

# A KÁLCIUM SZEREPE A BÉKA VÁZIZOM ELEKTRO-MECHANIKUS KUPLUNGJÁNAK MŰKÖDÉSÉBEN

KÓNYA LÁSZLÓ és KÖVÉR ANDRÁS

Debreceni Orvostudományi Egyetem Központi Kutató Laboratóriuma, Debrecen

Ismeretes, hogy béka vázizom kalciumtartalma nedves izomsúlyra számítva 1–2 mM/kg (összefoglalóan l. BIANCHI 1968), megoszlása azonban az izomroston belül nem egyenletes. Minthogy nyugalomban levő izomban a nedves izomsúly kb. 60%-át kitevő intracelluláris víztér szabad ionizált kalcium koncentrációja csak kb.  $10^{-7}$  M (PORTZEHL és mtsai 1964, HAGIWARA 1966), az izom-kalcium legnagyobb része az intracelluláris víztértől membránok által elválasztva (az extracelluláris térben, a mitokondriumokban és a szarkoplazmatikus retikulumban), valamint a különböző membránstruktúrákhoz kötve tárolódik (BIANCHI 1969).

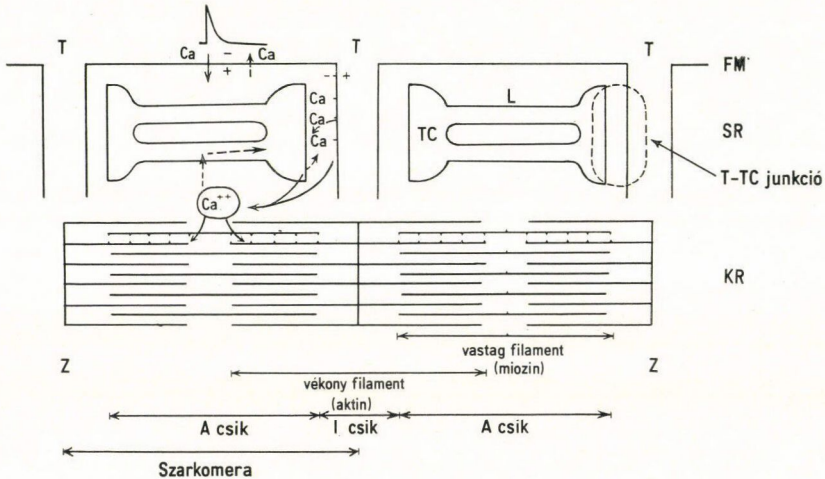
Az izmok működése során az izmot érő inger hatására a felszíni membrán depolarizálódik (AXELSON 1971), s a kalcium a membránokból felszabadulva, ill. a membránokon átlépve az intracelluláris víztérbe kerül, és alapvető szerepe van az itt elhelyezkedő kontraktilis fehérjék aktiválásában (HEILBRUNN 1940). A szarkolemma depolarizációjától az izom összehúzódásáig végbemenő jelenségeket szokás összefoglalóan elektro-mechanikus (E-M) kuplungnak nevezni. Az izomrost felszíni membránjának a depolarizációja  $\text{Ca}^{2+}$  felszabaduláshoz, az utóbbi pedig a kontraktilis rendszer aktiválásához vezet. Az elektro-mechanikus kuplungot ezen az alapon két részre, egy ún. elektro-kalcium (E-Ca), és egy kalcium-mechanikus (Ca-M) részre lehet osztani (SANDOW 1970).

Az E-Ca kuplung a  $\text{Ca}^{2+}$  felszabadulását szabályozza, míg a Ca-M kuplungban a felszabadult  $\text{Ca}^{2+}$ -nak van közvetlen, a koncentrációval arányos aktiváló szerepe. Az E-Ca kuplung szabályozásában a membrán-kötött Ca szintén fontos szerepet játszik. Különböző kísérleti körülmények között ennek a Ca-Ca szabályozó mechanizmusnak számos bizonyítékát lehet megfigyelni.

Az egyik ilyen megfigyelés FRANK (1960, 1962) nevéhez fűződik. Azt találta, hogy Ca-mentes Ringer-oldatban tartott béka izolált lábujjizom  $\text{K}^{+}$ -depolarizáció alatt egyébként fellépő kontraktúrája kimarad (elektro-mechanikus kuplung blokk fejlődik ki). A kalcium szerepének a jellegére mutat, hogy ha a Ca-mentes oldathoz más bivalens kationokat adunk, azok a kalciumot nagyrészt helyettesíteni képesek, és a blokkot felfüggesztik.



A másik megfigyelés szerint a magas  $K^+$  tartalmú oldatba helyezett béka vázizom a fellépő depolarizáció hatására először összehúzódik, majd a tartósan fenntartott depolarizáció esetén is spontán elernyed (HODGKIN és mtsai 1960, CAPUTO 1972). A magas  $K^+$  tartalmú oldat kimosása után az izom csak fokozatosan nyeri vissza eredeti kontrakciós képességét. Mind a spontán elernyedésnek, mind ez utóbbi jelenségnek a sebessége függ az inkubáló oldat  $Ca^{2+}$  tartalmától (magasabb  $Ca^{2+}$  tartalmú oldatban az izmok lassabban ernyednek el és gyorsabban nyerik vissza reagáló képességüket). Úgy tűnik, hogy a de-



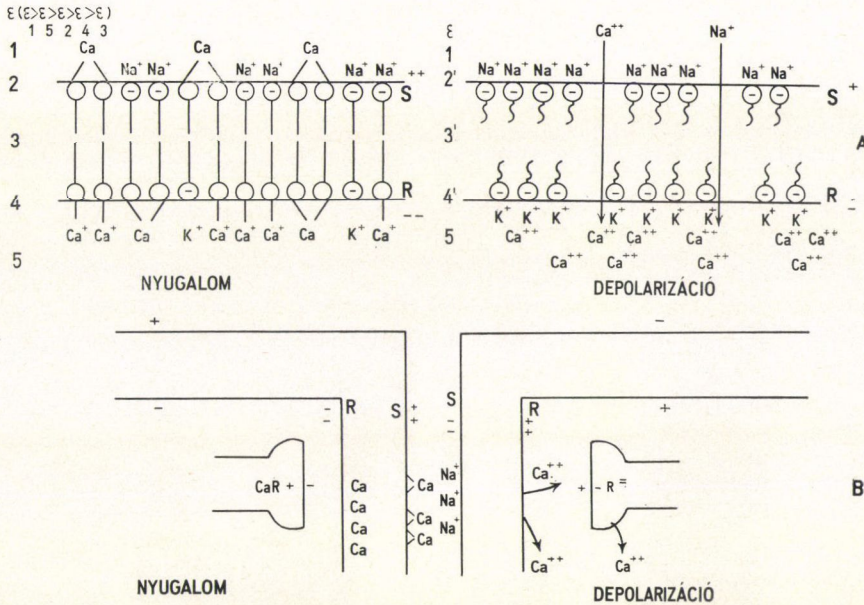
1. ábra. A  $Ca^{2+}$  szerepe az izomműködés folyamataiban (BIANCHI 1973). A  $Ca^{2+}$  mozgását a kontrakció során kihúzott, a relaxáció alatt szaggatott nyilak jelzik. FM = felszíni membrán, T = T-tubulus, L = a szarkoplazmatikus retikulum (SR) hosszanti (L) rendszere, TC = terminális ciszterna, KR = kontraktilis rendszer

polarizációval (aktiváció) párhuzamosan egy inaktivációs folyamat is beindul és ez a fenntartott depolarizáció ellenére az izom elernyedését, relaxációját okozza, ill. akadályozza ismételt mechanikus válaszát. Valószínűbbnek látszik azonban a jelenségnek egy olyan magyarázata, miszerint a kifejlődő depolarizáció egy aktiváló anyag felszabadulását hozza létre. Ennek raktára fokozatosan kiürül, s újratöltődéséhez bizonyos időre van szükség. A kiürülés sebessége és az újratöltődés is függ az extracelluláris kalcium koncentrációjától. Nagyon valószínű, hogy ez az aktivátor anyag maga a membrán-kötött kalcium.

A kalciumnak az elektro-mechanikus kuplungban betöltött szerepét az elmondottakkal összhangban jól szemlélteti BIANCHI ábrája (1. ábra). Az izomrost felszíni membránján fiziológiás körülmények között a neuromuskuláris junctionból kiinduló akciós potenciál depolarizáció formájában terjed tova, és a T-tubulusok membránján terjed a rost mélyébe (BEZANILLA és mtsai 1972, a béka vázizom finomabb szerkezetére vonatkozóan l. KÖVÉR és SZABOLCS beszámolóját, 1974). A depolarizáció hatására a T-tubulus membrán-



ből  $\text{Ca}^{2+}$  válik szabaddá, mely a terminális ciszterna (TC), longitudinális rendszer, és szarkoplazmatikus retikulum membránjának depolarizációja révén abból további  $\text{Ca}^{2+}$  felszabadulását váltja ki. Relaxáció során a  $\text{Ca}^{2+}$  az előbbi helyekre jut vissza.



2. ábra. Az izom felszíni membránjában (szarkolemma és T-tubulus membrán) molekuláris szinten lezajló jelenségek az elektro-mechanikus kuplung működése során (I. BIANCHI 1973). Az izom felszíni membránjához mind az extracelluláris (1), mind az intracelluláris (5) tér felé eső oldalon nyugalomban kalciumban kötődik („S” = stabilizáló, „R” = release kalciumkötő helyek). Depolarizáció hatására a kalcium kötőhelyeiről felszabadul, s helyét egyértékű kationok foglalják el. Ennek során a membrán szerkezete fellazul, permeabilitása fokozódik, s ez lehetővé teszi a depolarizáció alatti kation vándorlást az intracelluláris tér felé. Az „R” kötőhelyről felszabaduló  $\text{Ca}^{2+}$  a TC membránra hatva (depolarizáció) a terminális ciszternából nagy mennyiségű kalcium felszabadulását hozza létre. A kalcium kötődését a membrán átmeneti rétegeiben (2, 4), valamint felszabadulását a depolarizáció alatt, a különböző rétegek dielektromos állandóinak ( $\epsilon$ ) viszonya, ill. megváltozása szabályozza

A T-TC junkció működésére vonatkozóan ugyancsak BIANCHI elmélete ad szemléletes magyarázatot (2. ábra). Eszerint a T-tubulus membrán mindkét oldala kalcium-kötő helyekkel rendelkezik, valószínűleg a membrán alkotásában részt vevő poláris foszfolipidek révén. A külső, lumen felől eső részen a kalcium lekötődve a membránt stabilizálja („S” = stabilizáló-Ca). Depolarizációkor a kalcium helyére monovalens kation kötődik ( $\text{Na}^+$ ), ez a membránt labilis állapotba hozza, s befelé irányuló kation vándorlás (permeabilitás fokozódása) indul meg. Ez utóbbi hatására felszabadul a membrán belső, junkció felé eső felszínéről a kalcium („R” = release-Ca), mely a TC-membránon triggerkénthat, ill. annak depolarizációját hozza létre. Az elmélet szerint a membrán és környezete dielektromos állandójának, ill. az ionvándorlással



összefüggő megváltozásának a kalcium adszorpció — deszorpció létrehozásában alapvető szerepe van.

A T-TC junkció működésének és a kalcium szerepének az előbbieken vázolt mechanizmusa több vonatkozásban még további bizonyítékot igényel. Az alább ismertetendő kísérleteink ehhez a problémához kapcsolódnak.

#### *A kalcium megoszlása (kompartmentalizációja) nyugvó izomban*

A kalcium megoszlását izomban radioaktív kalcium felvételének és kimoshatóságának törvényszerűségei alapján tanulmányoztuk.

Béka muszkulusz szemitendinosuszából készített rostpreparátumot inkubáltunk  $^{45}\text{Ca}$ -ot tartalmazó Ringer-oldatban 120 percig. Ezt követően inaktív Ringert tartalmazó csövekben mostuk az izmot 4 órán keresztül. A mosó folyadékok, valamint az izomban maradó aktivitásnak a meghatározása után féllogaritmikus papíron ún. deszaturációs görbét szerkesztettünk, mely az izomaktivitás csökkenésének a mosás idejétől függő sajátságát mutatta. Ezen görbéket grafikusán elemezve egyenesekre lehetett bontani (ATKINS 1969), melyek feltehetően az izomban elhelyezkedő egyes kalcium tároló helyek törvényszerűségeit tükrözik. Az egyenesek két paramétere az adott tárolóhely 0 percben mutatott aktivitását (a kompartment nagyságát), másrészt a tárolóhelyről a kalcium kicserélődésének a sebességét (felezési idejét) adja meg.

A fenti módon békaizomban 5 különböző kalcium tárolóhelyet sikerült elkülöníteni. Ezek felezési ideje rendre 1.: 0,23; 2.: 1,5; 3.: 5,8; 4.: 19,6 és 5.: 136 percnak adódott és valószínűleg (hasonló sorrendben) megfeleltek az izomrost felületére tapadt, az extracelluláris térben elhelyezkedő, a membránhoz lazábban és erősebben kötődő, valamint az intracelluláris kalciumnak (a  $^{45}\text{Ca}$  megoszlását izomban a 3. ábra első oszlopa mutatja be).

Az izotópkinetikai módszerrel meghatározott kalcium frakcióknak az izomban található kalcium kompartmentekkel történő azonosításánál az alábbi megfigyelésekre támaszkodtunk:

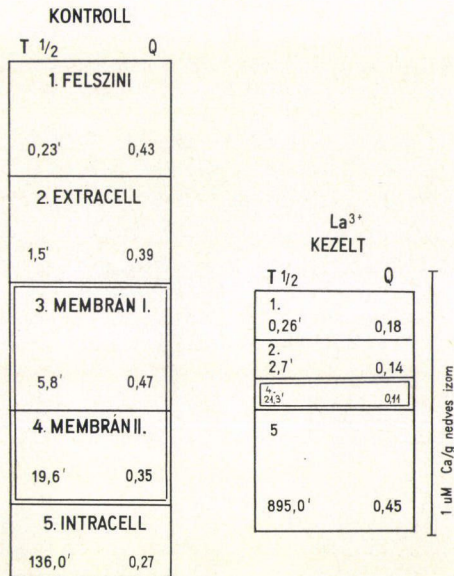
1. Kísérleteinkben a 2. frakció nagysága (19,5%) és felezési ideje (1,5 perc) a kinetikai módszerekkel mért extracelluláris tér meghatározások adataival jól egyezik (kritikai értékelést l. LING 1973).

2. Félig bemetszett izmokban (közvetlen kapcsolat az inkubáló oldat és az intracelluláris tér között) 5 perces aktív oldatban történő inkubálást követően az 5. frakció nagyságát kb. 8-szor nagyobbak találtuk, mint hasonlóan kezelt kontroll izmokon, míg a többi kalcium frakció nagysága változatlan maradt. Nagyon valószínű tehát, hogy az 5. frakció az intracelluláris tér különböző elemeibe került kalciumnak felel meg.

3. 1 mM  $\text{La}^{3+}$  jelenlétében végezve az izotópkinetikai meghatározásokat, a 3. és 4. frakció nagyságának igen erős csökkenését figyeltük meg (3. ábra 2. oszlop adatai). Ezen adat értékelésénél a La ion sajátságaira támaszkodtunk.



Ismeretes, hogy a  $\text{La}^{3+}$  nem jut át a sejthártyákon, s ezen sajátosságai alapján az elektronmikroszkópos technikában mint extracelluláris-tér jelző anyagot alkalmazzák. Másrészt viszont a  $\text{La}^{3+}$  képes a  $\text{Ca}^{2+}$ -ot specifikus kötőhelyeiről leszorítani, mivel ion rádiusza a Ca ionéval csaknem megegyezik, felületi töltéssűrűsége pedig nagyobb. Feltételezhető tehát, hogy a 3. és 4. kalcium frakció az izomrostok felszíni membránjának Ca-kötő helyeit képviseli.



3. ábra.  $^{45}\text{Ca}$  megoszlása béka vázizomban (m. szemitendinozus) nyugalomban kontroll és  $\text{La}^{3+}$ -nal kezelt izmok esetében. Az oszlopdiaagramon az egyes szakaszok magassága a kalcium kompartmentek (1—5) nagyságával ( $Q = \mu\text{M}$  Ca/g nedves izom) arányos. A  $T_{1/2}$  értékek az adott kompartmentből a kalcium kicserélődési sebességét (félidejét) adják meg percben.  $\text{La}^{3+}$  jelenlétében a membránhoz kötött kalcium mennyisége jelentősen csökken

4. GILBERT és FENN (1957)  $^{45}\text{Ca}$  felvételének a sebességét vizsgálták oly módon, hogy az aktív oldatban különböző ideig történő inkubálás után az izmot elroncsolták és a kalciumfelvételre a roncsolt aktivitásából következettek. Az általuk ily módon meghatározott 3 kalcium kompartment telítődésének az időállandója jó közelítéssel megegyezik az általunk mért 1—3 frakció (más módszerrel nyert) időállandóival. Az adatok egyezése ezen kalcium kompartmentek létezését az izomban nagyon valószínűvé teszik.

5. Kb. 40 izommal végzett hasonló kísérlet és azok elemzése alapján a felezési idők viszonylag kis szórást mutattak. Ez a tény az elemzéssel nyert, kompartmentek (modell), és az izomban a kalciumkötő helyek közötti reális összefüggésre utal.

Jelzett kalciummal végzett kísérleteink összességüként megállapíthatjuk, hogy feltehetően az izom felszíni membránjához (szarkolemma + T-tubulus)



jelentős mennyiségű kalcium kötődik, mely az izom össz kalcium-tartalmának hozzávetőleges számítások szerint kb. 40%-át alkotja. Ennek az adatnak értékelésekor figyelembe kell venni, hogy a szarkolemma és T-tubulus membrán összfelülete 1 g nedves izomban mintegy 2100 cm<sup>2</sup> (PEACHEY 1965). A sejtmembránok jelentős kalcium-kötő kapacitására utal KWANT és SEEMAN (1969) adata, akik vörösvértest membránból a száraz membránanyagra számítva (a membrán víztartalma NMR vizsgálatok alapján kb. 30%) 81 mM kalciumot tudott klórpromazinnal felszabadítani. Szívizomban jelentős mennyiségű membránhoz kötött kalcium mutatható ki elektronmikroszkópos vizsgálatokkal is. (LANGER és mtsai 1972). A bevezetőben említett irodalmi adatokkal összhangban feltehető, hogy az általunk talált membrán-kalcium frakciók vesznek részt az elektro-mechanikus kuplung T-TC junkcióban megvalósuló jelenségeinek a létrehozásában. Erre utalnak K<sup>+</sup> és koffein kontraktúrák sajátságainak tanulmányozására végzett kísérleteink is.

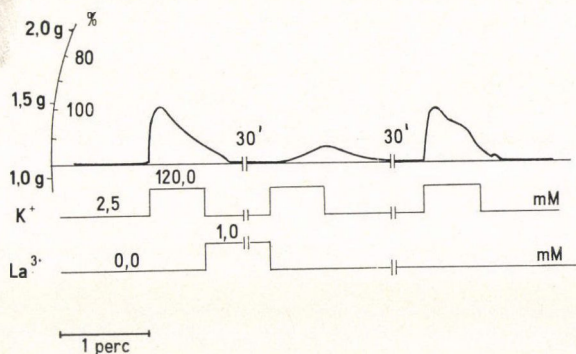
#### *La<sup>3+</sup> hatása a magas K-tartalmú oldattal kiváltott izomkontraktúrákra*

A K-kontraktúrákat szemitendinózus rostcsoporton izotóniás (120 mM) K-oldattal váltottuk ki, miközben az izmokat Sartórius-edényben rögzítettük. A kontraktúrákat ún. torziós írókar segítségével regisztráltuk kormozott papíron. Körülményeink között az izmok kontraktúrája gyakorlatilag (bár a torziós szál megfeszülése következtében az izmok feszülése mérsékelten változott) izotóniásnak tekinthető. Az egyes kontraktúrák kiváltásakor a magas K-oldatot 40 másodpercig alkalmaztuk, majd az izmokat normál Ringerrel mostuk. 30 perces mosásokat közbeiktatva az izmokon 15–20 kontraktúrát változatlan nagyságban és jelleggel ki tudtunk váltani.

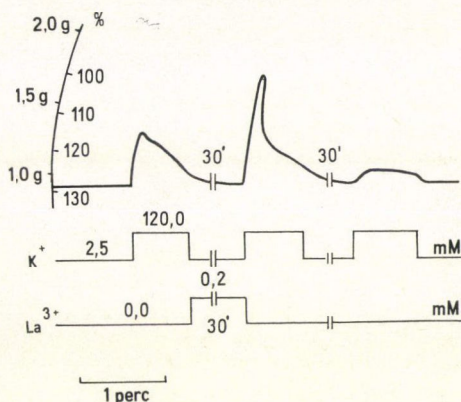
1 mM La<sup>3+</sup> tartalmú oldatban 30 percig inkubált izmokon magas K-tartalmú oldat hatására a kontraktúrák nagysága és kifejlődési sebessége igen erősen lecsökkent, gyakorlatilag a kontraktúra blokkja volt megfigyelhető (elektro-mechanikus blokk). A La<sup>3+</sup>-tartalmú oldat kimosása után (normál Ringerrel 30 percig) a K-kontraktúra eredeti formájában ismét kiváltható volt (4. ábra). Adott körülmények között a La<sup>3+</sup> hatása tehát reverzibilisnek bizonyult.

Ha a Ringer-oldat 1 mM helyett 0,1–0,3 mM La<sup>3+</sup>-t tartalmazott, a 30 perces inkubálást követően a K-kontraktúrának mind a kifejlődési sebessége, mind pedig amplitúdója jelentősen növekedett (5. ábra). Ezzel párhuzamosan megnőtt a spontán relaxáció sebessége is. A potencírozott K-kontraktúra után azonban újabb K-kontraktúrát nem tudtunk kiváltani akkor sem, ha a mosásra alkalmazott normál Ringer 0,2 mM EGTA-t is tartalmazott. Ha viszont az EGTA-s mosást a La<sup>3+</sup>-nal történő inkubálás után, de a K-oldat hozzáadása előtt végeztük, mind a potencírozó, mind az azt követő blokkoló hatás elmaradt (6. ábra). Mint a <sup>45</sup>Ca-mal végzett kísérletek is bizonyítják,





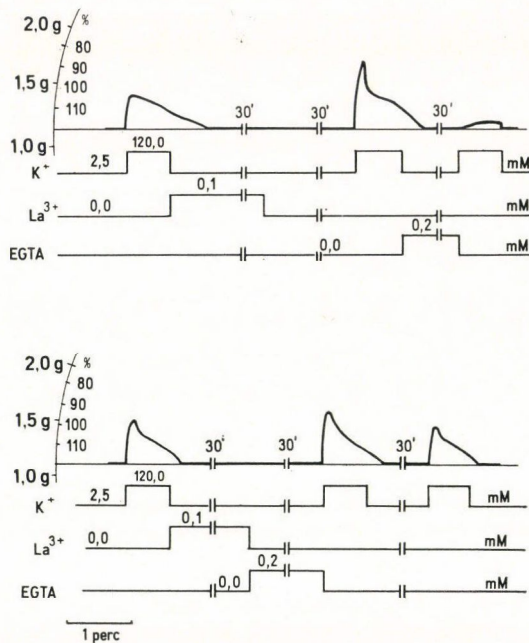
4. ábra. 1 mM  $\text{La}^{3+}$  hatása az izom K-kontraktúrájára. Az ábrán az ordinátán az izom hossz- és feszültségváltozásai értékeit tüntettük fel az izomhossz relatív %-ában, ill. g-ban, az abszcissza az időtengely. Az ábra magyarázatát l. a szövegben



5. ábra. 0,2 mM  $\text{La}^{3+}$  hatása az izom K-kontraktúrájára. A koordináták jelölése a 4. ábráéval azonos. Az ábra magyarázatát l. a szövegben

a kalciummal közel azonos koncentrációban alkalmazott  $\text{La}^{3+}$  a felszíni kötőhelyekről a kalciumot képes leszorítani, ezáltal feltehetően a membránt oly módon stabilizálja, hogy a depolarizáció hatását nem engedi érvényre jutni. Mivel azonban ilyen körülmények között a  $\text{La}^{3+}$  nem jut az intracelluláris térbe, hatása kimosható, reverzibilis.

Kisebb koncentrációban alkalmazott  $\text{La}^{3+}$  esetében a felszíni („S”) kalciumkötő helyeken a  $\text{La}^{3+}$  csak részben helyettesíti a  $\text{Ca}^{2+}$ -ot, s a kötőhelyek egy részéhez továbbra is kalcium kötődik. Az ilyenkor alkalmazott magas K-tartalmú oldat (depolarizáció) hatására a membrán fellazulása és a depolarizáció hatásának kifejlődése nemcsak megmarad, de azt az adott körülmények (esetleg a  $\text{La}^{3+}$ -nak ilyen körülmények között a T-tubulus membránon át a T-TC junctionális részbe történő beáramlása, és az „R”-kötőhelyen tárolt kalciumnak fokozott leszorítása) még fokozzák is. A feltételezett La-mozgás mellett szól az a tény, hogy a potenciózott K-kontraktúrát követően irreverzibilis E-M blokk alakul ki, melyet még EGTA-s mosással sem lehetett megszüntetni.



6. ábra. 0,2 mM EGTA tartalmú oldattal történő mosás befolyása  $\text{La}^{3+}$  által létrehozott kétfázisú izomhatásra. Az ábra magyarázatát l. a szövegben

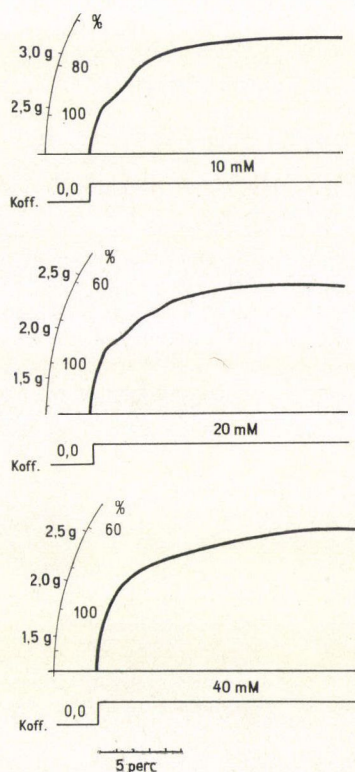
#### Magas koffeintartalmú Ringer-oldat hatása az izmokon

A fenti regisztrálási körülmények között normál Ringerhez 5–40 mM töménységben alkalmazott koffeinnek ún. koffein-kontraktúrákat váltottunk ki. A kontraktúrák 5–7 mM koffein töménység mellett változó alakot mutattak, s részben reverzibilisek voltak. 10 mM koffein alkalmazásakor a kontraktúrák alakja hasonlóvá vált különböző izmokon, az egyes izmokon azonban csak egy-egy kontraktúrát tudtunk kiváltani. Nem változott a kontraktúrák jellege 20, ill. 40 mM koffein alkalmazása esetén sem (7. ábra).

Megváltozott, két fázisra különült el a koffein-kontraktúra, ha a koffeint 1–10 perccel egy előzetes K-kontraktúra lezajlása, és a K-oldat kimosása után alkalmaztuk. A kezdeti gyors kontraktúra után az izmok részlegesen relaxáltak, majd kontraktúrájuk tovább fokozódott. A két fázis elkülönülése a K-kontraktúrát követő 30. percben már nem volt megfigyelhető (8. ábra). A jelenség magyarázatára feltételezzük, hogy a koffein támadáspontja kettős, gyors hatását valószínűleg a T-membránon, vagy a T-TC junkcióban fejt ki oly módon, hogy a junkció működését aktiválja. Lassabban kifejlődő hatása valószínűleg az intracelluláris kalcium tároló helyeket károsító hatással függ össze. 10 mM koffein az SR jelentős duzzadását, membránstruktúrájának a fellazulását hozza létre, s ennek során valószínűleg az SR-ben tárolt kalcium az intracelluláris térbe jut (UHRİK és mtsa 1968, HUDDART 1972). Erőteljes és irrevezibilis hatása ily módon érthető.



Más módon változott a koffein-kontraktúrák jellege, ha a magas K-tartalmú oldatot a koffein alkalmazásának idejéig, sőt azt követően is az izmokon hagytuk. Ha a koffeint 5 perccel a magas K-oldat hozzáadása után alkalmaztuk, a gyors fázis kifejlődésének a sebessége és nagysága jelentősen csökkent, megnyúlt a 2. fázis kifejlődésének a sebessége is. 30–60 perc után azonban ezek az izmok is maximálisan összehúzódtak (9. ábra).

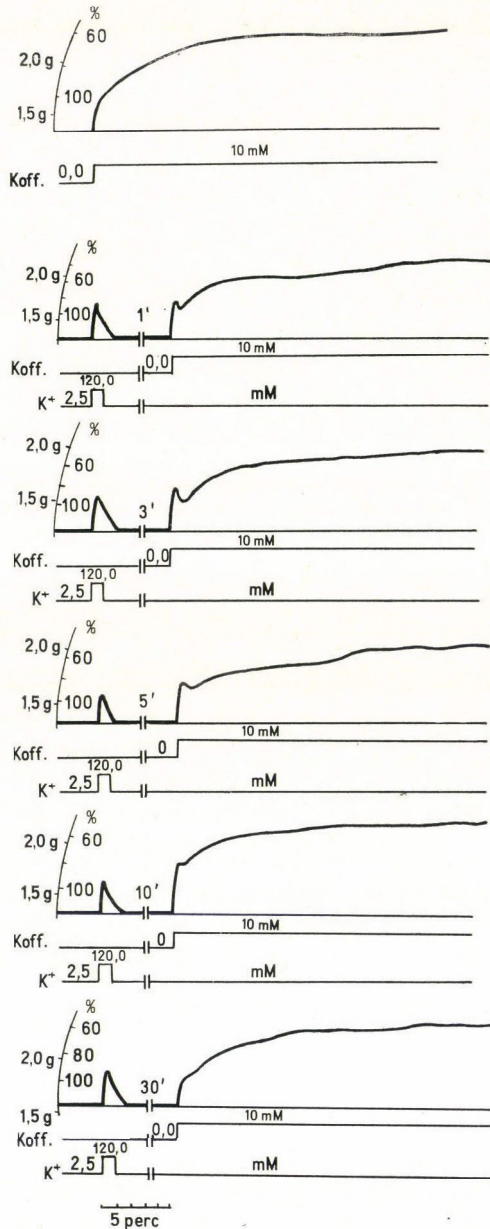


7. ábra. Különböző koncentrációjú koffeinnel kiváltott izomkontraktúrák összehasonlítása. Az ábrán a jelölések a 4. ábráéval azonosak. Az ábra magyarázatát l. a szövegben

A koffein-kontraktúrák hasonló torzulását nem észleltük abban az esetben, ha a magas K-tartalmú oldat  $\text{Cl}^-$  helyett (jól penetráló anion) nem penetráló  $\text{SO}_4$ , v. glükoronát sójában alkalmaztuk a káliumot. A jelenség feltehetően összefügg a KCl oldatban történő igen kifejezett (3 óra alatt közel 200%-os) izomduzzadással, annak ellenére, hogy a KCl oldatban 10 perc alatt a duzzadás még nem jelentős.

Valószínű, hogy K-depolarizáció alatt  $\text{Cl}^-$  jelenlétében már 10 percen belül olyan struktúrák károsodnak, melyek a koffein-kontraktúrák első és részben második fázisának kifejlődéséért felelősek.

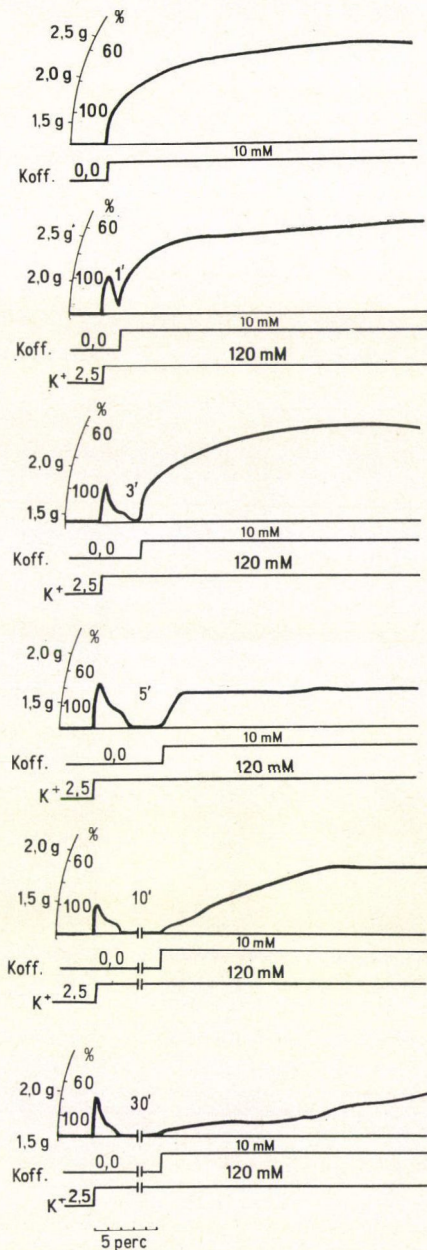




8. ábra. A koffein-kontraktúra két fázisának elkülönülése előzetesen kiváltott K-kontraktúrát követően

Az ismertetett kísérletek arra utalnak, hogy a koffeinnek korábbi feltételezésekkel összhangban kettős támadáspontja van, ezek közül az egyik felzínesebb, és valószínűleg összefügg a T-TC junctionnak a struktúrájával.





9. ábra. K-depolarizáció alatt létrehozott koffein-kontraktúrák alakjának összehasonlítása a depolarizáció idejének a függvényében

Kísérleteink elsősorban a béka vázizmának T-TC juncióinak működésére vonatkozóan szolgáltatnak újabb adatokat. Bizonyítottnak tekinthető, hogy



1. a felszíni membránstruktúrákhoz (a T-tubulusok felszínének jelentős része, kb. 20—50%; FRANZINI—ARMSTRONG 1970, részt vesz a T-TC junkciók alkotásában) jelentős mennyiségű kalcium kötődik, ezek az extracelluláris térrel gyorsan (5—20 perces felezési idő) cserélődnek, és részt vesznek az elektro-mechanikus kuplung E-Ca részének funkciójában;

2. a felszíni membránkalcium valószínűleg két különböző helyre (két különböző cserélődési sebességgel) kötődik, s valószínűleg azonosíthatók a BIANCHI-elmélet „S” és „R” kalcium kötő helyeivel. Kísérleteink (1, ill. 0,1—0,3 mM  $\text{La}^{3+}$ ) arra utalnak, hogy e két kalcium kötőhely funkciója eltérő, s azonosítható azzal amit részben BIANCHI, részben HODGKIN és HOROWITZ, valamint CAPUTO feltételezett. Az ún. „R” kötőhely azonos az aktivátor kalciummal, melynek kimerülése (kifogyása) az izom relaxációjához, ill. pl.  $\text{La}^{3+}$ -nal történő helyettesítése irreverzibilis E-M kuplung blokkhoz vezet;

3.  $^{45}\text{Ca}$ -mal végzett kísérleteink 3. frakciója valószínűleg azonos az „S”-Ca-mal, melynek hiánya (alacsony kalciumtartalmú Ringer) megakadályozza az „R” kalcium funkcióját, s amelyet egyéb bivalens ionokkal (l. FRANK 1960), ill.  $\text{La}^{3+}$ -nal helyettesíteni lehet;

4. a koffein támadáspontja kettős, gyors hatását valószínűleg a T-tubulusok membránjához kötődő kalcium felszabadítása révén fejt ki. Ezen kötőhelyen kifejtett hatása  $\text{Cl}^-$  jelenlétére érzékeny, és valószínűleg összefügg az ilyen körülmények között ezen struktúrákban végbemenő (ozmotikus) károsodásokkal.

#### IRODALOM

- ATKINS, G. L.: Multicompartment models for biological systems. Methuen Co. Ltd. London (1969).
- AXELSSON, J.: in: Bülbbring, E., Brading, F. B., Jones, A. W. és Tomita, T. (kiadók): Smooth muscle, Edward Arnold Ltd. (1970).
- BEZANILLA, F., CAPUTO, C., GONZALES-SERROTOS, H., VENOSA, R. A.: J. Physiol. **223**, 507 (1972).
- BIANCHI, C. P.: Cell Calcium. Butterworth (1968).
- BIANCHI, C. P.: Fed. Proc. **28**, 1624 (1969).
- BIANCHI, C. P.: in Dikstein, S., (kiadó): Fundamentals of cell pharmacology. Charles C. Thomas. 454 o. (1973).
- CAPUTO, C.: J. Physiol. **223**, 461 (1972).
- FRANK, G. B.: J. Physiol. **151**, 518 (1960).
- FRANK, G. B.: J. Physiol. **163**, 254 (1962).
- FRANZINI-ARMSTRONG, C.: J. Cell Biol. **47**, 488 (1970).
- GILBERT, D. I., FENN, O.: J. Gen. Physiol. **40**, 393 (1957).
- HAGIWARA, S.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **137**, 1015 (1966).
- HEILBRUNN, L. V.: Physiol. Zool. **13**, 88 (1940).
- HODGKIN, A. L., HOROWITZ, P.: J. Physiol. **153**, 370 (1960).
- HUDDART, D.: Comp. Biochem. Physiol. **43A**, 369 (1972).
- KÖVÉR A., SZABOLCS M.: MTA Biológiai Osztály Közleményei **18**, 1 (1975).
- KWANT, W. O., SEEMAN, P.: Biochim. Biophys. Acta **193**, 338 (1969).
- LANGER, G. A., FRANK, J. S.: J. Cell Biol. **54**, 441 (1972).
- LING, G. N., MILLER, C., OCHSENFELD, M. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **204**, 6 (1973).
- PEACHEY, L. D.: J. Cell Biol. **25**, 209 (1965).
- PORTZEHL, H., CALDWELL, C. P., RÜEGG, J. C.: Biochem. Biophys. Acta, **79**, 581 (1964).
- SANDOW, A.: Annual Rev. Physiol. **32**, 87 (1970).
- UHRİK, B., ZACHAROVA, D.: Proc. Czechoslov. Physiol. Soc. 496 o. (1968).