

# MEMBRÁNPOTENCIÁL FÜGGŐ KALCIUM TRANZIENSEK HARÁNTCSÍKOLT IZMON

KOVÁCS LÁSZLÓ és SZŰCS GÉZA

DOTE Élettani Intézete, Debrecen

A harántcsíkolt izomrostok összehúzódását a felszíni membránon tovaterjedő akciós potenciálok hozzák létre. Az akciós potenciálok és az összehúzó-dás közötti ún. elektromechanikai kapcsolatot a folyamatok egész sora biztosítja. Alábbiakban ezen folyamatok közül az intracelluláris Ca koncentráció változás mérésének néhány irodalmi vonatkozását és méréstechnikai lehetőségeit foglaljuk össze.

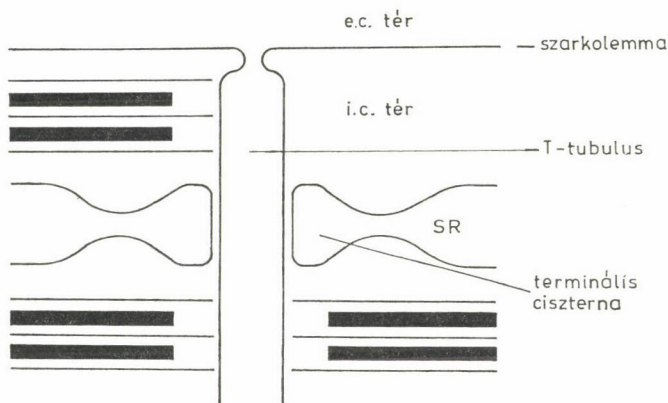
## Az elektromechanikai kapcsolat

A strukturális alapot a harántcsíkolt izomrost belső membránrendszere képezi. Az 1. ábrán sematikusan mutatjuk az izomrost felépítését. A rostok intracelluláris terét a szarkolemmának nevezett felszíni membrán választja el a külső tértől. Ebből a felszíni membránból az úgynevezett transzverzális (T) tubulusok nyúlnak a rost belsejébe; a T-tubulusok membránja a felszíni membrán folytatásának tekinthető. A rost belsejében helyezkednek el a longitudinális tubulusok; ezeknek a T-tubulusokhoz közel eső végei kissé megvastagodva képezik a terminális ciszternákat. A T-tubulusok és a két oldalról hozzájuk kapcsolódó terminális ciszternák alkotják az úgynevezett triádokat (PEACHEY 1965, FRANZINI-ARMSTRONG 1970). Elektronmikroszkópos vizsgálatokkal kimutatták, hogy a T-tubulus és a terminális ciszternák membránja között egy amorf anyaggal kitöltött rés található, és ezt a részt az úgynevezett lábacskák hidalják át, mintegy összeköttetést teremtve a két különálló membrán között (FRANZINI-ARMSTRONG 1970).

Mai ismereteink szerint a felszíni membránon tovaterjedő akciós potenciál ráterjed a T-tubulusok membránjára és regeneratív folyamatként terjed a rost belsejébe (COSTANTIN 1970, BASTIAN és NAKAJIMA 1974). Az összehúzódást a szarkoplazmatikus retikulum terminális ciszternáiból az intracelluláris térbe kilépő kalcium ionok hozzák létre. Lekötődve a troponin molekula megfelelő helyeire lehetővé teszik az aktin és miozin közötti kapcsolat létrejöttét, azaz a kontraktilis fehérjék aktiválódását (EBASHI és mtsai 1969).

A tubuláris membránra történő ingerület terjedés könnyen értelmezhető, mivel az a felszíni membrán folytatásának tekinthető. Ma sem ismerjük azon-

ban annak a folyamatnak a részleteit, mely a tubulusokról a szarkoplazmatikus retikulumra történő áttevődést biztosítja. Leginkább elfogadott az a feltételezés, hogy a T-tubulusok membránjában permanens dipolok helyezkednek el, amelyek az ingerületi folyamatot képező membránpotenciál változás hatására elmozdulnak és ez az elmozdulás hozza létre a terminális ciszterna kalcium permeabilitásának fokozódását (SCHNEIDER és CHANDLER 1973). Ez a folyamat jelentené tehát az elektromechanikai kapcsolat feszültség függő lépését. A téma kiterjedt vizsgálatával több áttekintő cikk foglalkozik (SCHNEIDER 1981, Kovács 1981).



I. ábra. A harántcsíkolt izomrost szerkezetének vázlata. T-tubulus = tranzverzális tubulus. SR = szarkoplazmatikus retikulum. Részletes magyarázatot lásd a szövegben

### Az intracelluláris kalcium koncentráció változások mérése

Az intracelluláris kalcium koncentráció változások kinetikai sajátosságainak és membránpotenciál függésének ismerete igen fontos az elektromechanikai kapcsolat megismerése szempontjából. A mérés technikai problémák azonban nagyon kifejezettek, mivel a mérést intracellulárisan és igen gyorsan (ms-os nagyságrendben) kell végrehajtani. Izotópos nyomjelzők vagy ionszelektív mikroelektrodák éppen ezért nem jönnek szóba.

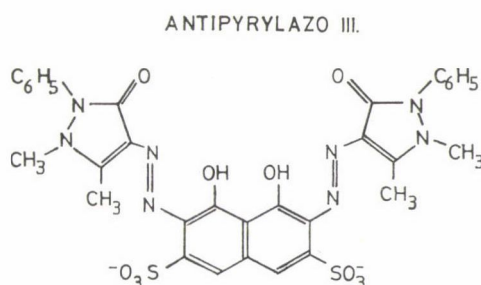
A ma alkalmazott módszerekkel a mérést végző anyag optikai sajátosságainak megváltozását határozzuk meg. Így az aequorin nevű fotoprotein lumineszcenciáját, vagy a metallokróm indikátor festékek abszorpciójának csökkenését, ill. növekedését. A különböző anyagokat, fiziko-kémiai sajátágaik szerint, különböző módokon juttatják az intracelluláris térbe (iontoforezissal, nyomással vagy nyitott rostvégen át történő diffúzióval).

Az aequorinnal végzett vizsgálatok (ASHLEY és RIDGWAY 1970, RÜDEL és TAYLOR 1973) előnye, hogy a kalcium koncentráció változásai az izomrost

összehúzódása közben is vizsgálhatók, mivel a mechanikai mozgás nem befolyásolja a lumineszcencia mérését. Hátránya viszont alkalmazásának, hogy nem követi pontosan a  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációt és válasziége is lassú.

A metallokróm festékek közül elsőként a murexidet alkalmazták (JÖBSIS és O'CONNOR 1966). Később kiderült, hogy ez a vegyület a kalciummal szemben nem eléggé érzékeny és így szerzők eredményeit nem sikerült továbbfejleszteni.

A festékek közül az arsenazo III igen nagy kalcium-affinitásával tűnik ki, reakcióideje azonban viszonylag hosszú. Felhasználásával különböző szerzők fontos információkat kaptak az összehúzódás alatti  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció változásokra vonatkozóan (MILEDI és mtsai 1977, BAYLOR és mtsai 1979).



2. ábra. Az antipyrylazo III kalcium-érzékeny metallokróm indikátor festék szerkezeti képlete

Az antipyrylazo III affinitása a kalcium iránt nagyobb mint a murexidé, míg reakcióideje rövidebb mint az arsenazo III-é (SCARPA és mtsai 1978). Alkalmazásával KOVÁCS és mtsai (1979) mérték feszültség clampelt átvágott izomroston az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció változásokat.

Jelen cikk további részében áttekintjük azokat az eredményeket, amelyeket az antipyrylazo III alkalmazásával kaptunk.

### Az antipyrylazo III intracelluláris térbe történő belépésének vizsgálata

Méréseinket feszültség clampelt átvágott izomrostokon végeztük (KOVÁCS és SCHNEIDER 1978). A mérési rendszer részleteit máshol ismertetjük (SZŰCS 1982).

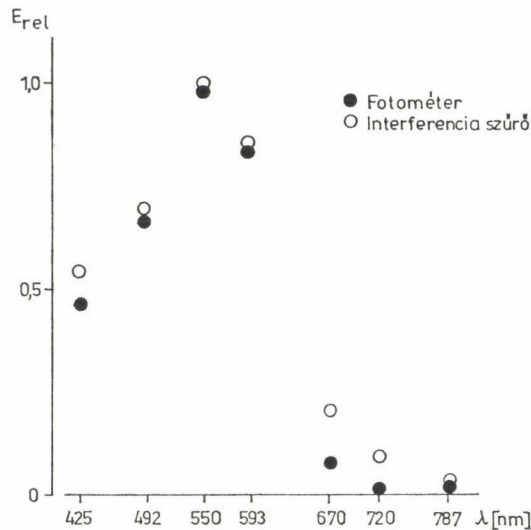
Az antipyrylazo III szerkezeti képletét a 2. ábra mutatja be. A festék legjellemzőbb tulajdonságait az I. táblázatban foglaltuk össze.

Első lépésként a festék abszorpciós spektrumát határoztuk meg. A mérést kétféleképpen végeztük el (3. ábra). Egyrészt az optikai rendszerben az izomrost helyébe mintegy 1 mm átmérőjű üvegsövet helyeztünk és azt megtöltöttük

## I. táblázat

Az antipyrylazo III főbb tulajdonságai

Molekulasúly	746
Vízoldékonyság	20 mmol/l
Disszociációs állandó	95—380 $\mu$ M
Relaxációs idő	180 $\mu$ s
Komplekxképzés	Ca[AP III] <sub>2</sub> ; Mg[AP III]

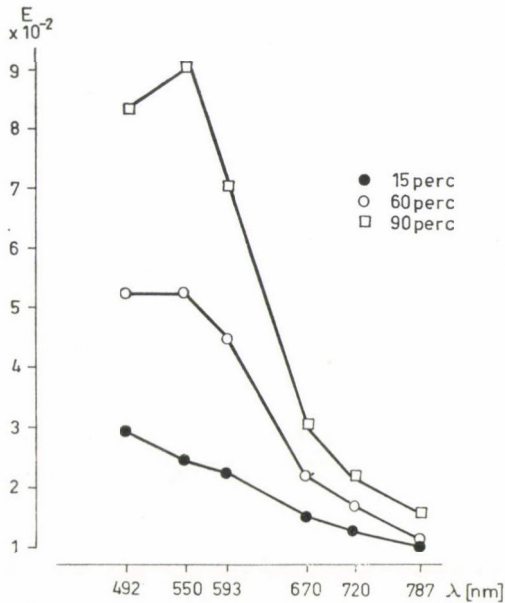


3. ábra. Az antipyrylazo III festék abszorpciós spektruma fotométerben, illetve az optikai rendszerben mérve. Az ordinátán az extinkció értékek az 550 nm-nél kapott értékekhez viszonyítva, relatív egységekben vannak feltüntetve

relaxáló oldattal, majd 0,1 mmol/l antipyrylazo III-at tartalmazó relaxáló oldattal és ugyanazon hullámhosszknál megmértük az áteső fény intenzitását. A kapott értékekből számítottuk a festékoldat extinkcióját. A másik esetben fotométerben mértük a relaxáló oldatban oldott antipyrylazo III extinkcióját, ugyanazoknál a hullámhosszknál, mint az interferencia szűrőkkel. A vakpróba ebben az esetben is a relaxáló oldat volt. Mivel a küvetta vastagsága 10 mm volt, az antipyrylazo III koncentrációját 0,01 mmol/l-nek választottuk, hogy a két rendszerben kapott extinkció értékek azonos nagyságrendűek legyenek. A legnagyobb extinkció értéket mindkét esetben 550 nm-nél kaptuk ezért a 3. ábrán az erre az értékre vonatkoztatott relatív extinkció értékeket tüntettük fel a hullámhossz függvényében. Látható, hogy a két rendszerben kapott abszorpciós spektrum kielégítő egyezést mutat. Ez egyben az optikai rendszerünkben kapott eredmények megbízhatóságát is bizonyítja.

Az átvágott rostpreparátum lehetőséget ad arra, hogy a nyitott végen át a rost intracelluláris terét a különféle anyagok szabad diffúzióval elérjék.

Az átvágott véget tartalmazó kádfél inkubáló oldatában alkalmazott antipyrilazo III-nak a zárt szakaszba való belépését a rost extinkciós spektrumának megváltozása alapján követhetjük nyomon. Egy ilyen mérés látható a 4. ábrán. A rost extinkcióját úgy határoztuk meg, hogy különböző hullámhosszaknál mértük a rost mellett, illetve a roston keresztül áteső fény intenzitását. A festék alkalmazása előtti vagy az alkalmazása utáni első félórában mért értékek adják meg a rostra jellemző nyugalmi spektrumot. A kapott extinkció értékek nagysága függ a rost vastagságától.



4. ábra. A harántcsíkolt izomrost abszorpciós spektrumának megváltozása az antipyrilazo III festék intracelluláris térbe történő belépésének folyamán. Részletes magyarázatot lásd a szövegben

A 4. ábrán fekete pontokkal jelölt, a festék alkalmazása után 15 perccel mért értékek egy rost jellegzetes spektrumát mutatják be. Rövidebb hullámhosszak esetén a kapott extinkció értékek magasabbak, mint a hosszabb hullámhosszak esetén; az abszorpciós spektrum a látható hullámhossztartományon belül az ibolyától a vörös felé haladva folyamatos függvény szerint csökken. Az antipyrilazo III belépése során ez a jellegzetes kép fokozatosan módosul. A változás a legegyszerűbben talán úgy jellemezhető, hogy az izomrost abszorpciós spektruma a festék abszorpciós spektrumára jellemző lefutásúvá alakul át (lásd a 3. ábrát, illetve a 4. ábra 60 és 90 perces értékeit). Látható, hogy a legnagyobb extinkciófokozódás 550 nm-nél következik be; illetve az, hogy a 787 nm-nél mért érték gyakorlatilag nem változik. Meg kell jegyezni,

hogyan amennyiben a kísérlet során utóbbi hullámhossznál jelentős extinkció-fokozódást tapasztaltunk, ez a rost tulajdonságainak megváltozását (például a rost duzzadását) jelentette, amit az eredmények értékelésekor figyelembe kellett venni.

Az antipyrilazo III a rost zárt szakaszának intracelluláris terébe rostoként változó sebességgel lépett be. A belépést a relatív festékkoncentráció meghatározásával követtük. A számítás menete a következő volt. A festéket nem tartalmazó rost abszorpciós spektrumát az

$$E_r = A\lambda^B \quad (1)$$

függvény írja le, ahol  $E_r$  a rost extinkciója  $\lambda$  hullámhossznál mérve,  $A$  és  $B$  illeszthető változók. A festék belépése során ez az érték megváltozik az új helyzetben

$$E_\lambda = E_r + E_f \quad (2)$$

ahol  $E_\lambda$  a festék felvétele utáni,  $E_r$  pedig a festék felvétele előtti extinkció. A két érték különbsége az  $E_f$ , amelyből a festékkoncentráció könnyen számolható lenne az

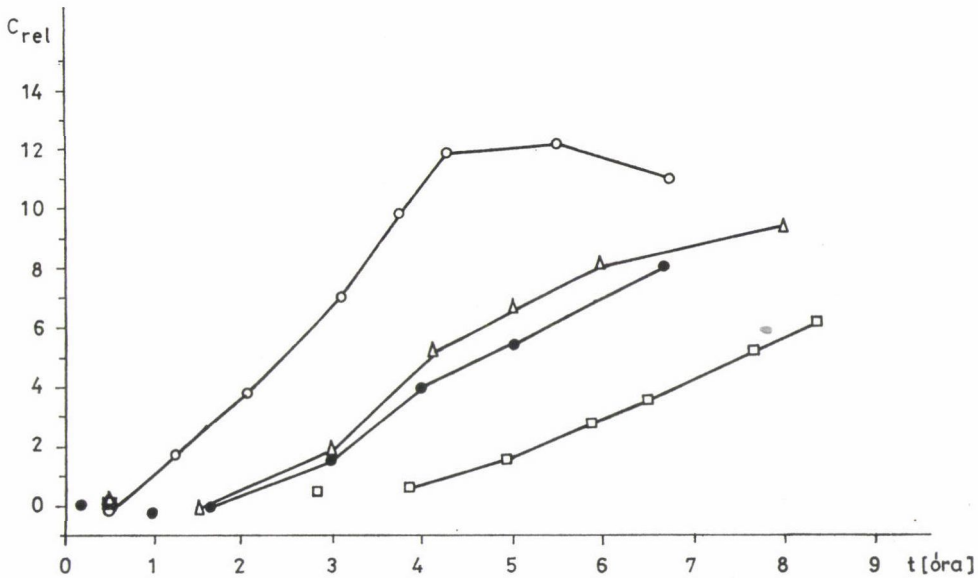
$$E_f = \log(I_0/I) C d \epsilon_\lambda \quad (3)$$

összefüggés alapján, ahol  $I_0$  a rost mellett,  $I$  a rostion keresztül áteső fény intenzitása,  $C$  a festékkoncentráció,  $d$  a rost vastagsága,  $\epsilon_\lambda$  pedig az adott hullámhosszhoz tartozó moláris extinkciós koefficiens. A számítást azonban nem tudtuk elvégezni, mert a festék moláris extinkciós koefficiense az intracelluláris térben nem volt azonos a fotométerben kapott értékkel. Ezért úgy jártunk el, hogy a festékre jellemző 425, 492 és 593 nm-nél a két mérés közötti extinkcióváltozást ( $\Delta E_\lambda$ ) elosztottuk az 550 nm-nél mért változással ( $\Delta E_{550}$ ). Az így kapott relatív extinkcióváltozást ( $\Delta E_{\lambda\text{rel}}$ ) használtuk fel és

$$E_\lambda = A\lambda^B + E_{\lambda\text{rel}} C d \quad (4)$$

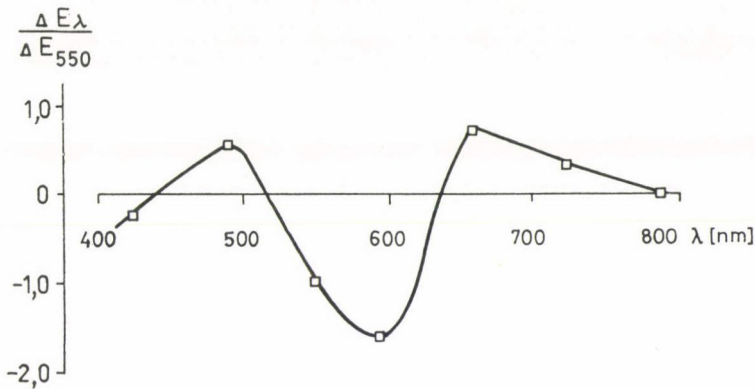
összefüggés alapján számítottuk a  $C$  értékét. Az azonos időre vonatkozó, 425, 492 és 593 nm-nél mért  $C$  értékeket átlagoltuk és tekintettük az adott időre vonatkozó relatív festékkoncentrációnak ( $C_{\text{rel}}$ ).

Az 5. ábrán 4 különböző rost relatív festékkoncentrációjának változása van feltüntetve az idő függvényében. Látható, hogy az egyes rostok között igen nagy különbség van a belépési sebesség vonatkozásában. A különbséget több tényező okozhatja, például a bemetszéseknek a vazelin gap-tól való távolsága (azaz a diffúziós úthossz), a rost átmérője, esetleges intracelluláris kötődés. A változékonyság ellenére megállapítható, hogy körülményeink között az antipyrilazo III lassabban diffundál az intracelluláris térbe, mint az az irodalomból ismert (KOVÁCS és mtsai 1979).



5. ábra. Az antipyrilazo III intracelluláris térben mért relatív koncentrációjának változása az idő függvényében, négy kísérletben mérve. Részletes magyarázatot lásd a szövegben

#### ANTIPYRYLAZO III.



6. ábra. Az antipyrilazo III differenciaspektruma. Részletes magyarázatot lásd a szövegben. Az ordinátán az 550 nm-re vonatkoztatott relatív extinkcióértékek vannak feltüntetve

#### A $\text{Ca}^{2+}$ koncentráció változásainak mérése az antipyrilazo III-mal

$\text{Ca}^{2+}$  jelenlétében a festék abszorpciós spektruma megváltozik. Ez a változás a festék differenciaspektrumának mérésével érzékeltethető (6. ábra). A differenciaspektrumot a következőképpen határoztuk meg. Az optikai rend-

szerbe helyezett üvegkapillárist 0,1 mmol/l antipyrilazo III-at tartalmazó relaxáló oldattal töltöttük meg és mértük az áteső fény intenzitását. Ezt követően a mérést megismételtük 10 mmol/l  $\text{CaCl}_2$ -ot és 0,1 mmol/l festéket tartalmazó relaxáló oldattal. A számításnál a kalciummentes oldatot tekintettük vakpróbának. Az 550 nm-nél így kapott extinkció értéket 1-nek véve, kifejeztük a többi hullámhosszon kapott értékeket relatív egységben. Látható a 6. ábrán, hogy a legnagyobb változás 600 nm körül következik be. A gyakorlatban azonban a  $\text{Ca}^{2+}$  tranzienseket 720 nm-nél mértük, mert a  $\text{Mg}^{2+}$  hatása ezen a hullámhosszon elhanyagolható (SCARPA és mtsai 1978).

A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy az intracelluláris térbe belépett festék  $\text{Ca}^{2+}$  hatására bekövetkező abszorbcio változása milyen mértékben egyezik az *in vitro* mért differenciaspektrummal. Ebből a célból azonos nagyságú depolarizáló impulzusokkal kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$  tranzienseket regisztráltunk 550, illetve 720 nm-es hullámhosszon és összehasonlítottuk a jelek maximális nagyságát. A differenciaspektrum alapján az várható, hogy a jelek ellenkező irányúak, a 720 nm-nél mért tranziens nagysága pedig mintegy 30%-kal kisebb, mint az 550 nm-nél mérté. Az elvégzett összehasonlító mérések során a jeleket valóban ellenkező irányúaknak találtuk. Az 550 nm-en kapott amplitudót 1-nek véve, a 720 nm-nél mért jelek nagysága átlagosan 0,74-nek bizonyult. Mindez arra utal, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$  jelek hullámhossz függése megfelel a festék differenciaspektrumának.

A kísérletekben a leírt módon a rostok extinkcióját, illetve a  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek regisztrálása során azok extinkcióváltozásait regisztráltuk. Szem előtt kell tartanunk azonban, hogy a  $\text{Ca}^{2+}$  hatására tulajdonképpen a metallochrom indikátor festék abszorbcioja változik meg. Az abszorbciováltozást leíró függvény:

$$\Delta A = -0,43 \ln \left( \frac{I + \Delta I}{I} \right). \quad (5)$$

Amennyiben a  $\Delta I$  fényintenzitásváltozás megfelelően kicsi, alkalmazhatjuk a

$$\Delta A = -0,43 \Delta I/I \quad (6)$$

megközelítést.

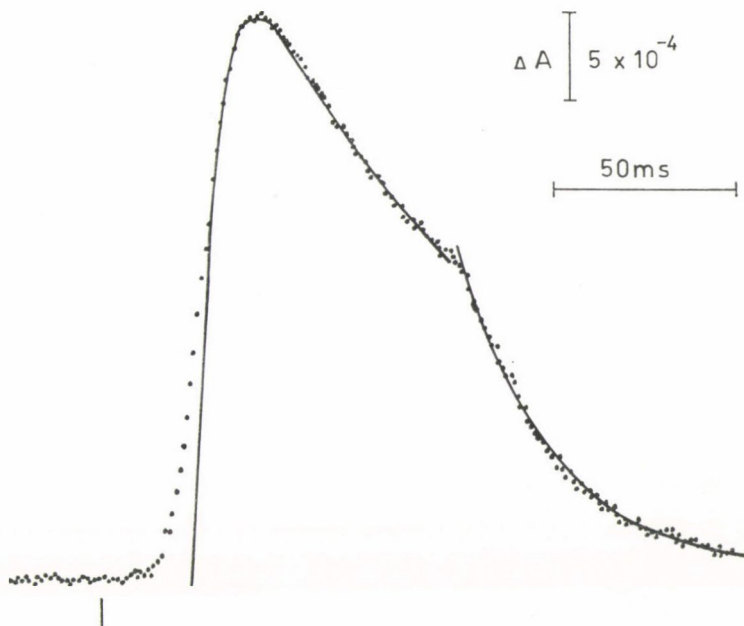
### A hosszú depolarizáló impulzusokkal kiváltott $\text{Ca}^{2+}$ tranziensek analízise

A 7. ábrán 100 ms-os depolarizáló impulzussal kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$  tranziens látható. A jel időbeli alakulása jellegzetes. A depolarizációt követően bizonyos latenciaidővel alakul ki, majd maximumát elérve csökkenni kezd. Az eredeti membránpotenciálra való visszatérés után a jel eltérő sebességgel csökken visz-



sza az alapvonalra. Kovács és mtsai (1979) azt találták, hogy a depolarizáció alatti abszorpcióváltozás nagy része két exponenciális függvény és egy konstans mennyiség összegeként írható le,

$$(\Delta A_{\text{ON}} = B_1 \exp [-\beta_1 t] + B_2 \exp [-\beta_2 t] + D_{\text{ON}})$$



7. ábra. 100 ms hosszú depolarizáló impulzussal kiváltott  $\text{Ca}^{2+}$  transiens. Az impulzus alatt a membránpotenciál  $-40$  mV volt.  $T = 3,5$  °C;  $l = 568$   $\mu$ ;  $d = 91$   $\mu$ ;  $S = 2,6$   $\mu$ . A folyamatos vonallal jelölt szakaszokat Kovács és mtsai (1979) 1. és 2. egyenlete alapján szerkesztettük. Az illesztés során a következő értékeket kaptuk:  $\beta_1 = 0,2443$   $\text{ms}^{-1}$ ;  $\beta_2 = 0,0173$   $\text{ms}^{-1}$ ;  $\gamma = 0,0613$   $\text{ms}^{-1}$ ;  $B_1 = -271,63$ ;  $B_2 = 7,53 \times 10^{-3}$ ;  $C = 2,5492$ ;  $D_{\text{ON}} = 1,6 \times 10^{-4}$ ;  $D_{\text{OFF}} = 1,6 \times 10^{-4}$

míg a repolarizáció alatti megszűnést (a kezdeti részt kivéve) egyetlen exponenciális függvény és egy másik állandó mennyiség összege adja meg.

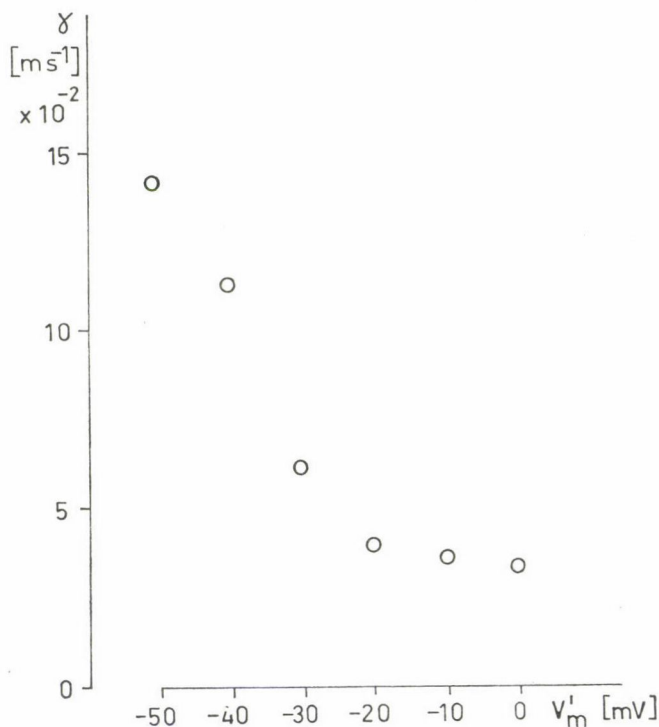
$$(\Delta A_{\text{OFF}} = C \exp [-\gamma t] + D_{\text{OFF}}).$$

Ily módon minden egyes kalcium transiens matematikai analízise három sebességi állandót eredményez.

Ismertetésre kerülő kísérleteinkben csak a  $\text{Ca}^{2+}$  transziensek megszűnésében szerepet játszó folyamatok elemzésére szorítkozunk. A repolarizáció alatti  $\gamma$  sebességi állandók értékeit tüntettük fel egy kísérletben a 8. ábrán. Látható, hogy a jelek megszűnésének sebessége igen kifejezett membránpotenciál füg-

gést mutat. Pozitívabb membránpotenciál értékek felé haladva ugyanis a  $\gamma$  sebességi állandó értéke csökken.

A  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek megszűnése tehát látszólag függ a megelőző depolarizáló impulzusok nagyságától. Ez azt jelentené, hogy a szarkoplazmatikus retikulum longitudinális tubulusai a  $\text{Ca}^{2+}$ -ot a felszíni membrán potenciáljától függő módon reakkumulálják. Ugyanakkor azonban szem előtt kell tartanunk



8. ábra. 100 ms hosszú depolarizáló impulzusokat követően a kialakult  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek megszűnési sebessége ( $\gamma$ ) a megelőző depolarizáció alatti membránpotenciál függvényében.  $T = 3,9^\circ\text{C}$ ;  $l = 426 \mu$ ;  $d = 84 \mu$ ;  $S = 2,8 \mu$

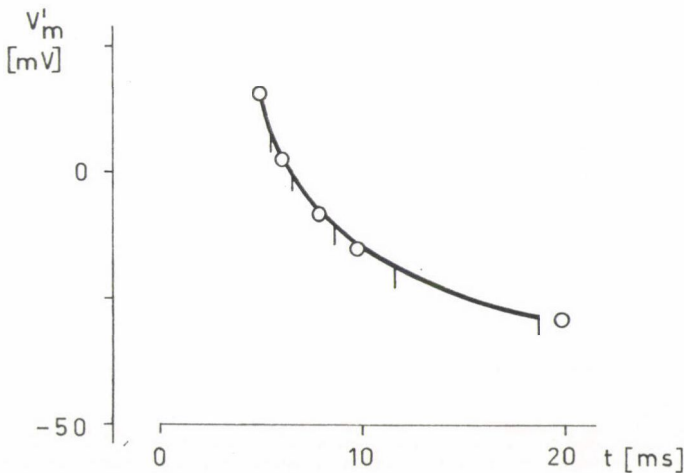
azt is, hogy a nagyobb depolarizációk az intracelluláris térben magasabb  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció kialakulását eredményezhetik és ez is befolyásolhatja a szarkoplazmatikus retikulum általi visszavétel sebességét.

### A küszöbmozgást kísérő kalcium tranziensek

A mechanikai küszöb meghatározásánál úgy jártunk el, hogy különböző hosszúságú depolarizáló impulzusokat alkalmazva meghatároztuk azon depolarizációs értékeket, amelyek a mikroszkóp 400-szoros nagyítása mellett szemmel

még éppen észlelhető mozgást hoztak létre (9. ábra). Az így kapott feszültség-időtartam görbe  $-30$  mV-nál pozitívabb membránpotenciál tartományba eső része tulajdonképpen hiperbola, ezért könnyen egyenessé alakítható át és illeszthető (COSTANTIN 1974). A kísérletek során ezt az analízist elvégeztük, majd a kapott értékek alapján rekonstruáltuk a görbét és az igen jól illeszkedett a mérési pontokhoz (9. ábra).

A leírt módon meghatározott feszültség-időtartam értékpárok tartalmaznak bizonyos mérési pontatlanságot. Az ebből származó szórás csökkentése céljából az előbbi matematikai analízis után megkerestünk néhány depolarizá-

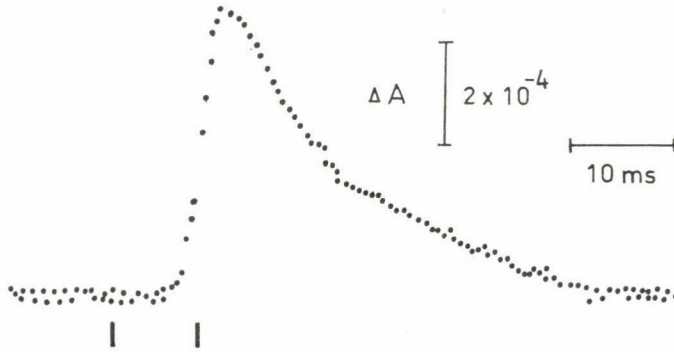


9. ábra. A mechanikai küszöb feszültség-időtartam görbéje.  $\circ$  = mérési pontok. A folyamatos vonallal jelölt függvényt COSTANTIN (1974) I. egyenlete alapján kaptuk. Az illesztés során  $C = -47,23$  mV;  $B_T = 261,98$  mVms-nak adódott. | = az illesztés után adott nagyságú depolarizáló impulzusokhoz tartozó számított impulzusszélességek.  $T = 3,5$  °C;  $I = 429$   $\mu$ ;  $d = 93$   $\mu$ ;  $S = 2,86$   $\mu$

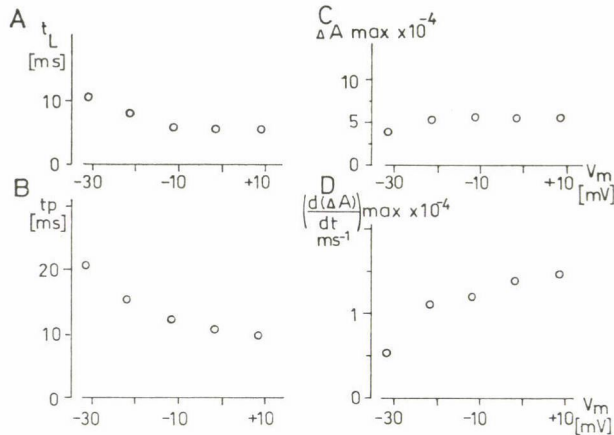
ciós értékhez tartozó impulzusszélességet és a továbbiakban az így számított feszültség-időtartam értékpárokkal váltottunk ki úgynevezett küszöb kalcium jeleket (10. ábra).

A 10. ábrán bemutatott küszöb  $\text{Ca}^{2+}$  tranziens időbeli lezajlására jellemző, hogy a jel bizonyos latenciaidővel alakul ki és csúcsértékét elérve exponenciális függvény szerint csökken. Egy kísérlet részletes kinetikai analízise látható a 11. ábrán. Az ábra A részén a latenciaidőt a depolarizáció alatti membránpotenciál függvényében tüntettük fel. Látható, hogy pozitívabb membránpotenciál értékek irányába haladva, a latenciaidő fokozatosan csökken, bár az ábrából úgy tűnik, hogy 5–6 ms körül eléri minimális nagyságát. A B ábrarészen a maximális érték (csúcs) kialakulásához szükséges időt ábrázoltuk, ugyancsak a megelőző depolarizáció alatti membránpotenciál függvényében. A membránpotenciál függés ebben az esetben is nyilvánvaló: nagyobb depolari-

záló impulzusokat alkalmazva, a maximális érték eléréséhez szükséges idő fokozatosan csökken. Az ábra *D* részén a küszöb  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek maximális kialakulási sebességének membránpotenciál függése látható: a nagyobb depolarizáló impulzusokhoz tartozó intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek gyorsabban alakulnak ki.



10. ábra. 8,5 ms hosszú depolarizáló impulzussal kiváltott küszöb  $\text{Ca}^{2+}$  tranziens. Az impulzus alatt a membránpotenciál  $-10,9$  mV volt. Ugyanaz a rost mint a 9. ábrán

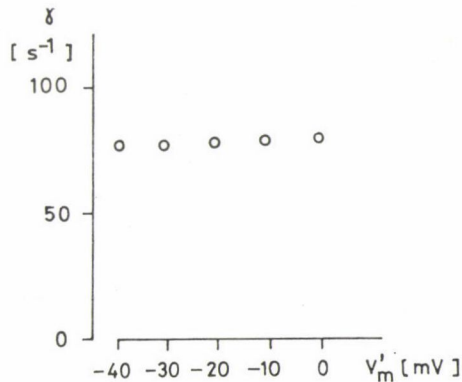


11. ábra. Küszöb  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek kinetikai analízise. A: latenciaidő. B: maximális amplitúdó kialakulásához szükséges idő. C: a maximális abszorpcióváltozás. D: az abszorpcióváltozás kialakulásának maximális sebessége. Valamennyi kinetikai jellemzőt a depolarizáló impulzusok alatti membránpotenciál értékek függvényében tüntettük fel. Ugyanaz a rost mint a 9. és 10. ábrán

A 11. ábra *C* részén a  $\text{Ca}^{2+}$  jelek maximális értékeit tüntettük fel a membránpotenciál függvényében. Látható, hogy a különböző amplitúdójú, de minden esetben küszöbnagyságú mozgást létrehozó depolarizáló impulzusok azonos nagyságú  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek kialakulását eredményezik. Ez a tény nem meglepő, ha elfogadjuk azt a megfontolást, hogy az alkalmazott impulzuskombinációk azonos nagyságú küszöbmozgást hoznak létre, emögött pedig a mozgást köz-

vetlenül szabályozó intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció azonos nagyságú megváltozásainak kell állni.

A 12. ábrán küszöb kalcium jelek megszűnésének sebességi állandóit tüntettük fel. Látható, hogy ilyen körülmények között a jelek azonos sebességgel térnek vissza a kiindulási szintre. A hosszú impulzusok esetén kapott eredményekkel szemben tehát a megszűnés sebességének esetében membránpotenciál függés nem mutatható ki. A két eset között az alapvető különbség az,



12. ábra. Küszöb  $\text{Ca}^{2+}$  jelek megszűnési sebessége ( $\gamma$ ) a depolarizáció alatti membránpotenciál függvényében.  $T = 3,6$  °C;  $l = 640$   $\mu$ ;  $d = 84$   $\mu$ ;  $S = 2,52$   $\mu$

hogy küszöbjelek esetén az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció változásai egyforma nagyságúak. Arra kell tehát következtetnünk, hogy a hosszú impulzusok esetén leírt membránpotenciál függés közvetett jellegű. A tranziensek repolarizáció alatti megszűnésének sebességét a depolarizáció alatti  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció szabja meg.

### Összefoglalás

Szerzők az elektromechanikai kapcsolat részét képező intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció változásokat tanulmányozták antipyrylazo III metallokróm indikátor festék alkalmazásával. Vizsgálták a festék abszorpciós sajátságait és izomrostba történő belépését. Megállapították, hogy a depolarizáló impulzusokkal kiváltott intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  tranziensek kinetikai jellemzői membránpotenciál függést mutatnak, de a jelek megszűnésének sebességét az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció szabja meg.

## IRODALOM

1. ASHLEY, C. C., RIDGWAY, E. B.: On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)* **209**, 105—130 (1970).
2. BASTIAN, J., NAKAJIMA, S.: Action potential in the transverse tubules and its role in the activation of skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **63**, 257—278 (1974).
3. BAYLOR, S. M., CHANDLER, W. K., MARSHALL, M. W.: Arsenazo III signals in frog muscle. *Biophys. J.* **25**, 141a (1979).
4. COSTANTIN, L. L.: The role of sodium current in the radial spread of contraction in frog muscle fibers. *J. Gen. Physiol.* **55**, 703—715 (1970).
5. COSTANTIN, L. L.: Contractile activation in frog skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **63**, 657—674 (1974).
6. EBASHI, S., ENDO, M., OHTSUKI, I.: Control of muscle contraction. *Q. Rev. Biophys.* **2**, 351—384 (1969).
7. ENDO, M., TANAKA, M., OGAWA, Y.: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. *Nature* **228**, 34—36 (1970).
8. FRANZINI-ARMSTRONG, C.: Studies of the triad. I. Structure of the junction in frog twitch fibers. *J. Cell Biol.* **47**, 488—499 (1970).
9. JÖBSIS, F. F., O'CONNOR, M. J.: Calcium release and reabsorption in the sartorius muscle of the toad. *Biochem. biophys. Res. Comm.* **25**, 246—252 (1966).
10. KOVÁCS, L.: The role of membrane processes in controlling skeletal muscle function. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **57**, 1—8 (1981).
11. KOVÁCS, L., RIOS, E., SCHNEIDER, M. F.: Calcium transients and intramembrane charge movement in skeletal muscle fibres. *Nature* **279**, 391—396 (1979).
12. KOVÁCS, L., SCHNEIDER, M. F.: Contractile activation by voltage clamp depolarization of cut skeletal muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)* **277**, 483—506 (1978).
13. MILEDI, R., PARKER, I., SCHALOW, G.: Measurement of calcium transients in frog muscle by the use of arsenazo III. *Proc. Roy. Soc. B.* **198**, 201—210 (1977).
14. PEACHEY, L. D.: The sarcoplasmic reticulum and transverse tubules of the frog's sartorius. *J. Cell Biol.* **25**, 209—231 (1965).
15. RÜDEL, R., TAYLOR, S. R.: Aequorin luminescence during contraction of amphibian skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)* **233**, 5P—6P (1973).
16. SCARPA, A., BRINLEY, F. J. Jr., DUBYAK, G.: Antipyrylazo III, a „middle range”  $\text{Ca}^{2+}$  metallochromic indicator. *Biochemistry* **17**, 1378—1386 (1978).
17. SCHNEIDER, M. F.: Membrane charge movement and depolarization-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.* **43**, 507—517 (1981).
18. SCHNEIDER, M. F., CHANDLER, W. K.: Voltage dependent charge movement in skeletal muscle: a possible step in excitation-contraction coupling. *Nature* **242**, 244—246 (1973).
19. Szűcs G.: Kettőtörés jelek harántesíkkolt izmon. *MTA Biol. Oszt. Közl.* **25**, 119—135 (1982).