

研究报告

电磁场对青蛙骨骼肌单根肌纤维效应研究*

朱吾明 江林华 陈树德 孙树峰 陈家森¹⁾

(华东师范大学物理系, 上海 200062)

摘要 电磁场对完整和去膜青蛙肌纤维作用的比较研究表明, 交变电场通过改变膜电位引起肌肉收缩, 在此过程中收缩蛋白质的空间位置而非自身构象发生变化, 横桥尤其是S-2片段, 在伴随横桥从弱耦合状态向强耦合状态过渡时远离粗肌丝而向细肌丝运动, 使其与粗肌丝骨架的平均取向比松弛状态或静息状态时相对增大. 一般强度恒定磁场对肌纤维膜电位状态及肌纤维内部蛋白质分子的运动及其相互作用影响极其微弱.

关键词 电磁场作用, 去膜骨骼肌纤维, 椭圆偏振, 退偏率, 横桥

自肌纤维内横桥运动的骨骼肌收缩微观机理的基本框架建立以来^[1], 已采用测定收缩蛋白质分子结构及其变化的技术如电镜、X衍射、标记电子自旋共振等^[2~4], 以及通过测量横桥粗细肌丝相互作用的力学手段, 试图弄清肌肉收缩的微观图象, 特别是横桥的空间位置及其运动规律. Huxley等^[5]综合各种方法获得的结果提出了在收缩过程中横桥的结构特点和运动规律, 认为横桥存在强结合和弱结合两种基本状态, 通过横桥状态的转变实现肌肉收缩. 最近Rayment等^[3]在研究了肌球蛋白和肌动蛋白及其结合复合物分子的高级结构的基础上提出相应的肌肉收缩模型. 这些模型丰富了人们对肌肉收缩的理解, 但迄今对横桥运动或横桥状态的一些基本问题如横桥的运动取向及其动力学分布尚未明确回答^[4].

由于骨骼肌纤维衍射光的椭圆偏特性能比较灵敏地反应出肌肉纤维内部结构, 尤其是横桥相对于粗肌丝骨架的空间相对取向及其变化, 因而利用椭圆偏振技术能获得重要的结构信息^[6~10]. 由于肌肉收缩是通过粗细肌丝相互作用实现的, 其本质是静电作用, 因此本文试图测量去膜骨骼肌纤维的衍射光椭圆偏参数,

并与完整肌纤维的参数对照, 从电磁场作用于收缩蛋白质的途径, 研究肌纤维收缩的微观机理.

1 材料与方法

1.1 样品制备

单根骨骼肌纤维取自青蛙腿部大内直肌束, 在任氏液中解剖得到. 任氏液含有 115 mmol/L NaCl, 2.5 mmol/L KCl, 2.15 mmol/L Na_2HPO_4 , 0.85 mmol/L NaH_2PO_4 和 1.8 mmol/L CaCl_2 , pH 7.0; 在松弛溶液中加入皂苷, 使得其最终浓度约 5×10^{-4} g/L, 制成化学去膜溶液. 松弛溶液含有 60 mmol/L HEPES, 10.3 mmol/L MgCl_2 , 50 mmol/L EGTA, 8 mmol/L ATP, 10 mmol/L CP, pH 7.1. 去膜步骤是: 把单根完整肌纤维放在去膜溶液中, 约 20 min 后取出, 用松弛溶液冲洗后放在松弛溶液中备用.

1.2 测试装置和电磁场装置

测量使用自行研制的磁光调制瞬态椭圆偏

* 国家自然科学基金资助课题.

¹⁾ 通讯联系人.

收稿日期: 1995-01-28, 修回日期: 1995-08-14

振仪^[11]. 电场通过用石墨做的两平行板电极 (38 mm×6 mm) 加在肌纤维两侧. 交变脉冲电场采用 20 Hz 方波, 两极间电压的有效值 3.0 V. 把铷铁硼磁片胶粘在同一个支架上, 两磁片间距稍大于样品池宽度, 强度分别为 0.02 T、0.06 T、0.18 T.

1.3 实验步骤

将肌纤维水平固定在样品池中, 沿肌纤维轴向移动样品池选择衍射光光强较强、邻域退偏率起伏较小、衍射光组分比较单一的区域作为工作区. 由衍射角大小确定肌小节长度. 在外加电场或磁场前后分别连续采集 10 min 左右数据, 并计算各次采样数据的退偏率及退偏率平均值. 采集和计算一组数据需 33 s.

2 实验结果

2.1 脉冲电场对肌纤维退偏率的影响

加电场后单根完整和去膜肌纤维衍射光花样无明显变化, 但一级衍射光的退偏率在电场作用前后有差异. 图 1 和图 2 是交变电场对单根骨骼肌纤维退偏率的影响. 从测定的几个肌小节长度来看, 交变电场作用后完整纤维的退偏率都明显下降, 但去膜肌纤维在交变电场作用前后的退偏率无显著变化.

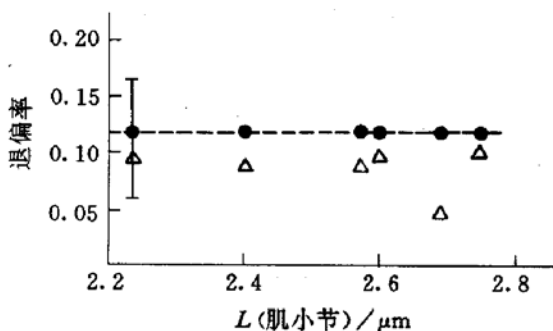


图 1 交变电场对单根完整骨骼肌纤维退偏率的影响

所有退偏率均以未受电场作用时肌小节长度为 2.6 μm 的退偏率作归一化处理, 图 2 同此; 竖直线表示退偏率数值范围, 图 2、3、4 与此相同. $\triangle-\triangle$, 交变电场作用, $\bullet-\bullet$, 未受电场作用.

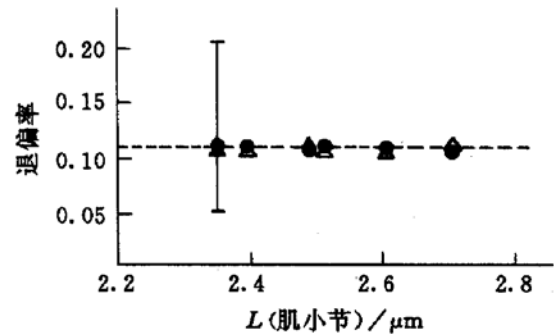


图 2 交变电场对单根去膜骨骼肌纤维退偏率的影响

$\triangle-\triangle$, 交变电场作用, $\bullet-\bullet$, 未受电场作用.

2.2 恒定磁场对肌纤维退偏率的影响

在强度为 0.18 T 的恒定磁场作用下, 不同肌小节长度的完整和去膜肌纤维的退偏率均未改变 (图 3 和图 4), 其他强度的磁场对完整肌纤维作用也未发现其退偏率的改变 (没有给出数据).

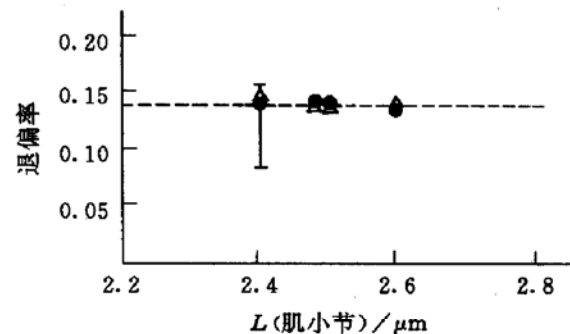


图 3 恒定磁场对单根完整骨骼肌纤维退偏率的影响

所有退偏率均以未受磁场作用时肌小节长度为 2.5 μm 的退偏率作归一化处理, 图 4 同此. $\triangle-\triangle$, 磁场作用, $\bullet-\bullet$, 未受磁场作用.

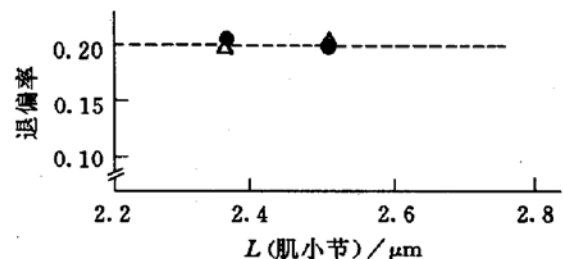


图 4 恒定磁场对单根去膜骨骼肌纤维退偏率的影响

$\triangle-\triangle$, 磁场作用, $\bullet-\bullet$, 未受磁场作用.

3 讨 论

完整肌纤维实验是在任氏溶液中进行的, 任氏液模仿肌肉纤维所在的体液环境, 是肌细胞膜电位形成的离子基础; 去膜肌纤维实验在松弛溶液中进行, 使去膜肌纤维环境与完整肌纤维的内环境相似, 保持去膜肌纤维的收缩功能. 因此溶液选取决定于肌纤维去膜与否, 而对研究结果不会产生明显影响.

交变电场作用于完整肌纤维, 其细胞膜发生去极化和超极化现象, 去极化最终激活肌肉纤维内收缩蛋白质分子相互作用. 在电场作用下完整肌纤维退偏率明显减小而去膜肌纤维退偏率基本不变, 说明是收缩蛋白质的空间位置而非蛋白质构象发生变化. 在肌肉收缩过程中发生空间位置变化的主要是横桥, 而构成横桥的 S-1 和 S-2 片段中只有 S-2 片段具有较强各向异性, 因此本研究结果更清楚地反映出横桥尤其是 S-2 片段, 在弱耦合状态向强耦合状态过渡时远离粗肌丝而向细肌丝运动. 同时由于横桥不断在强弱耦合状态之间转化, 使得横桥与粗肌丝骨架的相对空间位置趋向无序状态^[4], 而横桥的平均取向尤其是 S-2 的平均取向比松弛状态或静息状态时相对增大, 粗细肌丝之间的质量分配朝细肌丝一侧迁移^[11]. 长时间电场作用会引起肌纤维的疲劳, 而肌肉纤维疲劳时肌原纤维晶格扩大^[12], 这可能会使非重叠区横桥运动更为无序, 或因晶格扩大引起肌动蛋白牵引结合横桥向细肌丝运动, 这种效应是否与退偏率的减少有关, 还待于进一步探讨.

由于肌浆的介电常数比溶液大, 肌质网深藏其中, 使得所处的电场强度比细胞膜所处的电场强度小; 肌细胞中横管膜的电活动通过 IP₃ 的增多引起终池释放钙离子^[13], 即肌质网是化学敏感的, 但并不一定对电敏感. 这些因素使得交变电场对肌纤维内部肌质网膜没有明显的直接作用. 电场作用基本不改变去膜肌纤维的退偏率, 也说明交变电场影响肌动蛋白和肌球蛋白之间的静电相互作用极为微弱以及它们的构象未发生明显破坏或重建.

有文献报道, 恒定磁场会改变蛋白质分子如酶分子的构象, 以及影响细胞膜的电学特性^[14,15]. 然而恒定磁场对完整肌纤维和去膜肌纤维的作用均没有引起其椭圆特性的明显变化, 表明恒定磁场对骨骼肌纤维的膜电位状态以及其内部蛋白质分子的运动及其相互作用的影响是极其微弱的.

参 考 文 献

- 1 Huxley A F. J Physiol, 1974; **68**: 267
- 2 Lowy J, Poulsen F R. J Mol Biol, 1987; **194**: 595
- 3 Rayment I, Holden H M, Whittaker M *et al.* Science, 1993; **26**: 58
- 4 Bartlett V A, Fajer P. Biophys J, 1986; **49**: 144
- 5 Huxley H E, Kress M. J Muscle Research Cell Motil, 1985; **6**: 153
- 6 江林华, 陈树德, 陈家森. 生物物理学报, 1991; **7** (4): 560
- 7 Yeh Y, Corcoran M E, Baskin R J *et al.* Biophys J, 1983; **44**: 343
- 8 Chen J S, Baskin R J, Yeh Y *et al.* Biophys J, 1989; **56**: 595
- 9 江林华, 陈树德, 陈家森等. 生物物理学报, 1993; **9** (4): 664
- 10 陈树德, 江林华, 叶士景等. 仪器仪表学报, 1992; **13** (1): 14
- 11 Living M. J Physiol (Lond), 1984; **377**: 95
- 12 Millman B M, Williams B, Irving T *et al.* Biophys J, 1990; **57**: 543a
- 13 周衍椒, 张镜如. 生理学, 第三版. 北京: 人民出版社, 1989: 61
- 14 刘江兵, 陈臻臻, 颜思旭等. 见: 章之蓉主编. 辐射与环境生物物理研究. 北京: 中国科学技术出版社, 1992: 1
- 15 Balaban P M. Bioelectromagnetics, 1990; **11** (1): 13

Effects of Electric and Magnetic Fields on Contraction of Single Skeletal Muscles of Frog. Zhu Wuming, Jiang Linhua, Chen Shude, Sun Shufeng, Chen Jiasen (*Physics Department, East China Normal University, Shanghai 200062, China*).

Abstract The effects of electric and magnetic fields on single intact and chemically skinned muscle fibres of frog are comparatively

studied. The results show that alternative pulse electric field obviously decreases the depolarization ratio of the diffracted light from intact fibers but it does not change that from skinned fibres. Static magnetic field does not affect the depolarization ratio from either intact or skinned fibers. It is suggested that changes of spatial disposition but not conformation of the contractile proteins take place during muscle contraction caused by electric field and that during the transition from weakly-binding state to strongly-binding state

the crossbridges (particularly subsegment-2) move towards actins, thus the average tilt of crossbridges relative to the backbone of thick filaments is increased. It is also shown that static magnetic field with field strength could not exert apparent influence on both the electric properties of cell membrane and the contractile protein movement within skeletal muscle fiber.

Key words electromagnetic field effect, single skinned skeletal muscle fiber, ellipsometry, depolarization ratio, crossbridges

老年学习记忆减退大鼠脑突触体膜流动性改变

洪 岸 姚志彬 顾耀铭 陈以慈

(中山医科大学人体解剖教研室, 广州 510089)

摘要 选用 Morris 水迷宫将老年大鼠分为学习记忆正常和学习记忆减退两部分, 采用荧光偏振技术, 对青年、老年记忆正常和老年记忆减退鼠脑分离突触体膜流动性进行测定, 并检测神经节苷脂 GM1 对膜流动性的影响. 结果表明老年记忆减退鼠新皮质、海马结构突触体膜荧光各向异性明显增加, 即膜流动性显著降低, GM1 对膜流动性有明显改善作用. 相关分析表明新皮质、海马结构突触膜流动性与老年学习记忆减退密切相关, GM1 的积极作用为临床治疗提供实验依据.

关键词 老年学习记忆减退, 脑分离突触体, 膜流动性, 大鼠

细胞膜流动性的研究不仅是生物物理学的一个重要课题, 在医学的许多领域中也日益受到重视. 如肿瘤细胞、血细胞膜流动性的研究已有较多文献报道, 神经系统老化机制还提出了膜假说^[1,2], 其中包括膜脂质微粘度增加(膜流动性降低)和脂质过氧化等. 近年来在医学领域虽然对细胞膜流动性的研究已取得了一些成果, 但对于各种疾病, 细胞膜流动性到底发生了怎样的变化还在探索之中. 作为脑重要的高级活动——学习记忆与细胞膜流动性的关系如何, 国内外均未见报道. 本实验采用现代生物物理技术——荧光偏振, 对老年学习记忆减退大鼠脑突触体膜流动性进行测定, 旨在阐明

老年学习记忆减退与脑突触体膜流动性的关系, 并检测神经节苷脂 (GM1) 对脑突触体膜流动性的影响, 因 GM1 为哺乳类脑神经节苷脂的主要类型, 且主要集中在神经终末, 有研究表明它与突触传递和行为有关^[3], 故本实验试图通过检测外源性 GM1 对脑突触体膜流动性的影响, 了解其是否有积极作用, 从而为老年学习记忆减退的临床治疗提供理论依据.

1 材料和方法

1.1 Morris 水迷宫的组成及行为检测

1.1.1 迷宫: 分为水池和自动录像记录系统