

A KÁLIUM IONOK DINAMIKUS ÁLLAPOTA A HARÁNTCSÍKOLT IZOMROSTOKBAN

SZABÓ BÉLA

DOTÉ Élettani Intézete, Debrecen

A biológiai membránokat elsősorban lipidok és fehérjék építik fel, többé-kevésbé szabályos elrendezettségben, a vastagságuk mintegy 80—100 angström. A lipid molekulák nagyrészt úgy helyezkednek el, hogy a poláris, feji részük a vizes fázissal kerül érintkezésbe, míg a szénhidrogén láncuk képezi a membránok belsejét. Mivel a szénhidrogének dielektromos állandója alacsony, a termikus energia sokszorosa szükséges ahhoz, hogy egy olyan kis ion, mint a nátrium vagy kálium a vizes oldatból a membrán fázisba léphessen. Ebből következik, hogy a membránok lipidjai igen hatásos gátat jelentenek a nátrium vagy kálium átjutásával szemben. Mindezek ellenére a biológiai membránok permeabilisak az alkáli ionok számára, ezért fel kell tételeznünk, hogy a membránokban működnek olyan mechanizmusok, amelyek az iontranszporthoz szükséges aktivációs energiát nagymértékben lecsökkentik.

Az általánosan ismertté vált feltételezések, amelyek a membránok kation permeabilitását magyarázzák, alapvető szempontok szerint két csoportba oszthatók. Ezek közül a „carrier modellek” az ion membránba való belépését tekintik a sebességet meghatározó lépésnek. Eszerint a döntő tényező az ion és a carrier molekula közötti kapcsolódás kialakulása a membrán és a vele közvetlenül érintkező folyadék fázishatárán. Az elektrodifúziós modellekben viszont, az ion átjutását meghatározó tényező az ion mobilitása a membránfázison belül.

Tekintettel arra, hogy a kálium ionok intracelluláris felhalmozódásának alapvető szerepe van az izom működésében, rendkívül fontosnak látszik, hogy részletesen megismerjük a kálium transzport alapját képező „csatornák” működését.

Nyilvánvaló, hogy ha a kálium intra- és extracelluláris tér közötti megoszlásának lényegét kívánjuk tanulmányozni, a legelőször felvetődő kérdések egy része arra irányul, hogy az izomrostokon belül, hol és hogyan helyezkedik el a kálium.

Az izomrostok bonyolult belső szerkezetének ismeretében felmerül a kérdés, hogy egyenletes-e a víz és az elektrolitek megoszlása a szarkoplazmatikus térben. Az ionok a roston belül is egyenlőtlenül halmozódhatnak fel, intracelluláris folyadékot tartalmazó kompartmentekben, vagy kapcsolódhat-

nak szerves polielektrolitekhez, kiválva az oldatokból. Egyes adatok szerint pl. a miozon jelentős mennyiségű nátriumot köthet meg (McLAUGHLIN és HINKE 1966, HINKE és McLAUGHLIN 1967). A tengeri makk (*Barnacle nubilus*) harántcsíktolt izma ilyen célú vizsgálatokra igen alkalmas, mert a rostjainak átmérője viszonylag nagy. HINKE (1966) vizsgálatai arra utalnak, hogy a Barnacle „óriás izomrostja” víztartalmának 26%-a nem szolgál oldószerként az alkáli ionok számára sem az intra-, sem az extracelluláris térben. Ugyanígy az izomrostok intracelluláris nátrium tartalmának 49%-a, klorid tartalmának 16%-a nem mutatható ki a mioplazmatikus tér vizes oldatában. A nátrium kicserélődés kinetikáját tanulmányozva béka sartorius izmán, hasonló következtetésre jutott már korábban CONWAY is (1957), valamint nátrium-szelektív mikroelektrodás vizsgálatokkal LEV (1964) és mag mágneses rezonancia spektroszkópiás mérésekkel COPE (1967).

A kálium intracelluláris állapotára vonatkozó elképzelések kevésbé egyértelműek. A kálium-szelektív mikroelektrodokkal mérhető intracelluláris aktivitás és a lángfotometriás úton meghatározható koncentráció arányából számított aktivitási koefficiens az intracelluláris térben ugyanannyinak adódott, mint a roston kívüli oldatban. (LEV 1964, HINKE 1969). Ezzel a megállapítással szemben állnak azok a megfigyelések, amelyek szerint az intracelluláris kálium nagyrészt „kötött állapotban” van (TROSCHIN 1961, LING 1962). Szem előtt kell azonban tartanunk, hogy a kálium intracelluláris állapotára vonatkozó mindkét irányú megállapítások, részben nem bizonyított feltételezéseken alapulnak.

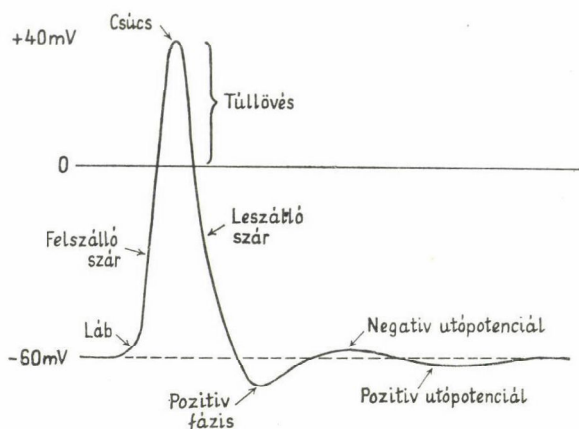
Úgy látszik, hogy a legújabb vizsgálatok, HARRIS és SJODIN (1961) izotópos kicserélődési kinetikára alapozott modelljét erősítik meg (ARMSTRONG és LEE 1971). E modell szerint a kálium ki- és befelé irányuló mozgása a membránhoz közel eső intracelluláris térbe, vagy talán magába a membránba lokalizálható mechanizmus közvetítésével megy végbe. E transzport rendszer sajátos tulajdonsága abban áll, hogy működése közben az intracelluláris káliummal történő kölcsönhatása révén jelentős mennyiségű káliumot adszorbeál véges számú kötőhelyein. A vizsgálatok szerint a kalcium ionok fontos szerepet játszanak a kálium kötődésének szabályozásában (LEE és ARMSTRONG 1974).

A kálium izomroston belüli felhalmozódásában igen fontos szerepe van a rostokat határoló membrán szelektív permeabilitásának. HODGKIN és HOROWICZ (1959) kimutatták, hogy a nyugalomban levő harántcsíktolt izomrost membránja, megfelelő körülmények között megközelítően úgy viselkedik, mint egy ideális K-elektrod: Az izolált izomrostokon végzett mérések azt mutatták, hogy az extracelluláris ionkoncentrációk megváltoztatására bekövetkező membrán-potenciál változások kvantitatív összefüggést mutattak a kálium és klorid ionok intra- és extracelluláris koncentráció hányadosaival. Ha egy ilyen ionszelektív membránnal közvetlenül érintkező folyadék kálium koncentrációját pillanatszerűen változtatjuk, az új koncentrációnak megfelelő

elektromos potenciál érték kialakulásának ideje a membrán időállandójától függ, feltételezve, hogy a koncentrációváltozás pillanatszerűségét diffúziós késleltetés nem befolyásolja. Az elektromos potenciálváltozások időviszonyait vizsgálva HODGKIN és HOROWICZ (1960) megállapították, hogy a klorid koncentráció változtatására sokkal gyorsabban következik be a membrán potenciál változása, mint a kálium koncentráció változtatására. Ezen túlmenően az extracelluláris kálium koncentráció növelésére sokkal gyorsabban következik be a depolarizáció, mint a kálium koncentráció csökkentésére a repolarizáció. A kálium koncentráció gradiens és a membrán potenciál változás közötti késés alapján arra lehet következtetni, hogy a membránnak azok a helyei, amelyek a kálium koncentráció változtatásra reagálnak, kevésbé hozzáférhetőek, mint a klorid-érzékeny helyek. Ezek az adatok is valószínűsítik azt a feltételezést, hogy az intracelluláris káliumnak egy jól érzékelhető része valamilyen speciális térben helyezkedik el. Ezek a következtetések összefüggésbe hozhatók HARRIS és SJODIN (1961) illetve ARMSTRONG és LEE (1971) modelljével. Ha az izommembránon észlelt jelenségeket összehasonlítjuk az axonokon végzett kísérletek eredményeivel, megállapítható, hogy a kálium ionok sokkal komplikáltabb mechanizmus révén jutnak át az izmok membránján, mint az idegeken.

Az izommembrán kálium permeabilitásában egyéb aszimmetrikus jelenségek is észlelhetők, amelyek az izom káliumtartalmának kompartmentalizáltságával függhetnek össze.

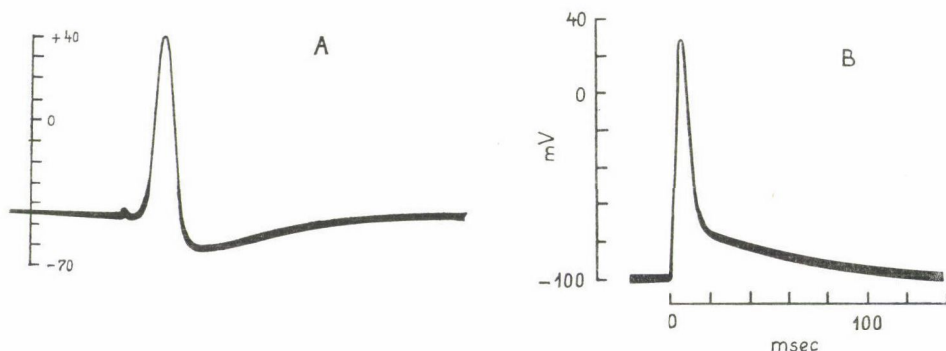
HODGKIN, HUXLEY és KATZ (1952) vizsgálatai alapján vált ismertté, hogy a megfelelő mértékben depolarizált axonmembrán kálium permeabilitása a depolarizáció fennállásának időtartamára megnövekedik. A megnövekedett kálium permeabilitás és a külső áramforrásból létrehozott depolarizáció hatására az axon belsejéből kálium ionok lépnek ki („delayed rectification”). Ez a permeabilitás növekedés a felelős az akciós potenciál leszálló szárának kialakulásáért és a pozitív utópotenciálért (az akcióspotenciál lezajlását követő átmeneti hiperpolarizációért 1. ábra. Depolarizáló áram hatására hasonló kálium permeabilitás növekedés az izommembránon is kialakul (ADRIAN és FREYGANG 1962). A békaizom és a squid axon között azonban az a szembetűnő különbség észlelhető, hogy az izommembránon kilépő kálium áram a depolarizációt követően gyorsan és teljesen megszűnik (NAKAJIMA, IWASAKI és OBATA 1962). A kálium áram és a membránpotenciál közötti összefüggést vizsgálva KATZ már 1949-ben leírta, majd FREYGANG és ADRIAN (1961) részletesebben elemezte, hogy a békaizom membránjában mintegy hússzor nagyobb ionáram hozható létre, ha a polarizáló árammal a kálium ionok befelé irányuló mozgását hozzák létre, mint fordított esetben. Ez a jelenség izotóniás K_2SO_4 oldatban $+3^\circ C$ -on nyilvánul meg a legjobban, amikor a membránban a kálium a kizárólagos töltéshordozó, a kálium koncentrációja a membrán két oldalán megközelítően azonos és az alacsony hőmérséklet miatt aktív transzport-komponen-



1. ábra. Tintahal „óriás axonjáról” elvezetett akciós potenciálok sematizált képe. Az akciós potenciál leszálló szárán a pozitív szakasz a megnövekedett kálium permeabilitás következménye. (AIDLEY-től átvett ábra, 1971)

sek közreműködése elhanyagolható. Ez a membránrektifikáció ellenkezik a „constant field” elméletből származtatható feltételezésekkel, ezért rendellenes („anomalous rectification”) és csak a harántcsíktolt izomrostok, valamint a Purkinje rostok membránján észlelték (NOBLE és TSIEN 1968).

HODGKIN, HUXLEY és KATZ (1952) spike elektrogenézisre vonatkozó elemzéseiből kitűnt, hogy az ingerületvezető membránok membránpotenciál-tól függő kálium permeabilitásváltozása határozza meg az akciós potenciálok leszálló szakaszát, ami a membránpotenciál repolarizációjához vezet. Ezáltal az akciós potenciál alakja, főleg annak időtartama a variabilis K-permeabilitás függvénye. Azok a változók, amelyek a membrán kálium permeabilitását szabályozzák, sokkal komplikáltabbak az izomban, mint az axonban. Az izomroston keletkező akciós potenciálok ezért szélesebbek, jellegzetes negatív utó-



2. ábra. A tintahal „óriás axonjáról” (A) és a béka *m. sartorius* izomrostjáról (B) elvezetett akciós potenciálok eredeti képe. Az izomról elvezetett akciós potenciál leszálló szárán negatív utópoteenciál jelentkezik, az axon esetében megfigyelhető pozitív fázis helyett. (HODGKIN, HUXLEY 1945, valamint ADRIAN, CHANDLER, HODGKIN (1970)-től átvett ábrák)

potenciált mutatnak, s tartósabb repetitív ingerlés után pedig lassan megszűnő depolarizáció, az ún. késői utópotenciál alakul ki lásd 2. ábra (FREYGANG, GOLDSTEIN és HELLMAN 1964).

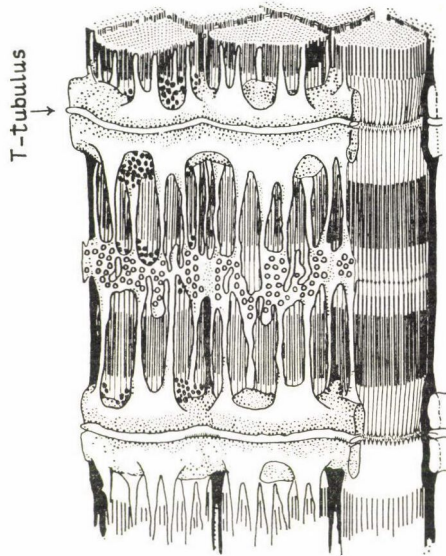
E jelenségek azért érdemelnek figyelmet, mert úgy látszik, hogy a harántcsíkolt izmok membránján tovahaladó akcióspotenciál által létrehozott depolarizáció a kontraktilis folyamatoknak nemcsak a beindulásához adja meg a jelzést, hanem az akciós potenciál alakjától függően szabályozza is a kontraktilis rendszer aktív állapotának kifejlődési sebességét és időtartamát is (SANDOW, TAYLOR, PREISER 1965). Tehát az akciós potenciál és ezenbelül a kálium ionáram változásai meghatározó jelleggel bírnak mindazoknak a paramétereknek a vonatkozásában, amelyekkel az izom összehúzódását jellemezhetjük.

Látjuk tehát, hogy a „kálium-rendszer” megismerése nélkül nem érthetjük meg az izom működését.

Azok a változók, amelyek szabályozzák a kálium ionáramok irányát és nagyságát az izom különböző funkcionális állapotában, nagyon kevésbé ismertek. A kísérletekben feltárt jelenségeket főleg spekulatív módon kísérelték meg modellekbe szerkeszteni. E modellek általában három lényeges elemből épülnek fel. A feltételezések egy része a membrán molekuláris szerkezetével összefüggő működésekre vonatkozik, másik része a membrán anatómiai kiterjedéséből származtatható következményekkel számol, harmadrészt a kálium szóbjághető kompartmentalizáltságát veszi tekintetbe.

ADRIAN és FREYGANG (1962) eredeti modellje azoknak a kísérleteknek az eredményeire épült, amelyekben mesterségesen alkalmazott hiperpolarizáló, vagy depolarizáló áram hatására bekövetkező ionáramok kialakulását vizsgálták, s amelyek az izommembrán befelé és kifelé egyenirányító rendszerének megismeréséhez vezettek. E kísérletek eredményeit úgy lehetett a legjobban leírni, ha feltételezték, hogy a klorid ionok egyetlen fajta, változatlan permeabilitással rendelkező csatorna útján haladhatnak át a membránon, míg a kálium ionok kétfajta csatornát vehetnek igénybe, amelyek egymással párhuzamosan működnek. Az egyik típusú kálium csatorna akkor aktiválódik, ha a hiperpolarizáló áram hatására a kálium áram befelé irányul, míg a másik az ellenkező esetben. A befelé irányuló kálium áram, potenciál és idő függése megmagyarázható volt, ha feltételezték, hogy a kálium a belépése során két membránon kénytelen áthaladni, amelyek egymással párhuzamosan helyezkednek el és amelyeket a rost teljes térfogatához viszonyítva egy kis tér választ el, amely tulajdonképpen nem tartozik sem az intra- sem az extracelluláris térhez. Ez a membránhoz tartozó feltételezett kálium kompartment azonos lehet azzal a térrel, amelyet HODGKIN és HOROWICZ (1960) feltételeztek annak a jelenségnek a magyarázatára, hogy az izommembrán potenciálváltozásai sokkal gyorsabban fejlődnek ki a klorid koncentráció változtatására, mint a külső kálium koncentráció változtatására. A kálium mozgásait leíró e három kompartmentes modell igazolására a morfológiai bizonyítékot a harántcsíkolt

izomrostok haránt tubulus rendszerének (T-rendszer) részletesebb megismerése szolgáltatotta lásd 3. ábra (PEACHEY 1965). A feltételezés szerint az egyik kompartment az extracelluláris folyadék, a második az „intermedier tér”, amely a T-rendszerrel lehet azonos, a harmadik a szarkoplazmatikus tér. Fel kellett tételni, hogy a T-tubulusok szájadékát határoló membrán átengedi a kálium



3. ábra. A harántcsíkolt izomrostok belső membránrendszerének sematikus képe. A haránt tubulusok (nyílal jelölve) ADRIAN és FREYGANG (1962) modelljében mint „intermedier tér” szerepelnek. (PEACHEY-től átvett ábra, 1965)

ionokat, de a klorid ionokat kizárja, s ezáltal Donnan megoszlást hoz létre az első, extracelluláris kompartment és a második, tubuláris kompartment között. Lényeges eleme a modellnek, hogy csak a felszíni membrán járható át a klorid ionok számára, amely a szarkoplazmatikus és extracelluláris kompartmenteket határolja. A kálium ionok számára mind a felszíni, mind a tubulusok falát alkotó membrán átjárható. A feltételezések szerint a tubulusfal membrán rendelkezik a befelé egyenirányító képességgel.

ADRIAN és FREYGANG (1962) ezt a modellt jórészt spekulatív alapon szerkesztették. A későbbiekben FALK és FATT (1964) izommembránon végzett kapacitív-ellenállás vizsgálatai a fent vázolt elgondolások továbbfejlődését eredményezték. FALK és FATT magyarázatot kerestek arra a már korábban ismert jelenségre, hogy miért haladja meg többszörösen az izommembrán kapacitív ellenállása az axonét (COLE és CURTIS 1950, KATZ 1948, FATT és KATZ 1951), jóllehet az izom és az axonmembrán kémiai összetétele között nincs erre okot adó különbség. FALK és FATT a kapacitív ellenállás vizsgálatára széles

tartományban változtatták a frekvenciát, s azt találták, hogy az alkalmazott pulzus frekvencia függvényében az izommembrán kapacitív ellenállása két nagyon jól elkülönülő komponensre bontható. Kézenfekvőnek látszott, hogy a komponensek egyikét az izomrostok felszíni, a másikat a tubuláris fal membránjával hozzák összefüggésbe. Időközben ismertté vált, hogy hipertóniás glicerines oldattal a haránttubulusok membránját szelektíven roncsolni lehet.

HOWELL és JENDEN módszerével (1967) detubulált izmokon GAGE és EISENBERG (1969) igazolni tudták FALK és FATT (1964) feltételezését, t.i., hogy az izommembrán teljes kapacitív ellenállásának nagyobb része a tubulusmembránhoz tartozik. A kálium és klorid ionáramok mérésével olyan adatokat nyertek, amelyek kísérletesen alátámasztották ADRIAN és FREYGANG modelljét. Összehasonlítva az ép és a detubulált izmokon mérhető ionkonduktanciákat bizonyíthatóvá vált, hogy a klorid vezetőképesség a detubulálás során nem változik, tehát az valóban a felszíni membránra lokalizálható. A kálium vezetőképesség viszont a detubulálás következtében nagyrészt lecsökkent, jelölül annak, hogy az a tubuláris membránhoz tartozik. A detubulálás fontos és szembetűnő következményei közé tartozik még az is, hogy megváltozik az akciós potenciál alakja, eltűnik a negatív utópotenciál s helyette kis pozitív utópotenciál jelenik meg, ami által az izomrostról elvezethető akciós potenciál jobban hasonlít a tintahal „óriás axonéhoz” (EISENBERG és GAGE 1969). Mindezekkel a változásokkal együttjár az is, hogy megszűnik az elektromos jelenségek és a kontraktilis rendszer kapcsolata. A detubulált izmokon az akciós potenciált nem követi kontrakció.

Az elmondottak alapján megállapítható, hogy a felszíni membrán, amely az ingerületet a rostok hosszában vezeti, nagy és változatlan paraméterű klorid vezetőképességgel rendelkezik, míg kálium vezetőképessége viszonylag kicsi, s elsősorban a belülről kifelé irányuló kálium áram átbocsátására képes.

A tubuláris membrán az ingerület radier irányú vezetésében játszik szerepet. Ez a membrán klorid vezetőképességgel nem rendelkezik, s nagy kálium vezetőképessége elsősorban befelé irányuló kálium áram esetében nyilvánul meg.

A fenti jelenségeket leíró modellben fontos szerep jutott annak a feltételezésnek, hogy a T-tubulusok szájadékában szelektíven átjárható membrán van, amely a klorid ionokat a tubulusokból kizárja, a kálium ionok diffúzióját pedig késlelteti. Ez utóbbival magyarázták a kálium permeabilitás lassú csökkenését hiperpolarizáció esetén (ADRIAN és FREYGANG 1962). A feltételezés szerint a tartós hiperpolarizáció esetén ugyanis a tubuláris kálium koncentráció fokozatosan lecsökken, mert a kálium ionok gyorsabban lépnek be a tubuláris térből a mioplazmatikus térbe, mint az extracellulárisból a tubuláris térbe a feltételezett, tubulusszájadékot takaró membránon keresztül. HUXLEY (1964) és PAGE (1964) azonban kimutatták, hogy egészen nagy molekulák, mint pl. a ferritin, képesek behatolni a tubulusokba, s ezáltal valószínűtlen a szemiper-

meabilis membrán létezése a tubulusszájadékban. Ennek ellenére az eredeti feltételezések továbbra is alkalmazhatók, ha a tubuláris membránban a kizárólagos, vagy legalábbis uralkodó töltéshordozó a kálium, míg a tubuláris lumenben az extracelluláris tér összetételétől függően egyéb töltéshordozók is vannak. Ebben az esetben a kálium ionok transzport száma a tubulusfalban meghaladja a tubulus lumenre vonatkozó transzportszámot, s ennek következtében hiperpolarizáló áram hatására ugyanúgy létrejöhet, a tubuláris kálium koncentráció csökkenése, mintha a tubulusszájadékban valamilyen membrán okozna diffúziós akadályt.

Elektromos térerő hatására bekövetkező kálium mozgásokat „feszültség szabályozott körülmények” mellett tanulmányozva, ADRIAN, CHANDLER és HODCKIN (1970) a harántesíktolt izom membránjában három fajta egymás mellett működő rendszer feltételezésével tudták a legjobban leírni: Az első a késleltetett egyenirányító („delayed rectifying”) rendszer, hasonló az axonmembránban fellelhető kálium csatornához, azzal a különbséggel, hogy az izomban tartós depolarizáció esetén is gyorsan és teljes mértékben inaktiválódik. A második rendszerben ugyancsak depolarizáció esetén fejlődik ki kifelé irányuló kálium áram, azonban a depolarizációt követően nagyságrendekkel lassabban fejlődik ki az ionáram, mint az első csatornán. A harmadik mechanizmus a befelé egyenirányító rendszer („inward rectifier”), amely hiperpolarizáló áramok hatására aktiválódik.

Valamennyi felsorolt mechanizmusra jellemző, hogy aktiválódása a membránpotenciál függvénye, az inaktiválódás azonban csak részben potenciál-függő, s elsősorban eddig nem tisztázott változók hatása alatt áll. E kálium-átbocsátó mechanizmusok többé-kevésbé összefüggésbe hozhatók ADRIAN és FREYGANG (1962) eredeti feltételezéseivel, amelyek az inaktiválódást a tubuláris, illetve a membrán közelében levő kálium kompartmentek kálium koncentrációjának csökkenésével magyarázták. A három káliumáteresztő mechanizmus azonban a „feszültség-szabályozott körülmények” mellett végzett vizsgálatok alapján nem helyezhető el egyértelműen az izomrost külső vagy tubuláris membránfelszínére olyan módon, ahogy azt a korábbi modell megkívánná.

Miután a feltételezett szelektív membrán létezését a tubuláris szájadékban ki lehetett zárni (PAGE 1964, HUXLEY 1964), ahhoz, hogy az ADRIAN és FREYGANG három kompartmentes modelljét érvényben lehessen tartani, ki kellett volna mutatni, hogy a tubuláris membránban hiperpolarizáló áram hatása alatt, a kizárólagos töltéshordozó a kálium.

Az idézett „feszültség-szabályozott körülmények” mellett végzett kísérletekben ezt a feltételezést nem sikerült igazolni. Erre a kérdésre irányuló kísérletek eredményeiből arra lehet következtetni, hogy esetleg más ionok is résztvesznek a befelé irányuló áram kialakításában, vagy esetleg, a befelé irányuló kálium áram szabályozásában az elektromos feszültség-különbségen

kívül olyan más tényezők is fontos szerepet játszanak, amelyek ezidő szerint teljesen ismeretlenek.

Káliumtranszport vizsgálatok izomban, radioaktív nyomjelzéssel.

Az ionkoncentrációkra, az elektromos hajtóerőre és a permeabilitási tényezőkre épülő elektrodifúziós modellek igen sok fontos információt tartalmaznak arra vonatkozóan, hogy miként haladhatnak át az izommembránon a kálium ionok. Ennek ellenére nyilvánvalóvá vált, hogy a diffúziós modellben szereplő tényezőkkel nem lehet kielégítően leírni a kálium transzportban eddig megismert jelenségeket. Sajnos, az izommembrán molekuláris szerkezetét leíró modellek nagyon kevés adatot szolgáltatnak ahhoz, hogy a kálium mozgás törvényszerűségeit lényegi szinten tárgyalhassuk.

A radioaktív nyomjelzőkkel végzett vizsgálatok eredményei arra utalnak, hogy nem mindig a membránon belüli diffúzió a sebességet meghatározó folyamat az iontranszportban.

Az alábbiakban, az izom káliumtranszportjában megnyilvánuló jelenségeket egy olyan carrier modell formájában kívánjuk rendszerezni, amely modell feltételezi, hogy a kálium ionok áthaladásának egyik fontos feltétele a membrán felszínén levő, feltételezett káliumkötőhelyek és a fázishatáron levő kálium ionok közötti megfelelő kölcsönhatás kialakulása. A carrier fogalmát sokféle módon szokták meghatározni és vizualizálni. A jelenlegi tárgyalásunkban a carrier nem jelent feltétlenül membránban mozgó ionofort, s még kevésbé kívánjuk összefüggésbe hozni a carrier fogalmát az „aktív transzporttal”. Feltételezhető azonban, hogy a kálium szelektív átjutása a membránon egy olyan momentummal veszi kezdetét, amelyben a kálium a membrán meghatározott kötőhelyeivel kölcsönhatásba kerül. Ha ez a kölcsönhatás „sikeres”, úgy a kötőhelyek aktiválódása bekövetkezik. Ez az „aktiválás” a feltétele az ion áthaladásának, függetlenül attól, hogy a transzport milyen szabadenergia-változással jár és az ionmozgásban közreműködő hajtóerő az elektrokémiai potenciálgrádiens, vagy esetleg kémiai reakció. A membrán a külső és belső oldalán véges számú kötőhellyel rendelkezik, amelyek a szelektivitás mértéke szerint különböző ionokat köthetnek meg. A kálium ionon kívül más ionok is „aktiválhatják” a membránt, vagy éppen „inaktiválhatják”, csökkentve a membrán permeabilitását. A feltételezés értelmében azok a kötőhelyek, amelyek a kálium ionok hatására „aktiválódnak”, nem vesznek részt szükségszerűen közvetlenül az iontranszlokációban, hanem a regulatorikus szerepüket hangsúlyozzuk.

A dinamikus egyensúly állapotában, az izomban időegység alatt azonos mennyiségű kálium halad belülről kifelé, mint fordított irányban. Kísérleteinkben a békából frissen kimetszett sartorius izmokban mintegy $3,0 \mu\text{M K} \times$

$g^{-1} \times \text{óra}^{-1}$ sebességű egyirányú kálium fluxot mértünk, amikor a Ringer kálium koncentrációja 2,5 mM volt.

Az extracelluláris káliumkoncentráció változtatása esetén az influx/efflux arány eltolódása következtében az izmok kálium tartalma is változik. Ha ilyenkor a kálium ionok mozgását kizárólagosan a szabad elektrokémiai diffúzió törvényei határoznák meg, akkor a konstans elektromos térre integrált ionflux egyenlet szerint (GOLDMAN 1943, HODGKIN és KATZ 1949) a netto káliumtranszport sebessége a következőképpen írható le:

$$\Phi = P_K \frac{E F}{R T} \left(\frac{[K]_i \exp(E F/RT) - [K]_o}{\exp(E F/RT) - 1} \right) \quad (1)$$

Az egyenletben a Φ = netto kálium flux, P_K = kálium permeabilitási koefficiens, E = membránpotenciál, F = Faraday állandó, T = abszolút hőmérséklet, R = gázállandó.

Elvi jelentősége lehet annak, hogy sikerül-e kísérletesen igazolni az (1) egyenlet érvényesülését az izomban, hiszen ezáltal tesztelhető azoknak a feltételezéseknek az érvényesülése, amelyekre az egyenlet épül.

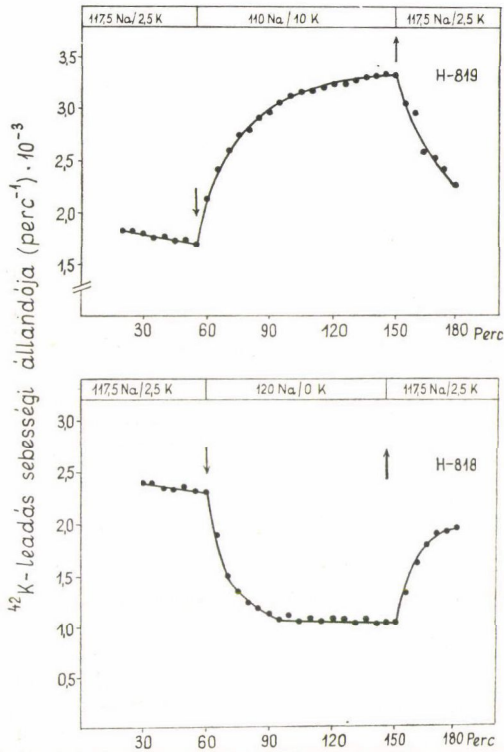
Ezek közül a legfontosabbak:

- a) a netto transzport a membrán bármely területén az elektrokémiai gradienssel arányos
- b) a membrán homogén
- c) a permeabilitási koefficiensek mindkét irányban egyformák
- d) az egyirányú ionfluxok (az influx és efflux) egymástól függetlenül mennek végbe.

Kísérleteiben SJODIN (1965) a kálium koncentrációt 2,5 mM-ről 0,2 mM-ra csökkentve mérte a kifelé irányuló netto K-flux sebességét. Az eredményei csak úgy illeszkedtek az (1) egyenlethez, ha feltételezte, hogy a kálium koncentráció csökkentésével a P_K értéke növekedik. Ezzel kapcsolatban SJODIN felvetette, hogy az izommembrán kálium permeabilitása valamilyen módon függhet a kálium extracelluláris koncentrációjától.

Saját kísérleteinkben a ^{42}K -mal mérhető egyirányú fluxokat vizsgáltuk a kálium extracelluláris koncentrációjának függvényében. Az egyirányú fluxra megoldott „constans field egyenlet” szerint, a radioaktív K-efflux: $\exp(EF/RT)$ arány szerint függ a membránpotenciáltól. (A szimbólumok értelme ugyanaz, mint az (1) egyenletnél).

Kálium mentes oldatban a békaizom membránpotenciálja pozitívabb, mint a kálium equilibrium potenciál (HODGKIN és HOROWICZ 1959), AKIYAMA és GRUNDFEST (1971) mérései szerint pedig a békaizomrostok nagyrésze azonnal, kisebb része pedig lassabban depolarizálódik Na-tartalmú, alacsony kálium koncentrációjú, vagy kálium mentes Ringerben. A 4. ábrán bemutatott kísérleteinkben, a K-mentes oldat hatására a ^{42}K -efflux éppen ellentétes irány-

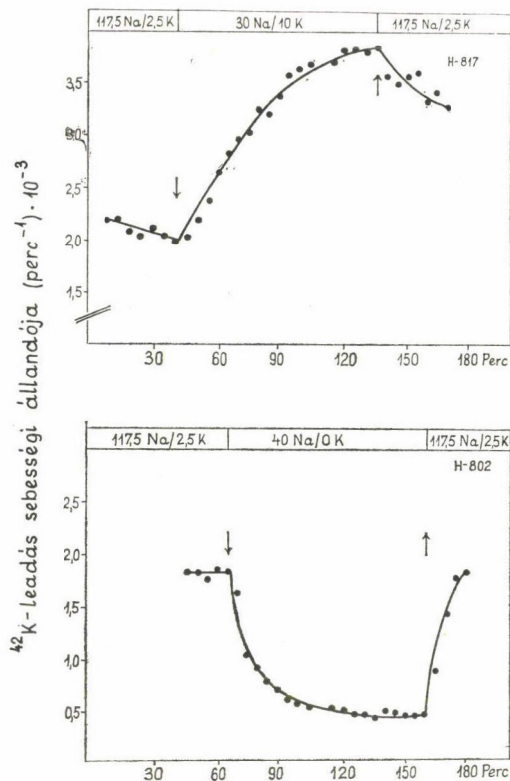


4. ábra. Kálium leadás sebessége béka *m. sartorius*-ából. Abszcissza: a ^{42}K kimosás ideje (perc), ordináta: az izom által egy perc alatt leadott ^{42}K aktivitás és egyidejűleg az izomban levő aktivitás aránya (rate coefficients). A nyilakkal jelzett időpontokban a Ringer oldat K-koncentrációját 2,5 mM-ről (felső ábra) 10 mM-ra növeltük, ill. (alsó ábra) 0-ra csökkentettük

ban változik, mint az a fentiek értelmében várható lenne. Ebben az esetben a K-leadás rate coefficientének csökkenése a P_K érték csökkenésére utal, K-mentes oldatban.

SJODIN idézett kísérleteiben, a netto transzport sebességének vizsgálata során a P_K érték növekedését észlelte a kálium koncentráció csökkentésekor, míg a saját, nyomjelzővel végzett kísérleteink hasonló körülmények mellett a P_K érték csökkenésére utalnak, az egyirányú efflux csökkenése alapján. Ez az ellentmondás is valószínűvé teszi, hogy a fenti egyenletek nem érvényesülnek maradéktalanul az izom kálium transzportjában. Ugyanakkor a SJODIN által végzett és a saját kísérleteinkből is levonható az a következtetés, hogy az extracelluláris kálium koncentráció változásával megváltozik az izommembrán kálium permeabilitása.

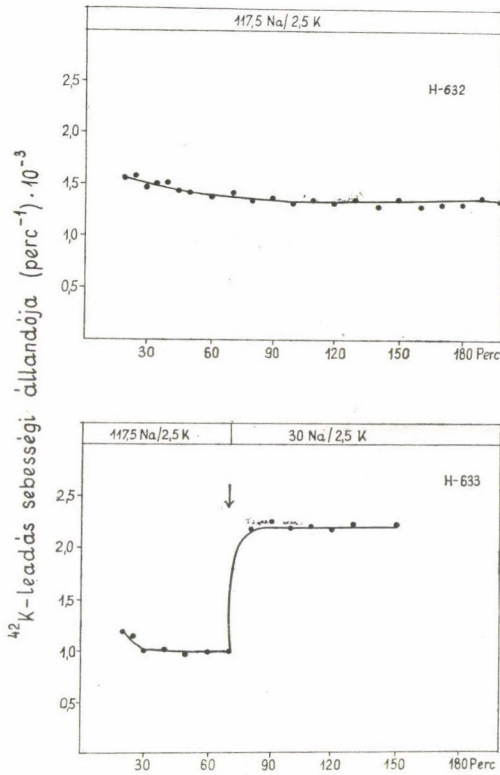
Az a megfigyelés, hogy a K-efflux sebessége az extracelluláris kálium koncentráció változtatásával azonos irányban változik, (4. ábra) formálisan emlékeztet LEVI és USSING (1948) által leírt cserediffúziós folyamatra. A külön-



5. ábra. Kálium leadás sebessége béka *m. sartorius*ából, hipotonia hatása. Abszcissza és ordináta: mint a 4. ábránál. A nyilakkal jelölt időpontokban a Ringer NaCl koncentrációját (felső ábra) 117,5-ről 30 mM-ra, KCl tartalmát 2,5-ről 10 mM-ra változtattuk, ill. (alsó ábra) a NaCl tartalmat 117,5-ről 40 mM-ra, a KCl tartalmat 2,5-ről nullára csökkentettük

böző körülmények mellett mért kálium influx/efflux arányok vizsgálata alapján azonban megállapítható volt, hogy a kálium be- és kilépése az izomban nem függenek egymástól (SJODIN 1965). Ezzel kapcsolatban még az is felvethető, hogy ha a kálium fluxok külső koncentrációfüggést mutató hányada csere-diffúzió részfolyamatát képezné, a kálium transzport rendszer nem volna alkalmas a legkülönbözőbb körülmények mellett mérhető ionáramok kialakítására. A csere-diffúziós folyamat ugyanis nem jár netto töltésátvitellel. Alternatív magyarázatként felvethető lenne az is, hogy az elektromos térerő hatására elmozduló kálium ionok egészen más úton haladnak a membránon keresztül, mint a nyomjelzős vizsgálatok során a nyugvó izomban, amikor a koncentrációviszonyok változtatásával idézünk elő netto ionmozgást.

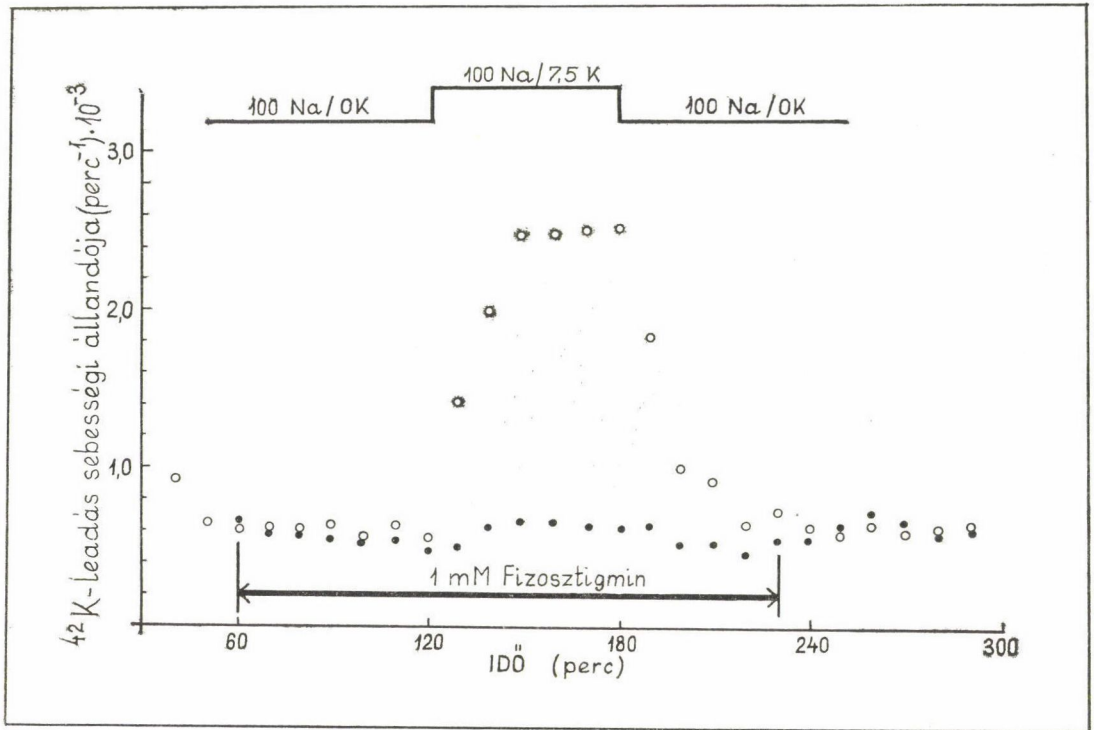
Az extracelluláris kálium koncentráció növelésére a K-belépés sebessége is növekedik, ezért várható lenne, hogy a membrán belső felszínén a nem-radioaktív kálium koncentrációja növekedjen, s a membrán intracelluláris oldalán a ^{42}K specifikus aktivitása a hígulás következtében csökkenjen. Ez a



6. ábra. Hipotonia hatása a kálium leadás sebességére 2,5 mM K_0 -Ringerben. Abszcissa és ordináta, mint a 4. ábránál. Felső ábra: Kontroll kísérlet Ringer oldatban. Alsó ábra: a nyíllal jelzett időpontban a Ringer NaCl tartalmát 1175-ről 30 mM-ra csökkentettük, a KCl koncentráció változatlan maradt

jelenség a radioaktív kálium efflux csökkenésében nyilvánulhat meg. Kísérleteinkben a K_0 növelését követően a radioaktív efflux fokozódás fokozatosan növekedett az idő függvényében, ezért arra gondolhatunk, hogy az influx és az efflux egymástól térben is elkülönülten, függetlenül mennek végbe. Ez a következtetés teljesen összhangban van ADRIAN és FREYGANG (1962), valamint ADRIAN, CHANDLER és HODGKIN (1970) kálium ionáramra vonatkozó méréseinek eredményével. Másrészt összefüggésbe hozható a SJODIN (1965) által végzett radioaktív flux-hányados elemzésekből származtatható elgondolásokkal, amelyeket már említettünk, ti., hogy az influx és efflux egymástól függetlenek, s az extracelluláris kálium ionok befolyásolják a membrán kálium permeabilitását.

Annak bizonyítására, hogy a kálium mentes oldatban mérhető K-efflux sebességét az elektrokémiai grádiens nem kizárólagosan határozza meg, a további kísérleteinkben az oldat NaCl tartalmát is csökkentettük a kálium koncentráció változtatásával egyidejűleg.

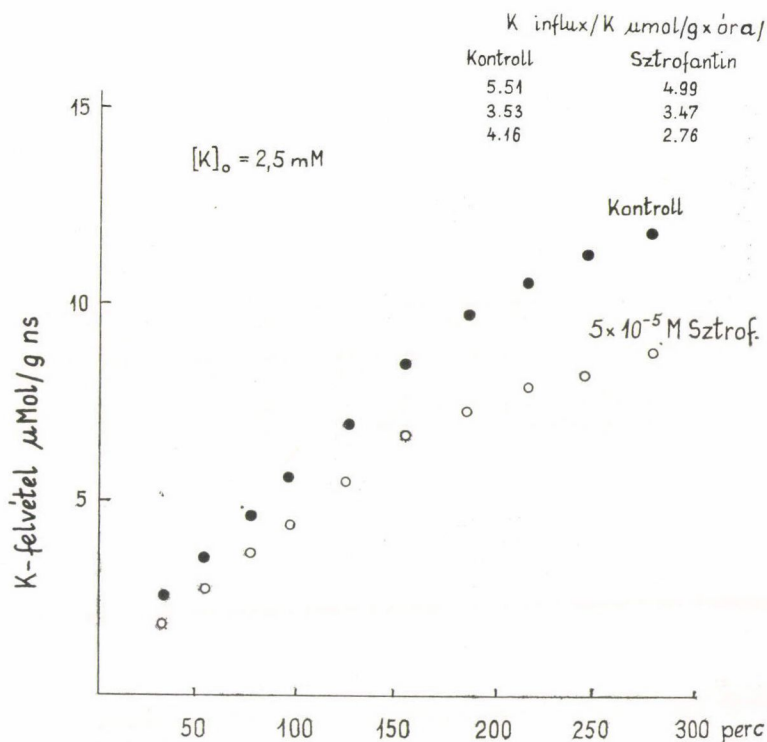


7. ábra. Fizosztigmin hatása a kálium leadás sebességére kálium mentes és 7,5 mM K-tartalmú Ringerben. Abszcissa és ordináta: mint a 4. ábránál. A 120. és 180. perc között a Ringer K-tartalmát 0-ról 7,5 mM-ra növeltük. A K-mentes Ringer 15 mM kolinkloridot is tartalmazott, a K_0 növelésével a kolin koncentrációt arányosan csökkentettük az ozmotikus nyomás fenntartására. Nyitott körrel (o) jelöltük a fizosztigminnel nem kezelt, zárt körrel (●) az 1 mM fizosztigminnel kezelt izom K-leadását. Fizosztigmin kezelés a 60. és 230. perc között történt

A klorid koncentráció csökkentése gyorsan kifejlődő, átmeneti depolarizációt idéz elő (HODGKIN és HOROWICZ 1959), míg a külső ozmotikus nyomás csökkentésével kiváltott vízbeáramlás az intracelluláris kálium koncentráció csökkentése révén okoz tartós depolarizációt. A kísérleteink azt mutatják (5. ábra), hogy a NaCl koncentráció csökkentésével kiváltott elektrokémiai potenciálgradiens változások nem befolyásolják az extracelluláris káliumkoncentráció változtatásának hatását a K-effluxra.

Ha az extracelluláris kálium koncentrációt változatlanul hagytuk (2,5 mM), miközben a külső NaCl koncentrációt csökkentettük, a kifejlődő depolarizációval egyidejűleg fokozódott a K-kilépés sebessége (6. ábra).

Emberi vörösvértetek kálium transzportját vizsgálva, arra a következtetésre jutottunk, hogy a fizosztigmin gátlóhatást fejt ki a kálium transzportra, feltehetően oly módon, hogy csökkenti a kálium ionok „aktiváló hatását”, a vörösvértet membrán külső felszínén (SZABÓ 1973). A fizosztigmin hatását



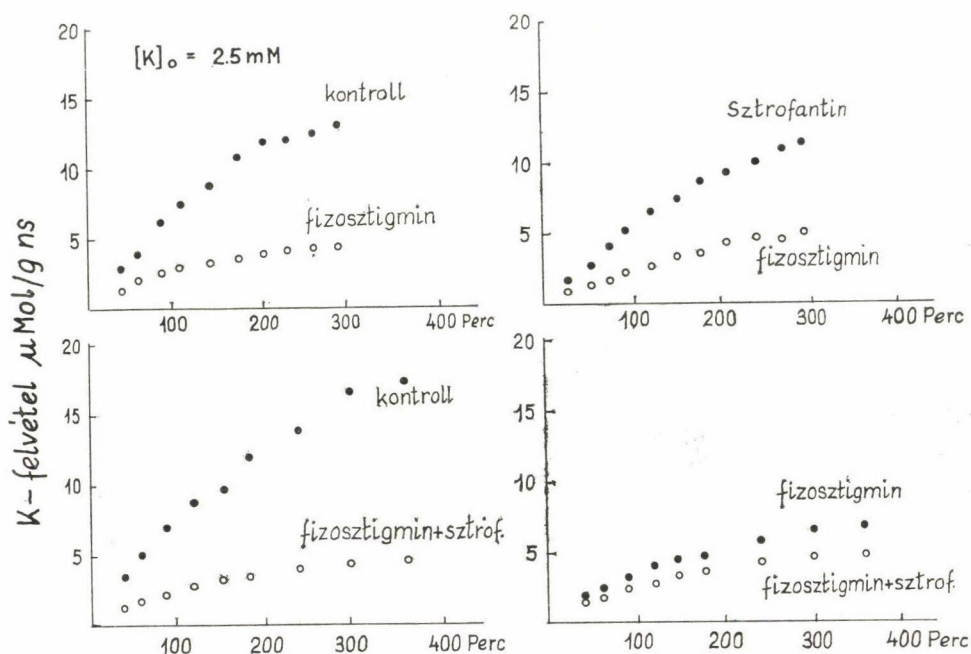
8. ábra. Sztrofantin hatása a béka *m. sartorius* ^{42}K -felvételre. A kimetszett sartorius izompárt üvegbotra feszített állapotban ^{42}K -tartalmú Ringerbe helyeztük ($K_o = 2,5$ mM). Az abszcisszáról leolvasható időpontokban az izmok felszínét leöblítettük, s a kálium felvételt az intracelluláris radioaktivitás növekedése alapján mértük. Ordináta: a felvett kálium ($\mu\text{M g}^{-1}$). Az ábra jobb felső sarkában három hasonló kísérlet eredményét is feltüntettük. A felvétel kezdeti, egyenes szakasza alapján számítottuk az influxot ($\mu\text{M g}^{-1} \text{óra}^{-1}$)

tanulmányoztuk a békaizom káliumtranszportján is. A 7. ábrán bemutatott kísérletből látható, hogy a fizosztigmin nem, vagy alig befolyásolja a K-mentes oldatban tartott sartorius izmon a K-leadást, ezzel szemben megakadályozza a K-efflux fokozódását, ami egyébként a külső kálium koncentráció növelésére bekövetkezik.

Ez a hatás megmagyarázható a felvetett elképzelésünk alapján: a fizosztigmin megakadályozza, hogy az extracelluláris kálium ionok „aktiváló hatásukat” kifejtsék.

Frissen kimetszett izmokon, 2,5 mM K_o jelenlétében a sztrofantin kis-mértékben gátolja a K-belépés sebességét a sartorius izmokon (8. ábra), ezzel szemben 1 mM koncentrációjú fizosztigmin mintegy felére csökkenti a K-influxot (9. ábra).

A K_o csökkentése esetén (0,15 mM), a K-influx sebessége lecsökken, s az ilyen körülmények mellett mérhető influx nagyrésze sztrofantinnal gátolható.



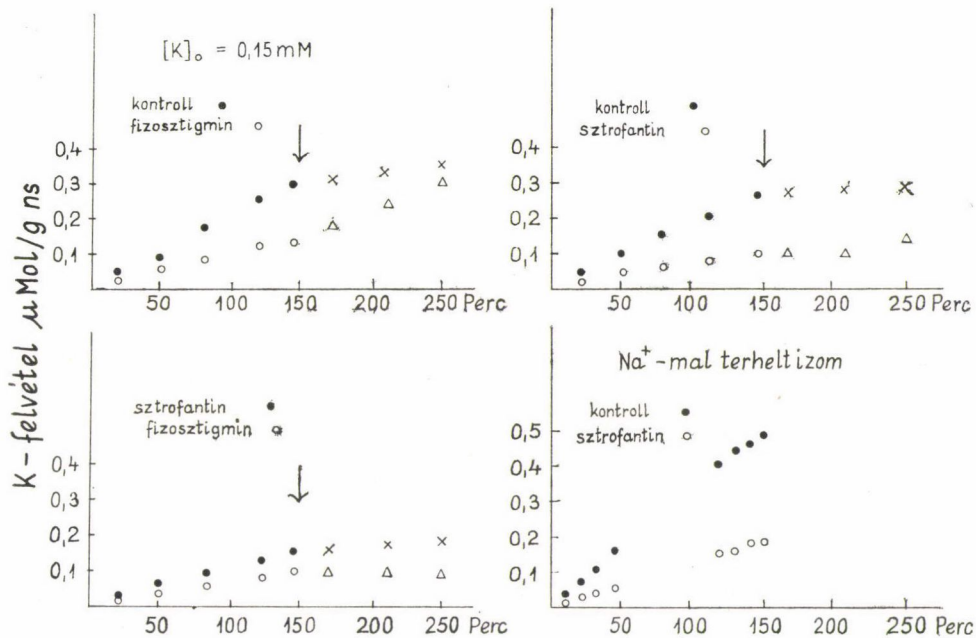
9. ábra. Fizosztigmin és sztrofantin hatása a békaizom kálium felvételére 2,5 mM K-tartalmú Ringerben. A kísérletek kivitelezése és az ábrázolás módja, mint a 8. ábránál. A fizosztigmin koncentrációja 1 mM, a sztrofantiné 0,05 mM. Az ábra egy-egy koordinátarendszerében ugyanazon békából származó izompáron nyert eredmények láthatók

A fizosztigmin a 0,15 mM K_0 jelenlétében mért influxot is ugyanolyan arányban gátolja, mint azt 2,5 mM K-tartalmú Ringerben észleltük (10. ábra).

Az I. táblázat adataiból leolvasható, hogy alacsony extracelluláris kálium koncentráció esetén mind a nátrium, mint a litium ionok jelentős mértékben csökkentik a K-belépés sebességét, a kolin-Ringerben mérhető influxhoz képest. A nátrium és litium hatása a sztrofantinnal gátolható K-influxhoz képest. A nátrium és litium hatása a sztrofantinnal gátolható K-influxon fejlődött ki, mivel a sztrofantinnal előkezelt izmokon a Li nem fejtett ki további gátlóhatást. Ezzel szemben a fizosztigmin és az alkáli ionok gátló hatása additívnak bizonyult. A fizosztigmin Na jelenlétében is csökkentette a K-belépés sebességét és a fizosztigminnel kezelt izmokon a Li ugyancsak csökkentette a K-influxot.

Feltételezhető, hogy kísérleteinkben a Na és Li gátló hatása közvetlenül az izommembrán extracelluláris felszínén hatva fejlődött ki.

Az alacsony K-tartalmú oldatokban az extracelluláris Na-ionok depolarizáló hatást fejthetnek ki (HODGKIN és HOROWICZ 1959) és ezáltal növelhetik a kálium elektrokémiai potenciálját az intracelluláris térben. A nátrium ilyen módon közvetve is csökkentheti a K-influx sebességét. A Li ionok azonban az



10. ábra. Kálium felvétel alacsony (0,15 mM) K-tartalmú Ringerben: fizosztigmin és sztrofantin hatása. A kísérlet kivitelezését és az ábrázolás módját illetően lásd az előző két ábra szövegét. Az ábra jobb alsó koordinátájában feltüntetett kísérletben az izompárt 16 órán át +3 °C hőmérsékletű inaktív K-mentes Ringerben előkezeltük. E kezelés hatására az intracelluláris K-tartalom csökken, a Na-tartalom emelkedett. A többi három koordinátán a nyílak oldatcserét jelentenek: a ⁴²K-felvétel további idejére a kontroll izmok kerültek fizosztigmin vagy sztrofantin tartalmú oldatba és fordítva. A bal alsó koordinátán szereplő kísérletben a nyíllal jelzett időpontban a sztrofantinnal kezelt izmot helyeztük sztrofantinmentes, fizosztigmint tartalmazó oldatba és fordítva

extracelluláris oldalról aktiváló hatást gyakorolnak a Na-pumpára (BEAUGÉ és SJODIN 1968), ami viszont következményesen a K-influx fokozódását vonhatná maga után. A Na-pumpa aktiválódása ugyanis a kálium intracelluláris elektrokémiai potenciáljának csökkentése irányában hat. Ugyanakkor ismeretes, hogy az izommembrán Li-permeabilitása sokkal kisebb, mint a Na-permeabilitása (KEYNES, SWAN 1959).

Az ismertett kísérleteink alapján nagyon valószínű, hogy a kálium ionok izommembránon való áthaladását nem kizárólagosan az elektrokémiai gradiens határozza meg. A membrán kálium permeabilitása változó paraméterű és nagymértékben függ attól, hogy az extracelluláris felszínen milyen ionokkal kerül kölcsönhatásba. Ennek értelmében, a kálium áthaladása a membránon két lépésre bontható.

Az első lépésben alakul ki az ion és a membrán „aktiválható helyei” között a kölcsönhatás, s a második lépésben történik a tulajdonképpeni ionátvitel. Az áthaladáshoz szükséges energia származhat az elektrokémiai poten-

I. táblázat
K-influx alacsony (0,15 mM) K-tartalmú Ringerben

Ringer oldat	Kezelés	K-influx $\mu\text{M g}^{-1} \text{óra}^{-1} (\pm \text{SD})$	Kísérlet száma	Az izmok kationtartalma a kísérlet végén ($\mu\text{M g}^{-1} \pm \text{SD}$)	
				K _i	Na _i
<i>I. Fizosztigmin hatása Na-Ringerben és kolin-Ringerben:</i>					
Na-Ringer	1 mM fizosztigmin	0,182 \pm 0,013	4*	77,3 \pm 2,7	—
Különbség:		0,090 \pm 0,023		72,7 \pm 2,7	—
Kolin-Ringer	1 mM fizosztigmin	0,281 \pm 0,039	4**	70,7 \pm 1,5	8,0 \pm 0,9
Különbség:		0,172 \pm 0,049		77,8 \pm 1,9	6,9 \pm 1,3
<i>II. Sztrofantin hatása kolin- és Li- tartalmú kolin-Ringerben:</i>					
Kolin-Ringer	0,1 mM sztrofantin	0,275 \pm 0,043	5***	77,9 \pm 2,83	12,3 \pm 2,1
Különbség:		0,058 \pm 0,019		71,2 \pm 2,53	10,9 \pm 2,6
Kolin-Ringer	0,05 mM sztrofantin	0,280 \pm 0,040	6***	70,2 \pm 7,7	9,9 \pm 4,1
Különbség:		0,096 \pm 0,007		71,9 \pm 4,2	10,1 \pm 3,5
10 mM Li-Ringer	0,1 mM sztrofantin	0,156 \pm 0,027	5***	77,6 \pm 4,4	9,8 \pm 2,2
Különbség:		0,037 \pm 0,014		74,5 \pm 3,0	12,0 \pm 1,2
<i>III. 10 mM litium hatása kolin-Ringerben, valamint sztrofantinnal vagy fizosztigminnel előkezelt izmokon:</i>					
Kolin-Ringer	10 mM Li	0,260 \pm 0,042	5*	84,4 \pm 5,6	13,9 \pm 2,6
Különbség:		0,182 \pm 0,039		82,4 \pm 9,3	12,9 \pm 2,9
Kolin-Ringer	0,1 mM sztrofantin	0,062 \pm 0,009	6	90,1 \pm 9,5	13,4 \pm 3,6
10 mM Li-Ringer		0,067 \pm 0,025			
Különbség:	—				
Kolin-Ringer	1 mM fizosztigmin	0,204 \pm 0,031	5*	88,0 \pm 8,3	13,8 \pm 4,4
10 mM Li-Ringer		0,128 \pm 0,025			
Különbség:	0,076 \pm 0,047				

A sartorius izompárokat a kimetszést követően 60 percen át a táblázatban feltüntetett összetételű inaktív Ringer oldatban tartottuk, majd az izompárok további 60 percére ⁴²K-tartalmú Ringerbe kerültek. A felvétel végén felszínüket pontosan 5 percen át öblítettük. Salétromsavas roncólás után meghatároztuk radioaktivitásukat és iontartalmukat. A sztrofantin és fizosztigmin kezelést 15 perccel a ⁴²K-felvétel megkezdése előtt kezdtük alkalmazni. A szignifikanciát a páros t-próba alapján számoltuk. * = 0,005 < p < 0,01 ** = 0,002 < p < 0,005 *** = 0,0005 < p < 0,0025 A lángfotométerrel meghatározott iontartalmak közötti különbségek statisztikailag nem szignifikánsak. 10 mM Li-Ringerben az izotoniát 105 mM kolin hozzáadásával biztosítottuk.

ciál-grádiensből, vagy a transzport ATPáz reakciójából (ez utóbbi esetben beszélünk aktív transzportról). Az első lépésként említett kölcsönhatás kialakulása egyaránt lehet feltétele az aktív és passzív transzportnak is. Feltételezésünk szerint a fizosztigmin gátolja a kálium ionok és az izommembrán közötti

kölcsönhatás kifejlődését (KOVÁCS és SZABÓ 1971, SZABÓ 1973), s ezzel magyarázható, hogy a fizosztimin csökkenti mind az aktív, mind pedig a passzív transzportfolyamatok sebességét.

IRODALOM

1. ADRIAN, R. H., CHANDLER, W. K., HODGKIN, A. L.: Slow changes in potassium permeability in skeletal muscle. *J. Physiol.* **208**, 645–668 (1970).
2. ADRIAN, R. H., CHANDLER, W. K., HODGKIN, A. L.: Voltage clamp experiments in striated muscle fibres. *J. Physiol.* **208**, 607–644 (1970).
3. ADRIAN, R. H., FREYGANG, W. H.: Potassium and chloride conductance of frog muscle membrane. *J. Physiol.* **163**, 61–103 (1962).
4. AIDLEY, D. L.: The physiology of excitable cells. Cambridge University Press (1971).
5. AKIYAMA, T., GRUNDFEST, H.: The hyperpolarization of frog skeletal muscle fibres induced by removing potassium from the bathing medium. *J. Physiol.* **217**, 33–60 (1971).
6. ARMSTRONG, W. McD., LEE, C. D.: Sodium and potassium activities in normal and „sodium rich” frog skeletal muscle. *Science* **171**, 413–415 (1971).
7. BEAUCÉ, L. A., SJODIN, R. A.: The dual effect of lithium ions on sodium efflux in skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **52**, 408–423 (1968).
8. COLE, K. S., CURTIS, H. J.: Electric impedance of the squid giant axon during activity. *J. gen. Physiol.* **22**, 649–670 (1939).
9. CONWAY, E. J.: Nature and significance of concentration relations of potassium and sodium ions in skeletal muscle. *Physiol. Rev.* **37**, 84–132 (1957).
10. COPE, F. W.: NMR evidence for complexing of Na^+ in muscle, kidney and brain, and actomyosin. The relation of cellular complexing of Na^+ to water structure and to transport kinetics. *J. gen. Physiol.* **50**, 1353–1375 (1967).
11. EISENBERG, R. S., GAGE, P. W.: Ionic conductances of the surface and transverse tubular membranes of frog sartorius fibres. *J. gen. Physiol.* **53**, 279–297 (1969).
12. FALK, G., FATT, P.: Linear electrical properties of striated muscle fibres observed with intracellular electrodes. *Proc. R. Soc. B* **160**, 69–123 (1964).
13. FATT, P., KATZ, B.: An analysis of the end-plate potential recorded with an intracellular electrode. *J. Physiol.* **115**, 320–370 (1951).
14. FREYGANG, W. H., GOLDSTEIN, D. A., HELLAM, D. G.: The after-potential that follows trains of impulses in frog muscle fibres. *J. gen. Physiol.* **47**, 929–952 (1964).
15. GAGE, P. W., EISENBERG, R. S.: Action potentials, afterpotentials and excitation-contraction coupling in frog sartorius fibres without transverse tubules. *J. gen. Physiol.* **53**, 298–310 (1969).
16. GOLDMAN, D. E.: Potencial, impedance and rectification in membranes. *J. gen. Physiol.* **27**, 37–60 (1943).
17. HARRIS, E. J., SJODIN, R. A.: Kinetics of exchange and net movement of frog muscle potassium. *J. Physiol.* **155**, 221–245 (1961).
18. HINKE, J. A. M.: Glass microelectrodes in the study of binding and compartmentalization of intracellular ions. 349–375 In: *Glass microelectrodes* Ed. by Lavallée, M., Schanne, O. F., Hébert, N. C. N. Y. (1969).
19. HINKE, J. S. M., McLAUGHLIN, S. G. A.: Release of bound sodium in single muscle fibres. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **45**, 655–667 (1967).
20. HODGKIN, A. L., HOROWICZ, P.: The influence of potassium and chloride ions on the membrane potential of single muscle fibres. *J. Physiol.* **148**, 127–160 (1959).
21. HODGKIN, A. L., HOROWICZ, P.: The effect of sudden changes in ionic concentrations on the membrane potential of single muscle fibres. *J. Physiol.* **153**, 370–385 (1960).
22. HODGKIN, A. L., HUXLEY, A. F.: Resting and action potentials in single nerve fibres. *J. Physiol.* **104**, 176 (1945).
23. HODGKIN, A. L., HUXLEY, A. F.: A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* **117**, 500–544 (1952).
24. HODGKIN, A. L., KATZ, B.: The effect of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* **108**, 37–77 (1949).
25. HOWELL, J. N., JENDEN, D. J.: T-tubules of skeletal muscle: morphological alterations which interrupt excitation-contraction coupling. *Fed. Proc.* **26**, 553 (1967).
26. HUXLEY, H. E.: Evidence for continuity between the central elements of the triads and extracellular space in frog sartorius muscle. *Nature, Lond.* **202**, 1067–1071 (1964).

27. KATZ, B.: The electrical properties of the muscle fibre membrane. *Proc. R. Soc. B.* **135**, 285—300 (1948).
28. KEYNES, R. D., SWAN, R. C.: The permeability of frog muscle fibres to lithium ions. *J. Physiol.* **147**, 626—638 (1959).
29. KOVÁCS T., SZABÓ, B.: Effect of physostigmine on sodium efflux of frog muscle. *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.* **40**, 13—26 (1971).
30. LEE, C. O., ARMSTRONG, W. MCD.: State and distribution of potassium and sodium ions in frog skeletal muscle. *J. Membrane Biol.* **15**, 331—362 (1974).
31. LEV, A. A.: Determination of activity and activity-coefficients of potassium and sodium ions in frog muscle fibres. *Nature* **201**, 1132—1134 (1964).
32. LEVI, H., USSING, H. H.: The exchange of sodium and chloride ions across the fibre membrane of the isolated frog sartorius. *Acta Physiol. Scand.* **16**, 232—249 (1948).
33. LING, G. N.: A physical theory of the living state, Blaisdell, New York (1962).
34. McLAUGHLIN, S. G. A., HINKE, J. A. M.: Sodium and water binding in single striated muscle fibers of the giant barnacle. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* **44**, 837 (1966).
35. NAKAJIMA, S., IWASAKI, S., OBATA, K.: Delayed rectification and anomalous rectification in frog's skeletal muscle membrane. *J. gen. Physiol.* **46**, 97—115 (1962).
36. NOBLE, D., TSIEN, R. W.: The kinetics and rectifier properties of the slow potassium current in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol.* **195**, 185—214 (1968).
37. PAGE, S.: The organization of the sarcoplasmic reticulum in frog muscle. *J. Physiology* **175**, 10—11P (1964).
38. PEACHEY, L. D.: The sarcoplasmic reticulum and transverse tubules of the frog's sartorius. *J. cell Biol.* **35**, 209—231 (1965).
39. SJODIN, R. A.: The potassium flux ratio in skeletal muscle as a test for independent ion movement. *J. gen. Physiol.* **48**, 777—795 (1965).
40. SZABÓ, B.: Fizosztigminnel gátolható Na- és K-csere emberi vörösvértesteken. *Orvostudomány* **24**, 301—317 (1973).
41. TAYLOR, S. R., PREISER, H., SANDOW, A.: Action potential parameters affecting excitation-contraction coupling. *J. gen. Physiol.* **59**, 421—436 (1972).
42. TROSCHEIN, A. S.: Sorption properties of protoplasm and their role in cell permeability. In: *Membrane transport and metabolism*. Ed.: Kleinzeller, A., Kotyk, A. Prague (1961).