

А. А. ЛЕВ, С. М. МАРТИРОСОВ

НЕКОТОРЫЕ АСИММЕТРИЧНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКОН

В последние годы работами ряда авторов было установлено, что, как в неравновесных условиях [4, 5, 8, 9], так и в условиях, близких к равновесным [1], измеряемые величины мембранных потенциалов не подчиняются уравнениям, основанным на теории постоянного электрического поля Гольдмана [7].

Цель экспериментов, изложенных в настоящей работе, заключалась в выяснении возможных причин несоответствия между экспериментальными и теоретическими величинами мембранных потенциалов.

Методика. Все эксперименты были выполнены на портняжных мышцах (*m. sartorii*) травяной лягушки (*Rana temporaria*).

Для снижения внутриклеточной концентрации калия мышцы выдерживались в 112 мМ растворе сахарозы 2,5—3 час при температуре 20° [7, 8]. Отдельные методические приемы, с помощью которых были получены различные величины внутриклеточных концентраций калия, для удобства изложения экспериментального материала будут даны при описании проведенных экспериментов. Определение внутриклеточных концентраций минеральных ионов производилось методом пламеннофотометрического анализа. Концентрации калия в клетке рассчитывались в мМ/кг вкв (внутриклеточной воды), причем величина межклеточного пространства принималась равной 12,5% сырого веса мышцы [6].

Составы экспериментальных растворов даны в табл. 1.

Таблица 1

Составы растворов								
№ раство- ров	K ⁺	Na ⁺	SO ₄ ⁻²	Ca ⁺²	H ₂ PO ₄ ⁻	HPO ₄ ⁻²	Сахаро- за, мМ	Относи- тельная тонич- ность
	мг — ион/л							
1	30	—	22	8	0,43	1,08	70	0,5
2	30	—	22	8	0,43	1,08	183	1
3	30	52	48	8	0,43	1,08	113	1
4	—	80	48	8	0,43	1,08	—	0,5
5	—	30	21	8	0,43	1,08	68	0,5
6	—	10	12	8	0,43	1,08	98	0,5
7	2,5	80	48	8	0,43	1,08	113	1

Методика измерений мембранных потенциалов с помощью микро-электродов ранее нами подробно изложена [2].

Зависимость мембранного потенциала от внутриклеточной концентрации калия. В нашей предыдущей работе [1] было показано, что при пониженной внутриклеточной концентрации калия, равной 40—50 мМ/кг вкв и высокой внутриклеточной концентрации ионов калия (30, 50, 75 мг-ион/л) в наружной среде, разность между измеренными величинами мембранных потенциалов ($E_{изм}$) и калиевым равновесным потенциалом (E_k) достигает 25 мв, причем $E_{изм}$ больше E_k по абсолютной величине.

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

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

Однако известно, что подобных отклонений $E_{изм}$ от E_k не наблюдается для $[K_{вн}]$, лежащих в пределах от 110 мМ/кг вкв до 187 мМ/кг вкв [3]. Поэтому необходимо было выяснить, в каких пределах изменений $[K_{вн}]$ имеет место найденное нами отклонение $E_{изм}$ от E_k и как меняется разность между $E_{изм}$ и E_k при изменениях $[K_{вн}]$ от 40 до 110 мМ/кг вкв.

Все опыты проводились в сульфатных растворах (табл. 1, ряды 1—3) при постоянной концентрации ионов калия в наружном растворе, равной 30 мг-ион/л.

В результате выдерживания мышц в 112 мМ растворе сахарозы (см. Методика) для различных партий лягушек были получены различные значения $[K_{вн}]$, равные 28, 39 и 53 мМ/кг вкв. Однако методом предварительного выдерживания мышц в 112 мМ растворе сахарозы нам не удалось получить концентрации калия в мышцах выше 50—60 мМ/кг вкв. Для получения более высоких значений $[K_{вн}]$ были проведены две серии опытов. В первой серии после обычной процедуры инкубирования в полуизотоническом растворе сахарозы мышцы переносились в раствор 2 (табл. 1). Для мышц, выдержанных в полуизотоническом растворе, раствор 2 является гипертоническим и поэтому в этом растворе следовало ожидать выхода воды из волокон и увеличение внутриклеточной концентрации калия в расчете на кг внутриклеточной воды. После уравнивания мышц в указанном растворе через 1,5 часа [3] производилось измерение мембранных потенциалов, в этом случае $[K_{вн}]$ была равна 71 мМ/кг вкв. Во второй серии опытов мышцы выдерживались в сульфатном растворе Рингера (раствор 7, табл. 1) в течение 3 час. при температуре 20°, затем переносились в изотонический раствор 3 (табл. 1); измеренная после опыта $[K_{вн}]$ была равна 92 мМ/кг вкв.

При всех исследованных внутриклеточных концентрациях калия ($[K_{вн}] = 28, 39, 53, 71$ и 92 мМ/кг вкв) и при $[K_n]$, равной 30 мг-ион/л, мембранный потенциал в среднем был равен 31 мв.

Результаты этих опытов даны в табл. 2, ряды 1—5 и на рис. 1.

Основываясь на вышеизложенном материале, можно сделать вывод, что в довольно широком интервале изменений внутриклеточной концен-

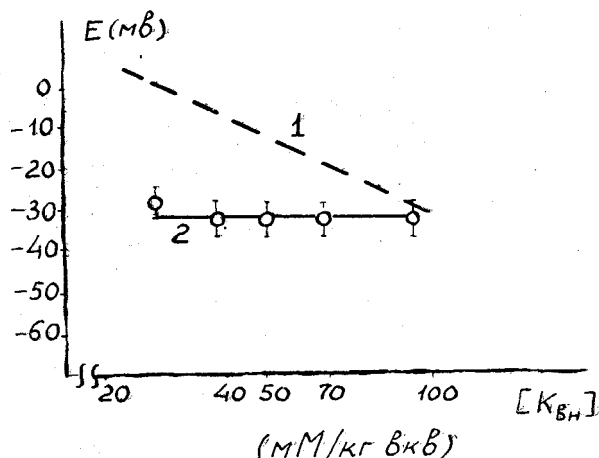


Рис. 1. Зависимость E от $[K_{вн}]$ при $[K_{н}] = 30$ мг-ион/л. Растворы 1, 2 и 3 (табл. 1).

1 — теоретическая зависимость $\left(E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K_{н}]}{[K_{вн}]} \right)$, 2 — экспериментальная зависимость. ϕ — среднеквадратичные отклонения.

Таблица 2

Зависимость мембранных потенциалов от концентрации ионов калия внутри клетки и концентрации ионов натрия в наружной среде

Ряды	Растворы	$[K_{вн}]$, мМ/кг вкв	$[K_{н}]$, $[Na_{н}]$, мг-ион/л	$E_{изм}$ мВ	E_k мВ	Число мышц
1	1	28	30 —	$-27,5 \pm 2,3$	0	10
2	1	39	30 —	$-32,0 \pm 3,0$	-7	9
3	1	53	30 —	$-31,0 \pm 4,2$	-14	5
4	2	71	30 —	$-32,0 \pm 2,5$	-21	6
5	3	92	30 52	$-33,0 \pm 3,0$	-29	5
6	4	45	— 80	$-86,0 \pm 4,0$	—	5
7	4	50	— 80	$-85,0 \pm 2,2$	—	6
8	5	52	— 30	$-85,0 \pm 4,5$	—	5
9	6	48	— 10	$-85,0 \pm 3,2$	—	5
10	4	30	— 80	$-71,0 \pm 4,0$	—	7
11	6	30	— 10	$-71,0 \pm 3,5$	—	7

трации калия при постоянной $[K_{н}]$, равной 30 мМ, мембранный потенциал не зависит от изменений $[K_{вн}]$.

Мембранный потенциал мышечных волокон, помещенных в безкалиевые растворы. Считается, что для мышечных волокон в условиях низкой $[K_{н}]$ величина мембранного потенциала зависит также от концентрации ионов натрия в наружной среде [8].

Цель экспериментов, изложенных в данном разделе, заключалась в том, чтобы выяснить, действительно ли изменяется мембранный потенциал с изменением концентрации ионов натрия в среде. Для этого был выбран предельный случай, когда концентрация ионов калия в среде равна нулю.

Опыты проводились в безкалиевых растворах 4, 5, 6 (табл. 1) с концентрацией ионов натрия $[Na_{н}]$, равной соответственно 80, 30 и 10 мг-ион/л. В весенней серии опытов внутриклеточная концентрация калия мышц, предварительно инкубированных в растворе сахарозы, была

равна 45—50 мМ/кг вкв, а измеренный мембранный потенциал, независимо от концентрации ионов натрия в экспериментальном растворе, был 85 мв. Результаты этой серии опытов приведены в табл. 2 (ряды 6—9) и на рис. 2.

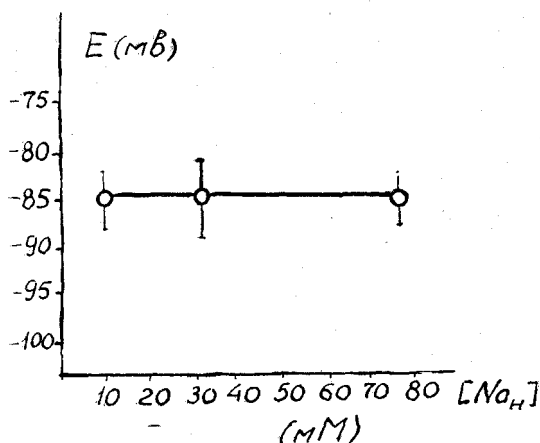


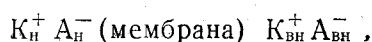
Рис. 2. Зависимость E от $[Na]$. Безкальциевые сульфатные растворы 4, 5, 6 (табл. 1).

Осенняя серия опытов проводилась несколько иначе. Мембранный потенциал измерялся не отдельно в каждом из растворов специальной серии экспериментов; в этих опытах мышцы помещались в особую камеру, заполненную экспериментальным раствором с $[Na]$, равной 80 или 10 мг-ион/л, и после измерений мембранного потенциала на 10—12 волокнах раствор сменялся на другой, с концентрацией ионов натрия 10 или 80 мг-ион/л, соответственно для каждой мышцы, и снова производилось 10—12 измерений. Как видно из табл. 2 (ряды 10—11), мембранный потенциал оставался постоянным независимо от концентрации ионов натрия.

Чтобы установить зависимость мембранного потенциала от $[K_{вн}]$ при $[K_{н}]$, равной нулю, мы использовали, кроме наших данных (табл. 2, ряды 6—11), данные других авторов, которые показали, что, когда $[K_{вн}]$ равна 140 мМ/кг вкв, мембранный потенциал приблизительно равен 110 мв (1,4). Зависимость мембранного потенциала от $[K_{вн}]$ в условиях, когда $[K_{н}]$ равна нулю, приведена на рис. 3, по которому видна линейная зависимость мембранного потенциала от $\lg [K_{вн}]$ с наклоном, равным 58 мв на единицу изменения $\lg [K_{вн}]$.

Таким образом, мембранный потенциал мышечных волокон, помещенных в безкальциевые сульфатные растворы, не зависит от концентрации ионов натрия в наружной среде, и зависимость мембранного потенциала от $[K_{вн}]$ имеет наклон, равный 58 мв.

Обсуждение. Условия, в которых изучалась зависимость E от $K_{вн}$, можно представить в виде следующей электрохимической ячейки [1]:



где A_n^- и $A_{вн}^-$ — непроникающие через мембрану анионы соответственно в наружной среде и внутри клетки. В этом случае единственным потенциалобразующим ионом является ион калия, и, следовательно, мембранный потенциал должен определяться уравнением Нернста [1]. Однако измеряемые мембранные потенциалы не зависят от внутриклеточной концентрации ионов калия в довольно широком интервале изменений последней.

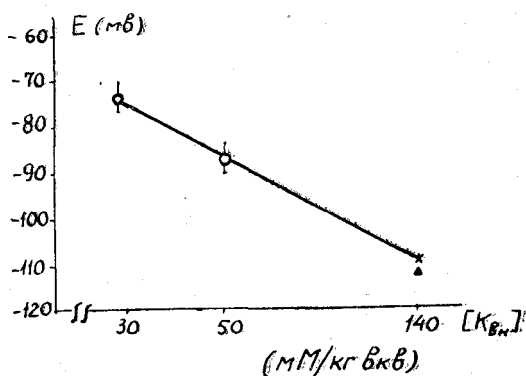
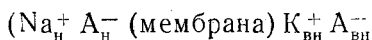


Рис. 3. Зависимость E от $[K_{вн}]$ при $[K_n] = 0$. Кружками обозначены результаты наших экспериментов (табл. 2), крестиком — данные Ходжкина и Горовица [8], треугольником — данные Эдриана и Фрейганга [5].

С другой стороны, при измерении мембранных потенциалов в безкалиевых сульфатных растворах мы имеем систему, эквивалентную би-ионной, когда по обе стороны мембраны находятся проникающие катионы двух сортов и непроникающие анионы:



В этом случае мембранный потенциал должен определяться частным случаем уравнения Ходжкина и Горовица (1):

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Na} [Na_n]}{P_K [K_{вн}]}, \quad (2)$$

где P_{Na} , P_K — соответственно коэффициенты проницаемости для ионов натрия и калия, $[Na_n]$ — концентрация ионов натрия в наружной среде.

Однако для данных условий измеренные величины мембранных потенциалов не зависят от концентрации ионов натрия в наружной среде. При этом, если предположить, что внутри мышечного волокна сохраняется некоторое количество ионов Na^+ и внутренняя сторона мембраны имеет резко выраженную натриевую специфичность, то может иметь место независимость E от $[K_{вн}]$. С другой стороны, для объяснения независимости E от $[Na_n]$ достаточно предположить, что наружная сторона мембраны обладает достаточно большой специфичностью в отношении к K^+ . Однако в этом случае следует допустить, что, во-первых, мембрана является двухслойной, во-вторых, даже при отсутствии ионов K^+ в наружной среде в промежуточном пространстве сохраняется некоторое количество

ионов калия [5].

Подобная точка зрения на асимметричные электрохимические свойства мембран мышечных волокон позволяет также качественно объяснить «эффект выпрямления», т. е. проницаемость мембраны, значительно меньшую для ионов калия, движущихся из клетки в среду, чем для потока калия из среды в клетку [4, 5, 8, 9].

Эксперименты, изложенные в настоящей работе, показали, что при определенных условиях величина мембранного потенциала мышечных волокон может не зависеть от концентрации ионов калия внутри клетки и концентрации ионов натрия в наружной среде. Можно допустить, что мембрана мышечных волокон обладает асимметричными электрохимическими свойствами, причем внутренняя сторона мембраны по своим свойствам подобна натриевому электроду, внешняя же сторона подобна калиевому электроду.

Институт цитологии АН СССР,
Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН АрмССР

Поступило 14.VII 1967 г.

Ա. Ա. ԼԵՎ, Ս. Մ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՈՎ

ՄԿԱՆԱԹԵԼԻ ԹԱՂԱՆԹԻ ՈՐՈՇ ՈՉ ՍԻՄԵՏՐԻԿ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո տ մ

Ուսումնասիրվել է գորտի մկանաթելի մեմբրանային պոտենցիալի (ՄՊ) կախումը կալիումի ներբջջային խտությունից (K նբ) և արտաքին միջավայրում նատրիումի իոններից (Naա): Ցույց է տրվել, որ 28, 39, 53, 71 և 92 մմ/կգ (K նբ) խտության պայմաններում, երբ արտաքին միջավայրում կալիումի իոնների քանակը հավասար է եղել 30 մգ/իոն/լ (սուլֆատային լուծույթներ), թաղանթային պոտենցիալը կախված չի եղել (K նբ)-ից և միջինում հավասար է եղել 30 մվ:

Ուսումնասիրվել է նաև թաղանթային պոտենցիալի կախումը արտաքին միջավայրում նատրիումի իոնի խտությունից: Ցույց է տրվել, որ կալիում պարունակող սուլֆատային լուծույթներում, երբ (Naա) հավասար է եղել 80, 30, 10 մգ-իոն/լ, իսկ (K նբ) հավասար է եղել 45 մմ/կգ ներբջջային ջրի, թաղանթային պոտենցիալը եղել է 85 մվ և կախված չի եղել (Naա)-ից:

Ենթադրվում է, որ մկանաթելի թաղանթներն օժտված են ոչ սիմետրիկ էլեկտրոքիմիական հատկություններով, թաղանթի ներքին կողմը՝ նատրիումական էլեկտրոդ (ՄՊ-անկախ (K նբ)-ից, իսկ արտաքին կողմը՝ կալիումական էլեկտրոդ՝ ՄՊ-անկախ (Naա)-ից:

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. J. Physiol., 133, 631, 1956.
4. Adrian R. H. J. Physiol., 151, 154, 1960.
5. Adrian R. H., Freygang W. H. J. Physiol., 163, 61, 1962.
6. Desmedt J. E. J. Physiol., 121, 191, 1953.
7. Goldman D. E. J. Gen. Physiol., 27, 37, 1943.
8. Hodgkin A. L., Horowicz P. J. Physiol., 148, 127, 1959.
9. Hodgkin A. L., Horowicz P. J. Physiol., 153, 370, 1960.
10. Koketsu K., Kimura Y. J. Cell. comp. physiol., 55, 239, 1960.