

Л. Г. МИКАЕЛЯН, С. А. АДЖЯН

О ХОЛИНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В ЦЕЗИЕВЫХ РАСТВОРАХ

На волокнах портняжных мышц лягушки в режиме последовательной смены растворов, содержащих K^+ , Cs^+ , $AХ^+$ и эзерин, а также их смеси, показано, что A^+ увеличивает проницаемость мембраны для ионов натрия, что и является причиной ее деполаризации после обработки мышц ионами цезия.

В присутствии ионов калия ацетилхолин не влияет на мембранный потенциал, однако уменьшает наклон кривой зависимости мембранного потенциала от концентрации цезия в растворе.

В хронических опытах на различных животных показано, что денервация скелетной мышцы приводит к увеличению ее чувствительности к ацетилхолину (АХ) [1, 2]. В нормальной иннервированной мышце чувствительная к АХ зона ограничена областью концевой пластинки. При перерезке моторного нерва чувствительность экстраинаптической мембраны (ЭСМ) мышечного волокна к АХ возрастает в 1000 раз [3]. В хронически денервированной мышце микроэлектрофоретическое введение медиатора внутрь волокна вызывает кратковременную деполаризацию ее мембраны [4], а при помещении такой мышцы в рингеровский раствор, содержащий АХ, наблюдается «электрически немая» контрактура [5]. Таким образом, денервация приводит к развитию тотальной чувствительности мембраны мышечных волокон к АХ.

Для объяснения постденервационной холиночувствительности ЭСМ был предложен ряд гипотез. Согласно Миледи [6], денервация приводит к образованию холинорецепторов (ХР) по всей поверхности мембраны мышечного волокна. По Теслеффу [7], ХР имеются и в нормальной иннервированной мышце, однако «молчат» под влиянием непрерывной импульсации. При денервации происходит разблокирование ХР. Однако последняя точка зрения противоречит некоторым фактам. Во-первых, холиночувствительность ЭСМ развивается в течение длительного времени (минимальная чувствительность наблюдается только на третьи сутки после денервации) [4]. Далее, увеличение холиночувствительности коррелирует с увеличением связывания ЭСМ-ой специфического ингибитора ХР α -бунгаротоксина [8]. И, наконец, введение животному ингибитора синтеза белков актиномицина Д предотвращает постденервационную холиночувствительность ЭСМ [9].

Таким образом, эти данные свидетельствуют о том, что холиночувствительность ЭСМ связана с образованием новых ХР, и не подтверждает идею о «предсуществовании» ХР в ЭСМ. Тем не менее в литературе [10] все еще рассматривается вопрос о реальности «предсущест-

воования» ХР в ЭСМ. Причем в качестве доказательства в пользу этого представления приводятся данные Портелла и соавт. [11]. В этой работе, выполненной на свежееотпрепарированных портняжных мышцах лягушки, показано, что холин или ацетилхолин в концентрациях 5—10 мМ деполяризует мембрану мышечных волокон на 10—15 мв в Рингеровском растворе, где ионы калия замещены в эквимольной концентрации ионами цезия. Деполяризация не наблюдалась в присутствии α -тубокурарина и не предотвращалась в присутствии эзерина. На основании этих данных авторы заключили, что в цезиевом растворе происходит «обнажение» холиночувствительных участков на мембране мышечных волокон. По мнению авторов, в цезиевом растворе мембрана мышечных волокон становится холиночувствительной. Однако нам кажется, что неправомерно отождествлять деполяризацию мембраны в присутствии АХ в цезиевом растворе с деполяризационным ответом холиночувствительной мембраны, наблюдаемым на хронически денервированных или эмбриональных скелетных мышцах [12], так как холиночувствительность предполагает сокращение или контрактуру мышцы при действии АХ. Странным в работе цитируемых выше авторов был тот факт, что при замене ионов калия в Рингере ионами цезия величина мембранного потенциала (МП) мышечных волокон оставалась неизменной, хотя, согласно теории Ходжкина-Катца [13], а также экспериментальным данным [14, 15], должна наблюдаться гиперполяризация мембраны порядка 5—12 мв.

В ряде работ [16, 17] было показано, что эзерин уменьшает абсолютную величину МП мышечных волокон, что связано с уменьшением проницаемости мембраны для ионов калия. В опытах же Портелла эзерин не влиял на МП. Анализ экспериментальных результатов Портелла с соавторами и их сопоставление с известными в литературе данными привели нас к заключению, что наблюдаемая в указанных выше опытах деполяризация мембраны при действии АХ в цезиевых растворах должна быть рассмотрена с точки зрения мембранной проницаемости. В связи с этим была выполнена настоящая работа.

Материал и методика. Эксперименты проводили на свежееотпрепарированных портняжных мышцах (*m. sartorius*) озерной лягушки (*Rana ridibunda*) с использованием обычной микроэлектронной техники внутриклеточного отведения и регистрации биопотенциалов.

Результаты опытов, представленные в табл. 1—3, отражают последовательность измерения МП мышечных волокон в указанных растворах. В начале каждой серии опытов (а, б, в и т. д.) измеряли мембранные потенциалы мышечных волокон в нормальном растворе Рингера, содержащем 2,5 мг-ион/л K^+ . Все последующие измерения проводили в растворах, где K^+ был замещен эквивалентным количеством Cs. В конце каждой серии экспериментов проводили измерения МП в нормальном растворе Рингера с целью выявить возможные изменения внутриклеточной концентрации K^+ . Не было обнаружено статистически достоверной разницы в величинах МП в начале и в конце серии экспериментов. Измерение МП в цезиевых растворах начинали через 20—30 мин после смены растворов, так как за это время МП устанавливался на новом стационарном уровне. Мышцы, предназначенные для измерения МП в сульфатных растворах, препарировались в охлажденном до 2—4°C сульфатном растворе Рингера. Эта процедура предотвращала сокращение мышц из-за выхода из них Cl^- в суль-

фатные растворы, имеющие комнатную температуру. Экспериментальные растворы имели следующие составы (в мг-экв/л): хлорные— KCl —2,5, NaCl —115, CaCl_2 —1,8, Na_2HPO_4 —2,15, NaH_2PO_4 —0,85; сульфатные— K_2SO_4 —1,25, Na_2SH_4 или LiSO_4 —38,9 5 CaSO_4 —8, Na_2HPO_4 —1,08, NaH_2PO_4 —0,43; сахара—113, В некоторых опытах Na^+ был полностью замещен на изотоническое количество сахарозы. Цезий использовался в виде лимоннокислой соли. Растворы, содержащие ацетилхолинхлорид, имели эквивалентный дефицит по NaCl или по Na_2SO_4 . Препарат эзерина фирмы «Merck» применялся в концентрации 1 мМ. Величины МП, приведенные в таблицах, представляют средние значения этих показателей, полученных на 4-х мышцах. На каждой мышце измерялся мембранный потенциал от 10—20 поверхностных волокон.

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали, что замена ионов калия в рингеровском растворе эквимолярной концентрацией ионов цезия приводит к гиперполяризации мембраны мышечных волокон в среднем на 12 мВ в хлорных растворах (табл. 1 и 3) и на 7 мВ в суль-

Таблица 1

Величины МП мышечных волокон лягушки, измеренных в хлорных растворах в режиме последовательной их смены

Растворы	I последовательность				II последовательность			
	2,5 мМ K^+	2,5 мМ Cs^+	2,5 мМ K^+ +5 мМ АХ	2,5 мМ K^+ +1 мМ эзерин	2,5 мМ K^+	2,5 мМ Cs^+	2,5 мМ K^+ +1 мМ эзерин	2,5 мМ K^+ +5 мМ АХ
МП мВ	88,0±1,2	100,0±1,4	87,0±1,5	80,0±1,6	86,0±1,2	97,0±1,0	87,0±1,1	86,5±1,3

Таблица 2

Величины МП мышечных волокон лягушки, измеренных в сульфатных растворах в режиме последовательной смены

Растворы	I последовательность				II последовательность			
	2,5 мМ K^+	2,5 мМ Cs^+	2,5 мМ K^+ +5 мМ АХ	2,5 мМ K^+ +1 мМ эзерин	2,5 мМ K^+	2,5 мМ Cs^+	2,5 мМ K^+ +1 мМ эзерин	2,5 мМ K^+ +2 мМ АХ
МП мВ	82,0±1,0	89,0±1,0	80,0±1,1	72,0±0,9	84,0±1,0	99,0±1,2	84,0±1,0	83,0±1,3

фатных растворах (табл. 2). Последующая замена цезиевого Рингера калиевым с добавлением АХ реполяризует мембрану мышечных волокон до уровня, соответствующего МП в исходном калиевом Рингере. Это указывает на то, что АХ в присутствии ионов калия не влияет на МП мышечных волокон лягушки. Напротив, эзерин в калиевом Рингере снижает величину МП на 7—8 мВ. Из табл. 1 видно, что эзерин эффективен и после обработки ионами цезия, поскольку АХ не вызывает дальнейшей деполяризации мембраны после действия эзерина. Так как мембрана мышечных волокон лягушки обладает высокой проницаемостью для ионов хлора, то последние могли бы маскировать эффекты, производимые АХ. Чтобы исключить возможное влияние ионов хлора,

Таблица 3

Величины МП мышечных волокон лягушки, измеренных в хлорных растворах (118 мМ NaCl) и сахарозных растворах (содержащих 236 мМ сахарозы вместо NaCl) в режиме последовательной их смены

Раствор	Хлорные				Сахарозные		
	2,5 мМ K ⁺	2,5 мМ Cs ⁺	АХ	АХ+Cs ⁺	АХ+K ⁺	10 мМ Cs ⁺	10 мМ АХ ⁺
МП мВ	88,0±1,0	93,0±1,0	75,0±1,3	85,0±1,2	84,0±1,0	73,0±1,4	72,0±1,8

были проведены эксперименты в сульфатных растворах. Здесь так же, как и в хлорных растворах, эзерин вызывал дальнейшую деполяризацию мембраны после действия АХ, однако после действия эзерина АХ был неэффективен. Эти данные указывают на то, что наблюдаемая в опытах Портелла, а также в наших экспериментах (табл. 3) деполяри-

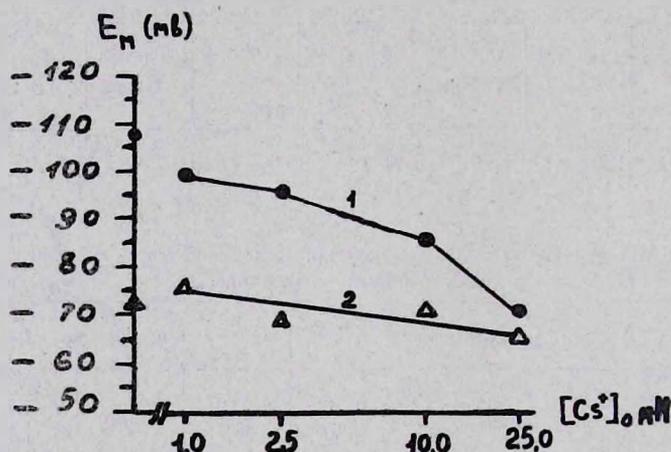


Рис. Зависимость МП мышечных волокон от концентрации ионов цезия в наружном растворе: кривая 1—в отсутствие АХ, кривая 2—в присутствии 2,5 мМ АХ.

зация мембраны мышечных волокон, производимая АХ после обработки мышц ионами цезия, по-видимому, связана с изменением проницаемости мембраны для ионов натрия. Однако измерения МП мышечных волокон в сульфатных растворах, содержащих ионы лития вместо ионов натрия, имели близкие значения МП сравнительно с величинами МП, измеренных в растворах с ионами натрия (ср. 83,5±1,6 и 87,02±1,7 соответственно). Это могло быть только в том случае, если АХ изменял бы проницаемость мембраны и для ионов лития. И действительно, как видно из табл. 3, величины МП, измеренные в растворах цезия и АХ, при условии замены всего NaCl сахарозой, не отличаются друг от друга. Таким образом, ацетилхолин увеличивает проницаемость мембраны для ионов натрия, однако в присутствии ионов калия это увели-

чение не достаточно велико, чтобы отразиться на МП, но оно проявляется в отсутствие ионов калия. По-видимому, АХ увеличивает проницаемость также для ионов лития, так как его эффект на мембранный потенциал можно обнаружить заменив ионы натрия электронейтральными молекулами (в данном случае сахарозой). Интересно было также выяснить характер влияния ионов цезия на мышечную мембрану в присутствии АХ. С этой целью МП мышечных волокон одной пары мышц лягушки измерялся в цезиевом Рингере, содержащем 2,5 мМ АХ, а другая пара служила контролем.

Результаты этих экспериментов, представленные на рис., показали, что при низких концентрациях ионов цезия в растворе АХ уменьшает абсолютную величину МП. Деполяризующее влияние АХ уменьшается по мере увеличения концентрации ионов цезия в растворе. Более того, резко уменьшается наклон кривой зависимости МП от концентрации ионов цезия в растворе. Этот результат может свидетельствовать о том, что АХ является сильным конкурентом для ионов цезия за канал проницаемости в мембране мышечных волокон.

Ереванский физический институт

Поступило 31.I 1977 г.

Լ. Գ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ, Ս. Ա. ՀԱԶՅԱՆ

ԿՄԱԽՔԱՅԻՆ ՄԿԱՆՆԵՐԻ ԽՈԼԻՆՈՉԳԱՅՆՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ ՑԵՋԻՈՒՄԻ ԼՈՒՇՈՒՅԹՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Գորտի դերձակային մկանի վրա K^+ , Cs^+ , Ach^+ և էզերին պարունակող լուծույթների հաջորդաբար տեղակայման ռեժիմում ցույց է տրված, որ ցեզիումական լուծույթով մշակված մկանաթելերի մեմբրանի դիպոլարիզացիան Ach^+ -ի ազդեցության ներքո, պայմանավորված է նատրիումի իոնների թափանցելիության մեծացումով: Կալիումական լուծույթներում Ach^+ -ը չի ազդում մկանաթելի մեմբրանային պոտենցիալի վրա, բայց փոքրացնում է մեմբրանային պոտենցիալի կախվածությունը ցեզիումի իոնների խտությունից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Rosenblueth A. and Luco J. Amer. J. Physiol., 120, 781, 1937.
2. Brown G. L. J. Physiol., 89, 438, 1937.
3. Axelsson J. and Thesleff S. J. Physiol., 147, 178, 1959.
4. Теслефф С. Современные проблемы электробиологии. М., 1964.
5. Thesleff S. and Quastel D. Ann. Rev. Pharmacol. 5, 263, 1963.
6. Miledi R. In: Ciba Found. Symp. Enzymes and Drug Action, 220, 1962.
7. Thesleff S. Physiol. Rev., 40, 734, 1960.
8. Lee G. Y., Tseng L. F., Chin T. H. Nature, 215, 1177, 1967.
9. Nasledov G. A. and Thesleff S. Acta physiol. scand., 90, 370, 1974.
10. Мухельсон Я. М. и Зеймель Э. В. Ацетилхолин. Л., 1970.
11. Portela A. et all; Nature, 203, 1179, 1964.
12. Гинецинский А. Г. и Шамарина Н. М. Успехи совр. биол., 15, 283, 1942.

13. *Hodgkin A. and Katz B. J. Physiol.*, 108, 37, 1949.
14. *Hodgkin A. and Horrowicz P. J. Physiol.*, 148, 127, 1959.
15. *Мартirosов С. М. и Микаелян Л. Г. Цитология*, 12, 4, 1970.
16. *Varga E. and Horrowicz P. Fed. Proc.*, 22, 565, 1963.
17. *Микаелян Л. Г. Биологический журнал Армении*, 27, 5, 1974.
18. *Renkin E. M. J. Gen. Physiol.*, 44, 1159, 1961.
19. *Sjodin R. D. J. Gen. Physiol.*, 44, 930, 1961.