

Вплив рентгенівського проміння на збудливість і потенціал дії м'язових волокон жаби

В. І. Богомолець

Лабораторія біофізики і лабораторія загальної фізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

В раніше опублікованій статті (13) були викладені результати дослідження впливу рентгенівського опромінювання на величину мембранного потенціалу і зміну концентрації калію і натрію в скелетних м'язах жаби. В даній статті висвітлено питання про вплив іонізуючої радіації на збудливість і потенціал дії цих м'язів.

Літературні дані з цього питання дуже обмежені і до деякої міри суперечливі. Кушнер (1) спостерігав незначне підвищення збудливості литкового м'яза жаби при опроміненні його рентгенівським промінням в дозі 60 р. Фенн і Летчфорд (2) не виявили будь-яких змін збудливості при опроміненні кравецького м'яза жаби дозою в 90 кр. Бек, Лекоме і Херве (3) встановили прогресивне зниження збудливості, яке супроводжувалося розвитком контрактури при опроміненні прямого м'яза живота жаби рентгенівським промінням в дозі 8 кр.

Літературу з питання про зміну потенціалів дії опромінених м'язів нам знайти не вдалося. Проте в деяких працях, присвячених вивченню впливу іонізуючої радіації на периферичні нерви холонокровних і теплокровних тварин, відзначено зниження амплітуди потенціалів дії (4, 5, 6, 7, 8).

Методика досліджень

Об'єктом досліджень були кравецькі м'язи жаби. Один м'яз опромінювали, другий служив контролем. Були застосовані такі дози: 60, 120, 180, 240 і 300 крад. Методика і умови опромінення були такі самі, як і в раніше опублікованій нашій роботі.

Поріг збудливості визначали подразненням м'яза індукційним струмом за допомогою гострих сталених електродів, які встановлювали паралельно м'язу; вони щільно прилягали до нього, але не травмували його. Під час вимірів м'язи виймали з ванночки і вміщували у вологу камеру. Через кожні 10 хв. подразнювали те саме місце контрольного й опроміненого м'яза. Поріг визначали при першому прояві його скорочення.

Потенціали дії відводили за допомогою внутріклітинних скляних мікроелектродів, діаметр кінчика яких становив 0,5 мікрона (9, 10, 11). Мікроелектроди заповнювали тримольним хлористим калієм. Опір таких електродів дорівнював 10—50 Мом, а власний потенціал кінчика електрода не перевищував 10 мВ.

Особливу увагу слід приділити питанню про закріплення м'яза, щоб уникнути пошкодження тонкого кінчика мікроелектрода. Всі методи фіксації полягають або в зменшенні рухомості самого м'яза при його скороченні, або в забезпеченні великої рухомості мікроелектрода. В першому випадку об'єкт скріплюють з усіх сторін тонкими булавками (краще не металевими) і цим домагаються його нерухомості, або намотують у вигляді спіралі на стержень. В цьому положенні зміщення м'яза при скороченні відбувається по осі електрода, який вколюють перпендикулярно осі стержня і кінчик його при скороченні м'яза не пошкоджується. В другому випадку м'яз закріплюють зви-

чайним способом, як при відведенні мембранного потенціалу, тобто тільки в кінцях, а мікроелектрод з'єднують з відповідним приладом за допомогою гнучкого з'єднання, найчастіше пластичною трубкою. Такий електрод повторює рух скорочення м'яза (12).

Ми не одержали задовільних результатів, застосовуючи перелічені методи, бо при закріпленні першим способом м'яз швидко омертвівав, а при другому — в зв'язку з великою пластичністю електрода створювались труднощі для прокалювання волокон і виконання інших маніпуляцій.

В наших дослідях незакріплені м'язи вміщували в спеціальні маленькі парафінові ванночки, зроблені відповідно до форми м'яза і заповнені розчином Рінгера. Отже, м'язи мали тільки одну точку опору — відповідний мікроелектрод, і ця точка не зміщувалась, незважаючи на вільне скорочення об'єкта.

Електродна схема, на яку подавали сигнал, складалась з катодного повторювача і підсилювача постійного струму на катодний осцилограф. Осцилограф працював у режимі «ждучої» розгортки, а запуск променя синхронізували з моментом подразнення м'яза за допомогою хронаксиметра. Потенціали дії реєстрували на нерухомому фотоплівку.

Електрична схема для подразнення була такою ж, як і при визначенні порога збудливості. Подразнення і відведення потенціалів дії провадились через 5—10 хв. від різних волокон (паралельно на контрольному й опроміненому м'язах) в строго визначеному місці. Досліди провадились при кімнатній температурі. Результати опрацьовували статистичним методом.

Результати досліджень

Першим етапом роботи було вивчення зміни збудливості опромінених м'язів. При застосуванні доз рентгенівського проміння до

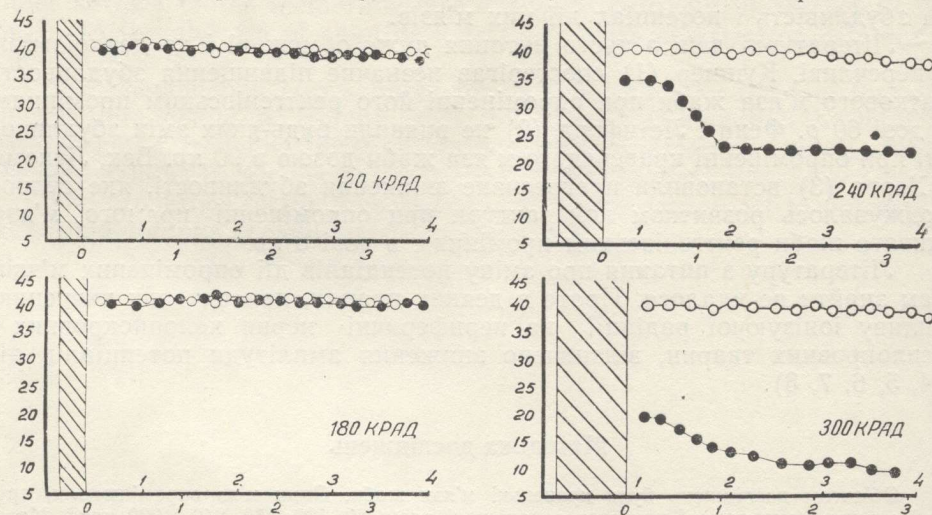


Рис. 1. Залежність зміни порога збудливості опроміненого м'яза від дози опромінення. На вертикалі — відстань між первинною і вторинною котушками в см; на горизонталі — час у годинах (зверху — після відпрепарування, знизу — після опромінення). Білі кружечки — поріг збудливості контрольного м'яза, темні — опроміненого. Заштриховані стовпці — час опромінення.

180 крад не виявлено будь-яких змін цієї функції. При дозі 240 і 300 крад поріг збудливості різко збільшувався.

Збільшення порога збудливості при 240 крад починається через 30 хв. після закінчення опромінення і закінчується до початку другої години. Потім збільшення порога відбувається значно повільніше. При 300 крад пригнічення функції збудливості відбувається значно раніше — під час самого опромінення — і досягає максимальних значень через годину після опромінення (рис. 1).

Другим показником зміни збудливості м'язових волокон може бути кількість «активних» волокон, тобто волокон, які відповідають на подразнення потенціалами дії визначеними на основі внутріклітинного

відведення. Для сили струму, яка в нормі не всі м'язи потенціалу дії. В достатня для скорочення.

На рис. 2 показано, що в нормі в проценти. Як видно з графіка, зменшення

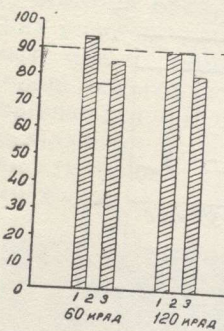


Рис. 2. Залежність кількості активних волокон, виражена в проценти, від часу, що минуло після опромінення. На вертикалі — кількість активних волокон в проценти; на горизонталі — час у годинах, що минуло після опромінення. Штрихована лінія показує процент активних волокон в нормі.

при 180 і 240 крад характер. При першій годині після опромінення кількість активних волокон відповідає нормі. В 300 крад настільки, що ми не знайшли подразнення. Проте це дозволяє слабо скоротити їх відшукати. Результати дослідження м'яза наведені в таблиці.

Цікаво простежити зміну мембранного потенціалу падіння їх величини на увазі зміну потенціалу. Встановлено, зменшення потенціалу було незначне (13). Далі, потенціал зникає, і величини потенціалу зближуються. При 240 крад зменшенням, ніж мембранним.

* Примітка: В нормі потенціал трохи зменшений порівняно з нормою. Досить низького мембранного потенціалу в присутності паразитичних електричних оцінки цей факт не має великого значення.

відведення. Для м'язів, опромінених відповідною дозою, застосовували силу струму, яка була визначена в першій серії. У наших дослідках навіть в нормі не всі м'язові волокна давали відповідь на подразнення у вигляді потенціалу дії. Вони, мабуть, не збуджуються струмом такої сили, яка достатня для скорочення сусідніх волокон.

На рис. 2 показана залежність кількості «активних» волокон, вираженої в процентах від дози і часу, що минув після опромінення.

Як видно з графіка, контрольні м'язи мають 90% «активних» волокон. Зменшення цієї кількості починає виявлятися при дозі в 120 *крад*;

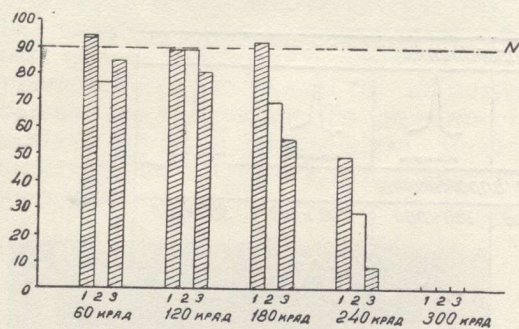


Рис. 2. Залежність кількості «активних» м'язових волокон, вираженої в процентах від дози і часу, що минув після опромінення.

На вертикалі — кількість «активних» волокон, виражена в процентах; на горизонталі — дози і час в годинах, що минув після опромінення. Пунктирна лінія показує процент «активних» волокон у контрольному м'язі.

при 180 і 240 *крад* воно має закономірний характер. При 240 *крад* навіть у першу годину після опромінення приблизно тільки половина досліджуваних волокон відповідає на подразнення. Доза в 300 *крад* настільки змінює тканину, що ми не знайшли жодного волокна, яке б давало потенціал дії при подразненні. Проте це ще не дозволяє твердити, що їх нема, бо м'яз продовжує слабо скорочуватись, але дана методика не дає практичної можливості їх відшукати.

Результати дослідження зміни величини потенціалів дії при опроміненні м'яза наведені на рис. 3*.

Цікаво простежити взаємовідношення між падінням потенціалу дії і мембранного потенціалу в залежності від збільшення дози. На початку падіння їх величини йдуть майже паралельно, особливо якщо мати на увазі зміну потенціалів дії в першу годину після опромінення (як було встановлено, зменшення мембранного потенціалу з часом досить незначне (13)). Далі, при збільшенні дози опромінення, цей паралелізм зникає, і величини потенціалів дії і мембранного потенціалу починають зближатись. При 240 *крад* потенціал дії вже на першій годині стає меншим, ніж мембранний потенціал, а на протязі другої і третьої го-

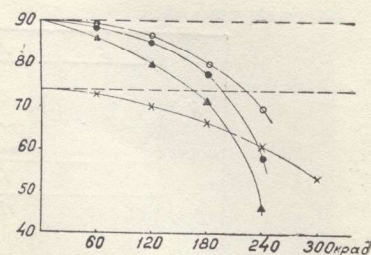


Рис. 3. Залежність зменшення мембранних потенціалів і піка потенціалів дії у волокнах опромінених м'язів від дози і часу, що минув після опромінення.

На вертикалі — величина потенціалів у мілівольтах, на горизонталі — дози рентгенівського опромінювання в кілорадах (*крад*). Пунктирні лінії показують величину мембранного потенціалу і потенціалу дії в контрольних м'язах. Хрестиками показано падіння мембранного потенціалу волокон при опроміненні. Кружечками і трикутниками показані величини піка потенціалів дії, де світлий кружечок — перша година, темний кружечок — друга година і трикутник — третя година після опромінення.

* Примітка: В нормі в наших дослідках середні значення величин потенціалів дії трохи зменшені порівнюючи з літературними даними. Це, з одного боку є наслідком досить низького мембранного потенціалу, і з другого — недосконалості методики, де присутність паразитичних ємностей зменшує пік потенціалів дії. Але для порівняльної оцінки цей факт не має великого значення.

дин він дуже подібний до локального. Як згадувалось вище, при дозі 300 *крад* не вдавалось відвести будь-якого потенціалу дії.

При опроміненні м'яза змінюється не тільки величина, а й форма піка.

На рис. 4 наведені осцилограми потенціалів дії при різних дозах і в різний час після опромінення. Зверху показано потенціали до опромінення.

Доза в 120 *крад* уже змінює форму потенціалів, а в дальшому при збільшенні дози і часу, що минув після опромінення, це зменшення про-

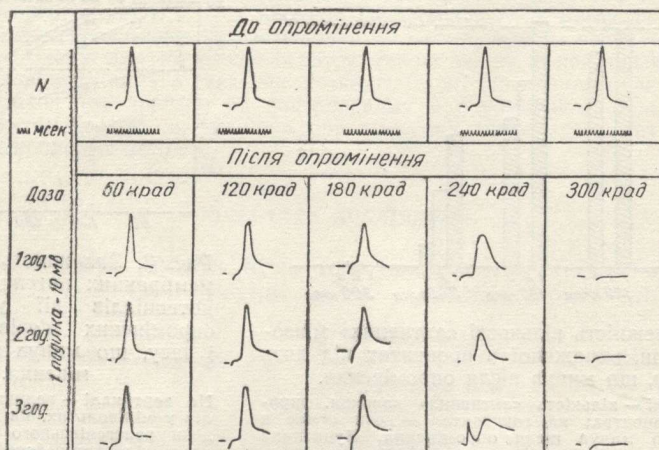


Рис. 4. Залежність зміни форми потенціалів дії опромінених м'язів від дози і часу після опромінення.

гресує. Ці зміни проявляються в зменшенні піка, більший його тривалості в часі. При цьому, як правило, затується як висхідна, так і низхідна фаза потенціалу дії, розвивається слідова електронегативність. Врешті він починає нагадувати локальний потенціал, а потім зникає зовсім.

Необхідно відзначити, що в проведених дослідках опромінені м'язи відрізнялись своїм виглядом від контрольних. До цих зовнішніх змін належать, по-перше, розвиток контрактур, по-друге, зменшення еластичності, по-третє, зменшення прозорості та утворення матового відтінку. Якщо при дозі 60, 120 *крад* ці зміни можна було помітити лише через добу після опромінення, то при дозі в 180—240 *крад* вони розвиваються уже на другій-третьій годині, а при дозі в 300 *крад* вони з'являються негайно після опромінення. Цей факт уже описали деякі автори (3, 14, 15). На фотознімках показані зміни опромінених м'язів жаби в порівнянні з контрольними.

Обговорення результатів досліджень

Результати вивчення впливу іонізуючого проміння на збудливість м'яза добре узгоджуються з даними Фенна і Летчфорда (2), в яких доза в 90 *крад* не змінювала цієї властивості м'язової тканини. В наших дослідках поріг збудливості почав підвищуватись тільки при дозі в 240 *крад* (беручи до уваги, що підвищення порога було досить різким, можна припустити, що воно почалося раніше, щось при дозі між 180 і

240 *крад*). Дані К з нашими, бо опро з жаби екранув. тільки лапка з пе литкові м'язи жаб контрольний м'язи) м'яз таким спосо речносмугастих м'я паки, зниження пор до дослідів Бека, Л яких спостерігалось вості при опроміню можна сказати, що порівнювати з наш дослідження були і (як стимулюючий ний хлористий калій

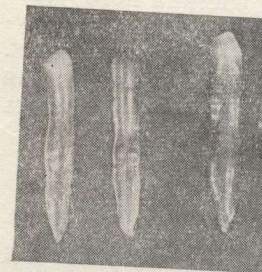


Рис. 5. Зовнішні морфологічні зміни м'язів жаби після опромінення рентгенівським промінням. Відповідно зліва: контрольний м'яз, м'яз опромінений дозою 180 *крад*, м'яз опромінений дозою 300 *крад*. Опромінені м'язи порівнянні з парними контрольними. Фото

Встановивши факт, що м'язи жаби з'ясувати, як вплив рентгенівського проміння на м'язову тканину, ми хотіли бачити, чи не дає нам можливість побачити, чи не змінюється поріг збудливості м'язової тканини. Цілком природно, що в одних вони більші, в інших менші. Зміни потенціалів дії м'язів жаби (5), який встановив Герстнер (5), який встановив, що встановлення піка потенціалу дії м'язової тканини (265 *кр*). На осцилограмі м'язової тканини, виявлено, що спостерігаються в наших дослідках не було змін імпульсів. Природ

240 *крад*). Дані Кушнера (1) не можна без застережень порівнювати з нашими, бо опромінювання проводилось при різних умовах. Тіло живої жаби екранували, отже, дії рентгенівського проміння зазнавала тільки лапка з перерізаним сідничним нервом. Після опромінювання литкові м'язи жаби відпрепарувували на обох лапках (опромінений і контрольний м'язи) і досліджували. Дуже ймовірно, що, опромінюючи м'яз таким способом і застосовуючи при цьому дуже малі (для поперечносмугастих м'язів) дози, можна викликати не підвищення, а, навпаки, зниження порога збудливості. Що до дослідів Бека, Лекоме і Херве (3), в яких спостерігалось пригнічення збудливості при опромінюванні дозою 8 *крад*, можна сказати, що їх дані теж не можна порівнювати з нашими, бо об'єктом їх дослідження були прямі м'язи живота (як стимулюючий агент був використаний хлористий калій).

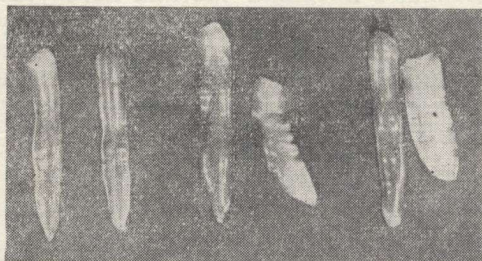


Рис. 5. Зовнішні морфологічні зміни кравецьких м'язів жаби через три години після опромінення рентгенівським промінням, в дозах, відповідно зліва направо 60; 240; 300 *крад*. Опромінені м'язи (праворуч) у порівнянні з парними контрольними (ліворуч). Фото.

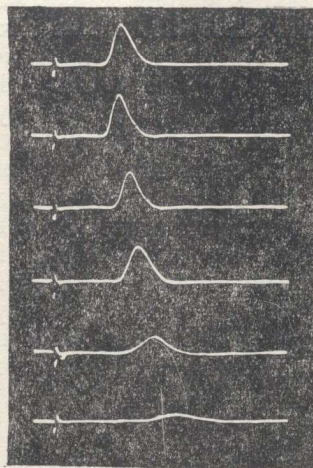


Рис. 6. Зміни форми потенціалів дії сідничного нерва жаби, опроміненого рентгенівським промінням.

Дози зверху донизу (*крд*): 125; 160; 195; 230; 265. Характеристика стимулу: тривалість 0,5 *мсек*; сила: надпорогова для α -волокон і підпорогова для β -волокон.

Встановивши факт зниження збудливості після опромінення, ми намагались з'ясувати, як саме відбувається це зниження. Застосована методика дала нам можливість простежити реакцію на подразнення кожного окремого волокна. Виявилось, що опромінювання не тільки підвищує поріг збудливості одних м'язових волокон, а й різко пригнічує інші. Цілком природно, що патологічні зміни в різних волокнах різні: в одних вони більші, в інших — менші. Із збільшенням дози опромінення таких сильно пригнічених волокон стає дедалі більше.

Зміни потенціалів дії, виявлені в наших дослідках, якісно подібні до змін біопотенціалів при подразненні опромінених периферичних нервів. Герстнер (5), який відводив потенціал дії від опроміненого сідничного нерва жаби, встановив, що, починаючи з дози 125 *крд*, настає зниження піка потенціалу дії, сповільнення провідності імпульсу із зміною його конфігурації (повний блок провідності α -волокон наставав при 265 *крд*). На осцилограмі (рис. 6) показані зміни потенціалів дії опроміненого нерва, виявлені Герстнером (5).

Аналогічні дані наводять і інші автори (4, 6, 7, 8). З описаних змін, що спостерігаються в нерві під час дії рентгенівського проміння, в наших дослідках не було виявлено тільки сповільнення швидкості проведення імпульсів. Природно припустити, що й у м'язі зберігається така

сама залежність. Проте, експериментально перевірити нам це важко, бо, по-перше, ми відводили потенціали дії від різних волокон, прагнучи не попадати мікроелектродом в те саме волокно, а, по-друге, відстань між подразнюючими та відвідними електродами в наших дослідах не могла бути завжди однаковою. Такі методичні умови не дозволили нам точно визначати швидкість проведення імпульсу в м'язовому волокні.

На основі сучасних даних про природу генерації потенціалів дії (16, 17, 18, 19, 20, 24, 27) можна припустити, що описані вище зміни є наслідком впливу іонізуючої радіації як на фізико-хімічні властивості мембран, так і на метаболічні процеси у м'язових волокнах.

Як відомо, при опроміненні м'яза іони калію виходять назовні, знижуючи мембранний потенціал (21, 22, 23, 13), а іони натрію, навпаки, входять всередину, збільшуючи свою концентрацію у волокнах (13). Зменшення мембранного потенціалу, яке виникає внаслідок цього, викликає зменшення потенціалу дії. Якщо у відповідності з «натрійовою теорією» вважати, що висхідна частина потенціалу дії є наслідком спрямування іонів натрію всередину волокна, а низхідна частина його утворюється внаслідок виходу іонів калію назовні (25, 26), можна припустити, що вплив іонізуючої радіації позначається і на цих струмах. Природно думати, що порушення обміну речовин веде до зниження виштовхуючої властивості натрійової помпи, і, як наслідок цього, мають сповільнитися відновні процеси після потенціалів дії.

Висновки

1. Рентгенівське опромінення в дозах 240 *крад* і більше різко підвищує поріг збудливості поперечносмугастого м'яза жаби. Вплив опромінення на різні волокна того самого м'яза не однаковий. Опромінення дозами 120, 180, 240 *крад* знижує кількість волокон, які дають потенціал дії; при дозі в 300 *крад* не вдалося знайти жодного «активного» волокна.

2. Іонізуюча радіація впливає на величину піка потенціалів дії, зменшуючи їх уже при дозах 60—120 *крад*. При дозі в 240 *крад* амплітуда потенціалів дії не перевищує мембранного потенціалу.

3. Іонізуюча радіація змінює також форму потенціалу дії, що виявляється в затягуванні висхідної частини, збільшенні його тривалості і виникненні слідової електронегативності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kushner J., J. Gen. Physiol., 9, 1925, 55.
2. Fenn W. and Latchford, Amer. J. Physiol., 99, 1931, 454.
3. Bacq Z. M., Lecomte J. et Herve A., Arch. intern. de Physiol., 57, 1949, 142.
4. Gerstner H. B., Orth J. and Richey E., Amer. J. of Physiol., 180, 1, 1955, 232.
5. Gerstner H. B., Amer. J. of Physiol., 184, 2, 1956, 333.
6. Jamashita, Miyasaka, Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 80, 2, 1952, 375.
7. Schmitz W., Schaefer H., Strahlentherapie, 46, 1933, 564.
8. Audiat J., Auger D., Fessard A., Compt. rend. Soc. Biol., 116, 1934, 880.
9. Костюк П. Г., Микроэлектродная техника, Изд-во АН УССР, К., 1960.
10. Мещерский Р. М., Методика микроэлектродного исследования, Медгиз, 1960.
11. Костюк П. Г., Биофизика, 2, 4, 1957, 401.
12. Williams Vanghan E., J. Physiol., 147, 1, 1959.
13. Богомолець В. І., Фізіол. журн. АН УРСР, VII, 3, 1961, 215.

14. Gerstner I, 1954, 9.
15. Gerstner I
16. Hodgkin A
17. Hodgkin A
18. Hodgkin A
19. Hodgkin A
20. Hodgkin A
21. Darden E.
22. Bergeder
23. Bergeder
24. Desmedt, J.
25. Fenn W., Cell
26. Fenn W., Ame
27. Либерман I

Влияние рентгенов и потенциал

Лаборатория биофизик
им. А.

Вопросу о радиации уделено в литературе. Задача работы з потенциалов и возбу. осветить вопрос о механизме образования. Опыты с применением микроэлектродов отводят мембранный потенциал от одного мышечного волокна. Рентгеновское облучение порождает возбудимость и прогрессирует. Облучение не только резко угнетает возбуждение, но и уменьшает количество волокон («активных» волокон). Ионизирующая радиация, уменьшая их возбуждение, уменьшает потенциалы действия. Изменение потенциала действия заключается не только в затягивании восходящей фазы, но и в развитии следовой электронега

14. Gerstner H., Powell C. and Richey E., Amer. J. of Physiol., 176, I, 1954, 9.
15. Gerstner H., Lewis, Richey E., J. Gen. Physiol., 34, 4, 1954, 445.
16. Hodgkin A., Katz, J. Physiol., 108, 37, 1949.
17. Hodgkin A., Keynes R., J. Physiol., 131, 1956, 592.
18. Hodgkin A., Keynes R., J. Physiol., 128, 1955, 28.
19. Hodgkin A., Proc. Roy. Soc. Biol., 148, 1958, I.
20. Hodgkin A., Biolog. Rev., 26, 4, 1951, 339.
21. Darden E., Amer. J. Physiol., 198, 4, 1960, 709.
22. Bergeder H. D., Naturwissenschaften, 45, 1958, 43.
23. Bergeder H. D., Naturwissenschaften, 45, 1958, 61.
24. Desmedt, J. Physiol., 121, I, 1953, 191.
25. Fenn W., Cellul. and Comp. Physiol., 6, 1935, 469.
26. Fenn W., Amer. J. of Physiol., 115, 1936, 345.
27. Либерман Е. А. и Чайлахян Л. М., Биофизика, IV, 5, 1959, 622.

Надійшла до редакції
2.VI 1961 р.

Влияние рентгеновского облучения на возбудимость и потенциал действия мышечных волокон лягушки

В. И. Богомолец

Лаборатория биофизики и лаборатория общей физиологии Института физиологии
им. А. А. Богомольца Академии наук УССР, Киев

Резюме

Вопросу о радиационном поражении поперечнополосатых мышц уделено в литературе очень мало внимания.

Задача работы заключалась в детальном изучении изменений биопотенциалов и возбудимости мышц при облучении, что позволит шире осветить вопрос о механизме действия ионизирующих лучей на живые образования. Опыты проводились на изолированных мышцах лягушки с применением микроэлектродной техники, которая дает возможность отводить мембранный потенциал и потенциал действия при раздражении от одного мышечного волокна.

Рентгеновское облучение в дозах 240 *крад* и больше резко повышает порог возбудимости поперечнополосатых мышц лягушки. Это повышение прогрессирует при увеличении дозы и времени после облучения. Облучение не только повышает порог возбудимости одних волокон, но и резко угнетает возбудимость других: дозы в 120, 180 и 240 *крад* снижают количество волокон, дающих потенциал действия при раздражении («активных» волокон); при дозе в 300 *крад* не удается найти ни одного «активного» волокна.

Ионизирующая радиация влияет на величину потенциалов действия, уменьшая их уже в дозе 60—120 *крад*. При дозе в 240 *крад* амплитуды потенциалов действия не превышают мембранного потенциала.

Изменение потенциалов действия мышечных волокон при облучении заключается не только в уменьшении, но и в изменении их формы: затягивании восходящей части, большей продолжительности пика и развитии следовой электроотрицательности.