

Активність основних неорганічних катіонів у протоплазмі збудливих клітин

П. Г. Костюк

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Визначення активності основних неорганічних катіонів — водню, натрію та калію — у протоплазмі збудливих клітин є однією з важливих передумов проникнення в механізми фізико-хімічних процесів, що лежать в основі життєдіяльності клітини, і особливо, в механізми генерації нею біоелектричних потенціалів. Найбільш точним методом такого визначення є застосування скляних електродів з катіон-селективного скла, потенціал яких є, як відомо, функцією не аналітичної концентрації, а термодинамічної активності відповідних іонів. Застосування скляних електродів має цілий ряд переваг, особливо при роботі з біологічними об'єктами. Точність визначення величини активності скляним електродом не залежить від присутності у середовищі окислювачів та відновників, ядів та колоїдів. Скляні електроди дозволяють роботу з мінімальними кількостями розчинів.

Скляний електрод для внутріклітинного вимірювання активності водневих іонів (рН) був уперше виготовлений Колдвелом у 1954 р. Зовнішній діаметр кінчика такого електрода досягав 100—150 мк, і тому його можна було вводити лише в особливо великі клітини (м'язові волокна крабів або гігантські аксони кальмарів). Зрозуміло, що електрод не міг проколоти клітинну мембрану, і тому у ній заздалегідь робили отвір, через який вводили всередину волокна селективний електрод та електрод порівняння. Електрод Колдвела не дістав широкого застосування у біологічних дослідженнях, оскільки значні його розміри перешкождали введенню його в клітину без істотного порушення її внутрішньої структури. Такий електрод непридатний для використання на об'єктах, дослідження яких має особливо велике теоретичне та практичне значення на м'язових та нервових клітинах вищих тварин. Тому необхідно було удосконалити техніку виготовлення скляних електродів для клітинних досліджень і зробити їх відповідними звичайним внутріклітинним мікроелектродам, що широко вживаються зараз для аналізу електричних потенціалів самих різноманітних клітин тваринних організмів. Такі електроди були сконструйовані спочатку для внутріклітинного вимірювання активності водневих іонів [1, 2, 7].

Останнім часом скляні електроди були застосовані і для визначення активності іонів калію та натрію. Внутріклітинне вимірювання активності цих іонів було вперше здійснено Хінке у 1959—1961 рр. Виготовлені ним електроди мали зовнішній діаметр кінчика 20—30 та 70—90 мк, і тому вони також могли бути застосовані лише для дослідів на клітинах дуже великих розмірів. Лев і Бужинський [3] удосконалили техніку виготовлення селективних калієвих та натрієвих мікроелектродів.

Вони одержали калій-селективні електроди, які за своїми розмірами мало відрізнялись від звичайних мікроелектродів, що застосовуються в електрофізіологічних дослідженнях. Зовнішній діаметр кінчика цих мікроелектродів становив 0,6—1,5 мк, і це дозволило використати їх для досліджень на такому класичному об'єкті, як поперечносмугасті м'язові волокна жаби.

Однак успішне введення мікроелектродів у більшість збудливих клітин можливе лише у тому випадку, коли діаметр їх кінчика не перевищує 0,5 мк. Тому істотною проблемою внутріклітинного вимірювання активності іонів калію та натрію залишалось зведення до мінімуму зовнішнього діаметра кінчика селективних мікроелектродів. Цю проблему вдалось цілком розв'язати, і Сорокіна [9] виготовила калієві та натрієві селективні мікроелектроди, зовнішній діаметр кінчика яких міг бути доведеним до кількох десятків долей мікрона.

Робота з катіон-селективними мікроелектродами тепер ефективно провадиться уже в ряді лабораторій, що дозволило з'ясувати ряд принципів питань активності неорганічних катіонів у протоплазмі збудливих клітин.

Деякі загальні принципи функцій скляних мікроелектродів. Потенціалом скляного мікроелектрода прийнято називати суму стрибків потенціалів на обох поверхнях скляної плівки. За теорією скляного електрода, розробленою Нікольським та його співробітниками [5, 6, 12, 13], причиною виникнення потенціалу є різниця хімічних потенціалів між іонами H^+ та M^+ у пограничному шарі скла, який межує з розчином. Величина потенціалу виражається таким рівнянням:

$$\varphi = \varphi^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_H + ka_M)$$

де k — константа електрохімічної рівноваги процесу заміщення іонів у поверхневому шарі скла на іони розчину; a_H — активність іонів водню та a_M — активність іонів металу.

Константа k є важливою фізико-хімічною характеристикою скла, оскільки її величиною визначається міра специфічності електродної функції скла. Значення константи тим менше, чим міцніше зв'язаний з склом іон H^+ і чим слабкіший зв'язок іону M^+ . Іншими словами, чим менше k , тим в більшому інтервалі рН скляний електрод веде себе як ідеальний водневий електрод.

У тому випадку, коли в розчині міститься два сорти металевих катіонів (M_1 та M_2), а активність іонів H^+ порівняно мала,

$$\varphi = \varphi^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{M_1} + k_{M_1M_2} a_{M_2}), \text{ де } k_{M_1M_2} = \frac{k_{M_2H}}{k_{M_1H}}.$$

У простій теорії скляного електрода передбачалось, що активності іонів H^+ та M^+ в скляній фазі дорівнюють їх загальним концентраціям, тобто коефіцієнти активності іонів приймалися як такі, що не залежать від ступеня заміщення в склі одних іонів іншими, і їх значення прирівнювалось до одиниці [5].

При дальшому розвитку теорії скляного електрода Нікольським і Шульцем була взята до уваги можлива неоднорідність міцності зв'язків іонів H^+ та M^+ у склі і введена уява про дисоціацію в ньому іоногенних груп [6, 12, 13].

Формула Нікольського аналогічна формулі Ейзенмана [15—17].

Для
тродів ви
ну криву.
тродів.

рН-е.
рН 1 — 10
вить 1,2>
можна зн

Конс
вається в
працюють

К о н
селективн
ності іоні

скло ЕС-
скло кафе
ня мікрое

му автом
підборі н
лась зраз

виготовле
рієвого с
Запаяні

та KCl);
хлор-сріб
ки (крім

склом; д
гою мікр

чику мік
піпетками
ментом.

При
слід при
значних

лютна ве
електроді
були стаб

активност
нахил ка
ло період

При
вим пита
електрод

шому ви
мою поте
рівняння

лення ді
потенціал

В др
дині кліт
раховуєт

порівнян
може бут
мембрани
величини

Для характеристики катіонних властивостей селективних мікроелектродів вимірюють залежність φ від pM і будують відповідну калібраційну криву. На підставі цієї залежності визначають межі функцій електродів.

pH-електроди не мають натрієвої та калієвої функцій в ділянці pH 1—10, і середня величина константи селективності k для них становить $1,2 \times 10^{-7}$. У такому випадку добуток ka_{Na} стає незначним, і ним можна знехтувати.

Константа селективності натрій-селективного електрода k_{NaK} коливається в межах 0,01—0,015. Електроди для визначення активності калію працюють найменш селективно $k_{KNa}=0,11—0,23$.

Конструкція селективних мікроелектродів. Катіон-селективні скляні електроди для внутріклітинного вимірювання активності іонів виготовляли в нашій лабораторії з скла $NCaS_{22-6}$ (водневе скло ЕС-1) NAS_{11-18} (натрієво скло Ейзенмана) та $KABS_{20-9-5}$ (калієве скло кафедри фізичної хімії Ленінградського університету). Виготовлення мікроелектродів починалось з витягнення мікропіпеток у відповідному автоматі. Оскільки водневе скло дуже легкоплавке, то при певному підборі нагріву скла та сили розтягнення частина мікропіпеток виявлялась зразу ж запаяною на кінчику. Саме їх і відбирали для наступного виготовлення мікроелектродів. Кінчики мікропіпеток з калієвого та натрієвого скла необхідно спеціально запаювати під контролем мікроскопа. Запаєнні мікропіпетки заповнювали відповідними розчинами (HCl, NaCl та KCl); контакт з внутрішнім розчином здійснювався з допомогою хлор-срібного напівелемента. Ізоляція зовнішньої поверхні мікропіпетки (крім кінчика довжиною в кілька мікрон) проводилась нейтральним склом; для цього запаяну та заповнену мікропіпетку з допомогою мікроманіпулятора вводили всередину звичайної відкритої на кінчику мікропіпетки з неселективного скла. Простір між обома мікропіпетками у верхній та нижній частині заповнювали фосфатним цементом.

При виготовленні катіон-селективних мікроелектродів значну увагу слід приділити їх власним потенціалам, які можуть бути джерелом значних помилок. На точності вимірів особливо відбивається не абсолютна величина цих потенціалів, а їх стабільність. У більшості мікроелектродів при фізіологічних концентраціях іонів величини потенціалів були стабільними, і зміни згодом спостерігались лише в ділянці низьких активностей. У таких електродах, таким чином, з часом міг змінюватися нахил калібраційних кривих. Тому при тривалих дослідях необхідно було періодично повторювати калібрування електродів.

При використанні внутріклітинних селективних електродів важливим питанням є характер та розташування електрода порівняння. Такий електрод може знаходитися як зовні клітини, так і всередині неї. У першому випадку різниця потенціалів, яка відводиться, є алгебраїчною сумою потенціалу селективного мікроелектрода, потенціалу електрода порівняння та потенціалу спокою клітинної мембрани. Тому для встановлення дійсної величини активності необхідне спеціальне вимірювання потенціалу спокою та внесення спеціальної поправки.

В другому випадку, коли електрод порівняння знаходиться всередині клітини, різниця потенціалів, за якою визначається активність, відраховується безпосередньо між селективним електродом та електродом порівняння. Цей же електрод в сполученні з позаклітинним електродом може бути використаний для вимірювання потенціалу спокою клітинної мембрани. При такому способі нема необхідності в корекції одержаної величини різниці потенціалів на величину потенціалу спокою.

Однак при такому способі вимірювання активності буде допущена помилка, пов'язана зі змінами власного потенціалу мікроелектрода, що використовується як електрод порівняння, при переході його із зовнішнього розчину всередину клітини. Величина зміни цього потенціалу не може бути точно підрахована, оскільки такий підрахунок сам по собі вимагає знання активності іонів, яку ми визначаємо. Тому слід використовувати мікроелектроди порівняння з мінімальним власним потенціалом.

На підставі дослідів, де як електрод порівняння використаний оборотний електрод, можна лише приблизно вважати, що помилка, яка вноситься у вимірювання активності, не перевищує 0,05 одиниці рН.

Активність водневих іонів. Вивчення активності водневих іонів всередині різних клітин дало дуже збіжні результати. В м'язових волокнах жаби середня величина рН становить 7,15. Вимірювання на волокнах м'язів із збереженим кровообігом та іннервацією дали ту ж величину — 7,12 [2]. В поперечносмугастих м'язових волокнах щура рН становить 7,34. Середня величина рН в нервових клітинах молюсків (*Planorbis* та *Helix*) становить 7,26 [11].

Одночасне вимірювання величини потенціалу спокою на всіх цих клітинах показало, що він коливається від -40 до -90 мВ; ніякої залежності між величиною рН всередині клітини та величиною потенціалу не було відзначено. Так, відомо, що потенціал спокою змінюється приблизно в лінійній залежності від логарифма зовнішньої концентрації іонів калію. Повне видалення калію з розчину, що оточує м'яз, дещо збільшує величину потенціалу спокою його волокон, але величина рН у їх протоплазмі при цьому практично не змінюється. При збільшенні концентрації калію в середовищі потенціал спокою знижується; але зміни внутріклітинного рН порівняно з цими змінами залишаються незначними. У розчині з вмістом калію 100 мм рН у протоплазмі збільшується до $7,12-7,20$, тобто не більше ніж на $0,1$ одиниці рН [7].

Більш того, дуже значні зміни зовнішнього рН, викликані за допомогою різних буферних систем, виявились мало ефективними у зміні рН всередині клітини, яке дуже повільно (на протязі однієї-двох годин) змінювалось у тому ж напрямку, що й зовнішнє рН. Через кілька годин зміна рН уповільнювалась, і остаточна його величина завжди виявлялась дуже відмінною від тієї, яку можна було б теоретично передбачити на підставі доннанівської рівноваги.

Єдиним ефективним впливом, який міг швидко змінювати величину рН у клітині, було насичення зовнішнього розчину CO_2 . Різниця між впливами CO_2 та буферних розчинів була разючою — у всіх досліджених нами об'єктах насичення розчину 100% CO_2 приводило до зміни рН у клітині на величину від $0,5$ до 1 . Новий рівень рН у поперечносмугастих м'язових волокнах жаби досягався через $0,5-1$ хв [2]. Зміни рН у клітині при цьому були цілком оборотними і відновлювались при видаленні CO_2 із зовнішнього розчину з такою ж швидкістю.

Розбіжності між змінами потенціалу спокою та рН протоплазми дуже наочні також при дії на клітину метаболічних інгібіторів. α -ДНФ у концентрації $0,1$ мм через дві години знижує потенціал спокою м'язових волокон жаби на 50% ; при дії $0,2$ мм цей же ефект досягається через $1-1,5$ год. рН протоплазми при цьому залишається практично незмінним навіть через $5-6$ год після аплікації отрути [2]. Отруєння м'язового волокна α -ДНФ практично не відбивається на швидкості та амплітуді змін рН протоплазми при насиченні зовнішнього розчину CO_2 (хоч час відновлення змін при цьому дещо уповільнюється).

Всі згадав впливах на клітинні припущеннях:

1) Протоплазми) має знанних та гідролітичних або утворити

2) Водневий робить його цього є те, що новим фактом утворюються тинну мембрі бікарбонатної ченні зовнішнього довища.

3) Величина від тієї гідроксиду м'язим на мембрі не лише у клітині на наявності клітинну мембрану існувати мембранного існуючого на низькому аналогі катіонів.

На жаль, детальні протоплазми деяких спеціальних (шлунка) активний великий інтенсивний таких ефічний рН протоплазми значення дещо шу чергу д

Активність рювання активності величини ізолюваннях $0,007$ М. Як натрію в протоплазми ти активності $0,39$. (Протоплазми)

Якщо встановити, внутріклітинний середній значення цьому без зовнішнього м'язового коефіцієнта

У гігантському калію став іонів натрію

Всі згадані особливості зміни рН протоплазми при різних зовнішніх впливах на клітину можуть знайти задовільне пояснення лише при таких припущеннях:

1) Протоплазма збудливої клітини (як, мабуть, і всякої іншої клітини) має значну буферну ємність у порівнянні з тією кількістю водневих та гідроксильних іонів, яка може пройти крізь клітинну мембрану або утворитися в протоплазмі під час метаболітичних процесів.

2) Водночас клітинна мембрана дуже легко проникна для CO_2 , що й робить його фактором, який легко змінює рН протоплазми. Наслідком цього є те, що внутрішня CO_2 -бікарбонатна буферна система стала основним фактором у визначенні рН протоплазми. Бікарбонатні іони, що утворюються всередині клітини, мабуть, погано проникають крізь клітинну мембрану; тому не відбувається вирівнювання внутрішньої CO_2 -бікарбонатної системи із зовнішньою, і рН протоплазми навіть при насиченні зовнішнього розчину CO_2 не вирівнюється з рН зовнішнього середовища.

3) Величина рН протоплазми приблизно на одну одиницю відрізняється від тієї, яка має бути при пасивному перерозподілі іонів водню та гідроксилу між протоплазмою та середовищем у відповідності з існуючим на мембрані електрохімічним градієнтом. Ця різниця спостерігається не лише у ізольованих клітин, але також *in situ*. Оскільки (незважаючи на наявність у цьому випадку достатнього часу для переходу крізь клітинну мембрану необхідної для насичення внутрішньої буферної ємності кількості іонів водню) насичення все ж не відбувається, повинен існувати механізм активного виведення водневих іонів з клітини проти існуючого на мембрані електрохімічного градієнта. Можливо, цей механізм аналогічний механізму активного транспорту крізь мембрану інших катіонів.

На жаль, досі ще нема даних, які дозволили б висловити більш детальні припущення про цей механізм. Можна лише вказати, що для деяких спеціалізованих клітин (наприклад, клітин слизової оболонки шлунка) активний транспорт водневих іонів добре відомий. Викликає великий інтерес питання про функціональне значення існування в клітині таких ефективних механізмів, які підтримують строго постійну величину рН протоплазми. Можливо, що згадана постійність має істотне значення для нормального перебігу процесів всередині клітини, в першу чергу для нормального функціонування її ферментних систем.

Активність іонів калію та натрію. Проведені вимірювання активності іонів калію та натрію дали такі результати. Середня величина активності іонів калію в протоплазмі м'язових волокон неізолюваних м'язів жаби становить 0,096 М, а активність іонів натрію — 0,007 М. Якщо використати дані про аналітичну концентрацію калію та натрію в цих м'язових волокнах, то можна умовно обчислити коефіцієнти активності для відповідних іонів; вони становлять відповідно 0,73 та 0,39. (Про причини умовності такого підрахунку див. нижче).

Якщо ізолювати м'язи і помістити їх у розчин Рінгера, то можна встановити, що таке перебування приводить до незначного зниження внутріклітинної концентрації калію та активності відповідних іонів. Однак середня величина умовного коефіцієнта активності залишається при цьому без змін. Концентрація та активність іонів натрію під час перебування м'яза в рінгєрівському розчині, навпаки, підвищується. Умовний коефіцієнт активності при цьому також не змінюється [9].

У гігантських нейронах молюсків середня величина активності іонів калію становить 0,073 М (*Helix*) та 0,034 М (*Planorbis*), а активність іонів натрію відповідно 0,0093 та 0,0032 М. Оскільки аналітичні кон-

центрації іонів калію та натрію в нейронах досягають 0,093 та 0,0032 М у *Helix* і 0,053 та 0,014 М у *Planorbis*, умовні коефіцієнти активності повинні становити 0,78—0,73 для іонів калію та 0,53 для іонів натрію [11].

Одержані матеріали особливо важливі в тому відношенні, що вони вказують на велику різницю між умовними коефіцієнтами активності іонів калію та натрію для всіх досліджених клітин, хоч вони й надзвичайно відрізняються за своєю внутрішньою будовою. Цей висновок збігається з результатами досліджень інших лабораторій [4, 19, 20].

У зв'язку з одержанням таких результатів при їх оцінці виникає ряд теоретичних питань. Загалом причини, що спричиняються до зменшення активності іону, порівнюючи з аналітичною його концентрацією у всій клітині, можуть бути двох типів. З одного боку — це зміна концентрації розчиненої речовини у зв'язку з утворенням нерозчинних сполук або виключення частини іонів чи частини води з об'єму, в якому провадиться вимірювання активності, або, з другого боку — зміна енергії розчинених часток в зв'язку з їх взаємодією між собою чи з молекулами розчинника.

Нерівномірний розподіл калію та натрію всередині клітини не викликає сумніву, хоча переважання кількості одних іонів над іншими в різних клітинних фракціях не дуже велике [21, 22]. Тубулярна система м'язових волокон, наприклад, може бути місцем, в якому накопичуються іони натрію — але, як показали дослідження нашої лабораторії, зниження активності іонів натрію становить таку ж величину і в нервових клітинах, що мають зовсім іншу внутріклітинну структуру.

Наявність зв'язаної води, яка спроможна виключати іони металів і тому не може бути взята до уваги при обчисленнях, також не можна виключати; це питання докладно розглянуто в літературі [20].

Але важливо звернути увагу також на іншу можливість — зниження енергії іонів у протоплазмі клітини. В існуючій практиці вимірювань активності одержані коефіцієнти активності порівнюються з коефіцієнтами активності розчинів хлоридів калію та натрію, і на підставі такого порівняння робляться висновки про стан іонів у протоплазмі клітини. Якщо коефіцієнт активності в протоплазмі знижений, робиться висновок, що відповідний іон частково «зв'язаний», однак необхідно мати на увазі, що для поліелектролітів індивідуальні коефіцієнти активності іонів значно відрізняються від таких у водних розчинах хлоридів однакової концентрації. Це підтверджується проведеними в нашій лабораторії Ю. Д. Холодовою вимірюваннями коефіцієнтів активності іонів в акрилових поліелектролітах з карбоксильними групами, які є характерними для клітинних поліелектролітів. Активність іонів після полімеризації значно знижувалась. Слід відзначити, що коефіцієнт активності (тобто асоціація протиіонів) не залежав від молекулярної ваги поліелектроліту, яку можна було змінити, змінюючи умови полімеризації. Мабуть, вплив на іони зарядів найближчих груп у ланцюзі поліелектроліту досягає асимптотичного значення вже при низьких ступенях полімеризації.

Аналогічні дані були одержані щодо коефіцієнтів активності іонів у поліелектролітах не лише з слабокислими карбоксильними групами, але і з сильнокислими, добре дисоційованими сульфогрупами. У таких поліелектролітах (типу Дауекс) іони, незважаючи на знижений коефіцієнт активності, вільно обмінюються та беруть участь у різних обмінних процесах.

Зменшення коефіцієнтів активності іонів у поліелектролітах пов'язане, очевидно, з електростатичною інактивацією в інтенсивних полях близько розташованих зарядів, а також з рядом інших типів взаємних впливів між іонами та поліелектролітними групами.

ж
ум
ко
ст
ви
ум
бу
ел
об
іон
но

діа
ви
ти
ня
сь
не
ра
на

слі
ра
що
ак
клі
жу
уя
не
ко
ма
мі

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.

Всі ці феномени, які відбуваються в штучних поліелектролітах, можуть здійснюватися в протоплазмі клітини, і тому порівняння величин умовних коефіцієнтів активності іонів всередині клітини з величинами коефіцієнтів активності для хлоридних розчинів не може бути використаним для судження про стан іонів у протоплазмі, в тому числі для вирішення питання про їх зв'язаність. Якщо ми помічаємо зниження умовного коефіцієнта активності для певного іону в клітині, то це може бути наслідком зниження його енергії за типом, характерним для поліелектролітів і не пов'язаним з утрудненням обміну іонів, водночас така обставина не виключає й можливості хімічного зв'язування частини цих іонів або ізоляції їх в якомусь особливому просторі клітини, недоступному для вимірюючого селективного електрода.

Висновки

Використання скляних селективних мікроелектродів із зовнішнім діаметром кінчика порядку 0,5 мк дозволяє проводити електрометричне визначення активності іонів водню, калію та натрію в протоплазмі клітин, доступних для звичайного мікроелектродного аналізу. В дослідженнях, проведених на поперечносмугастих м'язових волокнах та гігантських нервових клітинах встановлено, що рН протоплазми перебуває в нейтральній ділянці. Виявлена значна різниця між аналітичною концентрацією та активністю одного з основних неорганічних іонів — іону натрію.

Для аналізу експериментальних даних проведено ряд модельних досліджень на синтетичних поліелектролітах з іоногенними групами, характерними для клітинних поліелектролітів. Проведений аналіз показав, що одержані з допомогою селективних електродів величини відношень активності пар іонів цілком придатні для кількісного опису рівноважних клітинних процесів. Водночас, величини коефіцієнтів активності, які можуть бути при цьому обчислені, недостатні для створення правильної уяви про фізичну суть процесів взаємодії іонів з структурними компонентами протоплазми та характеристики ступеня зв'язаності іонів. Такі коефіцієнти можна розглядати лише як умовні, оскільки ми поки що не маємо змоги точно врахувати гетерогенність розподілу іонів у протоплазмі та кількість зв'язаної в протоплазмі води.

Література

1. Костюк П. Г.— Вопросы биофизики., М., 1964, 226.
2. Костюк П. Г., Сорокина З. А. (Kostyuk P. G., Sorokina Z. A.— Membrane Transport and Metabolism, Prague, 1961, 193.
3. Лев А. А., Бужинский Э. П.— Цитология, 1961, 8, 614.
4. Лев А. А. (Lev A. A.) — Nature, 1964, 201, 1132.
5. Никольский Б. П.— Журн. физ. химии, 1937, 10, 495.
6. Никольский Б. П., Шульц М. М.— Вестник ЛГУ, серия физ. химии, 1963, 4, 73.
7. Сорокина З. А.— Цитология, 1961, 3, 48.
8. Сорокина З. А.— Бюлл. exper. биол. мед., 1964, 10, 119.
9. Сорокина З. А.— Бюлл. exper. биол. мед., 1964, 12, 17.
10. Сорокина З. А.— Журн. эвол. биох. физиол., 1965, 1, 343.
11. Сорокина З. О.— Физиол. журн. АН УРСР, 1966, 12, 776.
12. Шульц М. М.— Уч. зап. ЛГУ, серия хим., 1953, 13, 80.
13. Шульц М. М.— Вестник ЛГУ, серия физ. хим., 1963, 4, 174.
14. Caldwell P. C.— J. Physiol., 1954, 126, 169.
15. Eisenman G.— Biophys. J., 1962, 2, 259.
16. Eisenman G.— (Эйзенман Дж.). Вопросы биофизики, М., 1964, 215.
17. Eisenman G., Rudin D. O., Casby J. U.— Science, 1957, 126, 831.
18. Hinke J. A. M.— Nature, 1959, 184, 1257.
19. Hinke J. A. M.— J. Physiol., 1961, 156, 314.

20. McLaughlin G. A., Hinke J. A. M.—*Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 1966, 44, 837.
21. Naora H., Jzawa M., Allfrey V. G., Mirsky A. E.—*Proc. N. Y. Acad. Sci.*, 1962, 48, 853.
22. Steinbach H. B.—*Amer. J. Physiol.*, 1950, 163, 236.

Активность основных неорганических катионов в протоплазме возбудимых клеток

П. Г. Костюк

Институт физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Резюме

Использование стеклянных селективных микроэлектродов с внешним диаметром кончика порядка 0,5 мк позволяет проводить электрометрическое определение активности ионов водорода, калия и натрия в протоплазме клеток, доступных для обычного микроэлектродного анализа. В исследованиях, проведенных на поперечнополосатых мышечных волокнах и гигантских нервных клетках, установлено, что pH протоплазмы лежит в нейтральной области. Найдено значительное различие между аналитической концентрацией и активностью ионов натрия.

Для анализа экспериментальных данных проведен ряд модельных исследований на синтетических полиэлектролитах с ионогенными группами, характерными для клеточных полиэлектролитов. Такой анализ показал, что величины отношений активностей пар ионов, полученные при помощи селективных микроэлектродов, вполне пригодные для количественного описания равновесных клеточных процессов. Вместе с тем, величины коэффициентов активности, которые могут быть при этом вычислены, недостаточны для создания правильного представления о физической сущности процессов взаимодействия ионов со структурными компонентами протоплазмы и характеристики связанности ионов. Такие коэффициенты можно рассматривать только как условные, так как мы пока не имеем возможности точно учесть гетерогенность распределения ионов в протоплазме и количество связанной в протоплазме воды.

Activity of the Main Inorganic Cations in the Protoplasm of Excitable Cells

P. G. Kostyuk

The A. A. Bogomoletz Institute of Physiology of the Academy of Sciences
of the Ukrainian SSR, Kiev

Summary

The use of selective glass microelectrodes with tip diameter about 0.5 micron allows the experimental determination of the activity of hydrogen, potassium and sodium ions in cell protoplasm accessible for usual microelectrode analysis. In experiments on striated muscle fibers and large nerve cells it was shown that the intracellular pH is in neutral region and that there is a considerable difference between the analytic concentration and activity for sodium ions.

For evaluation of the data obtained the activity measurements on synthetic polyelectrolytes with ionogenic groups characteristic for all polyelectrolytes were made. A conclusion is drawn that the values of relative activities of pairs of ions obtained from the intracellular measurements with selective microelectrodes can be used for quantitative description of the heterogenous equilibria in cellular processes.

But the calculated values of the activity coefficients cannot give us correct ideas about the physical nature of the interaction between ions and structural components of the protoplasm and the degree of ion binding in the cell. Such coefficients can be considered only as apparent as far as we have for the present no possibilities to account for the heterogeneity of the ion distribution and bound water in the protoplasm.