

# 膜外二价离子对 Na 通道激活过程的影响

惠萍

王吉梅

(广东教育学院物理系, 广州 510303) (中山大学生物化学系, 广州 510275)

**摘要** 根据网络热力学理论提出一个模型来描述二价离子对 Na 通道激活过程的影响. 二价离子对 Na 通道的阻塞是由于二价离子与通道中特异位点相互作用的结果. 相互作用的程度受去极化电压的影响. Na 通道激活过程存在阈值, 只有当去极化电压高于阈值时, 阻塞才可被“解除”, 即 Na 通道被激活, Na 的导通性增加; 二价离子浓度的增加可使阈值增加; 激活过程的弛豫时间及最大激活程度与二价离子浓度和去极化电压的大小有非常重要的关系. 以上结果在定性上和半定量上都与已有的实验结果一致.

**关键词** 阈值, 激活过程, Na 导通性, 全一无现象

**分类号** Q582

目前人们一致认为神经轴突膜兴奋的关键在于 Na 通道首先被激活, 关于 Na 通道的激活机制是多年来人们一直在探讨的问题. 利用链酶蛋白可切断 Na 通道的失活机制<sup>[1]</sup>, 使单独研究 Na 通道的激活机制成为可能. 影响 Na 通道激活机制有很多因素, 其中二价离子的影响是确实存在的重要因素. 因此二价离子对门电流也有贡献, 本文着重讨论膜外二价离子对 Na 通道的影响.

## 1 实验结果

膜外二价离子浓度的增加或减小, 可使达到阈值所需要的去极化电压增大或减小, 从而影响膜的兴奋性<sup>[2]</sup>. 减少膜外  $Ca^{2+}$  浓度为原来的  $1/5$ , 可使膜激发所需要的去极化电压减少  $10\sim 15mV$ ;  $Mg^{2+}$  的膜外浓度约为  $Ca^{2+}$  浓度的 5 倍, 但其作用只相当于  $Ca^{2+}$  作用的一半<sup>[3]</sup>. 这说明各种二价离子对 Na 通道的影响程度不同. 外加去极化电压超过阈值可使膜激发, 而膜激发是由于 Na 通道的通透性突然增加所致, 即 Na 通道的激活过程存在阈值, 阈值的存在表明膜激活过程存在再生机制, 即正反馈机制.

Adam 等人<sup>[4,5]</sup>曾用双稳态理论模拟膜的激活过程, 认为: 膜的全无激活现象表明膜从静息态到激活态的跃迁是在双稳态之间发生的相变. 在相变中, 阈值就是相变临界点.

根据上述事实本文用具有“反馈圈”的网络模型和 prigogine 的耗散结构理论来研讨二价离子对 Na 通道激活过程的影响.

收稿日期: 1994-07-15

## 2 模 型

假设提供 Na 通道的蛋白质分子上有特异位点(sites)与二价离子相互结合而阻塞 Na 通道,相互作用网络如图 1 所示, $X$  表示不结合二价离子的位点的状态, $Y$  表示位点结合二价离子而阻塞通道的状态, $C$  为二价离子的有效作用浓度. 虚线内是“反馈圈”,沿箭头方向为正反馈方向. $R_1$  表示由阻塞状态  $Y$ “释放”二价离子变为非阻塞状态  $X$  的迟豫过程; $R_2$  表示二个  $X$  状态与一个  $Y$  态相互作用“释放”二价离子变为  $3X$  的过程,该过程体现了激活过程的再生机制. 上述所有过程是在去极化电压作用下启动的. 去极化电压使通道蛋白构象发生变化而“释放”二价离子,“释放”后的蛋白又促使其它位点“释放”二价离子,这样就形成了自催化“反应”,这一动力学过程反映了系统的非线性耦合机制.

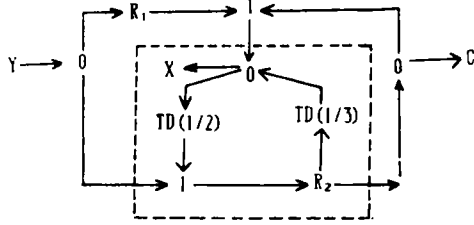


图 1 膜外二价离子与 Na 通道相互作用的网络图

Fig. 1 The network for interaction of external divalent cations with Na<sup>+</sup> channels

设  $J_1$  和  $J_2$  分别表示

$$J_1 = k_1 Y - k_1' C X, \quad J_2 = k_2 X^2 Y - k_2' C X^3 \quad (1)$$

则 
$$\frac{dX}{dt} = J_1 + J_2 \quad (2)$$

其中  $k_1, k_1', k_2$  和  $k_2'$  是与膜性质、温度、压强及膜电位等有关的“反应”常数,单位分别为:  $s^{-1}, s^{-1} \cdot mol^{-1}$  和  $s^{-1} \cdot mol^{-2}$ . 实验表明:二价离子浓度在激活过程中变化很小,可以看作常数. 膜激活过程主要是正反馈过程,即  $k_2 \gg k_2'$ , 因此,  $k_2'$  可以忽略<sup>①</sup>. “反应”常数按 Boltzmann 分布表示如下:

$$k_1 = k_{10} e^{-(U_1 - 2rFV)/RT} = K_1 e^{2rFV/RT}$$

$$k_1' = k_{10}' e^{-(U_1 + 2r'FV)/RT} = K_1' e^{-2r'FV/RT}$$

$$k_2 = k_{20} e^{-(U_2 - 2rFV)/RT} = K_2 e^{2rFV/RT}$$

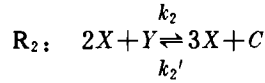
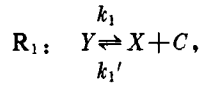
其中,  $U_1$  是二价离子脱离位点时克服束缚能所作的功,  $-2rFV$  是膜电场对离子作的功,  $r$  和  $r'$  是比例常数,  $V$  是跨膜电位差. 设

$$X + Y = \theta; \quad \frac{X}{\theta} = P; \quad \bar{r} = r + r'; \quad \alpha = \frac{K_2 \theta^2}{K_1}; \quad \beta = \frac{K_1' C}{K_1} \quad (3)$$

式中,  $\theta, P, \bar{r}, \alpha$  和  $\beta$  都是无量纲因子,其中  $\theta$  与通道位点总数成正比,  $P$  表示  $X$  态出现的几率,  $P \in [0, 1]$ . 利用(1),(2)和(3)式得  $P$  的时间演化方程

① 根据理论分析,忽略  $k_2'$  并不影响分析结果,而且使处理过程大大简化

膜静息时,位点处在  $Y$  态,去极化电压的刺激引起一系列反应而打破原来的稳定,使位点的状态由  $Y$  向  $X$  跃迁. Na 通道激活程度与  $X$  态出现的几率有关,因而  $X$  称为激活态. 由网络图得下列“反应”方程



$$\frac{dP}{dt} = k_1 e^{2rFV/RT} [-\alpha P^3 + \alpha P^2 - (\beta e^{-2rFV/RT} + 1)P + 1] = \varphi(P) \quad (4)$$

### 3 P的定态性质

由方程(4)经变量替换

$$\xi = P - 1/3$$

并设  $M = \beta e^{-2rFV/RT} + 1$

导出三次多项式  $\varphi(P)$  的判别式

$$\Delta = \frac{1}{4} \left[ -\frac{2}{27} + \frac{M}{3\alpha} - \frac{1}{\alpha} \right]^2 + \frac{1}{27} \left[ \frac{M}{\alpha} - \frac{1}{3} \right]^3 \quad (5)$$

$$\frac{d\Delta}{d(M/\alpha)} = \frac{1}{9} \left[ \frac{M^2}{\alpha^2} - \frac{M}{6\alpha} - \frac{3}{2\alpha} \right] \quad (6)$$

由数学分析可得:在  $M/\alpha > 0$  范围内,  $\Delta$  只有一个极小值, 对应  $M/\alpha$  值为:  $[\frac{1}{3} + \sqrt{1 + 216/\alpha}]/12$ ;  $M/\alpha < 0$  无实际意义. 根据  $\Delta - M/\alpha$  关系得知, 当  $M/\alpha$  取不同值时,  $\Delta$  有3种可能性:  $\Delta < 0$ ,  $\Delta > 0$  和  $\Delta = 0$ . 当  $\Delta < 0$  时,  $P$  有3个不等的实根, 其中最大根和最小根所对应的定态是稳定的, 中间的根对应的定态是不稳定的. 当  $\Delta > 0$  时,  $P$  有1个实根, 2个复根(无意义). 当  $\Delta = 0$  时,  $P$  有3个实根, 其中有2个根相等. 因为  $M/\alpha$  与  $\alpha$ ,  $\beta$  和  $V$  有关, 所以改变这3个参数可以给出上述三种情况, 其中第一种情况是非常重要的.

#### 3.1 两种特殊情况

定态时,  $\varphi(\bar{P}) = 0$ , 设  $\bar{P}$  为  $P$  的定态值, 由(4)式可知, 当  $V < 0$  且  $|V|$  很大时有

$$\bar{P} \doteq 0 \quad (7)$$

此时 Na 通道阻塞, 膜处于静息状态. 当  $V > 0$  时, 且  $V$  值很大时有

$$\bar{P} \doteq 1 \quad (7)$$

此时, 膜处于激活态.

因为  $P$  标志着 Na 通道的激活程度, 故上面两种情况正好对应着 Na 通道通透性的全或无状态. 以大乌贼轴突为例, 静息电位<sup>(6)</sup>  $V_r = -56\text{mV}$ , 动作电位达到的峰值  $V_m \doteq 45\text{mV}$ , 这与上述理论在定性上是一致的.

#### 3.2 $\bar{P}-V$ 曲线的形状

由方程(4)得  $V-\bar{P}$  关系为

$$V(\bar{P}) = \frac{RT}{2rF} \left[ \ln \frac{K_1' C}{K_1} + \ln \frac{\bar{P}}{(1-\bar{P})(1+\alpha\bar{P}^2)} \right] \quad (8)$$

$$V(0) = -\infty, \quad V(1) = +\infty \quad (9)$$

根据(7), (8)和(9)式及判别式的分析, 当  $\alpha$  足够大时,  $\bar{P}-V$  曲线如图2所示, 图中  $\bar{P}_0$  和  $\bar{P}_1$  计算如下.

由方程(8)式令  $dV/dP = 0$  得

$$\bar{P}^3 - \frac{1}{2}\bar{P}^2 + \frac{1}{2\alpha} = 0 \quad (10)$$

(10)式有三个实根的条件是  $\alpha > 27$ , 这是多重态出现的充要条件, 此时(10)式有2个正根(即  $\bar{P}_0$  和  $\bar{P}_1$ ), 1个负根(无意义).

### 3.3 $\bar{P}-V$ 曲线的定性分析

改变  $V$ ,  $\bar{P}$  值出现下列 3 种情况, 见图(2).

①当  $V < V_1$  时,  $\bar{P}$  在下支, 其值接近于零, 但不等于零. 这与 Na 通道通透性在静息态接近于零, 但不等于零的实验现象是一致的.

②当  $V > V_0$  时,  $\bar{P}$  在上支, 其值接近 1.

③当  $V_1 < V < V_0$  时, 出现三重态, 中间态不稳定. 对于给定的  $V$  值, 系统处于哪一支取决于系统的初始状态和外界扰动, 一旦系统达到中间分支, 定会跑到上分支或下分支.

$V_0$  为临界点, 静息时, 系统处在下分支某一点  $V_1$  处, 它对应着静息电位. 当外加去极化电压使  $V > V_0$  时,  $P(t)$  会迅速增加到上分支某一点而趋于饱和. 当  $V < V_0$  时, 可以看到,  $P(t)$  变化很小, 不能使膜激活, 而当  $V \gg V_0$  时,  $P(t)$  所达的饱和值接近 1, 此时, 如果再增加  $V$ ,  $P(t)$  所达到的饱和值也不会再增加了, 即 Na 通道的通透性不会继续增加, 这一结论在定性上与实验结果是一致的.  $V_0$  就是全或无现象的临界点——阈值. 由(8)式得  $V_0$  的表达式为

$$V_0 = \frac{RT}{2\alpha F} \left[ \ln \frac{K_1' C}{K_1} + \ln \frac{\bar{P}_0}{(1-\bar{P}_0)(1+\alpha P_0^2)} \right] \quad (11)$$

式中前一项与 Nernst 公式 ( $V$  与离子浓度的关系) 很相似, 类似的形式在有些文章中出现过, 但这里  $V_0$  不仅与  $C$  有关, 而且还与  $\bar{P}$  有关, 而  $\bar{P}_0$  又与  $V$  及  $\alpha, \beta$  等因素有关, 这是由于位点之间的耦合所引起的. 由(11)式还可看到,  $V_0$  随着温度的升高而增加, 这一结论定性上与实验是一致的.

### 3.4 参数对 $\bar{P}-V$ 曲线的影响

6°C 时测量十个大乌贼巨轴突标本, 平均静息电位  $V_1 \approx -56\text{mV}$ , 去极化电压约  $8\text{mV}$  可使膜激活<sup>[6]</sup>, 我们选  $V_0 \approx -56 + 8 = -48\text{mV}$ , 根据方程(8), 取适当参数值, ( $\bar{r} = 1/2$ ), 定性绘出定态  $\bar{P}-V$  曲线如图 3 所示.

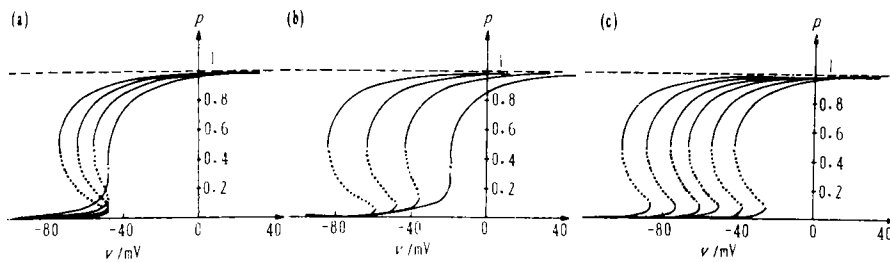


图 3  $\bar{P}-V$  定态曲线与参数的关系

Fig. 3 The relation of  $\bar{P}-V$  stationary state curves with parameters

①  $V_0 = -48\text{mV}$ , 改变  $\alpha$  的值如图 3(a) 所示,  $\alpha$  的值分别为 28.00, 88.00, 208.25 和 500.00 它们依次与图 3(a) 的曲线从右到左一一对应. 随着  $\alpha$  值的增加三重态范围越来越

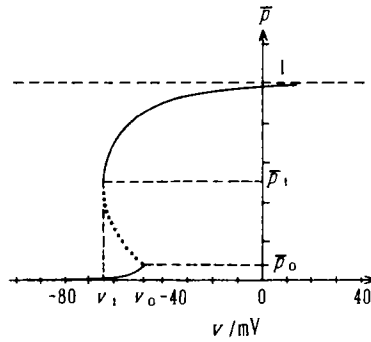


图 2  $\bar{P}-V$  定态曲线

Fig. 2  $\bar{P}-V$  stationary state curve

大,即正反馈耦合越来越强,因此  $\alpha$  标志着正反馈耦合程度.

②固定  $\beta=3.630$ , 改变  $\alpha$ , 如图 3(b),  $\alpha$  由 28.00 增大到 500.00 时, 图形从右到左对应的  $V_0$  值却逐渐减小, 这说明正反馈耦合程度越强, 膜越易被激发.

③固定  $\alpha=208.25$ , 当浓度为  $C$  时,  $V_0=-48\text{mV}$ . 改变二价离子的浓度分别为:  $0.2C, 0.3C, 0.6C, 0.9C, 1.5C$  和  $2.5C$ , 如图 3(c) 曲线从左向右移动, 阈值  $V_0$  增大, 即膜兴奋性下降, 所以二价离子能阻止膜激发. 由此推测, 如果使膜外二价离子浓度变得足够小, 甚至在静息状态就可引起膜激发, 这些结论与实验结论<sup>[3]</sup>一致.

二价离子的有效浓度  $C$  的主要成份是  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$ , 现估计一下  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  的有效作用所占的比例.

设  $\text{Mg}^{2+}$  的有效浓度为  $[\text{Mg}^{2+}]$ , 它的作用相当于  $\text{Ca}^{2+}$  的有效作用浓度  $[\text{Ca}^{2+}]$  的  $h$  倍, 根据实验事实,  $h=0.5$ , 则

$$C = [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}] = [\text{Ca}^{2+}] + h[\text{Ca}^{2+}] \quad (12)$$

又设当  $[\text{Ca}^{2+}]$  变为  $[\text{Ca}^{2+}]/5$  时, 阈值减少  $\Delta V_0$ , 将普适气体常数  $R=8.314\text{J/mol}\cdot\text{K}$ , 温度  $T=279.0\text{K}$  和法拉第常数  $F=9.649\times 10^4\text{C/mol}$  及  $\bar{r}=1/2$  代入方程(11)计算出:  $\Delta V_0=18.3\text{mV}$ , 此结果比实验值  $\Delta V_0=15\text{mV}$  略大.

如果认为  $\Delta V_0=15\text{mV}$  是准确的, 由(12)式得  $h=0.7$ , 这说明, 除了  $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  之外, 还有其它二价离子参予作用. 实验也确实肯定了膜外有  $\text{Ni}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{La}^{2+}, \text{UO}_2^{2+}$  等二价离子的存在, 但它们的浓度是很小的, 其作用是否相当于  $0.2[\text{Ca}^{2+}]$ , 有待于实验来证实.

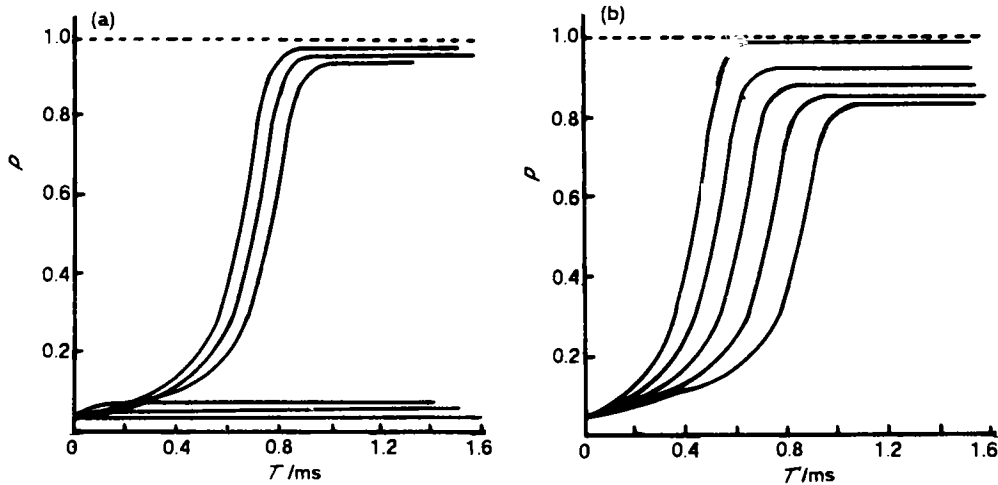


图 4 钳制电压下的  $P(t)$  演化过程

Fig. 4 The evolution of  $P(t)$  under voltage-clamp

①和②从理论上分析了非线性耦合的重要作用. ③的分析可以通过实验来验证, 目前在实验方面只有有限的定量测量结果, 对某些量单独作用的定量测量还不能完全做到.

#### 4 钳制电压下的 $P(t)$ 演化过程

由方程(4)求解, 取适当参数值得到不同钳制电压( $V$ )下所对应的  $P(t)-t$  曲线如图 4(a)所示, 曲线分为两组, 第一组是去极化钳制电压没有达到阈值( $V < V_0$ ), 见图 4(a)下面

3 条曲线,  $P(t)$  只有很小的值, 即通透性无明显增加. 第二组是  $V > V_0$  的情况, 见图 4(a) 上面三条线,  $P(t)$  随时间迅速增加到饱和值, 即 Na 通道被激活, 随着钳制电压的升高,  $P(t)$  的饱和值接近于 1, 而不能继续增加, 这与实验中所测得 Na 流的饱和值随钳制电压的变化规律完全一致.

图 4(b) 是钳制电压  $V$  一定, 改变二价离子的浓度  $C$  所得到的  $P(t)-t$  曲线, 曲线由下至上二价离子浓度逐渐降低, 而  $P(t)$  的增加速率和所达到的饱和值却逐渐增加, 即减少二价离子膜更易被激发. 关于  $P(t)$  和 Na 导的关系可通过实验来确定: 首先测量不同二价离子浓度下的 Na 流, 计算出 Na 导, 比较 Na 导与  $P(t)$  的变化规律, 从而确定 Na 导与  $P(t)$  的定量关系. 使模型完全定量化.

总结以上分析, 该模型在膜激发阈值的存在, 全或无现象, 二价离子对 Na 通道的影响等方面可以给出较圆满的解释, 并取得定性和半定量上与实验一致的结果.

感谢东北师范大学刘秉正教授的指导.

### 参 考 文 献

- 1 Joseph R stimers, Francisco Bezanille, Robert E. Taylor. Sodium channel activation in the squid giant axon. *J Gen Physiol*, 1985, 85:65~82
- 2 Kuffler S W 著, 范世藩, 孙以安, 魏乃森等译. 外周神经系统电生理学, 神经生理学手册(1)·上海: 上海科学技术出版社, 1984, 107
- 3 Frankenhaeuser B, Hodgkin A L. The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J Physiol*, 1957, 137:218~244
- 4 Adam G Z. *Naturforsh*, 1968, 23b:181
- 5 Blumenthal R, Changeux J P, Lefever R. *J Membrane Biol*, (2) 1970:351
- 6 Hodgkin, A L, Huxley A F, Katz B. Measurement of current—voltage relations in the membrane of the giant axon of loligo. *J Physiol*, 1952, 116:424~448

## Effect of External Divalent Cations on the Activation Process of Na—channels

Hui Ping \*

Wang Jimei

**Abstract** We propose a model to describe the effect of divalent cations on the activation process of Na—channels. The following are the results obtained from the model: For the activation process of Na—channels there exists a threshold of depolarization voltage; The increase of concentration of divalent cations results in increase of the threshold; The relaxation time of activation process and the maximum degree of activation are significantly related with the concentration of divalent ions and with the depolarization voltage. The results mentioned above agree well with those obtained through experiments qualitatively and semi—quantitatively.

**Keywords** threshold, activation process, Na—conductance, all or none phenomenon

\* Guangdong College of Education, Guangzhou 510303