

А. Л. СИМОНЯН

ВЛИЯНИЕ ПЕРЕНОСЧИКОВ КАЛИЯ И ВОДОРОДА НА СОПРОТИВЛЕНИЕ МЕМБРАНЫ МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА ЛЯГУШКИ

Исследовано влияние ионофоров на сопротивление мембраны мышечного волокна лягушки. Как в присутствии переносчика калия — валиномицина, так и в присутствии переносчиков водорода — ЗСІ—ССР и ТТФБ сопротивление мембраны уменьшается. Изучено также влияние рН среды на сопротивление мембраны. Показано, что в кислой среде сопротивление мембраны при аппликации ТТФБ и ЗСІ—ССР изменяется по-разному. ЗСІ—ССР вызывает уменьшение сопротивления на 42%, а ТТФБ—на 58% от исходной величины. В щелочной среде сопротивление уменьшается практически одинаково как в ТТФБ, так и в ЗСІ—ССР (на 32%).

В предыдущей нашей работе [6] было показано, что только переносчики протонов уменьшают величину мембранного потенциала (МП) мышечных волокон, а переносчики калия и натрия—валиномицин и грамицидины—на МП не влияют. Была предложена схема, согласно которой проводимость мембраны в присутствии переносчиков изменяется на 2—3 порядка, что соответствует результатам, ранее полученным на фосфолипидных мембранах, когда оба типа переносчиков вызывали изменение проводимости на несколько порядков.

В связи с этим необходимо было изучить влияние обоих типов переносчиков на сопротивление мембраны мышечного волокна.

Материал и методика. Все эксперименты были проведены на одиночных волокнах или полосках из трех—пяти волокон, выделенных из тетанического пучка *m. ileofibularis Rana ridibunda*. Для уменьшения сокращения, вызванного гиперполяризацией, применялся раствор Рингера, в котором содержание NaCl было увеличено в два раза. (236 мМ NaCl; 2,5 мМ KCl; 2 мМ CaCl₂; 2 мМ NaHCO₃). В некоторых опытах в качестве буфера применялся ТРИС (рН=9). В остальных опытах рН среды изменялся путем добавления HCl или NaOH. Для сохранения постоянного рН в камере производилась частая смена раствора.

Навески исследуемых веществ предварительно растворялись в 0,5 мл этанола, а затем в 200 мл раствора Рингера. В качестве переносчиков калия использовался валиномицин в концентрации $5 \cdot 10^{-7}$ М, а в качестве переносчиков протонов использовались тетрахлор-2-трифторметилбензимидазол (ТТФБ) в концентрации 10⁻⁶ М и карбоцианидтрихлорфенилгидразон (ЗСІ—ССР) в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ М.

Для отведения МП и наложения гиперполяризации два пирексовых микроэлектрода, заполненных трехмолярным KCl, закреплялись на отдельных микроманипуляторах и вводились под углом друг другу в мышечное волокно практически в одну точку. В качестве источника прямоугольных импульсов использовался электростимулятор ИГ-6. Для отведения МП использовался катодный повторитель, предложенный Можяевым [5]

и осциллограф С-1-19Б, с экрана которого и фотографировались протекаемые процессы. Величина гиперполяризующих толчков была равна 100 мВ, при этом ток, пропускаемый через мембрану, составлял 10^{-7} а.

Результаты и обсуждение. Действие препаратов на сопротивление мембраны оценивалось по изменению гиперполяризационных ответов мембраны на прямоугольные толчки тока, исходя из уравнения:

$$r_m = \frac{4Vm^2}{r_b I_0^2}, \quad (1)$$

где r_m — сопротивление мембраны на единицу длины, r_b — сопротивление протоплазмы волокна на единицу длины, V_m — электротонический потенциал у поляризующего электрода, I_0 — ток, текущий через поляризующий электрод. Обозначив сопротивление и потенциал в присутствии препаратов через r_{m1} и V_{m1} , можно написать:

$$\sqrt{\frac{r_{m1}}{r_m}} = \frac{V_{m1}}{V_m}. \quad (2)$$

Двойная гипертония вызывает мгновенное уменьшение объема мышечного волокна [2], что приводит к увеличению концентрации внутриклеточного калия и увеличению мембранного потенциала с -91 до -96 мВ.

На рис. 1 представлено поведение сопротивления мембраны мышечного волокна в присутствии валиномицина. В то время как в контрольных опытах величина сопротивления почти не изменяется, при действии валиномицина наблюдается существенное уменьшение сопротивления. Отмывка препарата приводит к восстановлению сопротивления до 90% от исходной величины. При повторной аппликации валиномицина сопротивление уменьшается почти на ту же величину. Такие быстрые изменения сопротивления свидетельствуют о том, что валиномицин является поверхностно-активным веществом [4].

Ввиду того, что действие переносчиков протонов существенно зависит от рН среды [1], измерение величины сопротивления в присутствии протонофоров проводилось в растворах с различным рН.

Как видно из рис. 2 и 3, ССР более эффективно (чем ТТФБ) в нейтральном рН, причем уменьшение сопротивления происходит за тот же промежуток времени, что и уменьшение мембранного потенциала [1]. Это указывает на тот факт, что уменьшение сопротивления вызвано теми же факторами, что и изменение потенциала. Сопротивление мембраны в кислой среде при аппликации ТТФБ и ССР изменяется по-разному. ССР вызывает уменьшение сопротивления на 42%, а в ТТФБ это уменьшение достигает 58% от исходной величины. В щелочной среде сопротивление уменьшается практически одинаково как в ТТФБ, так и в ССР (на 32%). Таким образом, если зависимость сопротивления от рН среды для ССР представляется в виде колокола с минимумом в рН 7 (рис. 4, кривая 1), то для ТТФБ эта зависимость выглядит как монотонно возрастающая кривая (рис. 4, кривая 2). Это объясняется тем, что рК

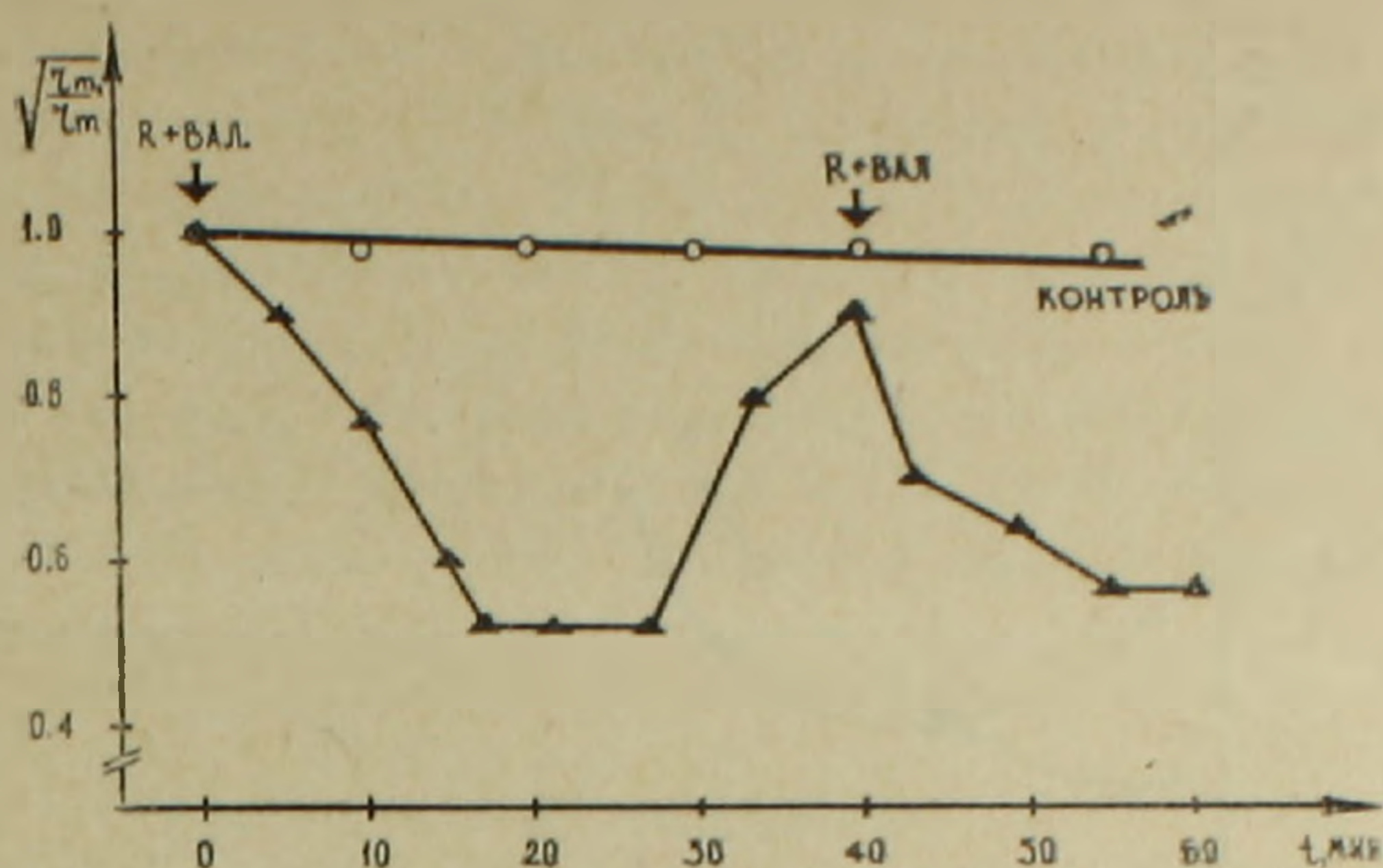


Рис. 1. Влияние валиномицина на сопротивление мембраны мышечного волокна. Стрелками указана смена растворов. Val — валиномицин, R — раствор Рингера (pH-6,8); R_{m1} — входное сопротивление в присутствии переносчика; R_m — сопротивление в контроле.

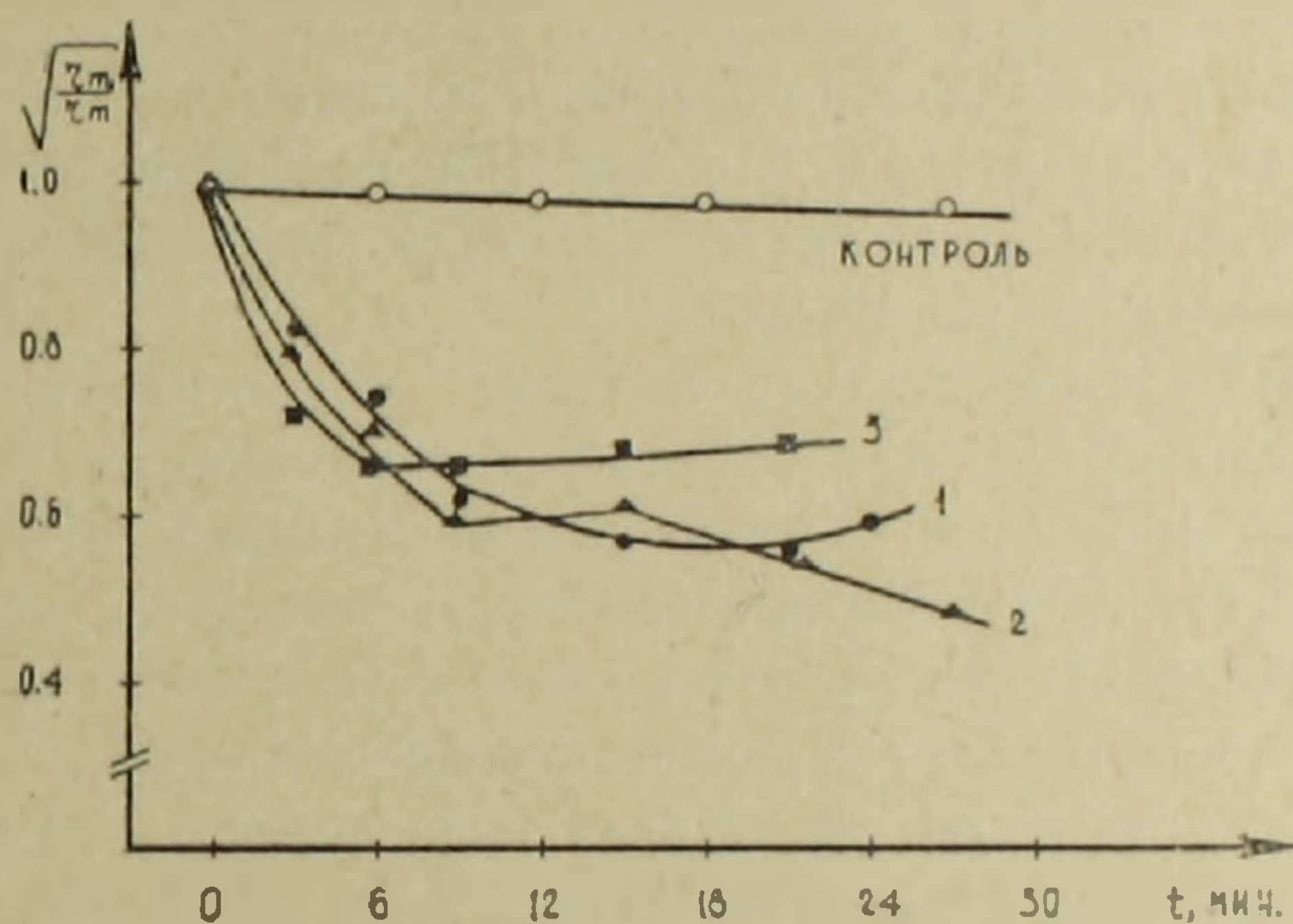


Рис. 2. Изменение сопротивления мембраны мышечного волокна в присутствии $5 \cdot 10^{-5}$ 3Cl-CCP: 1—pH 5, 2—pH 7, 3—pH 10.

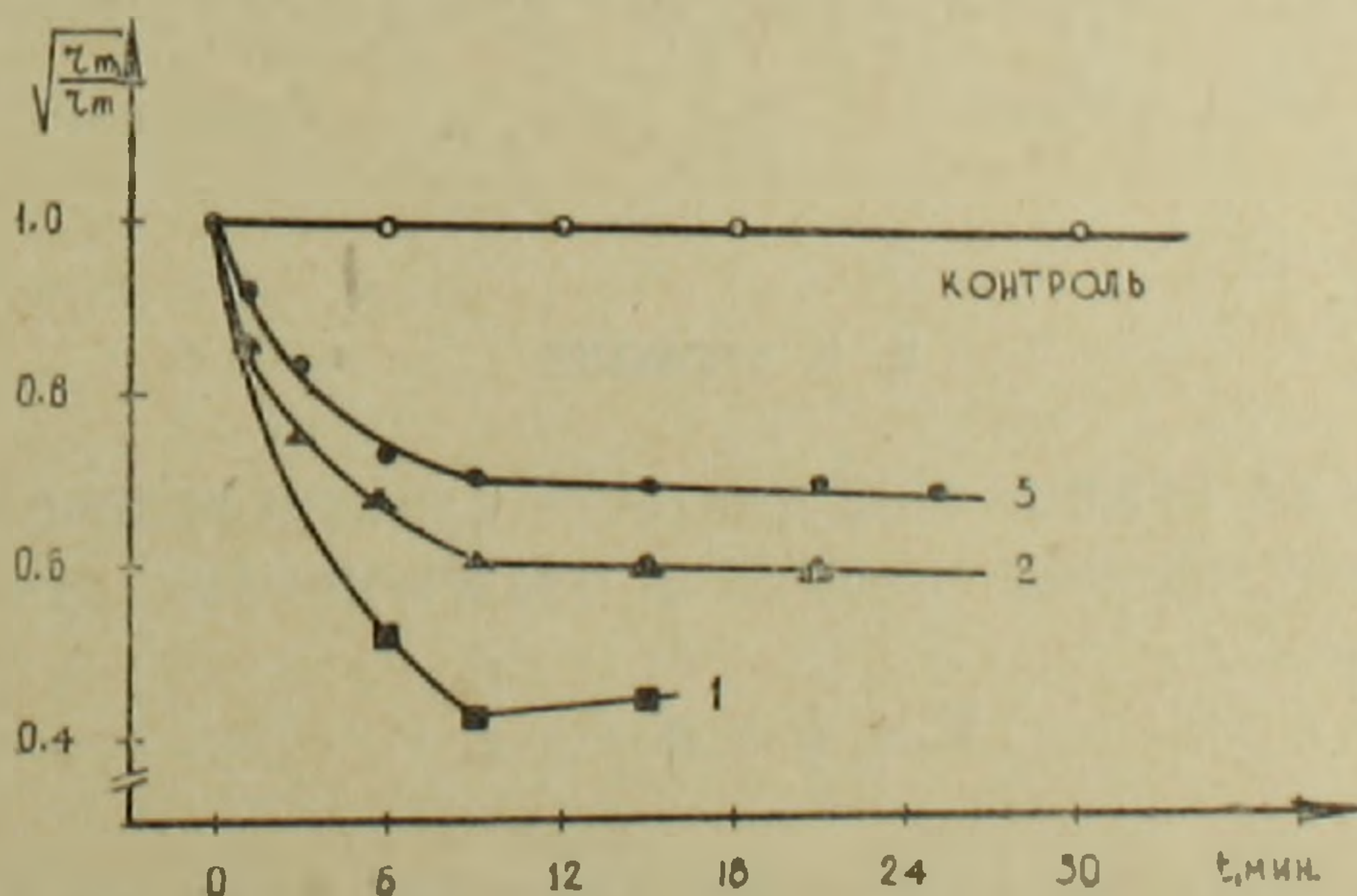


Рис. 3. Изменение мембраны мышечного волокна в присутствии 10^{-4} ТТФБ: 1—pH 5, 2—pH 7, 3—pH 9.

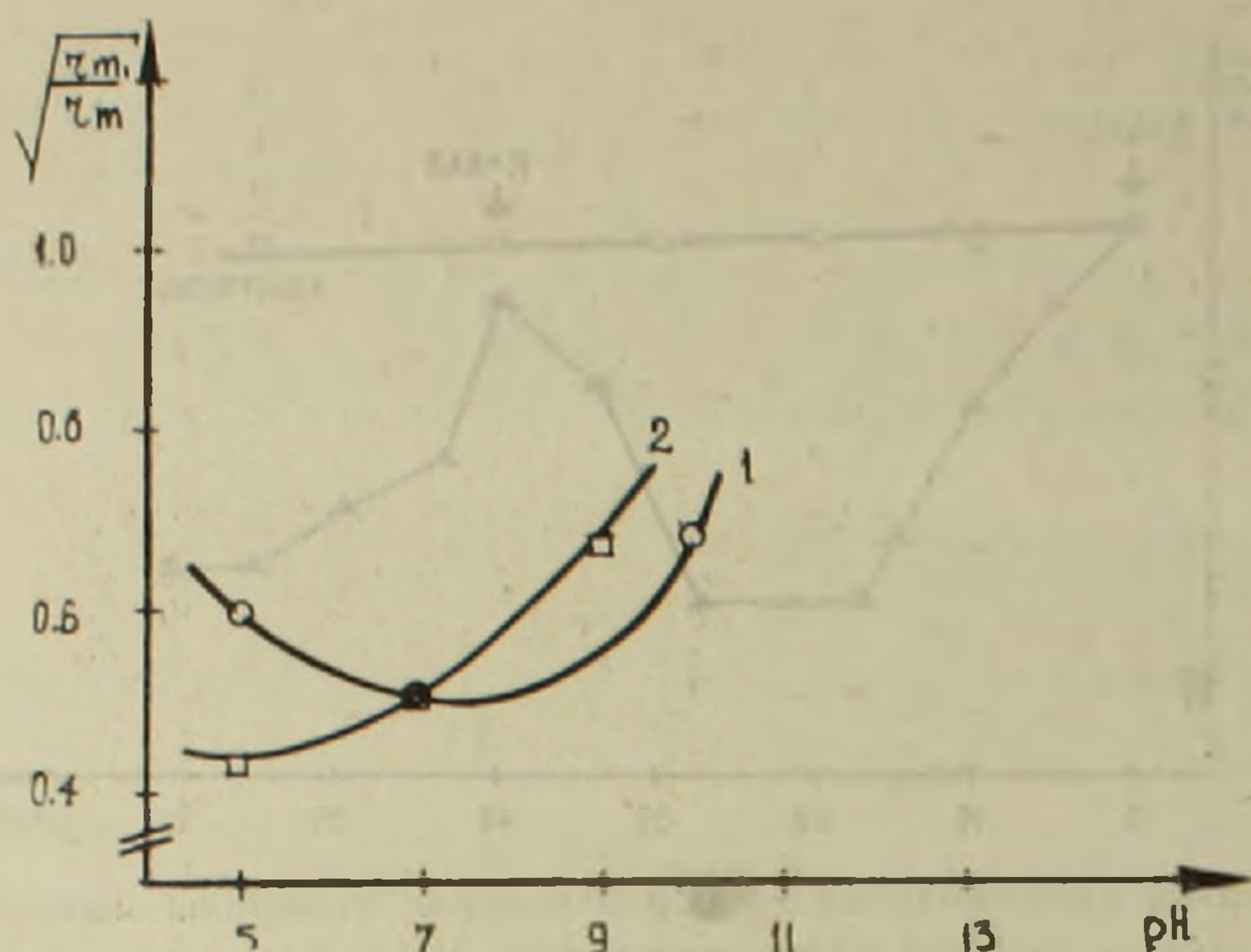


Рис. 4. Влияние pH среды на сопротивление мембраны мышечного волокна в присутствии протонофоров. 1—Cl—ССР, 2—ТТФБ.

для ССР лежит в нейтральной области, в то время как для ТТФБ рК сдвинуто в кислую сторону [3], т. е. для ССР мы имеем полную кривую, а для ТТФБ—лишь одну из ветвей параболы, представляющей зависимость сопротивления от pH среды.

Таким образом, как переносчик калия валиномицин, так и переносчики протонов ТТФБ и ССР уменьшают мембранное сопротивление приблизительно на 50%, в то время как мембранный потенциал уменьшается только под действием протонофоров, оставаясь неизменным в присутствии валиномицина [6]. Это несоответствие можно объяснить исходя из схем, предложенных в нашей предыдущей работе [1]. Согласно этим схемам, валиномицин, увеличивая проводимость калиевого канала, изменяет лишь внутреннее сопротивление калиевой батареи, не влияя на ее ЭДС, в то время как протонофоры, включаясь как параллельное сопротивление к калиевой батарее, являются общим шунтом и приводят к уменьшению как сопротивления, так и мембранного потенциала.

Ереванский физический институт

Поступило 22.XII 1972 г.

Ա. Լ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

ԿԱԼԻՈՒՄԻ ԵՎ ԶՐԱՄՆԻ ՓՈԽԱԴՐԻՉՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳՈՐՏԻ
ՄԿԱՆԱՅԻՆ ԹԵՆԻ ՄԵՄԲՐԱՆԻ ԴԻՄԱԴՐՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա. մ փ ո փ ո լ մ

Մեմբրանային պոտենցիալները փոփոխվում են միայն պրոտոնների փոխադրիչների ազդեցության ժամանակ, անփոփոխ մնալով փոխադրիչների ազդեցության դեպքում: Հետևաբար, անհրաժեշտ էր դիտել, թե ինչ ազդեցություն են թողնում վերոհիշյալ փոխադրիչները մեմբրանային դիմադրու-

թյան վրա: Հետազոտության արդյունքները ցույց տվեցին, որ մեմբրանային դիմադրությունը փոքրանում է ինչպես K⁺ փոխադրիչ վալինոմինիցինի, այնպես էլ պրոտոնի փոխադրիչներ TTФБ և ClCCP-ի ազդեցության դեպքում: Այդ փաստերը մեկնաբանելու համար տրված է երկու սխեմա, որոնց համաձայն վալինոմինիցինը, K⁺-ի թափանցելիությունը մեծացնելով, փոփոխվում է միայն կալիումի մարտկոցի ներքին դիմադրությունը, անփոփոխ թողնելով նրա պոտենցիալը, մինչդեռ TTФБ և Cl-CCP-ն միանալով մարտկոցին որպես ընդհանուր զուգահեռ դիմադրություն, փոփոխում են ինչպես մեմբրանի պոտենցիալը, այնպես էլ դիմադրությունը:

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамян С. Я., Мартиросов С. М., Симонян А. Л. Биофизика, 18, 1, 1973.
2. Кроленко С. А., Адамян С. Я., Виноградова Н. А., Никольский Н. Н. Цитология, 7, 2, 1965.
3. Либерман Е. А. Биофизика, 15, 2, 1970.
4. Лев А. А., Осипов В. В., Бужинский Э. П., Готлиб В. А., Шляхтер Т. А. Цитология, 13, 3, 1971.
5. Можаяев Г. А. Цитология, 10, 1, 1968.
6. Симонян А. Л., Адамян С. Я. и Мартиросов С. М. Сб. Биофизика мембран. Каунас, 1971.