors between different choline derivatives, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **146**, 369—381 (1957).
49. Del Castillo J., Stark L., Local responses in single medullated nerve fibres, *J. Physiol. (London)*, **118**, 207—215 (1952).
50. De Lorenzo A. J., The fine structure of synapses, *Biol. Bull.*, **117**, 390 (1959).
51. De Robertis E., Fine structure of synapses in the CNS, *Intern. Congr. Neuropathol.*, **2**, 35—38 (1962).
52. De Robertis E., Electron microscope and chemical study of binding sites of brain biogenic amines, *Progr. Brain Res.*, **8**, 118—136 (1964).
53. De Robertis E., Pellegrino De Iraldi A., Rodriguez G., Gomez C. J., On the isolation of nerve endings and synaptic vesicles, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 229—235 (1961).
54. Desmedt J. E., Electrical activity and intracellular sodium concentration in frog muscle, *J. Physiol. (London)*, **121**, 191—205 (1953).
55. Dudel J., Effect of inhibition on the presynaptic nerve terminal in the neuromuscular junction of the crayfish, *Nature (London)*, **193**, 587—588 (1962).
56. Dudel J., Kuffler S. W., The quantal nature of transmission and spontaneous miniature potentials at the crayfish neuromuscular junction, *J. Physiol. (London)*, **155**, 514—529 (1961).
57. Dudel J., Kuffler S. W., Mechanism of facilitation at the crayfish neuromuscular junction, *J. Physiol. (London)*, **155**, 530—542 (1961).
58. Dudel J., Kuffler S. W., Presynaptic inhibition at the crayfish neuromuscular junction, *J. Physiol. (London)*, **155**, 543—562 (1961).
59. Dudel J., Orkand R. K., Spontaneous potential changes at crayfish neuromuscular junctions, *Nature (London)*, **186**, 476—477 (1960).
60. Dunham E. T., Glynn I. M., Adenosine triphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions, *J. Physiol. (London)*, **156**, 274—293 (1961).
61. Ebashi S., Lipmann F., Adenosine triphosphate-linked concentration of calcium ions in a particulate fraction of rabbit muscle, *J. Cell Biol.*, **14**, 389—400 (1962).
62. Eccles J. C., The physiology of nerve cells, The Johns Hopkins Press, Baltimore, 270 pp., 1957 (Дж. Эклс, Физиология нервных клеток, ИЛ, М., 1959).
63. Eccles J. C., The Ferrier Lecture. The nature of central inhibition, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **153**, 445—476 (1961).
64. Eccles J. C., The mechanism of synaptic transmission, *Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exp. Pharmacol.*, **51**, 299—430

65. Eccles J. C., The physiology of synapses, Springer-Verlag OHG, Berlin, 316 pp., 1964. (Дж. Э к к л с, Физиология синапсов, изд-во «Мир», М., 1966.)
66. Eccles J. C., Fatt P., Koketsu K., Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurons, *J. Physiol. (London)*, **126**, 524—562 (1954).
67. Eccles J. C., Katz B., Kuffler S. W., Nature of the "end-plate potential" in curarized muscle, *J. Neurophysiol.*, **4**, 362—387 (1941).
68. Elliott T. R., On the action of adrenalin, *J. Physiol. (London)*, **31**, 20P (1904).
69. Elmqvist D., Quastel J. M., Thesleff S., Prejunctional action of HC-3 on neuromuscular transmission, *J. Physiol. (London)*, **167**, 47—48 P (1963).
70. Emmelin N. G., Macintosh F. C., The release of acetylcholine from perfused sympathetic ganglia and skeletal muscles, *J. Physiol. (London)*, **131**, 477—496 (1956).
71. Ernst E., Die Muskeltätigkeit. Versuch einer Biophysik des quergestreiften Muskels, Hungarian Academy of Science, Budapest, 355 pp., 1958.
72. Von Euler U. S., A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibres (Sympathin) and its relations to adrenaline and noradrenaline, *Acta Physiol. Scand.*, **12**, 73—97 (1946).
73. Eyzaguirre C., Kuffler S. W., Processes of excitation in the dendrites and in the soma of single isolated nerve cells of the lobster and crayfish, *J. Gen. Physiol.*, **39**, 87—119 (1955).
74. Falk G., Fatt P., Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **160**, 69—123 (1964).
75. Fatt P., Electric potentials occurring around a neuron during its antidromic activation, *J. Neurophysiol.*, **20**, 27—60 (1957).
76. Fatt P., Sequence of events in synaptic activation of a motoneuron, *J. Neurophysiol.*, **20**, 61—80 (1957).
77. Fatt P., Ginsborg B. L., The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres, *J. Physiol. (London)*, **142**, 516—543 (1958).
78. Fatt P., Katz B., Some observations on biological noise, *Nature (London)*, **166**, 597—598 (1950).
79. Fatt P., Katz B., An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode, *J. Physiol. (London)*, **115**, 320—370 (1951).
80. Fatt P., Katz B., Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings, *J. Physiol. (London)*, **117**, 109—128 (1952).
81. Fatt P., Katz B., The effect of inhibitory nerve impulses on a crustacean muscle fibre, *J. Physiol. (London)*, **121**, 374—339 (1953).
82. Feng T. P., Hsieh W. M., Conduction in muscle after complete irreversible inactivation of cholinesterase, *Chinese J. Physiol.*, **18**, 81—92 (1952).

83. F e n g T. P., H s i e h W. M., Conduction in nerve after complete irreversible inactivation of cholinesterase, Chinese J. Physiol., **18**, 93—102 (1952).
84. F e n g T. P., L i T. H., Studies on the neuromuscular junction, XXIII, A new aspect of the phenomena of eserine potentiation and post-tetanic facilitation in mammalian muscles, Chinese J. Physiol., **16**, 37—56 (1941).
85. F r a n k K., Basic mechanisms of synaptic transmission in the central nervous system, IRE Trans. Med. Electron., ME-6, 85—88 (1959).
86. F r a n k K., F u o r t e s M. G. E., Presynaptic and post-synaptic inhibition of monosynaptic reflexes, Federation Proc., **16**, 39—40 (1957).
87. F r a n k e n h a e u s e r B., The hypothesis of saltatory conduction, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., **17**, 27—36 (1952).
88. F r a n k e n h a e u s e r B., Quantitative description of sodium currents in myelinated nerve fibres of *Xenopus laevis*, J. Physiol. (London), **151**, 491—501 (1960).
89. F r a n k e n h a e u s e r B., H o d g k i n A. L., The after-effects of impulses in the giant nerve fibres of Loligo, J. Physiol. (London), **131**, 341—376 (1956).
90. F r a n z i n i - A r m s t r o n g C., P o r t e r K. R., Sarcolemmal invaginations constituting the T system in fish muscle fibres, J. Cell Biol., **22**, 675—696 (1964).
91. F u o r t e s M. G. F., F r a n k K., B e c k e r M. C., Steps in the production of motoneuron spikes, J. Gen. Physiol., **40**, 735—752 (1957).
92. F u r s h p a n E. J., F u r u k a w a T., Intracellular and extracellular responses of the several regions of the Mauthner cell of the goldfish, J. Neurophysiol., **25**, 732—771 (1962).
93. F u r s h p a n E. J., P o t t e r D. D., Transmission at the giant synapses of the crayfish, J. Physiol. (London), **145**, 289—325 (1959).
94. F u r u k a w a T., F u r s h p a n E. J., Two inhibitory mechanisms in the Mauthner neurons of goldfish, J. Neurophysiol., **26**, 140—176 (1963).
95. G a f f e y C. T., M u l l i n s L. J., Ion fluxes during the action potential in Chara, J. Physiol. (London), **144**, 505—524 (1958).
96. G e r e n B. B., The formation from the Schwann cell surface of myelin in the peripheral nerves of chick embryos, Exper. Cell Res., **7**, 558—562 (1954).
97. G l y n n I. M., Activation of adenosine-triphosphatase activity in a cell membrane by external potassium and internal sodium, J. Physiol. (London), **160**, 18—19 P (1962).
98. G o l d m a n D. E., Potential, impedance and rectification in membranes, J. Gen. Physiol., **27**, 37—60 (1943).
99. G o l d s m i t h T. H., Rates of action of bath-applied drugs at the neuromuscular junction of the frog, J. Physiol. (London), **165**, 368—386 (1963).

100. Granit R., Receptors and sensory perception, Yale University Press, New Haven, Conn., 369 pp., 1955. (Р. Гранит, Электрофизиологическое исследование рецепции, ИЛ, М., 1958.)
101. Gray E. G., Whittaker V. P., The isolation of nerve endings from brain: an electron microscope study of cell fragments derived by homogenization and ultracentrifugation, *J. Anat. (London)*, **96**, 79—88 (1962).
102. Gray J. A. B., Initiation of impulses at receptors, chap. 4 of *Neurophysiology*, vol. 1, Section 1, "Handbook of Physiology", J. Field (ed.), American Physiol Society, Washington, D. C., 1959.
103. Grundfest H., Electrical inexcitability of synapses and some consequences in the central nervous system, *Physiol. Rev.*, **37**, 337—361 (1957).
104. Hagiwara S., Tasaki I., A study of the mechanism of impulse transmission across the giant synapse of the squid, *J. Physiol. (London)*, **143**, 114—137 (1958).
105. Hamma K., Some observations on the fine structure of the giant fibres of the crayfishes (*Cambarus virilis* and *Cambarus clarkii*) with special reference to the sub-microscopic organization of the synapses, *Anat. Record*, **141**, 275—280 (1961).
106. Hamma K., Some observations on the fine structure of the giant synapse in the stellate ganglion of the squid, *Doryteuphis bleekeri*, *Z. Zellforsch.*, **56**, 437—444 (1962).
107. Hanson J., Huxley H. E., The structural basis of contraction in striated muscle, *Symp. Soc. Exptl. Biol.*, **9**, 228—264 (1955).
108. Hanson J., Huxley H. E., Quantitative studies on the structure of crosstriated myofibrils, II, Investigations by biochemical analysis, *Biochem. Biophys. Acta.*, **23**, 250—260 (1957).
109. Harris E. J., Burn G. P., The transfer of sodium and potassium ions between muscle and the surrounding medium, *Trans. Faraday Soc.*, **45**, 508—528 (1949).
110. Hartline H. K., Receptor mechanisms and the integration of sensory information in the eye, in "Biophysical Science — A Study Program," John Wiley and Sons, Inc., New York, 515—523 pp., 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 263, ИЛ, М., 1961.)
111. Hasselbach W., Makinose M., Die Calciumpumpe der Erschlaffungsgrana des Muskels und ihre Abhängigkeit von der ATP-Spaltung, *Biochem. Z.*, **333**, 518—528 (1961).
112. Hill A. V., Chemical wave transmission in nerve, Cambridge University Press, London, 74, pp., 1932.
113. Hill A. V., The heat of shortening and the dynamic constants of muscle, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **126**, 136—195 (1938).
114. Hill A. V., The onset of contraction, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **136**, 242—254 (1949).

115. Hill A. V., The thermodynamics of muscle, *Brit. Med. Bull.*, **12**, 174—176 (1956).
116. Hinkle J. A. M., The measurement of sodium and potassium activities in the squid axon by means of cation-selective glass microelectrodes, *J. Physiol. (London)*, **156**, 314—335 (1961).
117. Hodgkin A. L., Evidence for electrical transmission in nerve, *J. Physiol. (London)*, **90**, 183—232 (1937).
118. Hodgkin A. L., The subthreshold potentials in a crustacean nerve fibre, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **126**, 87—121 (1938).
119. Hodgkin A. L., The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle, *Biol. Rev.*, **26**, 339—409 (1951).
120. Hodgkin A. L., A note on conduction velocity, *J. Physiol. (London)*, **125**, 221—224 (1954).
121. Hodgkin A. L., The Croonian Lecture: Ionic movements and electrical activity in giant nerve fibres, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **148**, 1—37 (1958).
122. Hodgkin A. L., The conduction of the nervous impulse, Liverpool University Press, Liverpool, 108 pp., 1964. (А. Ходжкин, Нервный импульс, изд-во «Мир», М., 1965.)
123. Hodgkin A. L., Horowicz P., Movements of Na and K in single muscle fibres, *J. Physiol. (London)*, **145**, 405—432 (1959).
124. Hodgkin A. L., Horowicz P., Potassium contractions in single muscle fibres, *J. Physiol. (London)*, **153**, 386—403 (1960).
125. Hodgkin A. L., Huxley A. F., Action potentials recorded from inside a nerve fibre, *Nature (London)*, **144**, 710 (1939).
126. Hodgkin A. L., Huxley A. F., Movement of sodium and potassium ions during nervous activity, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, **17**, 43—52 (1952).
127. Hodgkin A. L., Huxley A. F., Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **116**, 449—472 (1952).
128. Hodgkin A. L., Huxley A. F., The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **116**, 473—496 (1952).
129. Hodgkin A. L., Huxley A. F., The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **116**, 497—506 (1952).
130. Hodgkin A. L., Huxley A. F., A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve, *J. Physiol. (London)*, **117**, 500—544 (1952).
131. Hodgkin A. L., Huxley A. F., Katz B., Ionic currents underlying activity in the giant axon of the squid, *Arch. Sci. Physiol.*, **3**, 129—150 (1949).
132. Hodgkin A. L., Huxley A. F., Katz B., Measurement of current-voltage relations in the membrane of the

- giant axon of *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **116**, 424—448 (1952).
133. H o d g k i n A. L., K a t z B., The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid, *J. Physiol. (London)*, **108**, 37—77 (1949).
134. H o d g k i n A. L., K e y n e s R. D., The mobility and diffusion coefficient of potassium in giant axons from *Sepia*, *J. Physiol. (London)*, **119**, 513—528 (1953).
135. H o d g k i n A. L., K e y n e s R. D., Active transport of cations in giant axons from *Sepia* and *Loligo*, *J. Physiol. (London)*, **128**, 28—60 (1955).
136. H o d g k i n A. L., K e y n e s R. D., The potassium permeability of a giant nerve fibre, *J. Physiol. (London)*, **128**, 61—88 (1955).
137. H o d g k i n A. L., R u s h t o n W. A. H., The electrical constants of a crustacean nerve fibre, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **133**, 444—479 (1946).
138. H o y l e G., W i e r s m a C. A. G., Inhibition at neuromuscular junctions in crustacea, *J. Physiol. (London)*, **143**, 426—440 (1958).
139. H u x l e y A. F., Muscle structure and theories of contraction, *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, **7**, 255—318 (1957).
140. H u x l e y A. F., Muscle, *Ann. Rev. Physiol.*, **26**, 131—152 (1964).
141. H u x l e y A. F., S t ä m p f l i R., Effect of potassium and sodium on resting and action potentials of single myelinated nerve fibres, *J. Physiol. (London)*, **112**, 496—508 (1951).
142. H u x l e y A. F., T a y l o r R. E., Local activation of striated muscle fibres, *J. Physiol. (London)*, **144**, 426—441 (1958).
143. H u x l e y H. E., The double array of filaments in cross-striated muscle, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **3**, 631—648 (1957).
144. H u x l e y H. E., Muscle cells, in "The Cell", **4**, 366—481, Academic Press, Inc. New York (1960).
145. H u x l e y H. E., Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle, *J. Mol. Biol.*, **7**, 281—308 (1963).
146. H y d é n H., The neuron, in "The Cell", **4**, 215—323, Academic Press, Inc., New York (1960).
147. H y d é n H., E g y h a z i E., Nuclear RNA changes of nerve cells during a learning experiment in rats, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, **48**, 1366—1373 (1962).
148. H y d é n H., H a m b e r g e r A., Inverse enzymatic changes in neurons and glia during increased function and hypoxia, *J. Cell Biol.*, **16**, 521—525 (1963).
149. J e n k i n s o n D. H., The antagonism between tubocurarine and substances which depolarize the motor end-plate, *J. Physiol. (London)*, **152**, 309—324 (1960).
150. K a t c h a l s k y A., Polyelectrolyte gels, *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, **4**, 1—59 (1954).
151. K a t z B., Experimental evidence for a non-conducted response

- of nerve to subthreshold stimulation, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **124**, 244—276 (1937).
152. K a t z B., *Electric excitation of nerve*, 151 pp., Oxford University Press, London, 1933.
 153. K a t z B., Subthreshold potentials in medullated nerve, *J. Physiol. (London)*, **106**, 66—79 (1947).
 154. K a t z B., The electrical properties of the muscle fibre membrane, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **135**, 506—534 (1948).
 155. K a t z B., Depolarization of sensory terminals and the initiation of impulses in the muscle spindle, *J. Physiol. (London)*, **111**, 261—283 (1950).
 156. K a t z B., Microphysiology of the neuromuscular junction, *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, **102**, 275—312 (1958).
 157. K a t z B., Book review, *Perspectives Biol. Med.*, **3**, 563 — 565 (1960).
 158. K a t z B., The terminations of the afferent nerve fibre in the muscle spindle of the frog, *Phil. Trans. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **243**, 221—240 (1961).
 159. K a t z B., The Croonian Lecture: The transmission of impulses from nerve to muscle, and the subcellular unit of synaptic action, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **155**, 455—477 (1962).
 160. K a t z B., M i l e d i R., A study of spontaneous miniature potentials in spinal motoneurons, *J. Physiol. (London)*, **168**, 339—422 (1963).
 161. K a t z B., M i l e d i R., The development of acetylcholine sensitivity in nerve-free segments of skeletal muscle, *J. Physiol. (London)*, **170**, 339—396 (1964).
 162. K a t z B., M i l e d i R., Localization of calcium action at the nerve muscle junction, *J. Physiol. (London)*, **171**, 10—12 P (1964).
 163. K a t z B., M i l e d i R., Propagation of electric activity, in motor nerve terminals, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **161**, 453—482 (1965).
 164. K a t z B., M i l e d i R., The measurement of synaptic delay, and the time course of acetylcholine release at the neuromuscular junction, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **161**, 483—495 (1965).
 165. K a t z B., M i l e d i R., The effect of calcium on acetylcholine release from motor nerve terminals, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **161**, 496—503 (1965).
 166. K a t z B., S c h m i t t O. H., Electric interaction between two adjacent nerve fibres, *J. Physiol. (London)*, **97**, 471—488 (1940).
 167. K a t z B., T h e s l e f f S., On the factors which determine the amplitude of the "miniature end-plate potential", *J. Physiol. (London)*, **137**, 267—278 (1957).
 168. K a t z B., T h e s l e f f S., The interaction between edrophonium (tensilon) and acetylcholine at the motor end-plate, *Brit. J. Pharmacol.*, **12**, 260—264 (1957).
 169. K a t z B., T h e s l e f f S., A study of the "desensitization"

- produced by acetylcholine at the motor end-plate, *J. Physiol. (London)*, **138**, 63—80 (1957).
170. Kerkut G. A., Thomas R. C., The effect of anion injection and changes in the external potassium and chloride concentration on the reversal potentials of the IPSP and acetylcholine, *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**, 199—213 (1964).
171. Keynes R. D., The ionic movements during nervous activity, *J. Physiol. (London)*, **114**, 119—150 (1951).
172. Keynes R. D., The ionic fluxes in frog muscle, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **142**, 359—382 (1954).
173. Keynes R. D., Lewis P. R., The sodium and potassium content of cephalopod nerve fibres, *J. Physiol. (London)*, **114**, 151—182 (1951).
174. Keynes R. D., Maisel G. W., The energy requirement for sodium extrusion from a frog muscle, *Proc. Roy. Soc. (London)*, ser. B, **142**, 383—392 (1954).
175. Koelle G. B., Friedenwald J. S., A histochemical method for localizing cholinesterase activity, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **70**, 617—622 (1949).
176. Kravitz E. A., Kuffler S. W., Potter D. D., Gamma-aminobutyric acid and other blocking compounds in Crustacea, III, Their relative concentrations in separated motor and inhibitory axons, *J. Neurophysiol.*, **26**, 739—751 (1963).
177. Krnjević K., Miletić R., Failure of neuromuscular propagation in rats, *J. Physiol. (London)*, **140**, 440—461 (1958).
178. Krnjević K., Mitchell J. F., The release of acetylcholine in the isolated rat diaphragm, *J. Physiol. (London)*, **155**, 246—262 (1961).
179. Kuffler S. W., Further study on transmission in an isolated nerve-muscle fibre preparation, *J. Neurophysiol.*, **5**, 309—322 (1942).
180. Kuffler S. W., Transmitter mechanism at the nerve-muscle junction, *Arch. Sci. Physiol.*, **3**, 585—601 (1949).
181. Kuffler S. W., Excitation and inhibition in single nerve cells, "The Harvey Lectures", 1958—1959, pp. 176—218, Academic Press, Inc., New York, 1960.
182. Kuffler S. W., Potter D. D., Glia in the leech central nervous system: physiological properties and neuron-glia relationship, *J. Neurophysiol.*, **27**, 290—320 (1964).
183. Kuffler S. W., Vaughan Williams E. M., Small-nerve junctional potentials: The distribution of small motor nerves to frog skeletal muscle, and the membrane characteristics of the fibres they innervate, *J. Physiol. (London)*, **121**, 289—317 (1953).
184. Kuno M., Quantal components of excitatory synaptic potentials in spinal motoneurons, *J. Physiol. (London)*, **175**, 81—99 (1964).
185. Levi H., Ussing H. H., The exchange of sodium and

- chloride ions across the fibre membrane of the isolated frog sartorius, *Acta Physiol. Scand.*, **16**, 232—249 (1948).
186. Liley A. W., The quantal components of the mammalian end-plate potential, *J. Physiol. (London)*, **133**, 571—587 (1956).
 187. Liley A. W., The effects of presynaptic polarization on the spontaneous activity of the mammalian neuromuscular junction, *J. Physiol. (London)*, **134**, 427—443 (1956).
 188. Lillie R. S., The passive iron wire model of protoplasmic and nervous transmission and its physiological analogies, *Biol. Rev.*, **11**, 181—209 (1936).
 189. Ling G. N., A physical theory of the living state, 680 pp., Blaisdell Publishing Company, New York, 1962.
 190. Loewi O., Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenerwirkung, *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, **189**, 239—242 (1921).
 191. Loewi O., Navratil E., Über humorale Übertragbarkeit der Herznervenerwirkung, X., Über das Schicksal des Vagusstoffes, *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, **214**, 678—688 (1926).
 192. Lorente De Nó R., A study of nerve physiology, *Studies Rockefeller Inst. Med. Res.*, **131**, 496; **132**, 548 (1947).
 193. Lorente De Nó R., Condouris G. A., Decremental conduction in peripheral nerve. Integration of stimulus in the neuron, *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S.*, **45**, 592—617 (1959).
 194. Lüttgau H. C., Niedergeser R., The antagonism between Ca and Na ions on the frog's heart, *J. Physiol. (London)*, **143**, 486—505 (1958).
 195. Макаров П., Юденич Н., О проведении нервного импульса в наркотизированном участке нерва, *Журн. эксп. биол. мед.*, **11** (1929).
 196. Marrazzi A. S., Lorente De Nó R., Interaction of neighboring fibers in myelinated nerve, *J. Neurophysiol.*, **7**, 83—102 (1944).
 197. Martin A. R., A further study of the statistical composition of the end-plate potential, *J. Physiol. (London)*, **130**, 114—122 (1955).
 198. Martin A. R., Orkand R. K., Postsynaptic effects of HC-3 at the neuromuscular junction of the frog, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **39**, 343—349 (1961).
 199. Martin A. R., Pilar G., Dual mode of synaptic transmission in the avian ciliary ganglion, *J. Physiol. (London)*, **168**, 443—463 (1963).
 200. Martin A. R., Pilar G., Transmission through the ciliary ganglion of the chick, *J. Physiol. (London)*, **168**, 464—475 (1963).
 201. Masland R. L., Wighton R. S., Nerve activity accompanying fasciculation produced by prostigmine, *J. Neurophysiol.*, **3**, 269—275 (1940).
 202. Matthews B. H. C., The response of a single end-organ, *J. Physiol. (London)*, **71**, 64—110 (1931).
 203. Miledi R., The acetylcholine sensitivity of frog muscle fibres after complete or partial denervation, *J. Physiol. (London)*, **151**, 1—23 (1960).

204. Miledi R., Properties of regenerating neuromuscular synapses in the frog, *J. Physiol. (London)*, **154**, 190—205 (1960).
205. Miledi R., Induction of receptors, in "Enzymes and drug action," pp. 220—238, J. and A. Churchill, Ltd., London 1962.
206. Miledi R., An influence of nerve not mediated by impulses, in E. Gutmann and P. Hnik (eds.), "The effect of use and disuse on neuromuscular functions," pp. 35—41, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1963.
207. Miledi R., Slater C. R., A study of rat nerve-muscle junctions after degeneration of the nerve, *J. Physiol. (London)*, **169**, 23—24 P (1963).
208. Nachmansohn D., Chemical and molecular basis of nerve activity, 235 pp., Academic Press, Inc., New York, 1959.
209. Nastuk W. L., Membrane potential changes at a single muscle end-plate produced by transitory application of acetylcholine with an electrically controlled microjet, *Federation Proc.*, **12**, 102 (1953).
210. Nastuk W. L., Hodgkin A. L., The electrical activity of single muscle fibres, *J. Cellular Comp. Physiol.*, **35**, 39—74 (1950).
211. Overton E., Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie, II, Über die Unentbehrlichkeit von Natrium (oder Lithium-)Ionen für den Kontraktionsakt des Muskels, *Pflügers Arch. Ges. Physiol.*, **92**, 346—386 (1902).
212. Palay S. L., Synapses in the central nervous system, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2**, 193—202 (1956).
213. Post R. L., Merritt C. R., Kinsolving C. R., Albright C. D., Membrane adenosine-triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte, *J. Biol. Chem.*, **235**, 1796—1802 (1960).
214. Randic M., Straughan D. W., Antidromic activity in the rat phrenic nerve-diaphragm preparation, *J. Physiol. (London)*, **173**, 130—148 (1964).
215. Ritchie J. M., Straub R. W., The hyperpolarization which follows activity in mammalian non-medullated fibres, *J. Physiol. (London)*, **136**, 80—97 (1957).
216. Robertson J. D., The molecular structure and contact relationship of cell membranes, *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, **10**, 343—418 (1960).
217. Robertson J. D., Ultrastructure of excitable membranes and the crayfish median-giant synapse, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **94**, 339—389 (1961).
218. Rosenblueth A., The transmission of nerve impulses at neuroeffector junctions and peripheral synapses, 325 pp., John Wiley and Sons, Inc., New York, 1950.
219. Rosenblueth A., The local responses of axons, *Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exp. Pharmacol.*, **47**, 24—69 (1952).
220. Ruston W. A. H., A new observation in the excitation of nerve and muscle, *J. Physiol. (London)*, **75**, 16—17 P (1932).

221. R u s h t o n W. A. H., A theory of the effects of fibre size in medullated nerve, *J. Physiol. (London)*, **115**, 101—122 (1951).
222. S c h a t z m a n n A. J., Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran, *Helv. Physiol. Acta.*, **11**, 346—354 (1953).
223. S c h m i t t F. O., Molecular organization of the nerve fiber, in "Biophysical Science — A Study Program," pp. 455—465, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 185, ИЛ, М., 1961.)
224. S c h m i t t O. H., Biological transducers and coding, in "Biophysical Science — A Study Program," pp. 492—503, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 233, ИЛ, М., 1961.)
225. S j ö s t r a n d F. S., Fine structure of cytoplasm: the organization of membranous layers, in "Biophysical Science — A Study Program," pp. 301—318, John Wiley and Sons, Inc., New York, 1959. (Современные проблемы биофизики, т. 2, стр. 46, ИЛ, М., 1961.)
226. S k o u J. C., The influence of some cations on an adenosine-triphosphatase from peripheral nerves, *Biochim. biophys. acta*, **23**, 394—401 (1957).
227. S t ä m p f l i R., Reversible electrical breakdown of the excitable membrane of the Ranvier node, *Anais Acad. Brasil. Cienc.*, **30**, 57—63 (1958).
228. S t e i n b a c h H. B., Sodium and potassium in frog muscle, *J. Biol. Chem.*, **133**, 695—701 (1940).
229. S z e n t - G y ö r g y i A., Chemistry of muscular contraction, 150 pp., Academic Press, Inc., New York, 1947.
230. T a k e u c h i A., T a k e u c h i N., Active phase of frog's end-plate potential, *J. Neurophysiol.*, **22**, 395—411 (1959).
231. T a k e u c h i A., T a k e u c h i N., On the permeability of end-plate membrane during the action of transmitter, *J. Physiol. (London)*, **154**, 52—67 (1960).
232. T a k e u c h i A., T a k e u c h i N., Further analysis of relationship between end-plate potential and end-plate current, *J. Neurophysiol.*, **23**, 397—402 (1960).
233. T a k e u c h i A., T a k e u c h i N., The effect on crayfish muscle of iontophoretically applied glutamate, *J. Physiol. (London)*, **170**, 296—317 (1964).
234. T a s a k i I., The electro-saltatory transmission of the nerve impulse and the effect of narcosis upon the nerve fiber, *Am. J. Physiol.*, **127**, 211—227 (1939).
235. T a s a k i I., Nervous Transmission, p. 164, Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill, 1953. (И. Т а с а к и, Проведение нервного импульса, ИЛ, М., 1957.)
236. T a u c L., Processus post-synaptique d'excitation et d'inhibition dans le soma neuronique de *L'Aplysie* et de *l'Escargot*, *Arch. Ital. Biol.*, **96**, 78—110 (1958).
237. T a u c L., G e r s c h e n f e l d H. M., Cholinergic trans-

- mission dans le soma neuronique de l'Aplysie et de l'Escargot, *Arch. Ital. Biol.*, **96**, 78—110 (1958).
237. Tauc L., Gerschenfeld H. M., Cholinergic transmission mechanisms for both excitation and inhibition in molluscan central synapses, *Nature (London)*, **192**, 366—367 (1961).
238. Tauc L., Gerschenfeld H. M., A cholinergic mechanism of inhibitory synaptic transmission in a molluscan nervous system, *J. Neurophysiol.*, **25**, 236—262 (1962).
239. Thesleff S., The mode of neuromuscular block caused by acetylcholine, nicotine, decamethonium and succinylcholine, *Acta Physiol. Scand.*, **34**, 218—231 (1955).
240. Thesleff S., Supersensitivity of skeletal muscle produced by botulinum toxin, *J. Physiol. (London)*, **151**, 598—607 (1960).
241. Thesleff S., Effects of motor innervation on the chemical sensitivity of skeletal muscle, *Physiol. Rev.*, **40**, 734—752 (1960).
242. Thies R. E., Brooks V. B., Postsynaptic neuromuscular block produced by hemicholinium № 3, *Federation Proc.*, **20**, 569—578 (1961).
243. Трошин А. С., *Das Problem der Zellpermeabilität*, 396 pp., Gustav Fischer Verlag, Jena, 1958.
244. Трошин А. С., По поводу статьи Л. М. Чайлахяна «Современные представления о природе потенциала покоя», *Биофизика* (1960).
245. Ussing H. H., Interpretation of the exchange of radiosodium in isolated muscle, *Nature (London)*, **160**, 262—263 (1947).
246. Ussing H. H., Transport of ions across cellular membranes, *Physiol. Rev.*, **29**, 127—155 (1949).
247. Weber A., Herz R., Reiss I., On the mechanism of the relaxing effect of fragmented sarcoplasmic reticulum, *J. Gen. Physiol.*, **46**, 679—702 (1963).
248. Whittaker V. P., Investigations on the storage sites of biogenic amines in the central nervous system, *Progr. Brain Res.*, **8**, 90—117 (1964).
249. Whittam R., Potassium movements and ATP in human red cells, *J. Physiol. (London)*, **140**, 479—497 (1958).
250. Wiersma C. A. G., The efferent innervation of muscle, *Biol. Symp.*, **3**, 259—290 (1941).
251. Huxley A. F., Stämpfli R., Evidence for saltatory conduction in peripheral myelinated nerve fibres, *J. Physiol. (London)*, **108**, 315—339 (1949).

Оглавление

Предисловие к русскому изданию	5
Предисловие к английскому изданию	6
Предисловие автора	8
Глава 1. Элементы организации нервно-мышечной системы	9
Структурные отношения между нейронами и соседними клетками	12
Глава 2. Электричество и нейрофизиология	20
Некоторые технические вопросы	22
Электрическое раздражение	29
Некоторые электрофизиологические наблюдения	32
Глава 3. Некоторые наблюдения на одиночных нервных и мышечных волокнах	43
Глава 4. Мембранная теория возбуждения	54
Мембранный потенциал и избирательная проницаемость для ионов	62
Теория биоэлектрических явлений Бернштейна	72
Натриевый насос	82

Потенциал ионного равновесия, ионная проводимость и мембранный потенциал	87
Ионная проницаемость и ионная проводимость . . .	91
Глава 5. Возникновение импульса	93
Два фактора, играющие роль в проведении импульса: кабельная проводимость и возбуждение	93
Количественная реконструкция потенциала действия и механизма его проведения	108
Глава 6. Проведение импульса	114
Возможности обобщения ионной теории	118
Проведение с декрементом	119
Глава 7. Передача импульсов внутри клеток и через границы между клетками	121
Электрическая и химическая передача в синапсах	123
Электрическая передача в возбуждательных и тормозных синапсах	129
Примеры химической передачи в синапсах	132
Глава 8. Передача импульсов с нерва на мышцу	137
Роль ацетилхолина	137
Освобождение ацетилхолина пресинаптическими структурами	142
Постсинаптическое действие ацетилхолина	144
Достаточно ли освобождающегося количества ацетилхолина для возбуждения мышечного волокна?	147
Постсинаптический процесс: природа потенциала концевой пластинки	149
Кинетика действия химического передатчика	152
Глава 9. Квантовая природа химической передачи	157
Спонтанное освобождение ацетилхолина как квантованный нейросекреторный процесс	157

Статистическая микроструктура потенциала концевой пластинки	162
Освобождение ацетилхолина как форма нейросекреции, контролируемая электрическими изменениями	168
Кумулятивные эффекты повторных нервных импульсов	169
Глава 10. Передача сигналов через межнейронные синапсы	172
Нервно-мышечная система ракообразных	173
Постсинаптические эффекты	176
Облегчение	178
Пресинаптическое торможение	179
Центральные нейроны	181
Центральное торможение	184
Центральное облегчение	189
Глава 11. Инициация мышечного сокращения	191
Глава 12. Заключение	201
Л и т е р а т у р а	203

Б. КАТЦ

Нерв, мышца и синапс

Редактор А. Б. Левина
Художник А. В. Шипов
Художественный редактор Ю. Л. Максимов
Технический редактор Т. А. Мирошина
Корректор Е. Г. Литвак

Сдано в производство 13/V 1968 г.
Подписано к печати 23/IX 1968 г.
Бум. кн. журн. $84 \times 108^{1/32} = 3,5$ б.л.
Печ. усл. 11,76. Уч.-изд. л. 11,18.
Изд. № 4/4405. Цена 77 коп. Зак. 1048
Тем. из-ва «Мир» 1968 г., пор. № 160.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
Москва, 1-й Рижский пер., 2

Ярославский полиграфкомбинат Главполи-
графпрома Комитета по печати при Совете
Министров СССР. Ярославль, ул. Сво-
боды, 97.