

Динаміка розвитку мембранного потенціалу м'язових волокон в ранньому онтогенезі

С. І. Фудель-Осипова і О. А. Мартиненко

Лабораторія біології Інституту геронтології та експериментальної патології Академії медичних наук СРСР, Київ

За допомогою методу внутріклітинного відведення електричних потенціалів м'язових і нервових клітин одержано докладні відомості про фізико-хімічні властивості клітини та її мембрани. Всі дослідження мембранного потенціалу м'язових волокон були проведені на дорослих холоднокровних (П. Г. Костюк, А. І. Шаповалов, П. А. Курелло та інші) і теплокровних тваринах (Чон-Лунді, Лі Чон-лу).

В ранньому онтогенезі в період розвитку і формування основних життєвих властивостей теплокровних мембранний потенціал не вивчали. З численних досліджень (І. А. Аршавський, І. М. Вул, В. Д. Розанова та інші) видно, що деякі основні показники подразливості в перші дві декади постнатального розвитку перебувають в стадії формування. Можна припустити, що і мембранний потенціал у цей період ще не набув свого повного розвитку.

Ми поставили перед собою завдання з'ясувати величину мембранного потенціалу м'язових волокон при народженні тварин і, якщо вона відмінна від аналогічних показників у дорослої тварини, то в який строк постнатального розвитку ці величини стають однаковими.

Методика досліджень

Дослідження були проведені на 115 білих щурах, віком від одного до 20 днів. Під загальним уретановим наркозом у щура розкривали *m. semimembranosus* в його вентральній частині, або ж *m. gracilis*. Внутріклітинне відведення потенціалів здійснювали скляними мікроелектродами, виготовленими із скла «пірекс», з діаметром кінчика менше одного мікрона, заповненим 2,5 м розчином KCl. Були використані електроди з опором 6–10 Мом.

Мікроелектрод через агаровий місток з'єднували із сіткою вхідного каскаду, зібраного за схемою катодного повторювача (Бизов і Бонгард), а останній через підсилювач постійного струму з двоканальним осцилоскопом. Другий неполяризований «індиферентний» електрод вміщували в теплий розчин Рінгера — Локка (35–37°), що вкривав м'яз. Чутливість установки — 10 мВ/см.

В кожному м'язі проводили від 40 до 50 вимірів мембранного потенціалу, а потім визначали його середні показники для кожної тварини окремо. Всі одержані дані були статистично оброблені, для кожного вікового періоду була обчислена середня величина мембранного потенціалу і визначене середнє квадратичне відхилення.

У дорослих *m. semimembranosus* потенціал щуреняти, він то був майже в чого щура. Мембрані введенні мікроелектродами

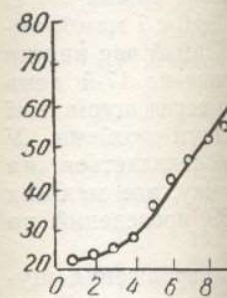


Рис. 1. Динаміка формування мембранного потенціалу в перші дві декади розвитку щури.

По горизонталі — вік щуреняти, по вертикалі — величина мембранного потенціалу.

до нуля. В деяких випадках було спостерігати

На другий день розвитку мембранний потенціал дещо збільшився, а на третій день він збільшився на 10 мВ порівнянні з першим стрибком у величині мембранного потенціалу спостерігалися в перший день розвитку, коли він становив 36,3 мВ і був на 10 мВ при народженні. Мембранний потенціал збільшувався до 3–6 мВ, на 10–15 мВ, а щура він втричі перевищував показники при народженні, що видно з табл. 1. Мембранний потенціал в перший день постнатального розвитку становив таку саму величину, як і в дорослої тварини.

На 15-й день розвитку в наступні дні, а саме на 83,0 мВ, що, за нашими даними, є нормою для щурів. На рис. 1 показана динаміка мембранного потенціалу м'язового волокна.

Результати досліджень

У дорослих щурів мембранний потенціал, визначений нами в *m. semimembranosus*, був у межах 78,5—83,5 мв. Мембранний потенціал щуреняти, виміряний в день народження, становив 23,4 мв., тобто був майже в чотири рази нижче мембранного потенціалу дорослого щура. Мембранний потенціал у цьому віці досить нестійкий, при введенні мікроелектрода він швидко, на протязі кількох секунд, падає

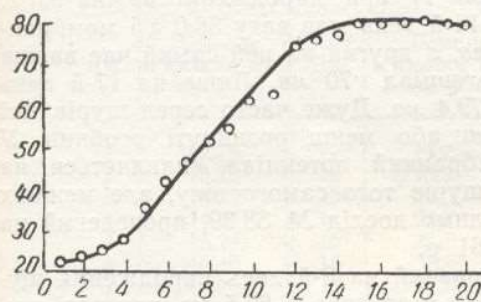


Рис. 1. Динаміка формування мембранного потенціалу в перші дві декади постнатального розвитку.

По горизонталі — вік щурів в днях; по вертикалі — величина мембранного потенціалу в мілівольтах.

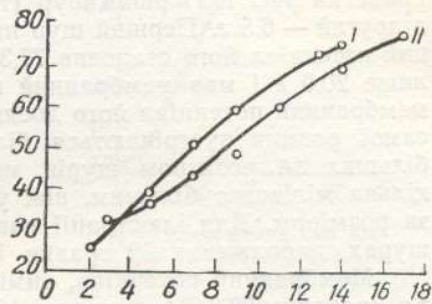


Рис. 2. Розвиток мембранного потенціалу у щурів двох родин.

По горизонталі — вік щурів в днях; по вертикалі — мембранний потенціал в мілівольтах. Крива I — фізично розвинені щури; крива II — малорозвинені щури.

до нуля. В деяких випадках при цих маніпуляціях на екрані можна було спостерігати швидкі невеликі пікові потенціали.

На другий день постнатального розвитку мембранний потенціал дещо збільшився (на 1,5 мв) і залишився майже однаковим (+0,1 мв) і на третій день. На четвертий день він збільшився на 4,7 мв, в порівнянні з першим днем. Значний стрибок у величині мембранного потенціалу спостерігався на п'ятий день розвитку, коли він становив 36,3 мв і був на 13 мв більшим, ніж при народженні. На сьомий день мембранний потенціал подвоївся, а потім, збільшуючись щоденно на 3—6 мв, на 10—11-й день життя щура він втричі перевищував ці показники при народженні тварини, що видно з табл. 1. На 12—14-й день постнатального розвитку мембранний потенціал щурів досягає майже

такої самої величини, як і у дорослих щурів, а саме 75,0—77,3 мв.

На 15-й день закінчується формування мембранного потенціалу і в наступні дні, аж до 20-го дня, він не змінюється, становлячи 80,3—83,0 мв, що, за нашими даними, властиве м'язовим волокнам дорослих щурів. На рис. 1 наведена динаміка формування мембранного потенціалу м'язового волокна в перші дві декади постнатального розвитку.

Таблиця 1

Величина мембранного потенціалу м'язового волокна щурів в перші 20 днів постнатального розвитку

Дні	Мембранний потенціал в мв	Дні	Мембранний потенціал в мв
1	23,4±1,2	11	63,3±2,8
2	24,9±1,8	12	75,1±0,03
3	25,0±0,6	13	75,0±1,8
4	28,1±1,4	14	77,3±0,5
5	36,3±1,5	15	80,7
6	43,3±3,4	16	79,5
7	47,5±0,8	17	79,0
8	52,5±2,5	18	80,8
9	55,6±1,1	19	80,0
10	62,1±2,1	20	80,0

Ми звернули увагу на те, що мембранний потенціал у щурів одного віку, але різних родин, неоднаковий. Чим більший щур при народженні, тим, звичайно, швидше відбуваються його загальний розвиток, покриття шерстю і відкриття очей. У щурів, які швидко розвиваються, формування мембранного потенціалу закінчується трохи раніше, ніж у щурів, що розвиваються повільніше. Це видно з рис. 2. В першому випадку крива формування мембранного потенціалу більш стрімка, ніж в другому, проте вони обидві мають такий самий характер, як і крива на рис. 1. Перший щур (табл. 1) при народженні важив 8,5 г, а другий — 6,5 г. Перший щур на 14-й день мав вагу 38,0 г і мембранний потенціал його становив 77,3 мв, а другий на цей самий час важив лише 20,0 г і мав мембранний потенціал 70 мв. Лише на 17-й день мембранний потенціал його досяг 79,4 мв. Дуже часто серед щурів тієї самої родини зустрічаються більш або менш розвинуті особини. У більших за розміром щурів мембранний потенціал виявляється на кілька мілівольт більшим, ніж у щурів того самого віку, але менших за розміром. Для ілюстрації наводимо дослід № 38,39, проведений на щурах, народжених 12 травня 1961 р.

Мембранний потенціал, вимірюваний на 9-й день народження щура, становив 56,8 мв. при вазі 16,5 г, у другого — 62,5 мв при вазі щура 23 г. Отже, у щура більшої ваги мембранний потенціал виявився вищим.

Як було відзначено раніше, мембранний потенціал у новонароджених щурів дуже нестійкий, внаслідок чого його вимірювання ускладнюється. Повторне введення мікроелектрода в те саме місце, як і при визначенні мембранного потенціалу у дорослих тварин, у новонароджених щурів викликає швидке падіння його. В перші дні народження (перший — третій дні) мембранний потенціал швидко падає при першому ж вимірюванні, тому повторне визначення потенціалу того самого волокна неможливе. У старіших щурів в деяких випадках можна виміряти мембранний потенціал при повторному введенні мікроелектрода, але, як правило, вдруге визначений мембранний потенціал буде трохи нижчий, ніж початковий. І лише тоді, коли мембранний потенціал досягав 50—60 мв., що відповідає 9—10-му дню постнатального розвитку, його показники стали більш стабільними і при повторному визначенні потенціалу в тому самому волокні вони були вже стійкими.

В процесі роботи, в міру виявлення постійного росту мембранного потенціалу, виникло питання, чи існує зв'язок між збільшенням величини м'язового потенціалу і ростом м'язових волокон? Безумовно, м'язове волокно в цей ранній період після народження швидко росте і, як відомо, його функціональні властивості формуються саме в цей період постнатального розвитку. Тому ми почали вимірювати діаметр м'язового волокна кожного м'яза, над яким проводили електрофізіологічне дослідження. Після визначення мембранного потенціалу м'яз вирізали і під бінокулярною лупою проводили розщеплення його на окремі волокна, діаметр яких вимірювали за допомогою окулярмікрометра. Одержані при цьому показники обробляли статистичним методом.

Виявилось, що діаметр м'язового волокна новонароджених щурів становить 12,75 мк. В цих маленьких м'язових волокнах мембранний потенціал, як було відзначено раніше, виявився нестійким. З ростом щура збільшувалась і товщина м'язового волокна (табл. 2). Таблиця показує поступове збільшення діаметра м'язового волокна, який на 15-й день становить 25,3 мк, тобто товщина волокна вдвоє більша, ніж в перший день постнатального розвитку. Якщо порівняти величину мембранного потенціалу з діаметром м'язового волокна, як це показано на

рис. 3, то тального новить 80 змінюється

Змін
в

Дні

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

день діаметр паралельна а ріст м'язових волокон щось до 1, волокна ст величина з спостерігає локон.

Отже, відповідні потенціалу збільшується свого м'язового в 1/4 частині. Отже, величина м'язового потенціалу в декілька десятиріч організму тварини.

Виникає особливості розвитку власного тварини ми в і котенят.

В цих величинах м'язових волокон тварин виявляється, що в народжених котенят м'язового волокна становить 14,5 мк. І

рис. 3, то ясно видно їх паралельний розвиток до 15-го дня постнатального розвитку. Проте на 15-й день мембранний потенціал вже становить 80,7 мв, (як у дорослих тварин) і надалі його величина вже не змінюється. М'язові волокна (рис. 3) продовжують рости, і на 20-й

Таблиця 2
Зміни діаметра м'язового волокна щурів
в перші 20 днів постнатального
розвитку

Дні	Діаметр м'язового во- локна в мк	Дні	Діаметр м'язового во- локна в мк
1	12,75	11	19,2
2	13,25	12	19,9
3	14,20	13	20,3
4	14,35	14	22,7
5	15,29	15	25,3
6	16,40	16	25,85
7	16,96	17	27,0
8	17,72	18	27,5
9	18,98	19	28,05
10	18,98	20	29,15

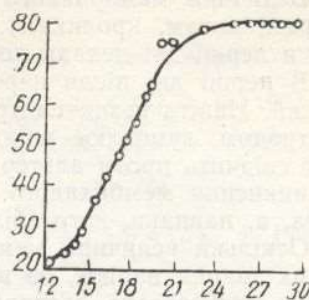


Рис. 3. Відношення між діаметром м'язового волокна і величиною мембранного потенціалу.

По горизонталі — діаметр м'язового волокна в мікронах; по вертикалі — величина мембранного потенціалу в мілівольтах.

день діаметр їх досягає 30 мк. Крива на графіку в даному випадку паралельна абсцисі, оскільки мембранний потенціал вже не змінюється, а ріст м'язових волокон триває. При вимірюванні діаметра м'язових волокон щурів різного віку було встановлено, що його ріст продовжується до 1,5 року. Так, у щурів двох-трьох місяців діаметр м'язового волокна становить 40—70 мк, а в 1,5 року — 80—100 мк. Надалі ця величина зберігається постійною і тільки в останнє півріччя життя спостерігається поступове незначне зменшення діаметра м'язових волокон.

Отже, якщо в перші дні після народження щура спостерігається відповідність між величиною діаметра м'язових волокон і мембранним потенціалом, то на 15-й день його життя виникає розбіжність, яка збільшується з віком тварини. На 15-й день мембранний потенціал досягає свого максимального і постійного показника — 80,5 мв, а діаметр м'язового волокна в цей період становить 25,3 мк, тобто дорівнює $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ частині величини, яка властива м'язовим волокнам дорослого щура. Отже, величина мембранного потенціалу не визначається розмірами м'язового волокна і зв'язок між ними, який спостерігається в перші декади постнатального розвитку, пояснюється загальним розвитком організму в цей період.

Виникає питання, чи є такий мембранний потенціал характерною особливістю новонароджених щурів, чи ці закономірності його розвитку властиві також і ссавцям інших видів? Для з'ясування цього питання ми визначали мембранний потенціал у новонароджених кроленят і котенят.

В цих дослідках були встановлені аналогічні закономірності, проте величина мембранного потенціалу і діаметр м'язових волокон у цих тварин виявились більшими, ніж у новонароджених щурів. Так у одностатевих кроленят мембранний потенціал становить 47,6 мв, а діаметр м'язового волокна — 16,4 мк; у одностатевих котенят відповідно 28 мв і 14,5 мк. Незважаючи на різницю у величині мембранного потенціалу,

він у них формується в перші дві декади постнатального періоду і досягає тієї ж абсолютної величини 80 мв на 15-й день.

Обговорення результатів досліджень

Величина мембранного потенціалу, властива дорослим тваринам (щурам, котам, кроликам), як показали наші дослідження, формується в перші дві декади постнатального розвитку.

В перші дні після народження мембранний потенціал досить нестійкий. Навіть незначна травма м'язового волокна, викликана мікроелектродом, зумовлює швидке падіння мембранного потенціалу. Цей факт свідчить проти альтераційної теорії, за якою слід було б чекати не зникнення мембранного потенціалу при ушкодженні м'язового волокна, а, навпаки, його збільшення.

Оскільки величина мембранного потенціалу м'язових волокон дорослих тварин варіює, то виникає питання, чи не відіграє при цьому певної ролі розмір м'язового волокна. Сорокіна (1959) в дослідях на жабах не виявила взаємозв'язку між величиною м'язового волокна і мембранним потенціалом. З наших дослідів цілком ясно, що діаметр м'язового волокна не зумовлює величини мембранного потенціалу.

Мембранний потенціал, формуючись на 20-й день постнатального розвитку, залишається і надалі незмінним, тоді як м'язове волокно продовжує збільшуватись до 1,5 року.

Чим можна пояснити поступове становлення мембранного потенціалу в ранньому онтогенезі? На це питання тепер відповісти важко. З багатьох праць І. М. Буланкіна, В. М. Нікітіна та ін. відомо, що в перший період постнатального розвитку (протягом двох тижнів) біохімізм тканини, в тому числі і м'язів, не такий, як у дорослих тварин. За даними Н. А. Ревського, Б. Ньюмена, А. Гороніка, кількість енергії, що утворюється при окисненні та гліколізі в перші дні після народження, визначена в мозку морських свинок, значно менша, ніж у дорослих тварин. Є вказівки на різницю у вмісті електролітів (Na, K, Cl, P) в тканинах і міжтканинній рідині у новонароджених (Лоурі та ін.).

Невідомо, які саме ланки обміну речовин або співвідношення між позаклітинним і внутріклітинним вмістом електролітів зумовлюють незначну поляризацію м'язового волокна при народженні, але ясно, що поляризація мембрани розвивається одночасно з загальним розвитком і становленням основних життєвих функцій організму.

Висновки

1. Величина мембранного потенціалу у одноденних щурів становить $23,4 \pm 1,2$ мв, і в чотири рази менша, ніж у дорослих тварин.

2. Формування мембранного потенціалу м'язового волокна у теплокровних тварин (щурів, кроликів, котів) відбувається на протязі перших двох декад постнатального розвитку і закінчується до 15—20-го дня.

3. В перші дні після народження мембранний потенціал досить нестійкий і навіть незначні порушення цілості м'язового волокна викликають зниження мембранного потенціалу.

4. Величина мембранного потенціалу не залежить від діаметра м'язового волокна. Мембранний потенціал м'язового волокна на 15-й день постнатального розвитку досягає максимуму, властивого дорослій тварині, тоді як діаметр м'язового волокна в цей період в чотири рази менший, ніж діаметр м'язового волокна дорослої тварини.

5. Формування зичним розвити процесів у пер

Аршавск
1939, 629.
Бызов А.
Вул И. М.
Костюк
Курелло
Сорокин
Шаповал
Choh-Lu
135, 1957, 522.
Li Choh
Lowry O.
J. Biol. Chem., 14
Reisky H.

Динамика

Лаборатория б

У 155 бел
проведено изм
(m. semimembr
метр мышечны
обрабатаны.

В день роз
сенка составля
потенциала взр
постнатального
мому дню уве
чины мембран
(78,5—83,5 мв)
выше был его
вающихся бис
веса), мембран
личины, чем у

Мембранны
но нестойким,
тотчас вызыва
терационной те

Диаметр
12,75 микрон;
нейший рост м
к полутора го
Таким образом

5. Формування мембранного потенціалу пов'язане із загальним фізичним розвитком тварини і становленням її основних фізіологічних процесів у перші декади після народження.

ЛІТЕРАТУРА

- Аршавский И. А. и Розанова В. Д., Физиол. журн. СССР, 26 1939, 629.
Бызов А. Л., Бонгард М. М., Физиол. журн. СССР, 45, 1959, 110.
Вул И. М., Бюлл. exper. биол. и мед., 3, 1937, 326.
Костюк П. Г., Биофизика, 2, 1957, 401; 3, 1958, 274.
Курелло Г. А., Биофизика, 3, 1958, 614.
Сорокіна З. О., Фізіол. журн. АН УРСР, 4, 1959, 451.
Шаповалов А. И., Биофизика, 2, 1961, 187.
Choh-Lundi, Milton G., Shy and Jay Wells, J. Physiol., 135, 1957, 522.
Li Choh-lun, Amer. J. Physiol., 194, 1958, 200.
Lowry O. H., Hastings A. B., Hull T. Z., Brown A. N., J. Biol. Chem., 143, 1942, 271.
Refsky H. A., Newman B., Horonich A., J. Geront., 7, 1952, 38.

Надійшла до редакції
16. X 1961 р.

Динамика развития мембранного потенциала мышечных волокон в раннем онтогенезе

С. И. Фудель-Осипова и О. А. Мартыненко

Лаборатория биологии Института геронтологии и экспериментальной патологии
Академии медицинских наук СССР, Киев

Резюме

У 155 белых крыс в возрасте от одного до двадцати дней было проведено измерение мембранного потенциала в мышечных волокнах (m. semimembranosus, m. gracilis) и в тех же мышцах определялся диаметр мышечных волокон. Все полученные данные были статистически обработаны.

В день рождения мембранный потенциал мышечных волокон крысенка составлял 23,4 мв, т. е. почти в четыре раза меньше мембранного потенциала взрослой крысы, равного 78,5—83,5 мв. В последующие дни постнатального развития мембранный потенциал возрастал и к седьмому дню увеличился вдвое (47,0 мв), а к 15-му дню достигал величины мембранного потенциала мышечных волокон взрослой крысы (78,5—83,5 мв). Чем более физически был развит новорожденный, тем выше был его мембранный потенциал при рождении. У крысят, развивающихся быстрее (появление шерсти, открытие глаз, прибавление веса), мембранный потенциал раньше достигал своей максимальной величины, чем у крысят физически более отсталых.

Мембранный потенциал в первые дни после рождения был довольно нестойким, незначительное повреждение волокна микроэлектродом тотчас вызывало падение потенциала, что свидетельствует против альтерационной теории.

Диаметр мышечного волокна новорожденных крысят составлял 12,75 микрон; на пятнадцатый день он удваивался до 25,3 мк. Дальнейший рост мышечного волокна продолжался и заканчивался лишь к полутора годам, когда диаметр волокна достигал 80—100 микрон. Таким образом, связи между величиной мышечного волокна и мем-

бранним потенціалом нет, поскольку последний на 15-й день соответствовал мембранному потенциалу взрослого животного, а диаметр мышечного волокна в этот период составлял лишь $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ величины взрослого.

Крольчата и котята рождаются также с низким мембранным потенциалом, у первых он равен 47,6 мв, а у вторых — 28,0 мв. Свое формирование мембранный потенциал заканчивает у тех и у других, так же как и у крысят, к 15-му дню, достигая постоянной величины в 80,8 мв.

Формирование мембранного потенциала связано с общим физическим развитием животного и становлением его основных физиологических процессов в первые декады после рождения.

Dynamics of Development of the Membranous Potential of Muscle Fibres in Early Ontogeny

S. I. Fudel-Osipova and O. A. Martynenko

Laboratory of biology of the Institute of Gerontology and Experimental Pathology of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

Summary

The membranous potential was measured in the muscle fibres (of *m. semimembranosus* and *m. gracilis*) in 155 albino rats varying in age from one to twenty days, and the diameter of the muscle fibres was determined in the same muscles.

On the day of birth the membranous potential of the rat muscle fibres comprised 23.4 mv, i. e. almost four times less than that of adult rats which equals 78.5—83.5 mv. In the following days of postnatal development the membranous potential increased and rose to twice the initial level by the seventh day (47.0 mv), and by the 15th day attained the magnitude of the membranous potential of the muscle fibres of the adult rat. The better the physical development of the new-born animal, the higher its membranous potential at birth. In rats which developed more rapidly (appearance of fur, opening of the eyes, gain in weight) the membranous potential sooner attained its maximum value, than in rats lagging behind in physical development.

The membranous potential was rather unstable during the first days after birth; slight injuries to the fibre by the microelectrode gave rise immediately to a fall in potential, which is evidence against the alteration theory.

The muscle fibre diameter in new-born rats was 12.75 microns; on the fifteenth day it increased to 25.3 microns. The muscle fibre continued to grow up to the age of a year and a half, when the diameter of the fibres reached a magnitude of 80—100 microns. Thus, there is no correlation between the magnitude of the muscle fibre and the membranous potential, since the latter equalled that of an adult animal on the fifteenth day, while the diameter of the muscle fibre at that period was only one-third or one-fourth that of the adult.

Rabbits and kittens are also born with a low membranous potential — 47.6 mv in the former and 28.0 mv in the latter. The formation of the membranous potential ends in both animals, as in rats, by the fifteenth day, reaching a constant value of 80.8 mv.

The formation of the membranous potential is associated with the general physical development of the animal and the formation of the basic physiological processes during the first 10—20 days after birth.

В нашій
адреналін, я
пу гладких
же важливо
впливом ац
викликає в
стерігаються
міну від ді
брани гладк
підвищення
дії (Бюлбрі
бер, 1960, та

Об'єктом
виготовлення
Необхідно від
бажаної конц

У всіх
певної конц
м'язів, вини
вищенням з

Посиле
ліну в знач
ний потенці
ним відвідн
потенціалу.
форму ФЕ,
тривалості
м'язів ацети
активності
в м'язі під
ціалів.

Невели
концентраці