

Л. Г. МИКАЕЛЯН

РОЛЬ ОДНОВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ В ЭЛЕКТРОГЕННОМ АКТИВНОМ ТРАНСПОРТЕ ИОНОВ

Мышечные волокна лягушки с высокой внутриклеточной концентрацией ионов натрия в определенных условиях способны генерировать мембранный потенциал (МП) более отрицательный, чем калиевый равновесный потенциал.

В настоящее время доказано, что возникновение дополнительной э.д.с. на мембране связано с работой «натриевого насоса», выводящего ионы натрия из клетки против градиента электрохимического потенциала. Показано, что эту э.д.с. можно обратимо «выключать» с помощью оубаина или низкой температуры [1, 2, 5, 9].

Общепринятая модель активного транспорта ионов предполагает движение ионов калия из среды в клетку с помощью переносчика, который, выводя ионы натрия из клетки, меняет свою конформацию на наружной поверхности мембраны, соединяется с ионами калия среды и переносит их на внутреннюю сторону мембраны. Однако в настоящее время не существует экспериментальных данных, указывающих на химическую связанность ионов калия в клетке. С другой стороны, доказано, что процесс активного транспорта ионов не специфичен по отношению к наружному катиону [4, 10, 11]. Существующие экспериментальные данные не дают основания предполагать, что подобная неспецифичность связана с наличием в клетке набора переносчиков отдельно для K^+ , Rb^+ , Cs^+ и т. д. Можно, однако, полагать, что переносчик K^+ обладает определенным сродством и с другими катионами, близким по свойствам к ионам калия, причем это сродство будет тем меньше, чем больше отличается данный катион от калия. В этом случае замена ионов калия в наружной среде на ионы рубидия или цезия должна привести к снижению скорости транспортирования Na^+ , в силу сопряженности процессов переноса в противоположных направлениях, и, следовательно, к уменьшению суммарного МП. Если же допустить, что движение наружного катиона в клетку в период электрогенного активного транспорта (ЭАТ) ионов происходит по градиенту электрохимического потенциала, то величина МП будет зависеть от коэффициентов проницаемости мембраны в отношении данного катиона наружной среды, и, следовательно, чем меньше будет его проницаемость, тем больше должна быть абсолютная величина МП.

Целью экспериментов, изложенных в настоящем сообщении, явилось выяснение характера движения наружного катиона в клетку в период ЭАТ ионов.

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

Мембранные потенциалы мышечных волокон измерялись с помощью пирексовых микросолевых мостиков, заполненных 3М КСl. Внутриклеточные концентрации ионов калия и натрия определялись методом пламеннофотометрического анализа и рассчитывались в мМ/кг квв (внутриклеточная вода), причем величина межклеточного пространства принималась равной 12,5% сырого веса мышцы [6]. Обогащение мышечных волокон ионами натрия производилось путем инкубации мышц в безкальиевом растворе Рингера (раствор № 1, табл. 1) при температуре 1—2°C в течение 24 часов.

Таблица 1

Составы растворов, мг-ион/л

№№ р-ра	K ⁺	Rb ⁺	Cs ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃	Относительная тоничность
1	—	—	—	119,9	1,8	121,1	2,4	1
2	2,5	—	—	117,4	1,8	121,1	2,4	1
3	10,5	—	—	109,9	1,8	121,1	2,4	1
4	25,0	—	—	94,9	1,8	121,1	2,4	1
5	100,0	—	—	19,9	1,8	121,1	2,4	1
6	—	2,5	—	117,4	1,8	121,1	2,4	1
7	—	10,0	—	109,9	1,8	121,1	2,4	1
8	—	25,0	—	94,9	1,8	121,1	2,4	1
9	—	100,0	—	19,9	1,8	121,1	2,4	1
10	—	—	2,5	117,4	1,8	121,1	2,4	1
11	—	—	10,0	109,9	1,8	121,1	2,4	1
12	—	—	25,0	94,9	1,8	121,1	2,4	1
13	—	—	100,0	19,9	1,8	121,1	2,4	1

Результаты и обсуждение. Первая часть экспериментов состояла в измерении МП свежееотпрепарованных мышечных волокон в растворах Рингера, содержащих ионы калия, рубидия и цезия в концентрациях 10 и 25 мг-ион/л (растворы №№ 4, 5, 8, 9, 12, 13; табл. 1).

Результаты этих экспериментов представлены в табл. 2.

Величины МП мышечных волокон, измеренных в растворах, содержащих ионы калия, соответствовали калиевому равновесному потенциалу, рассчитанному по уравнению Нернста (табл. 2, ряды 4, 5).

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_0}{[K^+]_i}, \quad (1)$$

где E—мембранный потенциал, R—газовая постоянная, F—число Фарадея, T—абсолютная температура, $(K^+)_0$ и $(K^+)_i$ —концентрация ионов калия в наружной среде и в клетке соответственно.

Исходя из величин МП, измеренных в рубидиевых и цезиевых растворах (табл. 2, ряды 6—9), а также известных значений $(K)_i$, определенных с помощью метода пламеннофотометрического анализа, рассчитывались коэффициенты относительной проницаемости мембраны для ионов рубидия и цезия по следующим уравнениям:

$$E_{Rb} = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Rb} [Rb^+]_o + 0,01 [Na^+]_o}{[K^+]_i} \quad (2)$$

и

$$E_G = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{Cs} [Cs^+]_o + 0,01 [Na^+]_o}{[K^+]_i}, \quad (3)$$

где E_{Rb} и E_{Cs} — мембранные потенциалы, измеренные в растворах, содержащих Rb^+ и Cs^+ соответственно, P_{Rb} и P_{Cs} — коэффициенты относительной проницаемости мембраны для соответствующих ионов, т. е. $P_{Rb} = P_{Rb}^0/P_K^0$, $P_{Cs} = P_{Cs}^0/P_K^0$, где P^0 — абсолютная проницаемость ионов, 0,01 — величина относительной проницаемости мембраны для ионов Na^+ , т. е. P_{Na}/P_K [7].

При замене ионов K в наружной среде на ионы Rb или Cs происходит обмен ионов калия клетки на ионы рубидия или цезия среды. В этом случае коэффициенты относительной проницаемости P_{Rb} и P_{Cs} представляют собой величины, полученные при изучении взаимодиффузионного обмена Rb^+ и Cs^+ на K^+ , а следовательно, определены относительно потока ионов калия, направленного из клетки в среду.

Полученные величины P_{Rb} и P_{Cs} оказались равными 0,65 и 0,40 соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Величины МП свежееотпрепарированных мышечных волокон, измеренные в растворах Рингера, содержащих ионы калия, рубидия и цезия

№ мыш- цы	мм/кг вкв		Ем/мв					
	$[K^+]_i$	$[Na^+]_i$	$[K^+]_o$		$[Rb^+]_o$		$[Cs^+]_o$	
			10	25	10	25	10	25
1	140	16	67,0±0,3	40,0±0,5	74,0±0,7	53,0±1,0	86,0±1,2	65,0±1,2
2	135	18	65,0±0,1	38,0±0,7	73,0±0,5	49,0±0,8	84,0±0,7	67,0±1,3
3	132	17	62,0±0,3	35,0±0,8	72,0±0,9	48,0±1,2	84,0±0,8	62,0±1,2
4	138	20	64,0±0,5	38,0±0,3	74,0±0,3	50,0±1,1	80,0±0,3	66,0±1,7
5	143	15	67,0±0,3	38,0±0,8	73,0±0,9	55,0±1,3	78,0±0,5	70,0±1,9
6	130	17	65,0±0,2	36,0±0,8	73,0±0,8	48,0±1,3	78,0±0,6	64,0±1,3
Среднее	137±5,0	17,0±1,7	65,0±0,3	37,5±0,7	73,0±0,7	50,5±1,1	81,7±0,4	65,7±1,4
мм/кг вкв			1,0		0,65		0,40	

$$[K^+]_i + [Na^+]_i = 153,5 \pm 4,6$$

Относительная проницаемость

Во второй части экспериментов МП мышечных волокон, имеющих высокую концентрацию ионов натрия и низкую — калия, были измерены в растворах, содержащих ионы K , Rb , Cs в концентрациях 2,5—100 мМ (табл. 1; растворы № 2—13). Результаты этих экспериментов представлены на рис. 1.

В этом случае имеет место ЭАТ ионов, когда ионы натрия выводят-ся из клетки с помощью «натриевого насоса» взамен поступающих из среды в клетку катионов (K, Rb или Cs). Как следует из рис. 1, при замещении ионов калия в наружном растворе ионами рубидия или цезия величина МП становится тем больше по абсолютной величине, чем меньше проницаемость катиона, замещающего наружный калий.

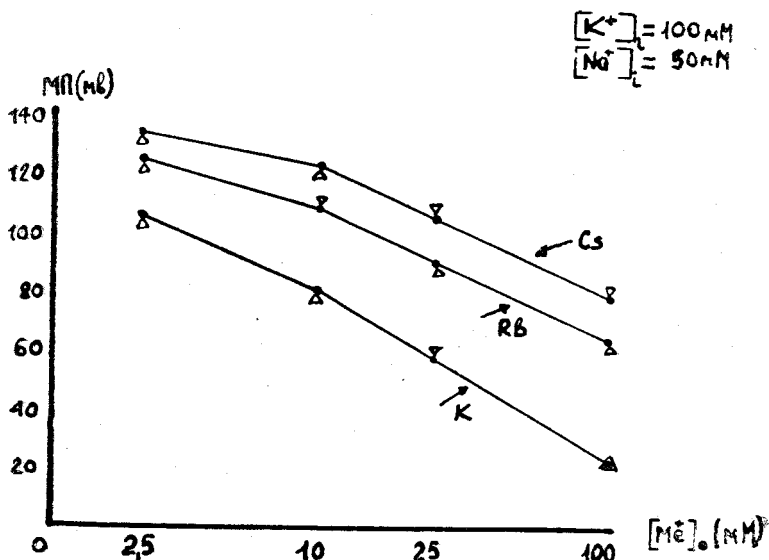


Рис. 1. Зависимость мембранного потенциала мышечных волокон от концентрации ионов калия, рубидия и цезия в наружной среде в период ЭАТ ионов: где $[Me^+]_o$ — концентрация наружного катиона, Δ — экспериментальные значения МП, $\bullet$ — теоретические значения МП, рассчитанные по уравнениям (4) для рубидиевых растворов (5) — для цезиевых растворов. Кривая для калиевых растворов рассчитывалась по уравнению (1).

Для описания МП в период ЭАТ [1] использовались уравнения:

$$E_{Rb}^A = \frac{RT}{F} \ln \frac{P'_{Rb} [Rb^+]_o + 0,01 [Na^+]_o}{[K^+]_i + \lambda [Na^+]_i}, \quad (4)$$

и

$$E_{Cs}^A = \frac{RT}{F} \ln \frac{P'_{Cs} [Cs^+]_o + 0,01 [Na^+]_o}{[K^+]_i + \lambda [Na^+]_i}. \quad (5)$$

(E_{Rb}^A и E_{Cs}^A — мембранные потенциалы в период ЭАТ ионов, измеренные в растворах, содержащих Rb^+ и Cs^+ соответственно. $\lambda = \frac{P_c}{P_k} = 3$ — „коэффициент генерации натриевого насоса“, представляющий собой отношение коэффициентов проницаемости мембраны для комплекса переносчика с натрием P_c и калия P_k : $P'_{Rb} = P_{Rb}^0/P_k^0$ и $P'_{Cs} = P_{Cs}^0/P_k^0$, где P_k^0 — абсолютная проницаемость мембраны для ионов калия, движущихся из среды в клетку, P'_{Rb} и P'_{Cs} — относительная проницаемость соответствующих ионов).

По рассчитанным значениям МП и данным пламеннофотометрического анализа внутриклеточных концентраций ионов K^+ и Na^+ , были определены значения P'_{Rb} и P'_{Cs} , которые оказались соответственно равными 0,20 и 0,13 и постоянными в исследованных пределах концентраций ионов Rb и Cs в наружной среде.

Необходимо отметить, что величины относительной проницаемости P'_{Rb} и P'_{Cs} в период ЭАТ ионов определяются относительно λ , а поскольку последняя представляет собой отношение проницаемостей комплекса, движущегося из клетки в среду, и ионов калия, движущихся из среды в клетку, то ясно, что P'_{Rb} и P'_{Cs} определены относительно потока ионов калия того же направления.

Величины коэффициентов относительных проницаемостей изменяются в зависимости от направленности потока ионов калия, относительно которого они определены. Это обстоятельство связано с наличием на мышцах «эффекта выпрямления», который заключается в том, что в силу особенностей строения саркоплазматического ретикулума мембрана мышечного волокна представляет большое сопротивление для тока ионов калия, движущихся из клетки в среду, чем в обратном направлении [7, 8, 12].

Эксперименты, изложенные в настоящем сообщении, показали, что в период ЭАТ ионов движение наружного катиона происходит по градиенту электрохимического потенциала.

При определении коэффициентов относительных проницаемостей мембраны для катионов, замещающих ионы калия в наружной среде в период ЭАТ ионов, необходимо учитывать асимметричное поведение мембраны мышечного волокна в отношении разнонаправленных потоков ионов калия через мембрану.

Ереванский физический институт

Поступило 20.I 1970 г.

1. Գ. ՄԻԿԱԵԼՅԱՆ

ԱՐՏԱՔԻՆ ՄԻՋԱՎԱՅՐԻ ՄԻԱՎԱԼՆԵՏ ԿԱՏԻՈՆՆԵՐԻ ԴԵՐԸ ԻՈՆՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐՈԴԵՆ ԱԿՏԻՎ ՏԵՂԱՓՈԽՈՒԹՅԱՆ ՄԵՋ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. մ.

Բիոպոտենցիալների գրանցման մանրաէլեկտրոդային տեխնիկայի միջոցով չափվել են գորտի նորմալ մկանաթելի թաղանթային պոտենցիալները, ինչպես նաև ներբջջային նատրիումի իոնների բարձր խտություն ունեցող մկանաթելի թաղանթային պոտենցիալները իոնների էլեկտրոդեն ակտիվ տեղափոխության ընթացքում կալիումի, ուրբիդիումի և ցեզիումի տարբեր խտություն ունեցող լուծույթներում:

Ստացված թաղանթային պոտենցիալների արժեքների, ինչպես նաև բուցաֆոտոմետրիկ անալիզի միջոցով որոշված ներբջջային կալիումի և նատրիումի խտությունների արժեքների հիման վրա հաշվված են մկանի թաղանթի թափանցելիության գործակիցները ուրբիդիումի և ցեզիումի համար:

Տույց է տրված, որ երբ այդ գործակիցները որոշվում են իոնների էլեկտրոդեն ակտիվ տեղափոխության դեպքում, ապա պետք է հաշվի առնել մկանաթելի թաղանթի ասիմետրիկ հատկությունները կալիումի իոնների միմյանց հակառակ ուղղված հոսանքների նկատմամբ:

Ստացված էքսպերիմենտալ տվյալներն անուղղակի ապացույց են այն բանի, որ իոնների էլեկտրոդեն ակտիվ տեղափոխության ժամանակ արտաքին միջավայրի կատիոնի շարժումը դեպի բջջի ներսը տեղի է ունենում էլեկտրոֆիմիական պոտենցիալի գրադիենտի ազդեցության ներքո:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мартиросов С. М. и Микаелян Л. Г. Биофизика, т. XV, 1, 1970.
2. Adrian R. H. and Slayman C. L. J. Physiol. 184, 4, 970, 1966.
3. Adrian R. H. and Freygang W. H. J. Physiol. 163, 61, 1962.
4. Berg G. G. and Szekerczes J. J. cell comp. Physiol. 67, 487, 1966.
5. Cross S. R. et al., J. Physiol. 181, 865, 1965.
6. Desmedt J. E. J. Physiol. 121, 191, 1953.
7. Hodgkin A. and Horowicz P. J. Physiol. 148, 127, 1959.
8. Katz B. Arch. Sci. Physiol. 3, 285, 1949.
9. Kernan R. P. Nature, Lond., 193, 986, 1962.
10. Landon E. and Norris J. Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 71, 266, 1963.
11. Scou J. C. Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 42, 6, 1960.
12. Sjodin R. A. J. Gen. Physiol. 48, 777, 1965.