

## Активний транспорт електролітів зрізами слинних залоз \*

М. С. Яременко

*Відділ фізіології обміну речовин Інституту фізіології  
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

Дослідами цілого ряду авторів [3, 5, 6, 9, 10, 12] було показано, що занурення тканин ссавців в ізотонічні розчини з температурою близько  $0^{\circ}\text{C}$  веде до значного набрякання клітин внаслідок накопичення в них води, іонів натрію та хлору, при одночасній втраті клітинами великої кількості іонів калію. Якщо таку тканину інкубувати потім в ізотонічному розчині, насиченому  $\text{O}_2$ , при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , то за цих умов клітини звільнюються від надлишків води, натрію та хлору, одночасно реакумуючи втрачений калій. У цьому випадку рух іонів відбувається проти концентраційного і електрохімічного градієнтів.

Таким чином, послідовне занурювання тканин в інкубуючий розчин з низькою і нормальною температурами викликає спочатку порушення, а потім відновлення іонних градієнтів між клітиною і навколишнім середовищем.

В останні роки цей метод дістав широке застосування для вивчення процесів клітинного транспорту в різних тканинах. У цьому аспекті менш вивченими залишаються поки що тканини секреторних органів. Тому певний інтерес становить використання методу послідовної інкубації тканинних зрізів у розчинах з різною температурою для вивчення процесів іонного транспорту секреторними клітинами, зокрема слинних залоз.

### Методика досліджень

В досліджах використовували білих щурів-самців лінії Вістар, вагою 100 г. Тварин декапітували. Слинні залози (підщелепна, навколоушна і навколоочна) швидко відпрепарували від оточуючих тканин, вміщували на заздалегідь охолоджений алюмінієвий столик для виготовлення тканинних зрізів за методом Детша [4]. Товщина зрізів була в межах 0,3—0,4 мм, вага 20—40 мг. Частину зрізів відразу ж зважували на торзійній вазі і переносили в тиглі для висушування. Решту зрізів занурювали в ізотонічний Кребс-Рінгер-фосфатний (КРФ) розчин без кальцію з рН-7,4, охолоджений до температури  $0-2^{\circ}\text{C}$ . Після 2,5 год перебування зрізів у цьому розчині частину з них промакали на фільтрувальному папері, зважували і вміщали в тиглі для висушування, а решту зрізів переносили (по два-три зрізи) в колбочки Ерленмейра на 25 мл, в яких знаходилось по 3 мл нормального розчину КРФ. Розчин насичували протягом 30 сек киснем, потім колбочки щільно закривали гумовими пробками і ставили у водяну баню, яка безперервно струнувалась на Шутель апараті. Зрізи інкубували в межах від 5 до 90 хв при температурі КРФ  $37^{\circ}\text{C}$ .

Склад розчину КРФ без кальцію: 103 мл 0,154 М NaCl; 4 мл 0,154 М KCl; 3 мл

\* Ця робота була виконана в лабораторії клітинного метаболізму Інституту мікробіології Чехословацької АН.

0,154 М  $\text{NaHCO}_3$ ; 1 мл 0,154 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1 мл 0,154 М  $\text{MgSO}_4$ ; 3 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера.

Склад нормального розчину КРФ: 100 мл 0,154 М  $\text{NaCl}$ ; 4 мл 0,154 М  $\text{KCl}$ ; 3 мл 0,11 М  $\text{CaCl}_2$ ; 3 мл 0,154 М  $\text{NaHCO}_3$ ; 1 мл 0,154 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 1 мл 0,154 М  $\text{MgSO}_4$ ; 3 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера; глюкоза з розрахунку 1 мг/мл.

Після закінчення інкубації зрізи виймали з колбочок Ерленмейра, трохи просушували на фільтрувальному папері, зважували і переносили в тиглі. Свіжовирізану, охолоджену і інкубовану тканину висушували в тиглях протягом однієї доби при температурі  $105^\circ\text{C}$ . Висушену тканину зважували на аналітичній вазі і переносили з тиглів у мірні пробірки з притертими пробками, де тканину розтирали, заливали 4 мл демінералізованої води і кип'ятили протягом 15 хв. Коли рідина охолоджувалась до кімнатної температури, в кожену пробірку додавали по 1 мл 1 Н сірчаної кислоти, перемішували і залишали на 24 год. За цей час електроліти повністю екстрагувались з тканини.

Вимірювання об'єму позаклітинного простору в зрізах слинних залоз. Зрізи (після попереднього витримання в умовах низької температури) переносили в розчин КРФ, до якого додавали інулін в кількості 4 мг/мл і інкубували в оптимальних умовах протягом 60 хв. Після цього зрізи виймали з розчину, трохи просушували на фільтрувальному папері, зважували і клали в пробірки, в які було наливо по 3 мл демінералізованої води.

У воді зрізи залишали на 22 год (в холодильнику) для екстракції з них інуліну.

Аналітичні методи. Після закінчення екстракції електролітів з тканин, в надлишковій рідині визначали вміст хлору методом потенціометричного титрування 0,01 Н розчином  $\text{AgNO}_3$ , і вміст натрію та калію за допомогою полум'яної фотометрії. Інсулін, екстрагований з тканин, визначали за допомогою методу, описаного нами раніше [1].

Розрахунки. Загальний вміст води в тканині визначали за формулою:  $\text{H}_2\text{O}_t = \frac{\text{волога вага тканини}}{\text{суха вага тканини}} - 1$ , де  $\text{H}_2\text{O}_t$  — кількість води в тканині в кг на 1 кг сухого залишку.

Об'єм позаклітинного простору обчислювали за такою формулою:  $E = \frac{\text{інсулін в 1 г. вологої тканини}}{\text{інсулін в 1 мл розчину КРФ}}$  1000, де  $E$  — кількість позаклітинної рідини в л на 1 кг вологої тканини.

Кількість позаклітинної води визначали за формулою:  $\text{H}_2\text{O}_o = (\text{H}_2\text{O}_t + 1) \cdot E$ , де  $\text{H}_2\text{O}_o$  — кількість позаклітинної води в кг на 1 кг сухого залишку.

Для обчислення внутріклітинної концентрації електролітів застосовували такі формули:  $(K)_i = \frac{(K)_t - [K]_o \cdot (\text{H}_2\text{O})_o}{1000}$ ;  $[K]_i = \frac{100(K)_i}{(\text{H}_2\text{O})_i}$ , де  $(K)_i$  — внутріклітинний вміст калію в 1 кг сухого залишку,  $(K)_t$  — загальний вміст калію в 1 кг сухого залишку,  $[K]_i$  — вміст калію в 1 кг внутріклітинної води,  $[K]_o$  — вміст калію в 1 кг інкубаційного розчину,  $(\text{H}_2\text{O})_i$  і  $(\text{H}_2\text{O})_o$  — вміст внутрі- і позаклітинної води в 1 кг сухого залишку.

### Результати досліджень

1. Підщелепна залоза. У табл. 1 наведені середні дані про вміст води, іонів натрію, калію і хлору у свіжовирізаній тканині підщелепної залози, охолодженої до  $0-2^\circ\text{C}$  протягом 2,5 год і інкубованої після охолодження в розчині КРФ при температурі  $37^\circ\text{C}$  протягом 5—90 хв.

Аналіз даних показує, що перебування зрізів залози в охолодженому розчині КРФ викликає значне набрякання тканини внаслідок надходження в клітини води та іонів натрію і хлору, водночас у тканині і клітинах зменшувалась кількість калію. Після 2,5 год перебування зрізів у КРФ при температурі  $0^\circ\text{C}$  загальна кількість води в тканині збільшувалась з 3,205 до 4,192 кг/кг сухої тканини (СТ), вміст натрію збільшувався в 172,8 до 605,5 мекв/кг СТ, хлору з 221,5 до 460,3 мекв/кг СТ, а кількість калію зменшувалась за цей час з 433,9 до 167,4 мекв/кг СТ.

Слід відзначити, що під час перебування зрізів в охолодженому розчині КРФ об'єм позаклітинної рідини зменшився з 0,165 до 0,121 л/кг вологої ваги тканини. Це свідчить про те, що набрякання тканини при її охолодженні відбувалось виключно за рахунок збільшення води і електролітів у клітинах.

Коли охолоджену тканину переносили в розчин КРФ, насичений киснем ( $\text{КРФ} + \text{O}_2$ ) з температурою  $37^\circ\text{C}$ , то клітини починали швидко виводити надлишкову воду і натрій та реакумулювати втрачений калій.

Наведені в табл. 1 і 2 дані свідчать про те, що вже після 5 *хв* інкубації зрізів за нормальних умов загальний вміст калію в тканині підвищився з 167,4 до 270,8 *мекв/кг* СТ ( $p < 0,001$ ), а всередині клітин кількість калію збільшилась відповідно з 45,9 до 87,6 *мекв/кг* внутріклітинної води ( $\text{H}_2\text{O}_i$ ). Водночас загальна кількість натрію в тканині зменшувалась з 605,5 до 449,2 *мекв/кг* СТ ( $p < 0,001$ ), а в клітинах з 145,8 до 114,8 *мекв/кг*  $\text{H}_2\text{O}_i$ . Загальний вміст води в тканині зменшувався за цей же час з 4,192 до 3,779 *кг/кг* СТ ( $p < 0,001$ ), а всередині клітин з 3,564 до 3,057 *кг/кг* СТ. Однак кількість хлору в тканині і всередині клітини не зменшувалась.

Таблиця 1

Вміст води і електролітів у зрізах тканин підщелепної слинної залози щурів до і після їх інкубації в розчині КРФ при температурі 0 і  $37^\circ\text{C}$  ( $M \pm \delta$ )

|        | Свіжовирі-<br>зана ткани-<br>на | $T^\circ$         | Після інкубації зрізів при температурі $37^\circ\text{C}$ (час у <i>хв</i> ) |                   |                   |                   |                   |
|--------|---------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|        |                                 |                   | 5                                                                            | 10                | 20                | 45                | 90                |
| Вода   | $3,205 \pm 0,232$               | $4,192 \pm 0,207$ | $3,779 \pm 0,240$                                                            | $3,892 \pm 0,298$ | $3,731 \pm 0,279$ | $3,801 \pm 0,109$ | $3,691 \pm 0,165$ |
| $p <$  |                                 |                   | 0,001                                                                        | 0,01              | 0,001             | 0,001             | 0,001             |
| Натрій | $172,8 \pm 31,0$                | $605,5 \pm 53,1$  | $449,2 \pm 72,4$                                                             | $436,9 \pm 55,2$  | $347,4 \pm 64,5$  | $337,1 \pm 50,0$  | $323,2 \pm 35,6$  |
| $p <$  |                                 |                   | 0,001                                                                        | 0,001             | 0,001             | 0,001             | 0,001             |
| Калій  | $\pm 433,7$                     | $167,4 \pm 29,2$  | $270,8 \pm 41,8$                                                             | $326,8 \pm 50,8$  | $337,2 \pm 55,0$  | $397,7 \pm 42,8$  | $457,4 \pm 24,4$  |
| $p$    | $\pm 31,4$                      |                   | 0,001                                                                        | 0,001             | 0,001             | 0,001             | 0,001             |
| Хлор   | $221,5 \pm 25,4$                | $460,3 \pm 33,7$  | $462,5 \pm 52,7$                                                             | $473,2 \pm 48,1$  | $414,3 \pm 38,1$  | $435,6 \pm 23,9$  | $463,6 \pm 64,3$  |
| $p <$  |                                 |                   | 0,5                                                                          | 0,5               | 0,001             | 0,05              | 0,5               |

Позначення: вода—в *кг*, натрій, калій, хлор в міліеквівалентах (на 1 *кг* сухого залишку тканини),  $T^\circ$ —вміст води, натрію, калію і хлору в тканині після 2,5 *год* її витримування в КРФ при  $0^\circ\text{C}$ .

Таблиця 2

Вміст води і електролітів у клітинах підщелепної слинної залози щурів до і після інкубації тканинних зрізів у розчині КРФ при температурі 0 і  $37^\circ\text{C}$

|             | $[\text{Na}]_i$ | $[\text{K}]_i$ | $[\text{Cl}]_i$ | $\frac{[\text{Na}]_i}{[\text{Na}]_0}$ | $\frac{[\text{K}]_i}{[\text{K}]_0}$ | $\frac{[\text{Cl}]_i}{[\text{Cl}]_0}$ | $(\text{H}_2\text{O})_0$ | $(\text{H}_2\text{O})_i$ | $E$   |
|-------------|-----------------|----------------|-----------------|---------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| Норма       | 31,0            | 171,3          | 48,4            | 0,23                                  | 29,0                                | 0,36                                  | 0,694                    | 2,511                    | 0,165 |
| $T^\circ$   | 145,8           | 45,9           | 105,5           | 1,06                                  | 7,8                                 | 0,78                                  | 0,628                    | 3,564                    | 0,121 |
| $T^{37}=5$  | 114,8           | 87,6           | 107,7           | 0,84                                  | 14,9                                | 0,75                                  | 0,722                    | 3,057                    | 0,151 |
| $T^{37}=10$ | 106,5           | 100,1          | 116,3           | 0,78                                  | 17,1                                | 0,81                                  | 0,724                    | 3,168                    | 0,148 |
| $T^{37}=20$ | 84,1            | 111,2          | 103,0           | 0,61                                  | 18,8                                | 0,72                                  | 0,709                    | 3,022                    | 0,150 |
| $T^{37}=45$ | 77,5            | 121,0          | 108,0           | 0,57                                  | 20,5                                | 0,75                                  | 0,715                    | 3,085                    | 0,149 |
| $T^{37}=90$ | 74,5            | 153,5          | 119,5           | 0,54                                  | 26,1                                | 0,83                                  | 0,736                    | 2,955                    | 0,157 |

Позначення:  $[\text{Na}]_i$ ,  $[\text{K}]_i$ ,  $[\text{Cl}]_i$ —в *мекв* на 1 *кг* внутріклітинної води;  $[\text{Na}]_0$ ,  $[\text{K}]_0$ ,  $[\text{Cl}]_0$ —в *мекв* на 1 *л* інкубаційного розчину;  $(\text{H}_2\text{O})_i$  і  $(\text{H}_2\text{O})_0$ —внутрі- і позаклітинна вода (в *кг* на 1 *кг* сухого залишку тканини);  $E$ —позаклітинний простір тканини (в *л* на 1 *кг* вологої ваги тканини);  $T^\circ$ —дані про вміст води і електролітів у зрізах після 2,5 *год* витримування їх в КРФ при  $0^\circ\text{C}$ ;  $T^{37}=5=90$ —дані про вміст води і електролітів після 5—90 *хв* інкубації зрізів у КРФ при температурі  $37^\circ\text{C}$ .

Після 10, 20, 45 і 90 хв інкубації зрізів загальний і внутріклітинний вміст води в них залишався, приблизно, на тому ж рівні, що і після 5 хв інкубації тканини, тоді як загальний і внутріклітинний вміст натрію, навпаки, закономірно зменшувався, а вміст калію збільшувався. Так, після 90 хв інкубації зрізів в КРФ + O<sub>2</sub> при температурі 37°С клітини виводили 64% надлишкової кількості натрію. За цей же час відбувалось майже повне відновлення внутріклітинної концентрації калію. Однак вміст хлору в клітинах залишався незмінним протягом 5—90 хв інкубації зрізів в КРФ + O<sub>2</sub> при температурі 37°С.

Отже, одержані дані свідчать про те, що заздалегідь охолоджені до 0°С зрізи підщелепної слинної залози при інкубації їх в розчині КРФ + O<sub>2</sub> при температурі 37°С здатні реакумулювати втрачений калій і виводити в навколишнє середовище надлишковий натрій. При цьому натрій і калій рухаються проти їх концентраційних градієнтів, що вказує на активний транспорт цих іонів клітинами підщелепної залози. Активний транспорт хлору не вдалося відзначити для клітин підщелепної залози в умовах інкубації зрізів залози *in vitro*.

2. Навколоушна залоза. Результати дослідів цієї серії наведені в табл. 3 і 4. Після 2,5-годинного перебування зрізів навколоушної слинної залози в розчині КРФ з температурою 0°С вміст води в тканині збільшувався з 2,504 (свіжовирізана тканина) до 3,889 кг/кг СТ, натрію з 171,6 до 540,1 мекв/кг СТ, а вміст калію, навпаки, зменшувався з 287,0 до 92,9 мекв/кг СТ.

Відповідні зміни кількості електролітів відзначались і в клітинах. Як видно з даних, наведених у табл. 4, після 2,5 годин витримання тканин у розчині КРФ при температурі 0°С кількість води всередині клітин збільшувалась з 1,230 до 2,433 кг/кг СТ. Внутріклітинна концентрація натрію досягала такої концентрації, як і в позаклітинній рідині (відношення [Na]<sub>i</sub> [Na]<sub>o</sub> становить 0,99). Водночас вміст калію в тканині зменшувався майже в сім разів. Після 20 хв інкубації тканини за нормальних умов вміст води в клітинах зменшувався з 2,433 до 2,094 кг/кг СТ. При цьому загальний вміст води в тканині знижувався трохи менше (з 3,889 до 3,618 кг/кг СТ) внаслідок незначного підвищення вмісту рідини в позаклітинному просторі (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст води і електролітів у зрізах навколоушної навколооочної слинних залоз до і після їх інкубації в розчині КРФ при температурі 0 і 37°С ( $M \pm \delta$ )

|                     | Вода          | Натрій        | Калій        | Хлор         | Е             |
|---------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|
| Навколоушна залоза  |               |               |              |              |               |
| Норма               | 2,504 ± 0,136 | 171,6 ± 9,6   | 287,0 ± 19,3 | —            | 0,321 ± 0,036 |
| T°                  | 3,889 ± 0,407 | 540,1 ± 89,2  | 92,9 ± 11,5  | —            | 0,300 ± 0,035 |
| T <sup>37</sup> =20 | 3,618 ± 0,263 | 428,0 ± 44,0  | 194,6 ± 19,3 | —            | 0,331 ± 0,042 |
| p<                  | 0,2           | 0,001         | 0,001        |              | 0,1           |
| Навколооочна залоза |               |               |              |              |               |
| Норма               | 3,167 ± 0,130 | 187,3 ± 33,3  | 457,5 ± 24,9 | 233,0 ± 13,0 | 0,252 ± 0,039 |
| T°                  | 4,313 ± 0,504 | 703,8 ± 102,2 | 133,3 ± 25,9 | 616,0 ± 47,6 | 0,231 ± 0,033 |
| T <sup>37</sup> =20 | 4,040 ± 0,403 | 531,2 ± 62,9  | 253,3 ± 33,6 | 535,0 ± 40,8 | 0,247 ± 0,021 |
| p<                  | 0,1           | 0,001         | 0,001        | 0,02         | 0,5           |

Позначення див.: табл. 1,2.

Загальна кількість натрію в тканині зменшувалась після 20 хв інкубації зрізів з 540,1 до 428,0 мекв/кг СТ ( $p < 0,001$ ), а внутріклітинна концентрація натрію зменшувалась відповідно з 137,9 до 104,2 мекв/кг  $H_2O_i$ .

Вміст калію збільшувався за цей час в тканині з 92,2 до 194,6 мекв/кг СТ ( $p < 0,001$ ), а в клітинах з 34,7 до 88,8 мекв/кг  $H_2O_i$ .

Отже, дані дослідів цієї серії свідчать про те, що клітини навколоушної слинної залози, так само як і клітини підщелепної залози здатні в умовах *in vitro* здійснювати транспорт іонів натрію і калію крізь клітинні мембрани проти їх концентраційного градієнта.

3. Навколоочна залоза. Дані, одержані в дослідях при вивченні іонного транспорту в тканинних зрізах навколоочної слинної залози, наведені в табл. 3 і 4.

Таблиця 4

Вміст води і електролітів у клітинах навколоушної і навколоочної слинних залоз щурів до і після інкубації тканинних зрізів у розчині КРФ при температурі 0 і 37° С

|                     | $[Na]_i$ | $[K]_i$ | $[Cl]_i$ | $\frac{[Na]_i}{[Na]_o}$ | $\frac{[K]_i}{[K]_o}$ | $\frac{[Cl]_i}{[Cl]_o}$ | $(H_2O)_o$ | $(H_2O)_i$ |
|---------------------|----------|---------|----------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|------------|------------|
| Навколоушна залоза  |          |         |          |                         |                       |                         |            |            |
| Норма               | 15,9     | 230,8   | —        | 0,12                    | 39,2                  | —                       | 1,120      | 1,230      |
| T°                  | 137,9    | 34,7    | —        | 0,99                    | 5,9                   | —                       | 1,466      | 2,433      |
| T <sup>37</sup> =20 | 104,2    | 88,8    | —        | 0,77                    | 15,0                  | —                       | 1,542      | 2,094      |
| Навколоочна залоза  |          |         |          |                         |                       |                         |            |            |
| Норма               | 19,1     | 213,3   | 38,8     | 0,14                    | 36,2                  | 0,27                    | 1,050      | 2,117      |
| T°                  | 162,5    | 34,0    | 142,8    | 1,16                    | 5,8                   | 0,99                    | 1,140      | 3,173      |
| T <sup>37</sup> =20 | 128,0    | 87,3    | 127,3    | 0,91                    | 14,8                  | 0,89                    | 1,220      | 2,820      |

Позначення див. табл. 2.

Після 2,5 год перебування зрізів цієї залози в охолодженому до 0° С розчині КРФ загальна кількість води в тканині збільшилась з 3,167 до 4,313 кг/кг СГ, натрію з 187,3 до 703,8 мекв/кг СТ, хлору з 233,0 до 616,0 мекв/кг СГ, а кількість калію зменшилась з 457,5 до 133,3 мекв/кг СГ.

Відповідні зміни вмісту води і електролітів відбувались і в клітинах. Так, за цей час кількість внутріклітинної води збільшилась з 2,117 до 3,173 кг/кг СТ, натрію з 19,1 до 162,5 мекв/кг  $H_2O_i$  і хлору з 38,9 до 142,8 мекв/кг  $H_2O_i$ , а вміст калію в клітинах зменшувався з 213,3 до 34,0 мекв/кг  $H_2O_i$ .

Інкубація такої тканини в розчині КРФ +  $O_2$  при температурі 37° С викликала значні зміни в розподілі загальної тканинної та внутріклітинної води і електролітів. Так, після 20 хв інкубації зрізів в оптимальних умовах загальна кількість води в зрізах зменшувалась з 4,313 до 4,040 кг/кг СТ, а внутріклітинна вода, відповідно, з 3,173 до 2,820 кг/кг СТ. Загальний вміст натрію в зрізах зменшувався за цей час з 703,8 до 531,2 мекв/кг СТ ( $p < 0,001$ ) і хлору з 616,0 до 535,0 мекв/кг СГ ( $p < 0,02$ ). Вміст натрію в клітинах зменшувався з 162,5 до 128,0 мекв/кг і хлору з 142,8 до 127,3 мекв/кг  $H_2O_i$ . Водночас загальна кількість калію в зрізах збільшувалась з 133,3 до 253,3 мекв/кг СТ ( $p < 0,001$ ), а в клітинах з 34,0 до 87,3 мекв/кг  $H_2O_i$ .

Результати дослідів цієї серії дають підставу вважати, що в умовах інкубації зрізів в розчині КРФ +  $O_2$  при температурі 37° С клітини залози здатні здійснювати активний транспорт іонів натрію, калію і хлору крізь клітинні мембрани проти їх концентраційного градієнта.

### Обговорення результатів досліджень

Одержані нами дані показують, що занурення зрізів слинних залоз у розчин КРФ з температурою  $0^{\circ}\text{C}$  на 2,5 год викликає значне збільшення загальнотканинного і, особливо, внутріклітинного вмісту води, натрію і хлору при значному зменшенні кількості калію. Якщо такі зрізи перенести в розчин КРФ, насичений  $\text{O}_2$ , з температурою  $37^{\circ}\text{C}$ , то клітини починають виштовхувати назовні надлишок натрію і реакумулювати втрачений калій. Оскільки переміщення натрію і калію відбувається проти їх концентраційних градієнтів, то це дає підставу розглядати цей процес як активний клітинний транспорт.

Аналіз наших даних показує, що найбільш інтенсивно процес транспорту натрію та калію здійснюється в клітинах підщелепної слинної залози, в порівнянні з іншими слинними залозами. В дослідях на зрізах підщелепної слинної залози ми мали змогу з'ясувати залежність між часом інкубації тканини та швидкістю відновлення внутріклітинного калію і виходом надлишкового натрію та хлору. Було встановлено, що після 90 хв інкубації зрізів залози в КРФ +  $\text{O}_2$  при температурі  $37^{\circ}\text{C}$  внутріклітинний вміст калію повертався до вихідного рівня, тоді як вміст натрію в клітинах зменшувався приблизно тільки на 50%, а хлор зовсім не виходив назовні, залишаючись на такому ж рівні, як і після витримування зрізів при температурі  $0^{\circ}\text{C}$ . Найбільш активно клітини виводили назовні натрій тільки в перші 5—20 хв інкубації зрізів. Потім поступово цей процес уповільнювався, а після 90 хв інкубації зрізів і зовсім припинявся.

Привертає увагу той факт, що під час інкубації зрізів в оптимальних умовах з клітин не виходить хлор, який накопичився в них під час перебування зрізів у розчині КРФ, охолодженому до  $0^{\circ}\text{C}$ . Шнеер і Шнеер [11], при вивченні зміни електролітного складу зрізів підщелепної залози щурів після їх інкубації послідовно в анаеробних і аеробних умовах, також не виявили активного транспорту хлору.

З іншого боку, Ландберг [7], вивчаючи в дослідях *in vivo* взаємозв'язок між величиною секреторного потенціалу клітин під'язикової залози і швидкістю секреції слини, виявив, що заміна аніону хлору на будь-який інший аніон у розчині, яким перфузують залозу, викликала різке зниження показників секреторного потенціалу і рівня секреції. Автор [8] приходить до висновку, що активний транспорт хлору крізь зовнішню мембрану секреторних клітин залози є початком виникнення процесу секреції.

Якщо клітини слинних залоз дійсно здатні до активного транспорту хлору, то виникає питання, чому цей процес не можна виявити за умов інкубації зрізів з КРФ +  $\text{O}_2$  при температурі  $37^{\circ}\text{C}$  після їх попереднього охолодження до  $0^{\circ}\text{C}$ .

Причина, мабуть, полягає в тому, що в умовах *in vitro* хлор не тільки входить, а заходить у клітини внаслідок втрати клітинами осмотично активних органічних аніонів [2]. Хлор може заходити в клітини також, рухаючись за калієм [6].

Ми перевірили, чи має місце надходження хлору та інших іонів у клітини слинних залоз під час інкубації зрізів з свіжовирізаної тканини (брали підщелепну залозу) в КРФ +  $\text{O}_2$  при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ .

Одержані дані свідчать про те, що після 20 хв інкубації зрізів в КРФ +  $\text{O}_2$  при температурі  $37^{\circ}\text{C}$  вміст хлору в клітинах збільшився на 60—70%, натрію на 20—50%, води тільки на 9—12%, а кількість калію зменшилась за той же час на 6—9%.

Слід гадати, що і при інкубації в КРФ +  $O_2$  при температурі  $37^\circ C$  заздалегідь охолоджених зрізів також відбувається надходження в клітини іонів натрію та хлору. Якщо швидкість, з якою хлор надходить і виходить з клітин, буде однаковою під час інкубації тканини, то, звичайно, кількість хлору всередині клітини залишатиметься на одному рівні. Мабуть, саме така ситуація і виникає під час інкубації тканинних зрізів підщелепної слинної залози, заздалегідь охолоджених до  $0^\circ C$  в розчині КРФ +  $O_2$  при температурі  $37^\circ C$ . Слід вважати, що неповне виведення клітинами надлишкового натрію за цих умов теж пов'язане з надходженням у клітини натрію ззовні.

### Висновки

1. Занурення зрізів підщелепної, навколоушної і навколооочної слинних залоз щурів у розчин КРФ, охолоджений до  $0^\circ C$ , на 2,5 год викликає значне збільшення вмісту води, натрію і хлору та зменшення вмісту калію у всій тканині і всередині клітин. Водночас відбувається незначне зменшення величини позаклітинного (інулінового) простору тканин.

2. Наступна інкубація зрізів у розчині КРФ, насиченому  $O_2$  при температурі  $37^\circ C$ , викликає відновлення клітинами вмісту калію і часткове видалення надлишкового натрію проти їх концентраційних градієнтів. Найбільш інтенсивно цей процес відбувається протягом перших 5—20 хв інкубації тканини. З подовженням часу інкубації зрізів швидкість процесів клітинного транспорту натрію значно уповільнюється, а після 90 хв інкубації і зовсім припиняється.

3. Клітини підщелепної слинної залози не здатні виводити надлишковий хлор в умовах інкубації тканинних зрізів в КРФ +  $O_2$  при температурі  $37^\circ C$ .

4. При інкубації зрізів навколооочної слинної залози, навантажених натрієм та хлором, можна було спостерігати рух натрію і хлору з клітин ззовні проти їх концентраційного градієнта.

5. Після 20 хв інкубації зрізів свіжовирізаної підщепленої слинної залози в розчині КРФ +  $O_2$  при температурі  $37^\circ C$  відзначене збільшення хлору всередині клітин на 60—70%, натрія на 40—50% і води на 9—12%. Водночас внутріклітинний вміст калію зменшувався на 6—9%.

6. Наявність інтенсивного потоку натрію і хлору ззовні всередину клітини може частково або повністю маскувати активний вихід цих іонів з клітин.

### Література

1. Кочемасова Н. Г., Яременко М. С.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1965, 1, 129.
2. Conway E. J. and Geoghegan H.— J. Physiol., 1955, 130, 438.
3. Cort J. H., Kleinzeller A.— J. Physiol., 1956, 133, 287.
4. Deutsch P.— J. Physiol., 1936, 87, 56.
5. Krebs H. A., Eggleston L., Turner C.— Biochem. J., 1951, 48, 530.
6. Leaf A.— Biochem. J., 1956, 62, 241.
7. Lundberg A.— Acta Physiol. Scand., 1957, 40, 101.
8. Lundberg A.— Physiol. Rev., 1958, 1, 38, 21.
9. Mudge G. H.— Am. J. Physiol., 1951, 165, 113.
10. Van Rossum G. D.— Biochem. Biophys. Acta, 1963, 74, 1.
11. Schneyer L. H. a. Schneyer C. A.— Am. J. Physiol., 1962, 203, 567.
12. Whittam R., Davies R. E.— Biochem. J., 1953, 55, 880.

Надійшла до редакції  
16.VIII 1967 р.

## Активный транспорт электролитов срезами слюнных желез

М. С. Яременко

Отдел физиологии обмена веществ Института физиологии  
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

### Резюме

Свежеприготовленные срезы подчелюстной, околоушной и окологлазничной слюнных желез, толщиной 0,3—0,4 мм и весом 20—40 мг, содержали в бескальциевом Кребс-Рингер-фосфатном (КРФ) растворе с рН-7,4, охлажденном до 0—2° С в течение 2,5 час. После этого срезы переносили в нормальный КРФ раствор, насыщенный кислородом, с температурой 37° С, где их инкубировали 5—90 мин. Для измерения объема внеклеточного (инулинового) пространства тканей срезы инкубировали при температуре 37° С в КРФ растворе, содержащем инулин в количестве 4 мг/мл в течение 60 мин.

После 2,5 час пребывания тканевых срезов в охлажденном КРФ растворе происходило значительное их набухание вследствие накопления в клетках воды, натрия и хлора при одновременном уменьшении внутриклеточного содержания калия. У охлажденной ткани внутриклеточная концентрация натрия достигала того же уровня, что и во внеклеточной жидкости, вследствие чего происходило исчезновение натриевого градиента между клеткой и окружающей средой. Резко уменьшались также хлорный и калиевый градиенты. Последующая инкубация охлажденных тканевых срезов в КРФ растворе, подогретом до 37° С и насыщенном кислородом создавала условия для восстановления ионных клеточных градиентов.

После 20 мин инкубации в КРФ при температуре 37° С охлажденная ткань только частично восстанавливала натриевый и калиевый градиенты, а также удаляла 10—15% избыточной воды. Хлорный градиент совершенно не восстанавливался клетками подчелюстной слюнной железы, и только частично происходило удаление избыточного хлора клетками окологлазничной железы.

С увеличением времени инкубации ткани (опыты на подчелюстной слюнной железе) до 45 и 90 мин отмечали, что полное восстановление калиевого градиента происходило через 90 мин. За это же время клетки удаляли только 64% избыточного натрия, а содержание воды и хлора внутри клеток не уменьшалось с увеличением инкубационного периода.

Невозможность полного удаления клетками избыточного натрия и хлора, по-видимому, обусловлена наличием противотока этих ионов в клетку из окружающего раствора.

Нами было установлено, что после 20 мин инкубации срезов свежевырезанной подчелюстной слюнной железы в КРФ растворе при температуре 37° С содержание хлора внутри клеток увеличивалось на 60—70%, натрия на 40—50%, воды на 9—12%, а содержание калия почти не изменялось. Следовательно, наличие интенсивного потока натрия и хлора извне во внутрь клеток при инкубации ткани *in vitro* может частично или полностью маскировать процесс выведения клетками этих ионов наружу путем активного транспорта.

## The Active Transport of Electrolytes by the Salivary Gland Sections

M. S. Yaremenko

*Department of Physiology of Metabolism, the A. A. Bogomoletz Institute,  
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev*

### Summary

The sections of mandibular, parotid and exorbitalis salivary glands being for 2.5 hours in a calcium-free Krebs-Ringer phosphatic (KRPh) solution, cooled to 0—2° C, an essential swelling of tissue took place due to accumulation of water, sodium, and chloride in the cells with simultaneous decrease of an intracellular potassium content. After 45 minutes of incubation in KRPh at a temperature of 37° C a complete reduction of the intracellular content of potassium took place, during the same period of time 64% surplus sodium was removed by the cells, but the content of water and chlorine within the cells did not decrease.

Impossibility of complete removal of surplus sodium and chlorine by the cells is probably conditioned by the presence of the back currents of these ions in the cell from a surrounding solution, which could be observed in the experiments connected with incubation of fresh-cut tissue in KRPh at a temperature of 37° C.