

ВОРОТНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ИОННЫХ КАНАЛАХ ВОЗБУДИМЫХ БИОМЕМБРАН

Г.А.Абгарян

*/Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,
кафедра медицинской и биологической физики/
375025 Ереван, ул. Корюна 2*

Ключевые слова: ионный канал, ион-конформационное взаимодействие, потенциальный профиль, бистабильность, самоорганизация

К числу молекулярных объектов, проявляющих нетривиальные динамические и кинетические свойства, относятся ионные каналы в биологических мембранах, регулирующие потоки ионов из внеклеточной среды внутрь клетки, и наоборот. Установлено, что ионный канал представляет собой микроскопическую пору, образованную белковой макромолекулой, встраивающейся в биомембрану [6,11]. Диссоциированные в раствор из солей ионы Na^+ , K^+ и др. обладают возможностью селективно проникать через мембрану, оставляя свои противоионы с другой ее стороны. При этом диффузия через мембрану каждого сорта ионов вызывает появление электрического потенциала на мембране, стремящегося уравновесить разность концентрации ионов, т.е. уравнивать их электрохимические потенциалы. В случае возбудимых биомембран ионные каналы обладают проводимостью, зависящей от электрического потенциала на мембране, и сохраняют краткосрочную память о значениях этого потенциала в предыдущие моменты времени [2,16]. Открытие метода ПЭЧ-кемпа позволило экспериментально фиксировать ионный ток от отдельного ионного канала [10]. Оказалось, что при фиксированном потенциале и концентрации ионов по разные стороны мембраны одиночный ионный канал может находиться в двух состояниях с различной проводимостью, одно из которых называется открытым, а другое — закрытым. Принято говорить, что состояние проводимости канала регулируется так называемыми “воротными” частицами, которые представляют собой некоторые заряженные молекулярные группы в структуре канала, обладающие несколькими положениями равновесия. Перескоки этих воротных групп между их положениями равновесия приводят к различным состояниям проводимости канала.

Для описания явлений переноса ионов через ионные каналы обычно применяются электродиффузионные уравнения [4,5]. При этом, в качестве универсальной модели канала принята модель одномерного потенциального профиля, фиксированного к структуре канала. Если потенциальный профиль канала обладает минимумами в определенных точках и вероятность нахождения ионов в окрестности этих точек достаточно высока, то можно говорить об "узлах связывания" ионов в канале. При наличии одного или нескольких таких "узлов" в канале можно электродиффузионные уравнения заменить на уравнения балансного типа, предполагая, что прыжки ионов из одного "узла связывания" в другой происходят по механизму термической активации (согласно теории абсолютных скоростей реакции Эйринга [7]). Однако эта модель не объясняет ряда важных особенностей возбудимых биомембран. Например, дискретные уровни проводимости одиночных ионных каналов, зависимость ионных токов через эти каналы от концентрации соответствующих ионов в примембранных растворах и т.д. экспериментально наблюдаются многими авторами, а некоторые из них в качестве постулата уже применяются в теории [12-14]. Физические причины их появления обычно связываются со свойствами каналообразующих белков, остающихся за рамками теоретической интерпретации.

В последние годы выдвинута концепция, согласно которой при исследовании динамики канала необходимо учитывать взаимодействие проникающих ионов с заряженными структурными группами ионного канала. Например, в работах Чинарова и др. [1,8] развивается идея о том, что ион-конформационное взаимодействие играет определяющую роль в тех процессах в ионном канале, которые управляются мембранным потенциалом и ионными концентрациями в примембранных жидкостях. Авторы исходили из того очевидного факта, что электрические поля, создаваемые в канале проходящими через канал ионами ($\approx 10^9$ В/см), намного превосходят поля, создаваемые мембранным потенциалом. Следовательно, проникающие ионы способны существенно повлиять на положение заряженных групп структуры ионного канала. Если время релаксации перемещенных при этом структурных групп достаточно мало, то они успевают возвращаться в исходное положение до входа следующего иона в канал, и ион-конформационное взаимодействие (ИКВ) будет действовать только на фиксированный потенциальный профиль канала. Если же время релаксации молекулярных заряженных групп структуры канала велико, то перемещение, вызванное одним проходящим ионом, не успевает "исчезнуть" до прихода следующего иона, и в результате смещения, вызванные отдельными ионами, будут суммироваться, и положение соответствующих молекулярных групп определится средним числом проходящих ионов в канале. В этом случае теряется смысл фиксированного потенциального профиля, и ИКВ приводит к образованию подвижного потенциального профиля канала, форма кото-

рого будет определяться взаимодействием большого числа проникающих ионов со структурными группами канала.

С другой стороны, положение молекулярных групп в канале приводит к его обратному действию на значение ионного потока через канал. Решение системы уравнений, описывающих эти процессы, позволяет не только определить зависимость ионного тока через отдельный канал от мембранного потенциала, но и выявить причины, которые приводят к различным конформационным состояниям канала и его работе в режиме "да" или "нет".

Модель ионного канала с подвижной структурой потенциального профиля

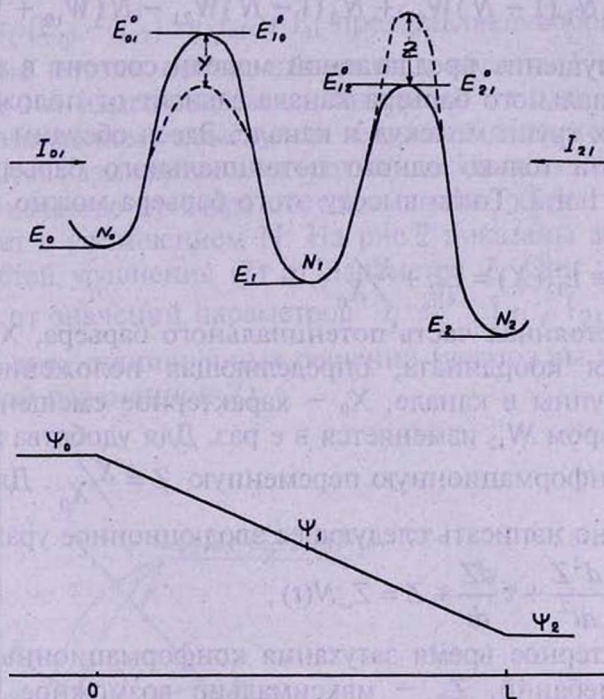


Рис.1. Потенциальный профиль одноионного канала и распределение напряжения на мембране вдоль него

Рассмотрим ионный канал с одноионным потенциальным профилем (рис. 1). Ионные потоки через такой канал будут определяться средними заселенностями ионов в положениях 0, 1, 2 (N_0 , N_1 , N_2), а также вероятностями прыжков W_{nm} через соответствующие потенциальные барьеры [7]:

$$W_{nm} = \Omega_n \exp[E_n - E_{nm} + \psi_n - \psi_{nm}], \quad (1)$$

где Ω_n — частота колебаний ионов в n -ом потенциальном минимуме. E_n и E_{nm} — энергии потенциального профиля канала около дна и вершины соответствующего барьера в единицах kT (k — постоянная Больцмана, T — абсолютная температура). Параметры Ψ_i определяются потенциалом на мембране в соответствующих точках канала также в единицах kT .

В этой модели предполагается, что в данный момент времени в канале не может находиться больше одного иона. Тогда одномерный ионный поток в направлении от минимума 0 до 1 будет $N_0(1-N)W_{01}$. А ионный поток в обратном направлении будет NW_{10} . Таким же образом приток ионов от окрестности 2 в 1 будет $N_2(1-N)W_{21}$, а отток из 1 в 2 — NW_{12} . Следовательно, соответствующее уравнение баланса будет:

$$\frac{dN}{dt} = N_0(1-N)W_{01} + N_2(1-N)W_{21} - N(W_{10} + W_{12}) \quad (2)$$

Основное допущение предлагаемой модели состоит в том, что профиль W_{10} потенциального барьера канала зависит от положения определенных полярных групп молекул в канале. Здесь обсудим случай, когда изменяется высота только одного потенциального барьера, разделяющего минимумы 1 и 2. Тогда высоту этого барьера можно представить в виде:

$$E_{12} \equiv E_{12}(X) = E_{12}^0 + X/X_0, \quad (3)$$

где E_{12}^0 — постоянная часть потенциального барьера, X — некоторая конформационная координата, определяющая положение подвижной молекулярной группы в канале, X_0 — характерное смещение указанной группы, при котором W_{12} изменяется в e раз. Для удобства введем новую безразмерную конформационную переменную $Z = X/X_0$. Для этой новой переменной можно написать следующее эволюционное уравнение:

$$\omega^{-2} \frac{d^2 Z}{dt^2} + \tau \frac{dZ}{dt} + Z = Z_{\infty} N(t), \quad (4)$$

где τ — характерное время затухания конформационных колебаний, ω — частота колебаний, Z_{∞} — максимально возможное значение Z . Форма уравнения (4) предполагает, что смещение конформационной группы Z прямо пропорционально числу ионов в канале. Тогда, учитывая примерное равенство расстояний между соседними экстремумами потенциального профиля канала в приближении Гольдмана, получим:

$$\Psi_1 - \Psi_0 \approx \Psi_2 - \Psi_1 \approx \Psi_{21} - \Psi_{10} \equiv \Psi. \quad (5)$$

Таким образом, совместное решение уравнений (2) и (4) с учетом условий (5) полностью описывает динамику ионного канала в рамках предложенной модели.

Стационарный режим функционирования ионного канала

В стационарных условиях производные по времени переменных N и Z равны нулю и из уравнений (2) и (4) получим

$$Z = Z_{\infty} \cdot N(Z), \quad N = \frac{N_0 W_{01} + N_2 W_{21}}{W_{10} + W_{12} + N_0 W_{01} + N_2 W_{21}}. \quad (6)$$

Отсюда следует, что знак стационарного значения конформационной переменной постоянен и определяется знаком параметра Z_{∞} . Тогда, воспользовавшись формулой (1) для вероятностей W_{nm} , а также выражениями (2) и (3), уравнение (6) можно переписать в следующем виде:

$$\eta e^{-Z-\psi} \cdot \frac{Z - Z_{\infty} \cdot I_{21}}{1 - I_{21}} = \frac{I_{01} Z_{\infty} - Z}{1 - I_{01}}, \quad (7)$$

где $\eta = \exp(E_{10} - E_{12}^0)$, а I_{01} и I_{21} представляют собой нормированные односторонние потоки ионов, входящих в область 1 соответственно из областей 0 и 2 и изменяющихся в интервале от 0 до 1 соответственно. По своему физическому смыслу эти величины являются термодинамическими силами и называются электрохимическими активностями.

Теперь в качестве примера обсудим случай, когда $Z_{\infty} > 0$, т.е. высота барьера растет с увеличением N . На рис.2 показаны зависимости левых и правых частей уравнения (7) от параметра Z . Они показывают, что в зависимости от значений параметров $\eta \cdot e^{-\psi}$, I_{01} , I_{21} и Z_{∞} возможны от одного до трех стационарных решений (возможны три значения конформационной переменной Z).

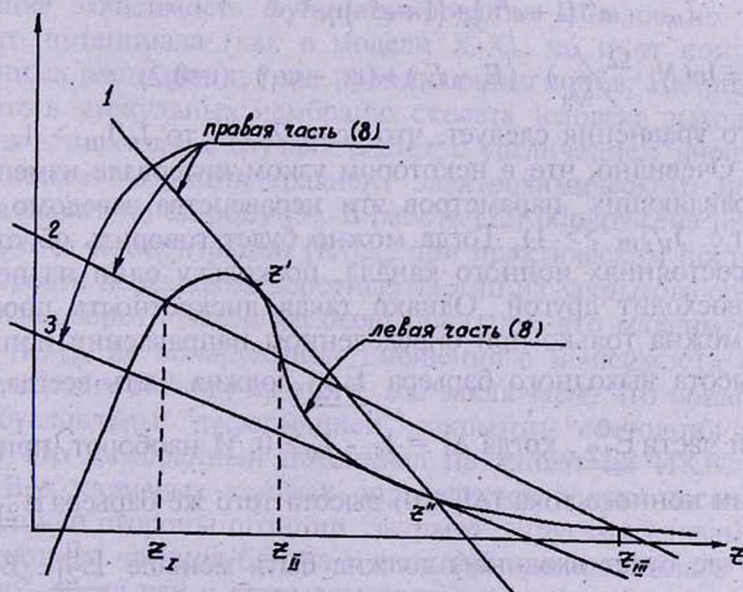


Рис.2. Диаграмма графического анализа уравнения (7) при $Z_{\infty} > 0$

Если уравнение (7) имеет только один корень, то ионный канал в рамках данной модели будет функционировать в моностабильном режиме, т.е. при фиксированных значениях (N_0, N_2) и (ψ_0, ψ_2) ионный канал имеет только один режим пропускания ионного потока (один уровень ионной проводимости). Для трех корней ионный канал имеет два устойчивых режима функционирования (уровня проводимости) при $Z=Z_I$ и $Z=Z_{III}$ и один неустойчивый режим при $Z=Z_{II}$. Другими словами, ионные потоки I_{01} и I_{21} имеют два устойчивых значения, т.е. ионный канал будет функционировать в бистабильном режиме. Случаю, когда уравнение (7) имеет два корня, соответствует промежуточное состояние ионного канала между моностабильным и бистабильным состояниями (касательная к кривой на рис.2). Из рис. 2 следует, что бистабильный режим осуществляется только при изменениях значений параметра I_{01} в определенном интервале. Границы этого интервала определяются наклонами соответствующих касательных.

Существуют определенные интервалы изменений и других управляющих параметров, при которых ионный канал будет функционировать в бистабильном режиме. Границы этих интервалов определяются точками соприкосновения кривой (левой части уравнения (7) и прямых, описывающих правую часть уравнения (7) (Z' и Z'' на рис. 2).

Тогда для отношения двух ионных потоков бистабильного режима (т.е. при двух устойчивых значениях конформационной переменной Z) получим:

$$\frac{J_I}{J_{III}} = \frac{e^{Z_{III}}(1+e^{\mu_0}) + (1+e^{\mu_2})\eta e^{-\psi}}{e^{Z_I}(1+e^{\mu_0}) + (1+e^{\mu_2})\eta e^{\psi}}, \quad (8)$$

где $\mu_i = \ln(N_i \cdot \Omega_i / \Omega_1) + (E_i - E_1) + (\psi_i - \psi_1)$, ($i=0,2$).

Из этого уравнения следует, что если $Z_{III} > 0$, то $J_I/J_{III} > 1$, поскольку $|Z| < |Z_{III}|$. Очевидно, что в некотором узком интервале изменений "управляющих" параметров эти неравенства заведомо будут выполнены (т.е. $J_I/J_{III} \gg 1$). Тогда можно будет говорить об открытом и закрытом состояниях ионного канала, поскольку один из потоков намного превосходит другой. Однако такая дискретность проводимости канала возможна только при определенном направлении ионного тока. При этом высота выходного барьера E_{12} должна быть всегда выше его постоянной части E_{12}^0 , когда $\Delta I = I_{01} - I_{21} > 0$. И наоборот, при обратном направлении ионного тока ($\Delta I < 0$) высота того же барьера E_{21} (который в этом случае будет входным) должна быть меньше E_{21}^0 . Более того, анализ полученных выражений показывает, что когда система приближается к области бистабильности, она становится существенно неравно-

весной и приобретает необходимую пороговую движущую силу и условия бистабильности осуществляются само собой.

Вышеуказанное легко понять, если обсудить бистабильность ионного канала в рамках идеи самоорганизации. Так, согласно теории Пригожина [3], для того чтобы в неравновесной системе появился новый, более сложный динамический режим функционирования, должен нарушаться принцип Ле-Шателье—Броуна. То есть вызванные флуктуациями изменения в системе должны усиливать эти флуктуации.

Действительно, в нашей модели при $Z_{\infty} > 0$ увеличение ионного потока приводит к увеличению заселенности N в канале и, следовательно, к увеличению высоты потенциального барьера $E_{12}(Z)$ (за счет увеличения Z), что, в свою очередь, приводит к дальнейшему увеличению N . Аналогичные рассуждения можно развить и в случае $Z_{\infty} < 0$.

Модель Ходжкина — Хаксли. Воротные процессы

Понятия ворот ионных каналов и воротные процессы введены Ходжкиным и Хаксли [12,13]. Для объяснения свойств возбудимых биомембран они выдвинули концепцию "воротных частиц", которые могут находиться в двух устойчивых состояниях, соответствующих открытому или закрытому состоянию канала. Согласно этой модели (модели Х-Х), переход ионного канала из проводящего состояния в непроводящее, и наоборот, осуществляется за счет соответствующих переходов "воротных" частиц. Причем, эти переходы управляются только внешним электрическим полем — потенциалом на мембране.

Между тем в последние годы накопились экспериментальные факты, показывающие зависимость функционирования каналов не только от мембранного потенциала (как в модели Х-Х), но и от концентрации примембранных растворов и типа проникающих ионов. Например, было показано, что в мускульных мембранах скелета человека выходящий натриевый ток в некоторых случаях растет с увеличением внешней концентрации ионов Na^+ , хотя градиент электрохимического потенциала направлен в обратную сторону [9]. В работе [15] обнаружена нелинейная зависимость α от концентрации $[K^+]_{out}$, при практическом постоянстве β (α и β — скорости перескоков воротных частиц из закрытого состояния в открытое, и наоборот). Здесь же было показано, что максимум зависимости α от $[K^+]_{out}$ не обнаруживает смещения в зависимости от потенциала на мембране. Исходя из этого, мы заключаем, что обнаруженные эффекты обусловлены "деформацией" закрытого состояния воротной "частицы" и что мембранный потенциал не влияет на ИКВ. Следовательно, ИКВ в калиевых каналах определяется только заселенностью канала с внешней стороны позиции "закрыто". Другими словами, воротная активационная частица близка к внешней границе канала в состоянии "закрыто", тогда как в открытом состоянии канала она находится в его глубине. А из этого, в свою очередь, следует, что при функциониро-

вании канала активационная частица делает случайные перемещения от устья канала вглубь, и наоборот. Видимо, эти перемещения и являются причиной воротных токов, хорошо известных из многочисленных экспериментов.

Таким образом, концепция подвижных заряженных молекулярных групп в структуре каналаобразователя белка, способных изменять потенциальный профиль канала вследствие их сильного взаимодействия с проникающими ионами (ИКВ), достаточно четко описывает микроскопическую картину активации и инактивации ионного канала, а также физическую природу появления дискретных уровней проводимости в них. Более того, приведенная модель самоорганизации в ионном канале допускает появление бистабильного режима функционирования канала в широком интервале изменений значений контрольных параметров.

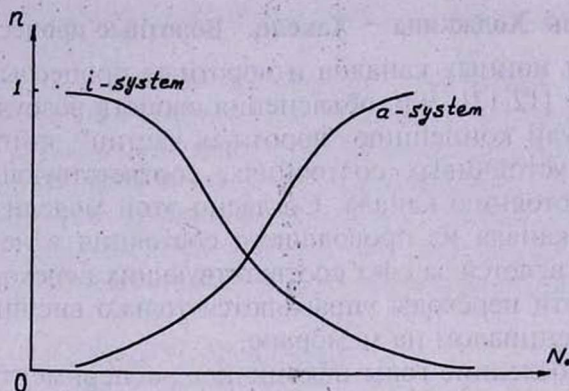


Рис.3. Зависимости вероятностей активации (a-system) и инактивации (i-system) ионного канала от концентрации ионов во внешнем растворе (N_0)

При этом показано также, что для реализации бистабильности необходимы потоки ионов определенного направления. Поэтому понятия активации и инактивации каналов становятся относительными. Например, в возбудимых мембранах ионные токи Na^+ , K^+ имеют противоположные направления. Следовательно, при активации одного канала происходит инактивация другого. Кроме того, приведенная микроскопическая интерпретация воротных процессов модели Ходжкина—Хаксли допускает переход канала из открытого состояния в закрытое без изменения мембранного потенциала только за счет изменения концентрации ионов в примембранных растворах (рис.3).

Поступила 03.03.98

Աշխատանքում ցույց է տրված, որ ներթափանցող իոնային հոսքի և իոնային անցուղին ձևավորող սպիտակուցային մակրոմոլեկուլի լիցքավորված մոլեկուլային խմբերի փոխազդեցությունը կարող է էական ազդեցություն գործել իոնային անցուղու կենսազործունեության վրա: Մասնավորապես, այն բերում է ոչ միայն անցուղու հարորդականության դիսկրետ մակարդակների առաջացմանը, այլ նաև մեկնաբանում է դարպասային պրոցեսների միկրոմեխանիզմները: Ցույց է տրված, որ իոնային անցուղու ակտիվացումը բացատրվում է նրա պոտենցիալային պրոֆիլի ելքային արգելքի, իսկ ինակտիվացումը մուտքային արգելքի շարժունակությամբ: Կատարվել է առաջարկված մոտեցման և Խոջկին-Հաքսլի տեսության համեմատություն:

GATE PROCESSES IN IONIC CHANNELS OF EXCITABLE BIOMEMBRANES

G.A.Abgarian

It is shown that the interaction between penetrated ion flux and charged groups of channel forming protein influences the functioning of ionic channels. This results, in particular, not only in the emergence of discrete levels conductivity, but also enables to describe the gate processes. The activation of channel is due to the mobility of output barrier, and inactivation is caused by input barrier in a single channel ion profile. This approach is compared with Hodgkin-Huxley's theory.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдидей Ю.Б., Харкянен В.Н., Чинаров В.А. Биологические мембраны, 1991, 8, с.648.
2. Костюк П.Г., Крышталь О.А. Механизм электрической возбудимости нервной клетки. М., 1981.
3. Пригожин И. От существующего к возникающему. М., 1985.
4. Рубин А.Б. Биофизика, 2. М., 1987.
5. Харкянен В.Н. Кинетическая теория переноса зарядов в биомолекулярных системах. Дис. докт., Киев, 1988.
6. Чизмаджиев Ю.А., Аймян С.Х. В кн.: Биофизика мембран, т.2. М., 1982.
7. Эйтинг Г., Эрри Д.У. Теоретическая и математическая биология. М., 1968.
8. Chinarov V.A., Gaididei Yu.B., Kharkyanen V.N., Silko S.P. Phys.Rev.A., 1992, 46, 8, p.5232.
9. Fahlke C., Ruppersberg J.P. Eur.Biophys.J., 1988, 16, p.307.
10. Hamill O.P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sidworth F.J. Pfluger Arch., 1981, 39, p.85.
11. Hille B. Ionic channels of excitable membranes. Washington: Sinauer Associates inc., 1992.
12. Hodgkin A.L., Huxley A.F. J. Physiol (London), 1952, 117, p.500.
13. Hodgkin A.L., Huxley A.F. J. Physiol (London), 1952, p.449.
14. Lauger P. Physiological Reviews, 1987, 67, 4, p.1238.
15. Shuba Y.M., Teslenko V.Y., Savchenko A.N., Pogorelaya N.H. J. Physiol., 1991, 443, p.25.
16. Warshel A., Aqvist J. Ann. Rev. Biophys. Chem., 1991, 20, p.267.