

ВЛИЯНИЕ N-ЭТИЛМАЛЕНИМИДА И УБАИНА НА ПОТОКИ Na^{22} В МЫШЦЕ ЛЯГУШКИ ПРИ ДЕФИЦИТЕ КАЛИЯ В РАСТВОРЕ РИНГЕРА

Г. Г. МАРИКЯН, С. Я. АДАМЯН, А. Л. СИМОНЯН

В присутствии убаина и при отсутствии калия в наружной среде наблюдается поток натрия (Na) из клетки, который существенно превышает расчетный диффузионный поток [6, 7, 9]. Для объяснения механизма этого явления постулируется наличие переносчика. На эритроцитах убаин-резистентные потоки Na оказались чувствительными к ингибиторам SH-групп [4—6]. Подобных данных, полученных на мышцах, в литературе не имеется.

Задачей данной работы было изучение действия N-этилмаленимида (НЭМ) на потоки Na в мышце в условиях максимального торможения ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) —АТФазной системы.

Материал и методика. Опыты проводились на портняжных мышцах озерной лягушки *Rana ridibunda*. Повышенная концентрация Na (40—60 мМ/кг внутриклеточной воды) достигалась путем выдерживания мышц в бескальевом растворе Рингера (Р-К) при 2° в течение 36—48 ч. [1].

Однонаправленные потоки Na измерялись изотопом Na^{22} . Тщательно отпрепарированные мышцы привязывались за сухожильные концы к стеклянным распялкам и помещались на определенное время (1,0—1,5 ч.) в Р-К раствор с изотопом натрия. Для отмывки изотопа распялка с мышцей помещалась в последовательно сменяемые пробирки, содержащие 5 см³ неактивного раствора. График выхода натрия во времени представляет собой экспоненту, пересечение прямолинейного участка которой с осью ординат дает возможность определить количество натрия, вошедшее в мышечные волокна. Наклон прямолинейного участка отражает скорость выхода Na^{22} . Счет меченых проб проводился на приборе SL-30.

Измерения мембранного потенциала (МП) проводились ипрексовыми микроэлектродными, заполненными 3 М KCl , с потенциалом кончика не более 3—4 мВ. Измерение МП во времени при действии НЭМа длилось 1,5—2,0 ч. В каждой мышце измерялось примерно десять волокон для определенного промежутка времени.

Концентрации АТФ, АДФ и неорганического фосфата (P_i) определялись спектрофотометрическим методом в безбелковом экстракте мышц: АТФ—по методу Лампрехта и Траушеля [3], а АДФ—по методу Бергмейера [2]. Оба метода энзиматические. Неорганический фосфат определялся колориметрическим методом Стентона [8].

Состав экспериментального Р-К раствора следующий: NaCl —118, CaCl_2 —2, NaHCO_3 —2 мМ. Убаин использовался в концентрации 10^{-4} , НЭМ— $5 \cdot 10^{-6}$ М. Р-К и Р-К+убаин растворы являются бескальевыми только номинально, ибо содержат в среднем 4—6 мкМ калия.

Все опыты проводились строго на парных мышцах.

Результаты и обсуждение. При добавлении НЭМа к Р-К раствору, содержащему убаин, наблюдается стимулирующее действие его как на вход, так и на выход натрия из мышц. При инкубации мышц в Р-К растворе с убаином константа скорости выхода натрия из мышц $k = 0,0063 \text{ мин}^{-1}$, а в присутствии НЭМа $k = 0,0084 \text{ мин}^{-1}$. Добавление НЭМа к инкубационному раствору в тех же условиях в течение 1,0—1,5 ч. вызывало увеличение входа натрия в 1,4 раза ($n=16$, n —количество мышц). Увеличение входа Na^{22} не может быть объяснено изменением электрических свойств мембраны. При 1,5-часовой инкубации мышц в растворе Р-К+убаин+НЭМ наблюдается изменение МП с -126 ± 2 до -46 ± 3 мВ ($n=16$). Это происходит за 10—15 мин, и затем в течение 30—50 мин потенциал не меняется. Для трех пар мышц не отмечалось изменения МП в течение 1,0—1,5 ч., и МП оставался равным -123 ± 2 мВ. При таком изменении МП следовало бы ожидать уменьшение входящего потока Na , а не увеличение, как это имело место в эксперименте.

Можно предположить, что НЭМ меняет пассивные свойства мембраны, увеличивая ее проницаемость. Считая весь вход Na пассивным, можно рассчитать коэффициент проницаемости для ионов Na (P_{Na}), который оказывается примерно в три раза больше, чем у контрольных мышц. Но даже такое увеличение P_{Na} не объясняет наблюдаемое изменение выходящего потока. Следовательно, следует признать, что НЭМ оказывает существенное влияние на недиффузионный компонент выходящего потока Na .

Сравнение констант скорости выхода Na в Р-К растворе ($k = 0,0075 \text{ мин}^{-1}$) и Р-К растворе с убаином ($k = 0,0060 \text{ мин}^{-1}$) с константой скорости выхода Na при добавлении НЭМа к убаиновому раствору ($k = 0,0084 \text{ мин}^{-1}$) показало, что последний сводит на нет влияние убаина на транспорт ионов Na : константа скорости выхода Na в растворе Р-К+убаин+НЭМ близка к таковой в Р-К растворе.

Для проверки предположения о том, что НЭМ препятствует действию убаина были поставлены опыты по влиянию его на концентрацию макроэргических соединений АТФ и АДФ и Φ_{H} в мышцах, обогащенных натрием и инкубированных в Р-К растворе с убаином.

Результаты опытов показали, что НЭМ статистически достоверно снижает концентрацию АТФ с $3,4 \pm 0,1$ до $2,7 \pm 0,2$ мМ/кг сырого веса ($n=16$) и увеличивает концентрацию Φ_{H} с $18,0 \pm 1,6$ до $24,4 \pm 1,6$ мМ/кг сырого веса ($n=8$). Это подтверждает высказанное предположение.

Вместо ожидаемого увеличения концентрации АДФ наблюдается статистически недостоверное снижение ее с 0,6 до 0,5 мМ/кг сырого веса ($n=4$). Возможно, это связано с действием аденилаткиназы мышцы, образующей АТФ и АМФ из двух молекул АДФ.

Таким образом, полученные результаты дают основание считать, что влияние НЭМа на поток Na в присутствии убаина связано с АТФ-азной активностью мышечной мембраны.

N-էթիլսպլեհեհիմիդի եւ ՌԱՔԱՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԳՈՐՏԻ ՄԿԱՆՈՒՄ Na^{22} ՀՈՍՔԵՐԻ ՎՐԱ ՌԻՆԳԵՐԻ ԼՈՒՄԻՆՑԻԱՆ
ԿԱԼԻՈՒՄԻ ԴԵՖԵՅԻՏԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ. Գ. ՄԱՐԻՅԱՆ, Ս. ՅԱ. ԱԴԱՄՅԱՆ, Ա. Լ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ

Հետազոտվել է N-էթիլսպլեհեհիմիդի ազդեցությունը Na^{22} հոսքերի վրա դորտի մկանում նատրիումի ակտիվ տրանսպորտի մաքսիմալ արգելակման պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ N-էթիլսպլեհեհիմիդը խոչընդոտում է ուաբաինի ազդեցությանը նատրիումի ելքային հոսքի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Adrian R. H. and Slayman C. L. J. Physiol, 184, 4, 1966.
2. Bergmeyer H. Methods of enzymatic analysis, N. Y. L. 266, 1963.
3. Lamprecht W., Frauschold J. M. Methods of enzymatic analysis N. Y. L. 543, 1963.
4. Motais R. and Sola F. J. Physiol., 233, 2, 1973.
5. Rega A. F., Rothstein A., Weed R. S. 1. Cell Physiol., 70, 1, 1967.
6. Sachs J. R. J. Gen. Physiol., 57, 3, 1971.
7. Sjodin R. A. and Beazge L. A. J. Gen. Physiol., 61, 2, 1973.
8. Stanton M. G. Anal. Biochem., 22, 27, 1968.
9. Venosa R. A. and Horowicz P. J. Membr. Biol., 14, 2, 1973.

