

С. Ш. РАПОПОРТ, Г. И. РОМАНЕНКО

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОНИЦАЕМОСТИ МЕМБРАНЫ МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДЛЯ ИОНОВ КАЛИЯ В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА

(Представлено академиком Г. М. Франком 3 XII 1970)

Было установлено⁽¹⁾, что проницаемость скелетных мышечных волокон к ионам натрия P_{Na} у крыс на ранних стадиях постнатального онтогенеза увеличена, по сравнению с P_{Na} взрослых животных. Известно, что величина мембранного потенциала (м.п.) мышечных волокон при данных концентрационных градиентах зависит от относительных проницаемостей мембраны для ионов натрия и калия⁽²⁾. Для анализа причины низкого уровня м.п., характерного для мышечных волокон на ранних стадиях онтогенеза⁽¹⁾, необходимо определить величины коэффициентов проницаемости мембраны для ионов калия P_K . Выполнению этой задачи посвящена настоящая работа.

Объектом исследования служили камбаловидные (*m. soleus*) мышцы 1-недельных и 8-недельных белых крыс. Отпрепарированные мышцы выдерживались в течение 2 час. в физиологическом растворе, в который был внесен K^{42} . Затем в течение 3 час. исследовался процесс выхода K^{42} из мышц. Смена растворов на нерадиоактивный производилась каждые 15 — 20 мин. Все растворы, в которых содержались мышцы, термостатировались при 37° и непрерывно оксигенировались. Измерения радиоактивности производились на установке для регистрации γ -излучения фирмы «Telefunken».

На рис. 1 приведены кривые выхода K^{42} из мышц 8-недельных (рис. 1А) и 1-недельных (рис. 1Б) крыс. Как следует из рис. 1, выход изотопа из межклеточников заканчивается в течение первых 10 мин. отмывки. Участки кривых, отражающие выход K^{42} из мышц в последующие 15 — 20 мин., хорошо аппроксимируются экспонентами. Постоянная времени выхода K^{42} из мышц составляет $90,8 \pm 6,0$ мин. для мышц 1-недельных крыс и $80,2 \pm 7,5$ мин. для мышц 8-недельных крыс.

Так как выход K^{42} из клетки следует экспоненциальному закону, то поток калия наружу M_n^K будет

$$M_n^K = [K]_{вн} V / \tau S, \quad (1)$$

где $[K]_{вн}$ — внутриклеточная концентрация калия, τ — постоянная време-

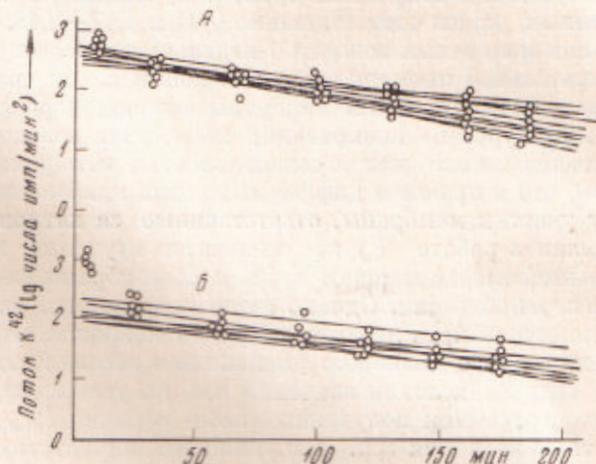


Рис. 1. Выход K^{42} из мышц 8-недельных (А) и 1-недельных (Б) крыс

ни выхода K^{42} , V/S — отношение объема к поверхности. Согласно теории постоянного поля Гольдмана (3), поток K^{42} наружу выражается формулой

$$M_{\text{н}}^K = P_{\gamma} \frac{[K]_{\text{вн}}}{e^{\gamma} - 1}, \quad (2)$$

где $\gamma = EF / RT$ (E — величина м.п., F , R и T имеют обычные значения). Приравнявая соотношения (1) и (2), получаем следующее выражение для вычисления коэффициента проницаемости:

$$P_K = \frac{1}{\gamma} \cdot \frac{e^{\gamma} - 1}{\gamma} \cdot \frac{V}{S}.$$

Рассчитанные таким способом величины P_K оказываются разными ($0,78 \pm 0,08$) $\cdot 10^{-6}$ см/сек для мембраны мышечных волокон 8-недельных крыс и ($0,13 \pm 0,01$) $\cdot 10^{-6}$ см/сек у 1-недельных животных, т. е. проницаемость мембраны несформированных мышечных волокон для ионов калия в 6 раз меньше, чем в мышечных волокнах взрослых крыс.

В предыдущей работе (4) нами было показано, что P_{Na} мембраны мышечных волокон 1-недельных крыс в 5—9 раз увеличена по сравнению с величиной P_{Na} у 6—12-недельных животных. Таким образом, из данных наших опытов следует, что в ходе постнатального онтогенеза проницаемость мембраны к ионам калия увеличивается, а к ионам натрия уменьшается. Величины P_{Na}/P_K для мембраны мышечных волокон 6—12-недельных и 1-недельных крыс, полученные из наших экспериментальных данных, равны соответственно 0,04 и 1,17—2,18. Отсюда следует, что мембрана мышечных волокон 1-недельных крыс еще не обладает высокой избирательной проницаемостью к ионам калия по сравнению с ионами натрия, характерной для мембраны волокон взрослых животных. Очевидно, низкий уровень поляризации мышечных волокон 1-недельных крыс обусловлен именно малой селективностью мембраны этих волокон. Вывод о том, что в процессе дифференцировки наибольшие изменения претерпевают участки мембраны, ответственные за катионную проницаемость, был сделан в работе (4) на основании изучения изменений относительной проницаемости к ионам Na, K и Cl мембраны различных клеток в культуре нервной ткани. Однако автор показал, что отношение P_{Na}/P_K мало изменяется в ходе дифференцировки нейронов, что, по-видимому, является следствием одинакового уменьшения абсолютных значений P_K и P_{Na} .

При вычислении значений м.п. по уравнению Ходжкина и Каца (2) с использованием полученных нами величин P_{Na}/P_K оказывается, что расчетные значения м.п. (м.п._р) близко соответствуют экспериментально измеренным (м.п._{изм}) только для мышечных волокон взрослых крыс (м.п._р — 68,8 мв; м.п._{изм} — 69,4 мв). Для мышечных волокон 1-недельных крыс м.п._р составляет 27,3—12,2 мв, в то время как м.п._{изм} равен 37,0 мв. Тот факт, что экспериментально измеренный потенциал этих волокон выше, чем рассчитанный на основании полученных экспериментально величин концентрационных градиентов и коэффициентов проницаемости для ионов калия и натрия, можно объяснить, предположив, что сопряжение потоков натрия и калия, переносимых за счет активного транспорта, в мембране мышечных волокон 1-недельных крыс происходит с коэффициентом сопряжения, отличным от 1 (5). Используя полученные нами величины P_K и величины внутри- и внеклеточных концентраций калия, определявшиеся нами ранее методом пламенной фотометрии, можно рассчитать величины потоков калия (табл. 1), направленных наружу и внутрь клетки, по уравнениям Гольдмана (3).

Из табл. 1 видно, что в мышечных волокнах взрослых крыс диффузионный поток калия наружу ($M_{\text{н}}^K$) в 2 раза больше, чем диффузионный поток калия внутрь ($M_{\text{вн}}^K$). При условии отсутствия потока калия внутрь, сопряженного с потоком натрия, переносимым за счет активного транспорта, такая разница в величинах диффузионных потоков может быть обу-

словлена нестационарным состоянием. Действительно, в работе (6) показано, что в *m. soleus* крыс величина $[K_{вн}]$ (в ммол. на 1 кг H_2O) составляла 132,9 до выдерживания в физиологическом растворе и 119,1 после 3-часового пребывания в физиологическом растворе при 26°, т. е. скелетные мышцы крыс теряют калий со скоростью около 4 ммол/час. Такая

Таблица 1

Расчитанные величины потоков Π , мол/см²·сек.

Возраст в неделях	$M_{и}^K$	$M_{вн}^K$	$\Pi_{вн}^K$	$\Pi_{и}^{Na}$
6—12	25,9±2,7	13,3±1,3	12,6±1,3	10,0±1,2
1	8,7±0,6	1,7±0,1	7,0±0,5	35,5±3,4

утечка должна создавать поток, равный примерно 0,98 ммол/см²·сек. Однако эта величина составляет всего 7,3% от величины разности встречных потоков калия, вычисленных по уравнению Гольдмана. Отсюда можно сделать заключение о наличии в мышечных волокнах исследовавшихся нами крыс потока калия, направленного внутрь клетки, сопряженного с потоком натрия, переносимым за счет активного транспорта. Величина этого потока ($\Pi_{вн}^K$) равна разности встречных диффузионных потоков калия (7).

Интересно сопоставить величины потоков калия ($\Pi_{вн}^K$) и натрия ($\Pi_{и}^{Na}$), сопряженных в процессе активного транспорта. Оказывается, что в мышечных волокнах 6—12-недельных крыс эти потоки примерно равны, в то время как в мышечных волокнах 1-недельных крыс поток натрия, переносимый за счет активного транспорта, в 5 раз больше сопряженного с ним потока калия внутрь, т. е. поток калия внутрь не полностью компенсирует э.д.с., создаваемую направленным наружу потоком натрия, переносимым за счет активного транспорта. Очевидно, по этой причине м.п.вм оказывается увеличенным, по сравнению с м.п.р в мышечных волокнах 1-недельных крыс. Однако точные величины коэффициента сопряжения не могут быть определены нами из-за отсутствия строго стационарных условий.

В литературе имеются данные, что моторный нерв оказывает активирующее действие на активный транспорт. Так, в результате блока проведения в нерве отмечается уменьшение потока ионов K внутрь клетки, переносимого за счет активного транспорта. Добавка ацетилхолина к физиологическому раствору, в который помещают для отмычки денервированные и обогащенные натрием мышцы, стимулирует работу активного транспорта, в то время как эзерин, декаметоний и, в меньшей степени, тубокурарин тормозят ее (7). Показано также, что величина P_n денервированных мышечных волокон уменьшается, по сравнению с иннервированными волокнами (8). Исследовавшиеся нами мышцы 1-недельных крыс еще не имеют окончательно сформированной моторной иннервации (9). Нервно-мышечный синапс на этой стадии развития по функциональным и морфологическим характеристикам представляется незрелым образованием (10). Возможно, что формирование свойств мембраны, а также нормальное ее функционирование опосредованы влиянием моторного нерва.

Институт высшей нервной деятельности
и нейрофизиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
30 X 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 С. Ш. Рапопорт, Г. И. Романенко, ДАН, 200, № 2 (1971). 2 A. L. Hodgkin, Biol. Rev., 26, 4, 339 (1951). 3 D. E. Goldman, J. Gen. Physiol., 27, 1, 37 (1943). 4 Н. М. Жуковская, Автореф. кандидатской диссертации, М., 1970. 5 L. J. Mullins, K. Noda, J. Gen. Physiol., 47, 1, 117 (1963). 6 К. Yonemura, Japan. J. Physiol., 17, 6, 708 (1967). 7 M. Dokry, R. P. Kernan, A. Tangney, J. Physiol., 186, 1, 187 (1966). 8 W. Klaus, H. Lüllmann, E. Muscholl, Pflüg. Arch., 271, 7, 761 (1960). 9 H. Teräsväinen, Zs. Zellforsch., 87, 2, 249 (1968). 10 J. Diamond, R. Mile di, J. Physiol., 162, 3, 393 (1962).