

ÚJ SZEMPONTOK AZ INGERÜLETI ALAPJELENSÉGEK KUTATÁSÁBAN

LAKATOS TIBOR és NAGY LÁSZLÓ

Pécsi Orvostudományi Egyetem Biofizikai Intézet

Az utolsó két évtizedben néhány alapvető elméleti megfontolás mellett (8) számos olyan kísérleti eredmény született, amely egyre sürgetőbbé teszi az ingerületvezetés klasszikus ion-membrán elméletének felülvizsgálatát. A múltban több fórumon vizsgálat tárgyává tettük és kritizáltuk a Goldman-egyenlet alkalmazhatóságát és érvényességét. A jelen munkában — bár korábbi ellenvetéseinket teljes mértékben fenntartjuk — más oldalról kívánjuk megközelíteni a kérdést: végigtekintjük azokat a kísérleti eredményeket, amelyek véleményünk szerint nem illeszthetők bele az ion-membrán modellbe, majd felvázoljuk az ingerület keletkezésének és terjedésének egy lehetséges új modelljét.

1. *Infravörös emisszió*

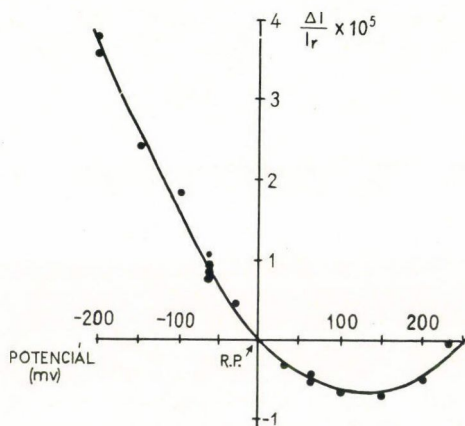
FRASER és FREY 1968-ban (9) közölték, hogy sorozatinger hatására működő rák-járóideg a várható termikus emisszióknál intenzívebb, diszkrét energiasávokban létrejövő infravörös sugárzást emittál. Az emisszió legrövidebb hullámhosszúságú maximuma 2 mikronnál volt, de több lokális maximumot is találtak 4, 9, 10, 12 mikron körül. A sugárzás intenzitása ($6 \mu\text{W}/\text{cm}^2$) több mint két nagyságrenddel haladta meg a termikus emisszió alapján várható intenzitást. A szóban forgó hullámhosszon a víz nagyon erősen abszorbeálja a sugárzást, ezért feltehető, hogy a megfigyelt sugárzást a felület (a membrán) emittálja.

2. *Optikai spike*

Ezen a néven kiterjedt jelenség-csoportot foglalnak össze. Míg az előbb említett infravörös sugárzást eddig csak sorozatinger hatására mutatták ki, a következőkben felsorolandó optikai változásoknak időbeli lefutását is nagy pontossággal felderítették.

A) *Kettőtörés-változás*. Polarizációs mikroszkóp segítségével észlelhető, hogy az idegrost gyenge kettőtörése az akcióspotenciállal szigorúan szinkron megváltozik (5, 24). Kimutatták azt is, hogy a változás valószínűleg a membránban vagy annak közelében, de nem a lipid frakcióban keletkezik (1, 5).

Voltage clamp segítségével különböző membránpotenciálokat beállítva megmérték a kettőstörés-változás feszültségfüggését (1. ábra). Kézenfekvő lenne egyszerű elektrooptikai Kerr-effektusra gondolni, problémát jelent azonban az, hogy az effektus feszültségfüggése nem zéró membránpotenciálnál (60 mV depolarizációnál) minimális, ahogy ezt Kerr-effektus esetén várhatnánk, hanem 65 mV-tal nagyobb depolarizáció (125 mV) mellett találjuk a minimumot. Feloldaná az ellentmondást, ha feltételeznénk, hogy a membrán *külső felületén fixált pozitív* (belső felületén pedig fixált negatív) töltés van,



1. ábra. Kettőstörés-változás függése a membránpotenciáltól. A pozitív feszültségértékek depolarizáló feszültséget jelentenek (5)

amelyet a szokásos elektrofiziológiai módszerekkel nem lehet kimutatni, de a membránon belül úgy módosítja a télerősséget, hogy az csak 125 mV depolarizációnál válik nullává. J. R. SEGAL azonban kétséget kizáróan kimutatta (25), hogy az axonmembrán külső felületén loligo óriás axon esetén $2 \cdot 10^{-8}$ coul/cm², rák óriás axon esetén $4 \cdot 10^{-8}$ coul/cm² felületi sűrűségű *negatív* elektromos töltés helyezkedik el.

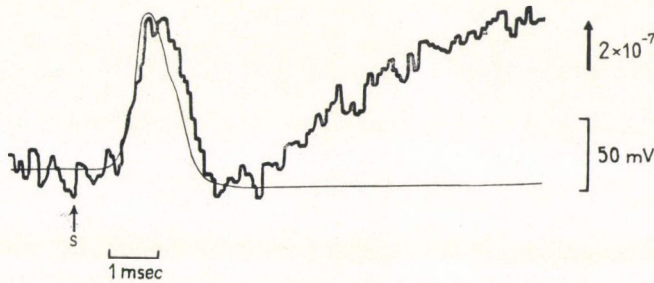
Ezért feltételezhetjük, hogy a tapasztalt változás nem egyszerűen az akcióspotenciál során bekövetkező feszültség-ingadozás által kiváltott Kerr-effektus változás, hanem az elektronszerkezetben létrejött változás következménye.

B) *Extrinsic fluorescencia*. Különböző fluoreszcens festékekkel színezett idegekben a festékek világításának intenzitása az akcióspotenciál tartama alatt megváltozott; pl. akridin-származékoké nőtt, pyroniné csökkent a depolarizáció alatt (4).

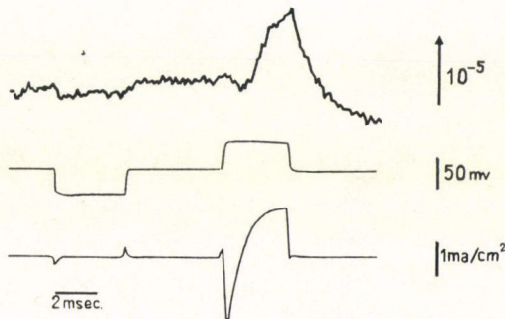
C) *Intrinsic fluorescencia*. Rák járóláb-idegen és béka ischiadicuson végzett kísérletekben fehérjék 280 nm-rel gerjesztett fluoreszcenciája 10^5 ingerből álló sorozat hatására 30%-kal csökkent (27).

Mindkét esetben valószínűleg az elektronszerkezet változik meg az ingerület alatt és ez okozza a fluoreszcencia-növekedését vagy csökkenését.

D) *Fényszórás-változás*. HILL 1950-ben azt találta, hogy az idegroston szóródó fény intenzitása akcióspotenciál-sorozat hatására megváltozik (11). Legutóbb COHEN és munkatársai pontos időfelbontásban vizsgálták a jelenséget (6), és azt találták, hogy a fényszórás növekedése 0,1 ms-on belül egyidejű az akcióspotenciál felfutó ágával (2. ábra), míg voltage clamp potenciálok hatására létrejövő változások a feszültséghez és az áramhoz képest is mintegy ms-os késésben vannak (3. és 4. ábra). Ha az ingerület alatt bekövetkező fényszórás



2. ábra. Fényszórás-növekedés az akcióspotenciál alatt. (8000 mérés átlaga.) A regisztrálás időállandója 0,12 ms (6)

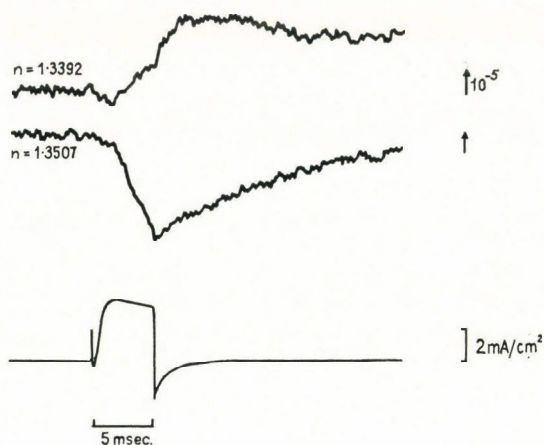


3. ábra. 50 mV depolarizáció által előidézett fényszórás-növekedés voltage clamp esetén 900 mérés átlaga (6)⁷

növekedés az elektromos folyamatok következménye volna, akkor ugyanilyen *késéssel* kellene kapnunk az optikai választ, az elektrofiziológiai és optikai változás szinkronitása itt tehát arra mutat, hogy az elektrofiziológiai eseményektől okilag független, a membrán elektronszerkezetében lejátszódó változás jön létre.

3. Mechanikai változások

Többen kimutatták, hogy az akcióspotenciállal szinkron térfogat és hosszváltozások lépnek fel (2, 3, 12, 26). Különösen figyelemre méltó az a



4. ábra. Fényszórás-változás függése az áramerősségtől. Az áramot 116 mV depolarizációval hozták létre. 64 mérés átlaga (6)

megfigyelés (20), hogy rögzített hosszúságú homár járóláb-idegben mechanikai feszülés lép fel, amely megelőzi az akcióspotenciált. A jelenséget LEVIN és PIRTS mutatták ki 1962-ben, a stimulus artefact lehetőségét kontrollokkal zárták ki.

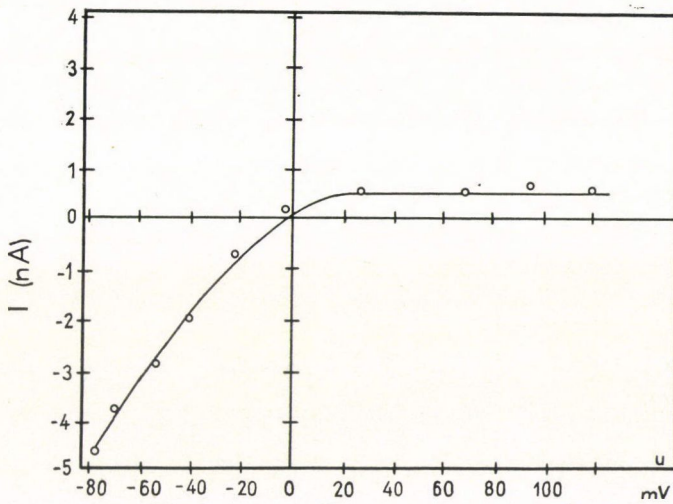
4. Egyenirányítás

Régóta ismert, hogy az axon-membrán egyenirányítóhatást mutat, és ma már kétségtelennek látszik, hogy az egyenirányítás a membrán lipid-frakciójában jön létre; mesterséges lipid-membránokon kimutatták, hogy az egyenirányítás *elektronikus*, más szóval *félvezető* természetű (10, 15, 16, 23, 29), a kérdéssel intézetünkben is foglalkozunk, kísérleteink szintén a membrán félvezető-jellege mellett szólnak (22). A mesterséges lipid-membránok jobb egyenirányítók (14), mint az axon-membrán (7) (5. és 6. ábra), valószínűleg azért, mert a membránba épült fehérjemolekulák részben rövidre zárják a membrán egyenirányító-hatását (28).

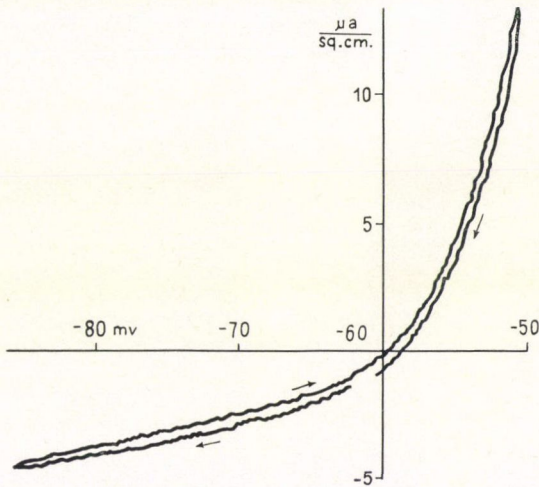
5. Az axon felületi töltése

SEGAL már említett kísérlete, amellyel bebizonyította, hogy az axon-membrán külső felületén fixált negatív töltés van (25), azért is figyelemre méltó, mert a részletes vizsgálat szerint, ha az extracelluláris folyadékot (Cole-oldat) úgy módosították, hogy annak teljes NaCl tartalmát KCl-re cserélték — ami a Goldman-egyenlet szerint a nyugalmi potenciált gyakorlatilag kiküszöböli —, a felületi töltés *változatlan maradt*.

A membrán-felületi töltés és a nyugalmi potenciál tehát két különböző, egymástól független jelenség; a felületi töltés a membrán tulajdonsága, a



5. ábra. „Patent blue”-val aktivált sphingo-myelin-tocopherol membrán egyenirányító hatása. A festékkel aktivált oldalról folyó áramot pozitívnak tekintették (14)



6. ábra. Loligo úriás axon membránjának egyenirányító hatása. A belülről kifelé irányuló áram pozitív (7)

nyugalmi potenciál pedig az extra- és intracelluláris térbe helyezett elektródok közti elektródpotenciál, amelynek az idegműködésben nem szükségképpen van szerepe.

6. Mágneses tulajdonságok

A mágneses tér hatását az életfolyamatokra korábban is sokan vizsgálták, az eredmények azonban meglehetősen ellentmondóak voltak. Gyökeres

változást jelent ezen a téren KOLTA kísérlete, amelyben kimutatta, hogy a mielinhüvelyes idegnek erős mágneses tulajdonságai vannak (18). 5–600 Oersted erősségű inhomogén mágneses térben a térerősség lassú ismétlődő változtatásával el lehet érni, hogy a mágnes az ideget magához vonzza. Az egyszer kialakított mágneses tulajdonság még az ideg kiszáritása esetén is megmarad, lipoid-oldószerek hatására azonban irreverzibilisen eltűnik; a mágneses tulajdonságot tehát a membrán lipid-frakciója hordozza. A mágneses permeabilitás a mérések szerint 1,125. Ez így önmagában nagyon erős paramágnességet jelent, figyelembe véve azonban, hogy a mágneses tulajdonság a lipidfrakcióra korlátozódik, így a membrán mágneses permeabilitása sokszorta nagyobb kell legyen. Hogy valójában milyen erős kölcsönhatás van a mágnes és a mielinhüvely között, azt a mágneses hatásnak kitett idegekről készült elektronmikroszkópos felvételek tanúsítják, a mielinrétegben torzulások, elcsavarodások, roncsolódások jelennek meg (19.) Az ugyancsak KOLTA által észlelt *mágneses spike* eredetére és jelentőségére vonatkozóan a később elhangzó előadásra utalok.

7. Latenciaidő

Tankönyvi adat, hogy küszöbingerrel ingerelve az ideget, az inger és az akcióspotenciál között latenciaidő telik el (21). Ez a jelenség az eddigieknél több figyelmet érdemel, hiszen az ingerület primér folyamatai ezen idő alatt kell lejátszódnak.

Áttekintve az eddigieket látszik, hogy az ingerületi folyamatban az elektrofiziológiai változásoktól független, és részben azokat megelőző jelenségek jönnek létre. Ez egyértelmű azzal, hogy az akcióspotenciál az ingerülettel nem azonos, valószínűleg nem is a legfontosabb tulajdonsága az ingerületnek. Az ingerület primér folyamatai az ingerelhető struktúra elektronszerkezetében játszódnak le, amint erre az optikai és a mágneses spike, az egyenirányítás és az akcióspotenciált megelőző feszülés utal.

Az ideg, mint haladóhullámú kvantum-erősítő

A következőkben olyan modellt vázolunk, amely részletes kidolgozása után alkalmassá válhatik arra, hogy az ingerületi folyamat primér jelenségeit egységes keretbe foglalja.

Az idegrost fizikai szerkezete a mikrohullámú technikából jól ismert koaxiális hullámvezetőre emlékeztet: két viszonylag jó vezető — az extracelluláris és intracelluláris tér — csőszerű dielektrikumot fog közre, és mint ilyen elektromágneses hullámok továbbítására alkalmas. Feltételezésünk az, hogy az inger hatására a membrán mint félvezető kvantumgenerátor elektromágne-

ses sugárzást emittál a membrán belsejében, amely terjedése közben indukált emisszió révén pótolva az abszorbeálódott energiát, állandó amplitúdóval fut végig az idegroston.

A sugárzás hullámhosszúságát a hullámvezető méretei korlátozzák. Idegrost esetén a határhullámhossz, amelynél csak rövidebb hullámhosszúságú sugárzás terjedhet a hullámvezetőben:

$$\lambda_h = d \cdot \sqrt{E \cdot \mu},$$

ahol d a membrán vastagsága, E , a dielektromos állandója és μ a mágneses permeabilitása. Ha a FRASER és FREY által észlelt infravörös sugárzás (25) legrövidebb hullámhosszúsági komponensét vesszük figyelembe (10^4 Å nagyságrend), akkor a membrán vastagságát 100 Å-nek és dielektromos állandóját 10-nek véve 10^3 nagyságrendű mágneses permeabilitást kell feltételeznünk, hogy a terjedés megvalósuljon. Mivel KOLTA szerint (18, 19) a membrán ferromágneses tulajdonságokkal rendelkezik, ez lehetséges.

A membránban terjedő infravörös sugárzás keletkezésére a membrán dióda-jellege nyújt lehetőséget. Megfelelő pn-átmeneten ugyanis nyitóirányú áram hatására az átmeneti rétegben terjedő koherens fény v. infravörös sugárzás keletkezik (félvezető kvantumgenerátor). Minden kvantumgenerátor egyszerű küszöb-jelenséget mutat: ha az emisszió intenzitása meghaladja az abszorpciót, létrejön az impulzusszerű hullám-emisszió. Ez történik a modell szerint a membrán pn-átmenetén is: amint a depolarizáló feszültség hatására elegendő erősségű nyitóirányú áram folyik, az átmeneti rétegben felhalmozódó lyukak és elektronok rekombinációja elektromágneses emissziót eredményez. Az így keletkezett elektromágneses hullám azonban energia-pótlás híján gyorsan csillapodnék. A modell szerint a membránban kell legyen egy olyan rendszer, amelynek elektronjait speciális kémiai folyamatok a termikus egyensúlytól eltérően magasabb energiaállapotban tartják (populáció-inverzió). Ezek az elektronok energiájukat indukált emisszió révén átadják a közelükben haladó sugárzásnak, így biztosítva, hogy annak amplitúdója állandó marad. Az ilyen jellegű funkcióra alkalmasak lehetnek a membránba épült fehérjemolekulák (28).

A terjedési sebesség — bár elektromágneses hullámokról van szó — nem azonos a vákuumbeli terjedési sebességgel ($3 \cdot 10^{10}$ cm/s), mert a hullámvezető belsejében a hullámcsoport terjedési sebessége függ a hullámhossztól, éspedig annál kisebb, minél közelebb vagyunk a határhullámhosszhoz. Lehetséges emellett, hogy a membrán periodikus szerkezete révén késleltető tápvezetők jelleget, és ez eredményezi a viszonylag alacsony (max 100 m/s) jelterjedési sebességet.

Végezetül egy energetikai kérdést említünk meg. Ahhoz, hogy egy félvezető kvantumgenerátor emittáljon, a termikus egyensúlytól eltérően nagyobb

arányban kell létrehozni elektron-lyuk párokat; ez energiaelnyelő folyamat. HODGKIN (13), valamint KEYNES és LEWIS (17) mérései és számításai szerint az ingerlő áram által keltett mért iniciális hő ($6 \cdot 10^{-10}$ J/cm²) csak kb. tizede a számítások szerint keletkező hőmennyiségnek ($8 \cdot 10^{-9}$ J/cm²). A modellnek megfelelően ez az energiakülönbség hozza létre a félvezető kvantumgenerátor működtetéséhez szükséges elektron-lyuk párokat. Az idegrost koaxiális, haladóhullámú kvantumerősítő-modellje tehát kvalitatíve leírást tud adni az ingerületi folyamat néhány fontos jellemzőjéről. A modell kvantitatív kidolgozásától azt várjuk, hogy még közelebb visz az ingerületi folyamat során lejátszódó fizikai folyamatok feltárásához.

IRODALOM

1. BERESTOVSKY, G. N., FRANK, G. M., LIBERMAN, E. A., LUNEVSKY, V. Z.: *Biochim. Biophys. Acta* **219**, 263 (1970).
2. BRIANT, S. M., TOBIAS, J. M.: *J. Cell Comp. Physiol.* **46**, 71 (1955).
3. COHEN, L. B.: *Physiol. Rev.* **53**, 373 (1973).
4. COHEN, L. B., DAVILA, H. V., WAGGENER, M. S.: *Biol. Bull.* **141**, 382 (1971).
5. COHEN, L. B., HILL, B., KEYNES, R. D.: *J. Physiol.* **211**, 495 (1970).
6. COHEN, L. B., KEYNES, R. D., LANDOWNE, D.: *J. Physiol.* **224**, 701 (1972).
7. COLE, K. S., MOORE, J. W.: *J. Gen. Physiol.* **44**, 123 (1960).
8. ERNST, E.: *Biophysics of the Striated Muscle Akad. Kiadó, Bp.* (1963).
9. FRASER, A., FREY, A. H.: *Biophys. J.* **8**, 731 (1968).
10. GUTMAN, F.: *Nature* **219**, 1359 (1968).
11. HILL, D. K.: *J. Physiol.* **111**, 283 (1950).
12. HILL, D. K.: *J. Physiol.* **111**, 304 (1950).
13. HODGKIN, A. L.: *Biol. Rev.* **26**, 339 (1951).
14. KALKWARF, D. R., FRASCO, D. L., BRATTAIN, W. H.: in: *Physical Principles of Biological Membranes*, ed. F. Snell, p. 165–174 (1970).
15. KARVALY, B.: *Nature* **244**, 25 (1973).
16. KARVALY, B., ROSENBERG, B., PANT, H. C., KEMÉNY, G.: *Biophysik* **10**, 199 (1973).
17. KEYNES, R. D., LEWIS, P. R.: *J. Physiol.* **113**, 73 (1951).
18. KOLTA, P.: *Acta Physiol. Ac. Sci. Hung.* **43**, 89 (1973).
19. KOLTA, P. Személyes közlés
20. LETTVIN, I. Y., PITTS, W. H.: in: *Quarterly Progress Report, Mass. Inst. of Techn. Res. Lab. of Electronics*, Vol. **64**, p. 291–292 (1962).
21. MOUNTCASTLE, V. B.: *Medical Physiology*, The C. V. Mosby Comp. p. 1074 (1968).
22. NAGY L.: *Megvilágítás hatása a membrán egyenirányító-karakterisztikájára*. Nem publikált.
23. ROSENBERG, B.: *Trans. Farad. Soc.* **51**, 190 (1971).
24. SCHMITT, F. O., SCHMITT, O. M.: *J. Physiol.* **98**, 26 (1940).
25. SEGAL, I. R.: *Biophys. J.* **8**, 470 (1968).
26. STEPANOV, K. A.: *Biofizika* **13**, 259 (1968).
27. UNGAR, G., ROMANO, D. V.: *J. Gen. Physiol.* **46**, 267 (1962).
28. VANDERKOOI, G.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **195**, 6 (1972).
29. WEI, L. Y., WOO, B. Y.: *Biophys. J.* **13**, 877 (1973).

A szilárdtest-fizikai és technikai vonatkozású kérdések elsősorban a következő két könyvben találhatók:

KITTEL, Ch.: *Bevezetés a szilárdtest fizikába*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1966.

DR. ALMÁSSY GYÖRGY: *Mikrohullámú kézikönyv*, Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1973.