

А. А. ЛЕВ, С. М. МАРТИРОСОВ

К ВОПРОСУ О МЕМБРАННОМ ПОТЕНЦИАЛЕ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН

В предыдущей работе [1] нами было показано, что при пониженной внутриклеточной концентрации калия $[K_{вн}]$, равной в среднем 40 мМ/кг внутриклеточной воды (вкв), измеренный мембранный потенциал ($E_{изм}$) превышает калиевый равновесный потенциал (E_K) на 25 мв по абсолютной величине, в условиях, когда в наружном растворе была высокая концентрация ионов калия, равная 30, 50 и 75 мг-ион/л.

Цель данной работы—изучить влияние низкой температуры (1°), моноиодацетата, кокаина и рН среды на величину мембранных потенциалов для того, чтобы выяснить, связано ли несоответствие между $E_{изм}$ и E_K с активным транспортом ионов или какими-то свойствами самой мембраны, не имеющими отношения к активному переносу ионов.

Методика. Отведение мембранных потенциалов с помощью микро-электродов, а также пламеннофотометрический анализ внутриклеточных концентраций калия ранее уже подробно были изложены [2]. Составы растворов даны в табл. 1.

Таблица 1

Составы экспериментальных растворов

Растворы	С о с т а в					
	мг-ион/л					сахароза мм
	K ⁺	SO ₄ ⁻²	Ca ⁺²	H ₂ PO ₄ ⁻	HPO ₄ ⁻²	
1	30	22	8	0,43	1,08	80
2	2,6	8	8	0,43	1,08	113

Влияние низкой температуры и моноиодацетата на мембранный потенциал. Эксперименты, изложенные в этом разделе, выполнены для того, чтобы исключить влияние активного механизма, прямо или косвенно связанного с метаболизмом клетки, который мог бы быть ответствен за вышеизложенное несоответствие между $E_{изм}$ и E_K , рассчитанным по уравнению Нернста:

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K_n]}{[K_{вн}]}, \quad (1)$$

где $[K_n]$ и $[K_{вн}]$ —концентрации ионов калия в среде и в клетке соответственно, R, T, F—имеют свои обычные значения.

Как известно, низкая температура и присутствие в наружном растворе монсйодацетата (2 мМ) почти полностью подавляют работу «натриевого насоса» у мышц, нагруженных натрием, т. е. в период интенсивной работы насоса [5]. Рядом автором установлено, что в этот период величина мембранного потенциала может существенно измениться [4, 6, 7]. И так как в настоящее время «натриевый насос» является единственным известным электрогенным активным механизмом, то по аналогии можно было бы предположить, что и в наших опытах [1] мы имеем дело с эффектом, сходным по характеру с электрогенезом «натриевого насоса», и, следовательно, если обнаруженные нами аномалии связаны с активным транспортом, то можно было ожидать, что снижение температуры и действие монойодацетата даст тот же эффект, что и в указанных выше экспериментах.

Влияние температуры на мембранный потенциал изучалось в условиях, когда мышцы, после выдерживания в растворе сахарозы (112 мМ), переносились в экспериментальный раствор I (табл. 1), имеющий температуру $+1^\circ$. Часть мышц, которая считалась контрольной, переносилась в тот же раствор, но имеющий температуру $+20^\circ$. Так как в опыте и в контроле величина $\lg \frac{[K_n]}{[K_{вн}]}$ оставалась постоянной, то изменение температуры, если нет активного механизма, генерирующего мембранный потенциал, может сказаться только на величине $S = \frac{RT}{F}$, т. е. для $t^\circ = +1^\circ$

$$S_{t=1^\circ} = \frac{R(273+1)}{F},$$

для $t^\circ = 20^\circ$

$$S_{t=20^\circ} = \frac{R(273+20)}{F}.$$

Так как

$$\frac{E_{t=20^\circ}}{E_{t=1^\circ}} = \frac{S_{t=20^\circ}}{S_{t=1^\circ}},$$

то при наличии активного механизма мы должны получить

$$E_{t=20^\circ} > E_{t=1^\circ} \cdot \frac{S_{t=20^\circ}}{S_{t=1^\circ}}$$

или

$$E_{t=20^\circ} > E_{t=1^\circ} \cdot \left(1 + \frac{19}{273}\right).$$

Подставляя данные, взятые из табл. 2 (ряды 1 и 2), получим

$$(26,0 \pm 2,2 \text{ мВ}) \approx (24,1 \pm 2,5 \text{ мВ}),$$

т. е. найденное различие находится в пределах ошибки измерений и можно считать, что при различных температурах опыты по измерению мембранных потенциалов не обнаружили электрогенного активного механизма.

Таблица 2

Действие низкой температуры ($+1^\circ$), моноиодацетата, кокаина,
на мембранный потенциал

Номера экспериментов	Тип эксперимента	$[K_n]$ мг-ион/л	МП мв	Особые условия	Число мышц
1	Опыт	30	$22,5 \pm 2,5$	$t^\circ = +1^\circ$	8
2	Контроль	30	$26,0 \pm 2,2$	—	8
3	Опыт	30	$28,0 \pm 3,2$	Моноиодацетат	5
4	Контроль	30	$32,0 \pm 2,7$	—	5
5	Опыт	30	$23,5 \pm 2,2$	Кокаин	4
6	Контроль	30	$26,0 \pm 3,0$	—	4
7	Опыт	2,5	$52,0 \pm 3,7$	Кокаин	6
8	Контроль	2,5	$65,6 \pm 3,1$	—	6

Подобный результат получился и при добавлении в раствор 1 (табл. 1) 2 мМ моноиодацетата. Мембранные потенциалы, измеренные в указанном растворе, не содержащем моноиодацетата, почти не отличались от мембранных потенциалов, измеренных в данном растворе при добавлении моноиодацетата (опыт длился обычно 1—1,5 час). Результаты эксперимента приведены в табл. 2, ряды 3 и 4.

Таким образом, ни моноиодацетат, ни низкая температура не оказывают экспериментально определяемого влияния на величину мембранных потенциалов мышечных волокон в условиях, когда $[K_{вн}]$ близка к 40 мМ/кг вкв и $[K_n]$ равна 30 мг-ион/л.

Влияние кокаина на величину мембранного потенциала. Эдриан и Фрейганг [3] установили, что при добавлении 0,2% кокаина в хлорный раствор Рингера, содержащий 2,5 мг-ион/л калия, мембранный потенциал изолированного мышечного волокна при внутриклеточной концентрации калия, равной 140 мМ/кг вкв, не изменяется и остается равным—90 мв. При добавлении того же количества кокаина в сульфатный раствор Рингера при тех же значениях $[K_n]$ и $[K_{вн}]$ мембранный потенциал резко уменьшается (от —90 до —51 мв). Это связано с тем, что калиевая проницаемость мембраны мышечного волокна при добавлении в раствор 0,2% кокаина падает до своего самого низкого значения, а проницаемость для хлора остается неизменной.

Чтобы выяснить, как изменяется мембранный потенциал мышечных волокон с пониженной внутриклеточной концентрацией калия при добавлении в экспериментальный сульфатный раствор 0,2% кокаина, нами были выполнены две серии экспериментов, когда концентрация ионов калия в наружной среде была равна 2,5 и 30 мг-ион/л (табл. 1, растворы 1 и 2). Из пары мышц, отпрепарованных от одной лягушки и выдержанных в 112 мМ растворе сахарозы, одна переносилась в указанные экспериментальные растворы, содержащие 0,2% кокаина, другая, контрольная мышца—в те же растворы, но не содержащие кокаина. Из табл. 2 (ряды 5—8) видно, что воздействие кокаина на величину мембранного потенциала заметно проявляется в случае, когда $[K_n]$ равна 2,5 мМ, причем даже в этом случае эффект значительно слабее, чем для

мышц с нормальной внутриклеточной концентрацией калия, равной 140 мМ/кг вкв [3].

Влияние рН растворов на величину мембранного потенциала. Лев и Козлова (неопубликованные данные) с помощью витального красителя (нейтрального красного) показали, что рН цитоплазмы мышц, выдержанных в гипотоническом 112 мМ растворе сахарозы, приблизительно равен 5. Изменение рН внутриклеточной среды до 5, когда рН наружного раствора оставался равным 7,2, могло создать дополнительную ЭДС, так как коэффициент проницаемости водородных ионов ($P_{H/K}$) для мембраны мышечных волокон неизвестен и можно было предположить, что $P_{H/K} \gg 1$, тогда, даже при условии, что концентрация H^+ ионов весьма ничтожна, диффузия H^+ ионов могла создать дополнительную ЭДС. Поэтому были проведены эксперименты, целью которых было выяснение зависимости мембранных потенциалов от градиента концентрации H^+ ионов. Для этого в наружном растворе (табл. 1, раствор 1) мы довели рН до 4,4 титрованием органического буфера. Однако при изменении рН среды мембранный потенциал оставался неизменным.

З а к л ю ч е н и е

При концентрации ионов калия в наружной среде, равной 30 мг-ион/л, когда внутриклеточная концентрация калия была равна 40 мМ/кг вкв, измеренные мембранные потенциалы выше калиевых равновесных потенциалов в среднем на 25 мВ [1] и ни низкая температура, ни моноиодацетат, ни кокаин, ни изменение рН среды не изменяют этой разницы.

Изложенные в настоящей работе эксперименты могут быть косвенным подтверждением предположения, что через каналы саркоплазматического ретикулула может образовываться параллельный путь для ионов калия [3].

Институт цитологии АН СССР, Ленинград

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН АрмССР, Ереван

Поступило 13.VII 1967 г.

Ա. Ա. ԼԵՎ, Ս. Մ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՈՎ

ՄԿԱՆԱԹԵԼԻ ԹԱՂԱՆԹԱՅԻՆ ՊՈՏԵՆՑԻԱԼԻ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կալիումի ներբջջային իջեցված խտության պայմաններում չափվել են մկանաթելի թաղանթային պոտենցիալները: Փորձի բնթացքում կալիումի խտությունը հավասարվել է ներբջջային ջրի 40 մմ/կգ-ին, իսկ արտաքին միջավայրում կալիումի իոնների քանակը եղել է 30 մգ-իոն/լ:

Ուսումնասիրվել են $+1^{\circ}$ ջերմության, արտաքին լուծույթում 2 մմ մոնո-
յոդոացեաաթի կամ 0.2% կոկաինի լուծույթի, ինչպես նաև փոփոխվող pH-ի
(7,2-ից մինչև 4,4) ազդեցությունը թաղանթային պոտենցիալի վրա:

Ցույց է տրված, որ նշված ֆիզիկո-քիմիական ազդակները չեն փոխում
թաղանթային պոտենցիալի մեծությունը, որը միջին հաշվով 25 մվ ավելի է
կալիումական հալասարակչոված պոտենցիալից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мартиросов С. М., Цитология, 6, 750, 1966.
2. Мартиросов С. М., Лев А. А. Цитология, 2, 181, 1965.
3. Adrian R. H., Freygang W. H. J. Physiol., 163, 61, 1962.
4. Adrian R. H., Slayman C. L. J. Physiol., 184, 970, 1966.
5. Carey M. J., Conway E. J., Kernan R. P. J. Physiol., 148, 51, 1959.
6. Kernan R. P. Nature, 4819, 102, 1962.
7. Keynes R. D., Ribova R. J. Physiol., 168, 58P, 1963.