

Про реакцію гігантської нервової клітини на проникнення мікроелектрода

І. С. Магура

*Відділ фізіології і біофізики нервової клітини Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

При дослідженні на гігантських нервових клітинах мембранних механізмів виникнення потенціалів дії, по-перше, важливо виявити, які прояви електричної активності можуть бути зумовлені проникненням в клітину кінчика мікроелектрода, по-друге, наскільки істотно впливає пошкодження клітини мікроелектродом на активність специфічних систем перенесення іонів під час появи потенціалу дії.

Метою наших дослідів і було вивчення цих питань.

Методика досліджень

Були досліджені гігантські нейрони парієтального ганглію молюска *Planorbis corneus*. В клітину занурювали кінчик одного мікроелектрода, заповненого 2,5 М розчином KCl. Цей мікроелектрод можна було використати як для відведення потенціалів, так і для поляризації мембрани електричним струмом. Для цього застосовували місткову схему [5]. Досліди були проведені у січні — лютому.

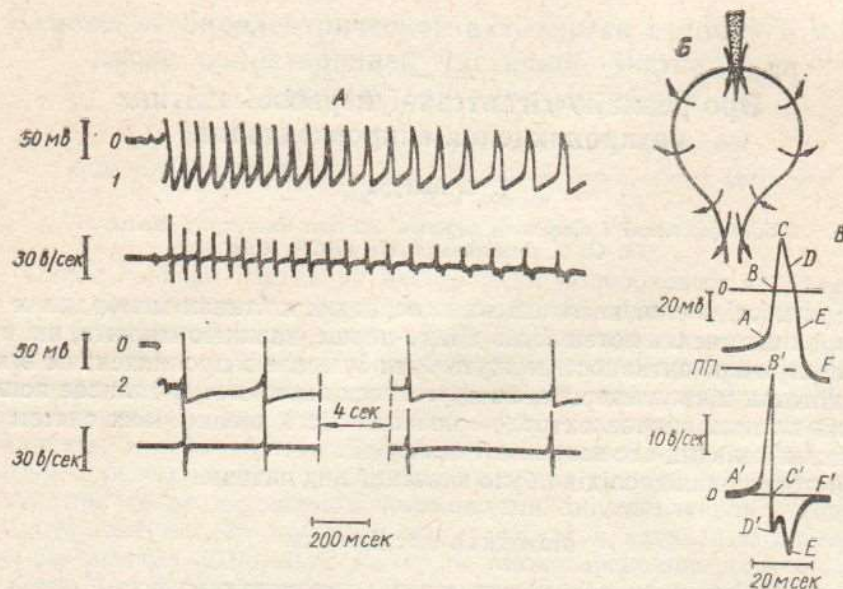
Результати досліджень та їх обговорення

Проникнення мікроелектрода в тіло нервової клітини звичайно викликає ритмічну генерацію потенціалів дії. Іноді вона припиняється вже на першій хвилині після проколу, а іноді триває протягом багатьох годин. Привертає увагу те, що коли в клітину одночасно вводять кінчики двох зведених електродів, частота генерації буває більшою, ніж тоді, коли вводять лише один мікроелектрод. Якщо простежити за реакцією нервової клітини на введення електрода з недосить гострим кінчиком, то і в цьому разі частота ритмічного розряду звичайно більша, ніж при використанні мікроелектрода кращої якості. Це спостереження дозволяє зробити висновок, що виникнення ритмічного розряду після проколу є наслідком пошкодження клітини. Частота ритму деякою мірою відбиває ступінь цього пошкодження (рисунк, А).

Ритмічна генерація потенціалів дії після введення мікроелектрода дуже нагадує відповідь на поляризацію мембрани струмом надпорогової сили, що виходить назовні (повторювану відповідь). Слід припустити, що виникнення ритмічного розряду після проколу також пов'язано з деполяризацією мембрани тим струмом, що заходить у клітину через пошкоджену ділянку і виходить через непошкоджену мембрану (рисунк, Б). Цей струм інтенсивніший, коли пошкодження більш істотне, тому і частота ритму при цьому більша, ніж при менш значному пошкодженні мембрани. Аналогічний зв'язок між частотою ритмічної

генерації потенціалів дії і силою деполяризуючого струму спостерігали на поперечно-смугастих м'язових волокнах жаби [2] і на нервових клітинах молюсків [3].

Як при повторюваній відповіді, так і при ритмічній генерації після проколу відзначається тенденція до зниження частоти ритму, але в останньому випадку ця тенденція виражена чіткіше. Якщо при повторюваній



А — Ритмічна генерація потенціалів дії після проколу і криві першої похідної мембранного потенціалу за часом.

На осцилограмі 1 показані потенціали дії клітини, де пошкодження мікроелектродом було більш істотним. На осцилограмі 2 можна помітити ознаки переходу водія ритму з тіла нервової клітини на аксон.

Б — схема, що пояснює виникнення ритмічного розряду внаслідок проникнення мікроелектрода в клітину.

Стрілками показаний напрямок електричного струму.

В — відповідні моменти кривої потенціалу дії і першої похідної мембранного потенціалу за часом.

відповіді зменшення частоти ритму зумовлене зниженням активності системи перенесення іонів натрію по електрохімічному градієнту, то при ритмічному розряді внаслідок проникнення мікроелектрода у зменшенні частоти і припиненні генерації потенціалів дії також відіграє роль поступове зниження і навіть припинення струму через мембрану, зумовленого її пошкодженням. Очевидно, це пов'язано з поступовим усуненням цього пошкодження.

Іноді на протязі ритмічного розряду після проколу відбувається зміна характеру ритму. Водій ритму переходить з тіла нейрона на аксон (рисунок). Це проявляється у зміні характеру препотенціалу [1, 3]. Слід відзначити, що аналогічний перехід водія ритму можна спостерігати і при повторюваній відповіді на деполяризуючий струм від зовнішнього джерела. Якщо при повторюваній відповіді міграція водія ритму зумовлена тільки зниженням активності системи перенесення іонів натрію і підвищенням порога збудження тіла нервової клітини, то при ритмічній активності після проколу, перехід зумовлений також і зниженням сили деполяризуючого струму. Цей струм викликає потенціал дії спочатку у

найбільш збудливій частині гігантського нейрона, що міститься в аксоні, а звідси він поширюється на тіло нейрона.

Цілком можливо, що так званий спонтанний ритм, коли на протязі кількох годин клітина дає приблизно через однакові інтервали окремі потенціали дії, в багатьох випадках зумовлений деполяризуючою дією струму, який проходить через пошкоджену ділянку мембрани біля мікроелектрода.

Під час ритмічної активності після проколу, як і на протязі повторюваної відповіді, відбуваються зміни у висхідній і в низхідній фазі потенціалів дії. Чим більша частота розряду, тим інтенсивніші ці зміни. Для їх аналізу зручно використати першу похідну мембранного потенціалу за часом (рисунок). Реєстрація першої похідної дає змогу точно визначити максимальну швидкість наростання висхідної фази. Ця швидкість видбиває максимальну інтенсивність іонного струму із зовнішнього розчину всередину клітини [4]. Струм цей переносять іони натрію, що переміщуються по електрохімічному градієнту. На протязі ритмічного розряду максимальна інтенсивність струму всередину клітини поступово зменшується. Це свідчить про зниження активності системи, яке забезпечує пасивне переміщення іонів натрію під час потенціалу дії.

Чіткої залежності амплітуди потенціалу дії від активності натрієвої системи не існує.

Крім змін у висхідній фазі потенціалу дії, легко помітити зміни і в його низхідній фазі. Насамперед привертає увагу поступове збільшення її тривалості. На кривій першої похідної це позначається збільшенням інтервалу між моментом C' і E' (рисунок, B). Інтервал $C'—E'$ характеризує той період низхідної фази, коли натрієвий струм помітно впливає на ефективну силу струму, що виходить з клітини — відбувається не тільки вихід іонів калію, а й проникнення натрію в клітину внаслідок ще досить великої провідності мембрани для цих іонів [6]. При істотному перекритті високої натрієвої і калієвої провідності на низхідній фазі може з'явитися щось подібне до плато. Збільшення періоду перекриття знижує економічність механізму генерації потенціалу дії — в клітину входить більше іонів натрію і виходить більше іонів калію, ніж тоді, коли цей період менший.

Зниження частоти ритмічного розряду або його повне припинення веде до підвищення активності натрієвої системи і до скорочення низхідної фази.

Активність системи перенесення іонів натрію по електрохімічному градієнту майже завжди найвища після першого проколу потенціалу дії. Потім навіть після припинення ритмічного розряду вона не досягає висхідного рівня. Це результат переходу деякої частини цієї системи в недіяльний (рефрактерний) стан внаслідок експериментального втручання. При більш значному пошкодженні клітини мікроелектродом та частина системи пасивного перенесення натрію, яка перейшла у рефрактерний стан, помітно більша, тому при досліді на гігантських нейронах для меншого їх пошкодження, якщо це можливо, доцільно вводити в клітину лише один мікроелектрод і використовувати його як для відведення потенціалів, так і для поляризації мембрани.

Отже, проникнення кінчика мікроелектрода у тіло гігантської нервової клітини, як правило, викликає ритмічну генерацію потенціалів дії; їх генерація зумовлена деполяризацією мембрани струмом, що входить у клітину через пошкоджену мікроелектродом ділянку і виходить через непошкоджену мембрану. При використанні мікроелектродів з недосить гострим кінчиком площа пошкодження мембрани має бути більшою, ніж при роботі з електродами кращої якості. У першому випадку сила

струму, що деполяризує непошкоджену мембрану, більша і частота ритмічного розряду після проколу, як правило, вища.

Активність системи пасивного перенесення іонів натрію у висхідній фазі майже завжди найвища під час першого після проколу потенціалу дії. Потім, навіть після припинення ритмічного розряду, вона не досягає вихідного рівня. Це є результатом переходу деякої частини натрієвої системи у недіяльний стан внаслідок експериментального втручання. Якщо при використанні мікроелектродів з гострим кінчиком частина системи пасивного перенесення натрію, що перейшла в недіяльний стан, може бути незначною, то при більш істотному пошкодженні клітини недосить гострим електродом ця частина, звичайно помітно більша.

Висновки

1. Проникнення кінчика мікроелектрода у тіло гігантського нейрона викликає появу кільцевих іонних струмів, що заходять у клітину через пошкоджену ділянку і виходять назовні через непошкоджену мембрану.

2. Кільцеві струми майже завжди викликають ритмічну генерацію потенціалів дії. Частота генерації і тривалість розряду тим більші, чим істотніше пошкодження клітини.

3. Механічне пошкодження клітини кінчиком мікроелектрода і вплив кільцевих струмів на електрично збуджувану мембрану можуть викликати стійкі зміни її властивостей. Ці фактори, зокрема, знижують активність системи, що забезпечує виникнення іонного струму із зовнішнього розчину у клітину під час потенціалу дії.

4. Для того, щоб при роботі з внутріклітинними електродами зміни властивостей електрично збуджуваної мембрани були мінімальними, необхідно, навіть при роботі з гігантськими нервовими клітинами, використовувати мікроелектроди з якомога більш гострим кінчиком.

Література

1. Герасимов В. Д., Костюк П. Г., Майский В. А.— Физиол. журн. СССР, 1964, 50, 1321.
2. Костюк П. Г., Шаповалов А. И.— Биофизика, 1960, 5, 586.
3. Магура И. С.— Биофизика, 1967, 12, 1011.
4. Магура И. С.— Биофизика, 1968, 13, 196.
5. Araki T., Otani T.— J. Neurophysiol., 1955, 18, 472.
6. Hodgkin A. L., Huxley A. F.— J. Physiol., 1952, 117, 500.

Надійшла до редакції
6.V 1968 р.

О реакции гигантской нервной клетки на проникновение микроэлектрода

И. С. Магура

Отдел физиологии и биофизики нервной клетки Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев

Резюме

Методом внутриклеточного отведения исследовали электрическую активность сомы гигантских нейронов париевального ганглия моллюска *Planorbis corneus*. Задача работы заключалась в изучении тех проявлений электрической активности, которые могут быть обусловлены проникновением в клетку кончика микроэлектрода.

Проникновение кончика микроэлектрода в тело гигантской нервной клетки, как правило, вызывает ритмическую генерацию потенциалов действия. Иногда она прекращается уже на первой минуте после прокола, а иногда длится на протяжении многих часов. Генерация обусловлена деполяризацией мембраны током, который входит в клетку через поврежденный микроэлектродом участок и выходит через неповрежденную мембрану. Большую роль в прекращении ритмического разряда после прокола, по-видимому, играет процесс восстановления мембраны.

Частота ритмического разряда тотчас после прокола обычно выше при более значительном повреждении клетки микроэлектродом. Активность системы пассивного переноса ионов натрия во время восходящей фазы почти всегда наиболее высока при первом после прокола потенциале действия. Затем, даже после прекращения ритмического разряда, активность не достигает исходного уровня. Это результат перехода некоторой части натриевой системы в неактивное (рефракторное) состояние в результате экспериментального вмешательства. Эта часть тем больше, чем значительнее повреждение.

The Reaction of the Giant Neuron on Penetration of the Microelectrode

I. S. Magura

Division of Physiology and Neuron Biophysics, the A. A. Bogomoletz Institute, of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

Insertion of the tip of the microelectrode into the soma of giant neurons of *Planorbis corneus* usually causes the repetitive firing. It stops in the most cases during the first minute after insertion, but sometimes continues for several hours. The frequency and duration of firing depends upon the power of the damage of the cell by the microelectrode. The firing has been elicited by circuit currents, flowing in the cell across injure spot and exiting across intact regions of membrane.

The injure of the nerve cell and circuit currents may cause persistent alteration of behaviour of the electrical excitable membrane. In order to minimize this alteration it is necessary to choice carefully the microelectrodes.