

## Активність іонів калію і натрію в гігантських нейронах молюсків

З. О. Сорокіна

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР, Київ

Оскільки термодинамічні формули біоелектричних потенціалів виражені в термінах активностей, а не концентрацій, виникає необхідність експериментального визначення цих величин всередині клітин і поза ними. Для вимірювання активностей іонів у живих клітинах з недавнього часу почали застосовувати спеціальні селективні мікроелектроди [2, 3, 4, 6, 9, 10, 17, 19, 22, 23]. Через експериментальні і методичні утруднення такі вимірювання проведені поки що лише на дуже обмеженій кількості об'єктів.

В останні роки особливу увагу фізіологів як об'єкт для вивчення природи біоелектричних потенціалів привертають гігантські нервові клітини червононогих молюсків.

Для чіткої інтерпретації одержаних даних і побудови теорій біопотенціалів цих тканин необхідне точне знання активностей основних неорганічних іонів всередині живих і непошкоджених клітин. Тимчасом таке дослідження становить і самостійний інтерес для виявлення стану у протоплазмі цих іонів.

### Методика досліджень

Об'єктом досліджень були нейрони парієтальних і вісцеральних гангліїв ізольованої гангліозної тканини молюсків. Сольовий розчин був складений по можливості ближче до складу гемолімфи цих тварин [11].

Визначення активності іонів  $K^+$  і  $Na^+$  проводили аналогічно описаному методу [9] мікроелектродами з катіон-селективного скла. Константа селективності натрієвого електрода із скла  $Na_{11-18}$  [20]  $K_{Na/K}$ , при рН від 6 до 8 становила, 0,01—0,015. Електроди для визначення активності калію діяли менш вибірно,  $K_{Na/K}=0,11=0,23$ . Електроди заповнювались 0,1 М розчинами, які містили іони  $K^+$  або  $Na^+$ . Їх калібрували до введення і після виведення з клітини у змішаних розчинах натрієвих і калієвих солей у діапазоні передбачених активностей іонів.

Селективні мікроелектроди вводили в ланцюг з допомогою хлорсрібного напівелемента. Як відносний електрод використовували стандартний каломельний електрод із сольовим мостом. Вимірювані потенціали реєстрували електрометром, зібраним на лампі ЕМ-4, з точністю підрахунку 0,25 мВ [7]. Електрометр мав вихід на самопишучий потенціометр з постійною часу 2,5 сек.

Концентрацію електролітів вимірювали на полум'яному фотометрі з використанням стандартних розчинів. Внутріклітинні концентрації іонів — у мМ/кг внутріклітин-

ної води обчислювали за формулою  $C_{в.кл.} = \frac{C_{тк.} - S_m C_{з.р.}}{S_i}$ , де  $C_{тк.}$  — концентрація іона в тканині,  $C_{з.р.}$  — в середовищі,  $S_m$  — позаклітинна вода і  $S_i$  — внутріклітинна вода. При цьому вважали, що позаклітинний простір гангліїв молюсків дорівнює 36,6% у *Helix* і 33,4% у *Planorbis* [1]. Вміст води в гангліях визначали вимірюванням до і після висушування їх до постійної ваги при 105° С.

Відведення потенціалів спокою (П. С.) проводили відкритими мікроелектродами із скла «пірекс», заповненими 3 М розчином KCl.

Досліди проводились на літніх та осінніх тваринах. Результати їх були піддані статистичній обробці.

Проведені н  
молюсків показ  
становить  $73 \pm 0,4$   
і 90 вимірювань)  
24 і 18 вимірюва

Знаючи внут  
чини рівноважни  
вимірювань П. С.  
від одної на 17,1

Перевищення  
тенціалів над ви  
в утворенні П. С.  
лений градієнт по  
ний коефіцієнт пр  
рахувати величин  
Ходчкіним і Горю

Задовільний  
потенціалів спост  
0,071 для *Planorbis*  
ціонарних умов, і  
клітину іонів  $Na^+$ .  
сполученого калій-  
Загальні конц  
повідно  $93,3 \pm 1,36$   
внутріклітинної во  
тивності цих іонів

натрію. При цих і  
коефіцієнту активн

Різниця  $\gamma_K$  у г  
На підставі цього

лоплазмі нейронів

Велика відмін

встановлена вже на

не дістало задовіл

частина внутрікліт

лема зв'язування од

дження різних спе

велика частина кат

у зв'язаному стані

ження  $\gamma_+$  може спо

чень з ковалентним

поліелектроліти, що

но. Утворення так

іони беруть безпосер

Зміна величини

сів різної стійкості

натрію з урамідл

Можна розраховуват

I, нарешті, при



## Результати дослідів та їх обговорення

Проведені нами вимірювання активності в гігантських нейронах молюсків показали, що середня величина активності іонів калію ( $a_K$ ) становить  $73 \pm 0,4$  мМ у *Helix* і  $34 \pm 0,2$  мМ у *Planorbis* (за даними 72 і 90 вимірювань), а активність натрію  $13 \pm 0,01$  і  $8 \pm 0,02$  мМ (за даними 24 і 18 вимірювань) у *Helix* і *Planorbis* відповідно.

Знаючи внутріклітинні активності калію, можна обчислити величини рівноважних калієвих потенціалів і порівняти їх з величинами виміряних П. С. Розрахункові і виміряні величини відрізняються одна від одної на 17,1 і 30,0 мВ.

Перевищення розрахункових значень калієвих рівноважних потенціалів над виміряними П. С. можна зменшити, якщо врахувати в утворенні П. С., крім калієвого градієнта, ще й протилежно направлений градієнт по натрію. Знаючи активності іонів і вводячи  $\alpha$ -відносний коефіцієнт проникності натрію в порівнянні з калієм, можна підрахувати величину П. С. по такому емпіричному рівнянню, виведеному Ходчкіним і Горовичем [24] з формули Гольдмана [21]:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{K, \text{вн.}} + \alpha a_{Na, \text{вн.}}}{a_{K, \text{зов.}} + \alpha a_{Na, \text{зов.}}}$$

Задовільний збіг розрахункових і експериментальних величин потенціалів спостерігається в тому разі, якщо  $\alpha = 0,042$  для *Helix* і  $0,071$  для *Planorbis*. Рівняння передбачає існування в цій системі нестационарних умов, пов'язаних з постійним помітним надходженням у клітину іонів  $Na^+$ . Воно може бути застосовано також в разі існування сполученого калій-натрієвого насоса.

Загальні концентрації іонів  $K^+$  і  $Na^+$  в нейронах дорівнюють відповідно  $93,3 \pm 1,36$  і  $32,6 \pm 0,82$  мМ у *Helix* і  $53,4 \pm 1,06$  і  $13,8 \pm 0,97$  мМ/кг внутріклітинної води у *Planorbis*. Звідси випливає, що коефіцієнти активності цих іонів мають становити 0,78 і 0,73 для калію і 0,53 для натрію. При цих розрахунках  $\gamma_+$  і  $\gamma_-$  вважалися рівними середньому коефіцієнту активності електроліту  $\gamma_{\pm}$ .

Різниця  $\gamma_K$  у гемолімфі і в клітинах перебуває в межах 13—15%. На підставі цього можна вважати, що основна маса іонів калію в гіалоплазмі нейронів молюсків електрохімічно вільна.

Велика відмінність у величинах коефіцієнтів активності  $K^+$  і  $Na^+$  встановлена вже на ряді об'єктів [3, 4, 10, 23]. До цього часу це явище не дістало задовільного пояснення. Найбільш імовірно вважати, що частина внутріклітинних іонів  $Na^+$  перебуває в зв'язаному стані. Проблема зв'язування одновалентних катіонів давно вже є предметом дослідження різних спеціалістів. Тепер не викликає сумніву, що якась невелика частина катіонів протоплазми клітин дійсно може перебувати у зв'язаному стані і, можливо, у кількох видах зв'язаного стану. Зниження  $\gamma_+$  може спостерігатись при утворенні слабодисоціюючих сполучень з ковалентним зв'язком. Прикладом їх можуть бути слабокислотні поліелектроліти, що мають карбоксильні групи, зв'язані з іонами водню. Утворення таких сполучень може відбуватись в тому разі, коли іони беруть безпосередню участь в обміні речовин.

Зміна величини  $\gamma_+$  спостерігається також при утворенні комплексів різної стійкості. Відомі негативно заряджені аніонні комплекси натрію з урамідіоцтовою і етилендіамінтетраоцтовою кислотами. Можна розраховувати на наявність аналогічних структур і в клітині.

І, нарешті, при наявності інтенсивного поля щільно розташованих



негативних зарядів може відбуватись значна електростатична інактивація малих катіонів. При цьому  $\gamma_+$  падає до 0,2—0,5. В клітині з її неомогенною структурою зменшення коефіцієнта активності може відбуватись внаслідок «острівцевої структури» ряду поліелектролітів. Такий процес можливий поблизу молекул ДНК, РНК, фосфоліпідів і т. ін. Це припущення підтверджують дані про величини  $\gamma_K$  і  $\gamma_{Na}$  в розчинах ДНК [5, 15].

В літературі нема даних про підвищену вибірність клітинних і синтетичних поліелектролітів до іонів  $K^+$  і  $Na^+$ . У системі  $K/Na$  константа вибірності не перевищує 3 одиниць [12]. Якщо обмежитись тільки властивостями поліелектролітів, то як комплексоутворенням, так і електростатичною інактивацією дуже важко пояснити велику різницю між  $\gamma_K$  і  $\gamma_{Na}$ . З перелічених вище факторів, що впливають на величину  $\gamma_+$ , лише втягнення катіона в певні метаболічні процеси з утворенням слабодисоціюючих сполук може привести до значного зменшення його активності. Щодо іонів натрію відомо, що вони специфічно впливають на включення амінокислот в ядра [8].

Не виключено, що основна маса внутріклітинного натрію, як і кальцію, електрохімічно вільна, а низька величина  $\gamma_{Na}$  зв'язана з недосконалістю методу його визначення. Справа в тому, що скляні мікроелектроди визначають активність іонів тільки в тій частині протоплазми, яка безпосередньо контактує з ними. Тимчасом при підрахуванні коефіцієнтів активності використовуються загальні концентрації іонів у клітині. При розрахунках внутріклітинних концентрацій іонів вводять поправку лише на позаклітинні іони і зовсім не враховують наявності гліальних клітин, яких у нервовій системі молюсків досить багато [1]. Невідомо, чи відрізняється істотно їх неорганічний склад від складу нейронів. Крім того, встановлено, що неорганічні іони розташовані в клітині не хаотично, а в певних структурних утвореннях. Це особливо характерно для натрію. Так, вміст натрію в ядрах і мітохондріях значно перевищує його кількість в гіалоплазмі [25, 26]. Тому ми не можемо знати концентрацію натрію в тій частині клітин, з якою контактує мікроелектрод і, отже, не можемо встановити справжню величину коефіцієнта його активності.

Таким чином, можна зробити висновок, що метод селективних мікроелектродів дає лише приблизні величини коефіцієнтів активності. На підставі одержаних даних ми можемо говорити лише про стан в клітинах тільки основної маси іонів кальцію. Для електрохімічної оцінки стану іонів натрію треба враховувати гетерогенність протоплазми.

### Висновки

1. За допомогою мікроелектродів з катіон-селективного скла вимірювалась активність іонів  $K^+$  і  $Na^+$  у гігантських нейронах молюсків *Helix pomatia* і *Planorbis corneus*.

2. Встановлено, що коефіцієнти активності іонів  $K^+$  і  $Na^+$  дорівнюють відповідно 0,78 і 0,50 у *Helix* і 0,73 і 0,53 у *Planorbis*.

3. Зроблено висновок, що основна маса внутріклітинних іонів  $K^+$  електрохімічно вільна. Для оцінки стану іонів  $Na^+$  треба враховувати гетерогенність протоплазми.

1. Зеленская люц. физиол. и биохим.
2. Курелла Г.
3. Лев А. А.—
4. Лев А. А.—
5. Лев А. А.—
- 18—20.
6. Лев А. А., Б.
7. Никитенко
8. Олфри В.,
- лит. М., 1962, 211.
9. Сорокина З.
10. Сорокина З.
11. Сорокина З.
12. Сорокина З.
13. Холодова К.
14. Ascoli F., Bo
- J. Polymer. Sci., 1959, 40,
15. Ascoli F., Bo
16. Ascoli F., Bo
17. Caldwell P. C
18. Caldwell P. C
19. Eisenmann C
20. Eisenmann C
21. Goldman D. I
22. Hinke J. A. M.
23. Hinke J. A. M.
24. Hodgkin A. Z
25. Naora H., Na
- 48, 853.
26. Ulrich F.—Am

Актив  
в гига

Институт физиологии

Стежанными микроэлектродом  
деление активности и коэф  
париетальных и висцеральных  
*Helix pomatia* и *Planorbis corneus*  
Средняя величина актив  
и  $0,034 \pm 0,002 M$  у *Planorbis*,  
и *Planorbis* соответственно. 1  
0,73 для калия и 0,50 и 0,53  
катионов и анионов принима  
тролита. Сделано заключени  
приближенные величины коэф  
мы можем говорить о состояни  
электрохимической оценки со  
протоплазмы.



## Литература

1. Зеленская В. С., Олейникова Т. Н., Сорокина З. А.— Журн. эволюц. физиол. и биохим., 1967, 1.
2. Курелла Г. А., Попов А. Н.— Биофизика, 1960, 5, 373.
3. Лев А. А.— Nature, 1964, 201, 1132.
4. Лев А. А.— Биофизика, 1964, 9, 686.
5. Лев А. А.— X Всесоюзный съезд физиологов. Тезисы докладов, 1964, 1, 18—20.
6. Лев А. А., Бужинский Э. Б.— Цитология, 1961, 3, 614.
7. Никитенко В. С., Пятигорский Б. Я., Сорокина З. О.— Физиол. журн. АН УРСР, 10, 407.
8. Олфри В., Мирский А.— Структурные компоненты клетки, Изд-во ин. лит. М., 1962, 211.
9. Сорокина З. А.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1964, 10, 119.
10. Сорокина З. А.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1964, 12, 17.
11. Сорокина З. А.— Журн. эволюц. физиол. биохим., 1965, 1, 343.
12. Сорокина З. А., Холодова Ю. Д.— ДАН СССР, 1966, 167, 915.
13. Холодова Ю. Д.— Физиол. журн. АН УРСР, 1965, 11, 664.
14. Ascoli F., Botre C., Crescenzi V., Liqori A. M., a. Mele A.— J. Polymer. Sci., 1959, 40, 169.
15. Ascoli F., Botré C., Crescenzi V., Mele A.— Nature, 1959, 184, 1482.
16. Ascoli F., Botré C., Lignori A. M.— J. Mol. Biol., 1961, 3, 202.
17. Caldwell P. C.— J. Physiol., 1954, 126, 169.
18. Caldwell P. C.— J. Physiol., 1958, 142, 22.
19. Eisenmann G.— Biophys. J., 1962, 2, 259.
20. Eisenmann G., Rudin D. O. a. Casby J. U.— Science, 1957, 126, 831.
21. Goldman D. E.— J. Gen. Physiol., 1943, 27, 37.
22. Hinke J. A. M.— Nature, 1959, 184, 1257.
23. Hinke J. A. M.— J. Physiol., 1961, 156, 314.
24. Hodgkin A. Z. a. Horowicz P.— J. Physiol., 1959, 148, 127.
25. Naora H., Naora H., Izawa M.— Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1962, 48, 853.
26. Ulrich F.— Am. J. Physiol., 1959, 197, 997.

Надійшла до редакції  
22.IX 1966 р.

### Активность ионов калия и натрия в гигантских нейронах моллюсков

З. А. Сорокина

Институт физиологии им. А. А. Богомольца Академии наук УССР, Киев

#### Резюме

Стеклянными микроэлектродами из катион-селективных стекол производилось определение активности и коэффициентов активности ионов  $K^+$  и  $Na^+$  внутри нейронов париетальных и висцеральных ганглиев изолированной ганглиозной ткани моллюсков *Helix pomatia* и *Planorbis corneus*.

Средняя величина активности ионов калия ( $a_K$ ) составляет  $0,073 \pm 0,004 M$  у *Helix* и  $0,034 \pm 0,002 M$  у *Planorbis*, а активность натрия  $0,013 \pm 0,001$  и  $0,008 \pm 0,002 M$  у *Helix* и *Planorbis* соответственно. Коэффициенты активности этих ионов составляют 0,78 и 0,73 для калия и 0,50 и 0,53 для натрия. Для этих расчетов коэффициенты активности катионов и анионов принимались равными среднему коэффициенту активности электролита. Сделано заключение, что метод селективных микроэлектродов дает лишь приближенные величины коэффициентов активности. На основании полученных данных мы можем говорить о состоянии в клетках только основной массы ионов калия. Для электрохимической оценки состояния ионов натрия необходим учет гетерогенности протоплазмы.



## Activity of Potassium and Sodium Ions in Giant Neurons of Mollusks

Z. A. Sorokina

*Division of general physiology of the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev*

### Summary

Glass microelectrodes made of cation-selective glasses were used to determine the activity and coefficients of activity of  $K^+$  and  $Na^+$  ions inside neurons of the parietal and visceral ganglia of the isolated ganglionic tissue of *Helix pom.* and *Planorbis corneus*. The average value of potassium ion activity ( $a_K$ ) was  $0.073 \pm 0.004$  M in *Helix* and  $0.034 \pm 0.002$  M in *Planorbis*, while the sodium activity  $0.013 \pm 0.001$  and  $0.008 \pm 0.002$  M in *Helix* and *Planorbis* respectively. The coefficients of activity of these ions are 0.78 and 0.73 for potassium and 0.50 and 0.53 for sodium. For these calculations the coefficients of activity of the cations and anions were taken as equal to the average coefficient of electrolyte activity. The conclusion is drawn that the method of selective microelectrodes gives only approximate values of the activity coefficients. On the basis of the data obtained inferences may be drawn only with respect to the state in the cells of the basic mass of potassium ions. For the electrochemical estimate of the state of the sodium ions it is necessary to take into consideration the heterogeneity of the protoplasm.

## Потенціали та під'язикової пр

Науково-дослідний

Незважаючи на досі ще мало вивчення секреторних кзокрема.

Перші дослідження секреторних кціалів секреторних к5, 6, 7, 8]. Автор покпової та під'язикової поділу іонів на повері напрямом потенціал під час секреторної впливом фізіологічно

Результати цих д яких сторін природи ції неорганічних комп Дальші дослідже інтимні процеси секре ставили перед собою підщелепової та під внутріклітинного відве

Досліди провадилися під'язикову залози звільню ній плексигласовій пластин шались неушкодженими. Т рухів.

Потенціали спокою від техніки [1, 2].

На підщелеповій за того як кінчик мікроеле ми, стрибкоподібно ре спокою (ПС), який вар завжди був електронег хідно звернути увагу на подібно і після проходж верхневий шар протопла