

Ю. В. НАТОЧИН, И. А. СКУЛЬСКИЙ

РАЗЛИЧИЕ ВЛИЯНИЯ Tl^+ И Ba^{2+} КАК ЧАСТИЧНЫХ АНАЛОГОВ K^+ НА НАТРИЕВЫЙ НАСОС В КОЖЕ ЛЯГУШКИ

(Представлено академиком Е. М. Крепом 21 VI 1971)

Натрийтранспортирующие клетки кожи лягушки асимметричны — их апикальная мембрана, обращенная к внешней среде, избирательна к ионам Na^+ , базальная — к ионам K^+ . Полагают, что ионы K^+ поступают в клетку из крови при активном выходе в кровь Na^+ , движение которого через кожу создает «натриевый» ток. Диффузионный калиевый потенциал возникает благодаря пассивной утечке K^+ через калиевые «каналы» базальной мембраны (1). Для понимания химизма калиевой избирательности клеток представляют интерес данные о возможности частичного замещения K^+ другими, сходными с ним ионами. Наиболее часто сравнивают поведение ионов K^+ и его ближайших аналогов в периодической системе — Rb^+ и Cs^+ (2). Не менее перспективными являются поиски аналогов K^+ среди элементов других групп, к ним относятся Tl^+ и Ba^{2+} . Ионы

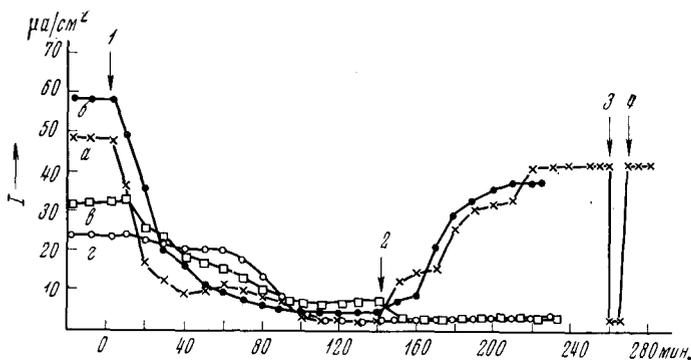


Рис. 1. Влияние различных ионов на активный транспорт натрия кожей лягушки. 1 — замена раствора Рингера у внутренней поверхности кожи на бескалиевый раствор Рингера; 2 — добавление к этому раствору 3,3 мМ KCl (а), RbCl (б), $BaCl_2$ (в) и Tl_2CO_3 (г) (для этого случая из-за плохой растворимости $TlCl$ и использовался сульфатный раствор Рингера); 3 — замена раствора Рингера у наружной поверхности кожи на раствор 30 мМ KCl; 4 — раствор Рингера, разведенный 1:1 60 мМ KCl

Tl^+ и Ba^{2+} , как и ионы K^+ , деполяризуют мембрану мышечного волокна (3, 4), Tl^+ эффективнее K^+ в активации Na^+ , K^+ -АТФазы (5). Химическое и биохимическое сходство между ионами Tl^+ и K^+ обусловлено тем, что они обладают близкими кристаллографическими радиусами (Tl^+ 1,48 Å и K^+ 1,33 Å) и одинаковым зарядом. Ионы Ba^{2+} имеют радиус 1,33 Å, но отличаются от K^+ по заряду.

В настоящей работе исследована деятельность натриевого насоса в коже лягушки при замене K^+ в растворе Рингера его частичными аналогами. Используемый в этой работе метод измерения разности потенциалов через кожу лягушки *Rana temporaria* и силы короткозамкнутого тока, ко-

торая служит мерой активного транспорта натрия, описан нами ранее (6) и является модификацией метода Уссинга и Церана (7).

На рис. 1 приведены данные опытов с добавлением ряда аналогов K^+ к бескальциевому раствору Рингера со стороны внутренней поверхности кожи. Транспорт Na^+ медленно снижается почти до 0 после удаления K^+ и постепенно восстанавливается после добавления к этому раствору K^+ и Rb^+ ; оказалось, что Ba^{2+} и Tl^+ не способны заменить K^+ в ионообменном калиево-натриевом насосе (рис. 1). В то же время эти ионы оказывают различное, но выраженное действие при добавлении их к нормальному раствору Рингера со стороны внутренней поверхности кожи. Прибавление

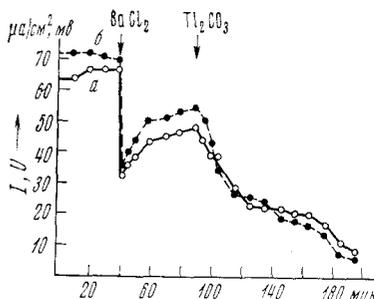


Рис. 2

Рис. 2. Динамика изменения разности потенциалов (а) и короткозамкнутого тока (б) после добавления 1 мМ растворов $BaCl_2$ и Tl_2CO_3 к раствору у внутренней поверхности кожи

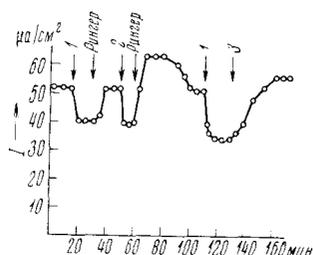


Рис. 3

Рис. 3. Влияние отмывания Ba^{2+} и его осаждения на короткозамкнутый ток в коже лягушки. К внутренней поверхности добавляли: 1 — 1 мМ $BaCl_2$, 2 — 50 мМ KCl (раствор Рингера разбавлялся раствором KCl 100 ммол/л 1:1) и 3 — 1 мМ Na_2SO_4 . Рингер — отмывание раствором Рингера

1 экв/л $BaCl_2$ вызывает резкое падение разности потенциалов и уменьшение силы тока, которые с течением времени частично восстанавливаются (рис. 2). После отмывки свежим раствором Рингера или добавления сульфата Na для осаждения Ba^{2+} быстро восстанавливается исходный транспорт Na^+ (рис. 3). Иное действие оказывает Tl^+ (рис. 2); в концентрации 1 ммол/л он вызывает медленное падение разности потенциалов и тока компенсации, которые могут снижаться почти до 0 и не восстанавливаются при отмывке Tl^+ и замене на свежий раствор Рингера или осаждении Tl^+ при добавке 1 мМ NaJ . Это свидетельствует о том, что Tl^+ прочно связывается с химическими группировками и блокирует их. Сопоставляя кинетику угнетения транспорта при добавлении Tl^+ с ингибирующим влиянием сердечных глюкозидов (8), можно отметить сходство в действии этих веществ. Tl^+ , по-видимому, занимает место K^+ в Na/K -ионообменном насосе, но в отличие от K^+ , из-за высокого сродства, не отщепляется и необратимо отключает молекулярный механизм ионообменного насоса, обеспечивающего транслокацию ионов.

Быстрое уменьшение разности потенциалов под влиянием ионов Ba^{2+} , сходное с действием 50 мМ K^+ , хорошо согласуется с представлением о блокирующем действии их на пассивную проницаемость мембран к K^+ .

По-видимому, благодаря одинаковым радиусам K^+ и Ba^{2+} занимают в мембране какие-то общие места, но перемещаться через нее может только K^+ , менее прочно удерживаемый анионами мембраны, чем двухвалентный Ba^{2+} .

Уменьшение калиевой проницаемости снижает утечку K^+ и величину скачка диффузионного потенциала через базальную мембрану натрийтранспортирующих клеток. Вероятно, Ba^{2+} конкурирует с K^+ и в процессе обмена на Na^+ в самом насосе, но не в состоянии заменить K^+ в системе ак-

тивного транспорта Na^+ , что и приводит к снижению тока компенсации. Данные о влиянии Pb^+ и Ba^{2+} указывают на различие химизма калиевой избирательности в случае обмена K^+ на Na^+ и в случае пассивного обмена K^+ через клеточную мембрану. Частичное восстановление ингибированного Ba^{2+} тока может быть связано с тем, что первоначальный недостаток поступления ионов калия на $\text{Na} - \text{K}$ -насос затем каким-то образом компенсируется.

Приведенные данные не укладываются в простую схему, по которой базальная мембрана проницаема для K^+ , тогда как Na^+ переносится через нее ферментной системой. Если участок обмена Na^+ на K^+ находится на наружной стороне мембраны, тогда не ясно, каким образом конкурентное влияние Ba^{2+} на поступление K^+ может затем компенсироваться. Конкуренция Ba^{2+} и K^+ происходила бы на поверхности энзима и оставалась бы постоянной при постоянных соотношениях этих ионов в крови или растворе, омывающем серозную сторону мембраны. Если же предположить, что ионообменный участок энзима находится за мембраной, тогда непонятно, каким образом освободившийся Na^+ может попасть в кровь через калий-избирательную мембрану против градиента концентрации Na^+ . Для того чтобы разрешить это противоречие, необходимо было исследовать временные характеристики транспорта Na^+ в коже лягушки.

После удаления Na^+ из раствора у внешней поверхности кожи в течение нескольких десятков секунд ток падает до очень низких величин, а добавление Na^+ также быстро его восстанавливает (рис. 1). Это может быть обусловлено либо тем, что для работы насоса необходимо непрерывное поступление Na^+ на вход системы в апикальной части клетки, либо тем, что натриевая транспортная система характеризуется исключительно малой емкостью, Na^+ удаляется из нее насосом с большой скоростью, после чего работа насоса прекращается и ток становится близким к 0. Недавно опубликованные данные по исследованию кинетики транспорта натрия свидетельствуют в пользу второй возможности (^{9, 10}). Приведенные выше наши данные (рис. 1) позволяют также прийти к выводу, что поступление Na^+ внутрь клетки со стороны базальной поверхности весьма мало и насос, обеспечивающий транспорт натрия через кожу, по-видимому, практически не откачивает собственно клеточный Na^+ , иными словами, Na транспортной системы оказывается отделенным от остального Na клетки. Если бы в клетку поступало значительное количество Na из межклеточной жидкости и откачивался Na клетки (а не преимущественно транспортируемый из раствора у внешней поверхности кожи), то натриевый ток сохранялся бы в течение длительного времени, а содержание в самой коже постепенно падало бы. В действительности этого не происходит, а по данным Церана содержание общего Na в коже после прекращения транспорта почти не меняется (¹¹).

Приведенные факты и сопоставление их с литературными данными дают возможность представить следующую модель транспорта натрия в коже лягушки, которая позволяет привести новые факты в соответствие с гипотезой, высказанной ранее Уссингом (^{1, 12}). В апикальной мембране клетки кожи лягушки имеются участки, селективные для Na^+ и обеспечивающие пассивный вход Na^+ не во всю цитоплазму клетки, а в ограниченные участки транспортной системы — каналы с высокой натриевой проницаемостью, непосредственно подходящие к натриевому насосу. Он является ионообменным насосом, угнетаемым оубабанном, требующим наличия Na^+ с внутренней стороны и K^+ с внешней стороны мембраны. Приведенные факты об очень медленном снижении транспорта Na^+ при удалении K^+ из раствора с внутренней стороны кожи и длительности периода восстановления транспорта Na^+ после добавления K^+ к этому раствору дают основание высказать предположение, что натриевый насос (иными словами, ферментный белок, транспортирующий Na в обмен на K) не прямо обращен к интерстициальной жидкости, а между ним и этой жидкостью

имеется зона пониженного диффузионного обмена ионов. Это позволяет использовать клеточный К, диффундирующий через мембрану у насоса, для переноса Na, и насос функционирует, пока не будет исчерпан этот источник К. Поступающий в результате полного обмена K^+ попадает первоначально в «натриевый» канал, из которого вновь переходит в клетку и диффундирует из нее к насосу. Этот механизм обеспечивает длительную работу натриевого насоса в бескальциевом растворе Рингера. Таким образом, опыты с использованием частичных аналогов K^+ показали, что ионы Ba^{2+} инактивируют, по-видимому, калиевые каналы мембраны, а ионы Tl^+ угнетают работу калиево-натриевого насоса.

Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
1 VI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ V. Koefoed-Johnsen, H. H. Ussing, *Acta physiol. scand.*, **42**, 298 (1958).
- ² И. В. Буровина, В. В. Глазунов и др., *Журн. общ. биол.*, **25**, 115 (1964).
- ³ L. J. Mullins, R. D. Moore, *J. Gen. Physiol.*, **43**, 759 (1960). ⁴ K. Hermesmeyer, N. Sperelakis, *Am. J. Physiol.*, **219**, 1108 (1970). ⁵ J. S. Britten, M. Blank, *Biochim. et biophys. acta*, **159**, 160 (1968). ⁶ В. В. Иванов, Ю. В. Наточин, *Физиол. журн. СССР*, **54**, 122 (1968). ⁷ H. H. Ussing, K. Zerahn, *Acta physiol. scand.*, **23**, 110 (1951). ⁸ Ю. В. Наточин, *Биофизика*, **11**, 626 (1966).
- ⁹ C. A. Rotunno, F. A. Vilallonga et al., *J. Gen. Physiol.*, **55**, 716 (1970).
- ¹⁰ J. Crabbé, P. de Weer, *Pflügers Arch.*, **313**, 197 (1969). ¹¹ K. Zerahn, *Acta physiol. scand.*, **77**, 272 (1969). ¹² H. H. Ussing, *Ber. Bunsenges. phys. Chem.*, **71**, 807 (1967).