

ВПЛИВ ДОКА НА ВНУТРІКЛІТНИЙ ТА ПОЗАКЛІТИННИЙ РОЗПОДІЛ ВОДИ Й ЕЛЕКТРОЛІТІВ У ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

М. Н. Левченко

*Відділ патології нейро-гуморальних регуляцій Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ*

Численними дослідженнями встановлено, що виникнення основних нервових процесів пов'язане з взаємодією електролітів між внутрі- та позаклітинним їх вмістом. Істотна роль у цьому процесі належить гормонам, зокрема кортикостероїдам, у зв'язку з їх участю у регуляції обміну води й електролітів та впливом на функціональний стан центральної нервової системи.

Досліджень, присвячених вивченню дії ДОКА на обмін електролітів, небагато. В основному вплив ДОКА на електроліти мозку вивчали у лабораторії Вудбері [9, 21, 22, 26] при підшкірних імплантаціях препарату у вигляді таблеток. При цьому загальна концентрація натрію й калію не змінювалась, однак рівень внутріклітинного натрію помітно знижувався, а концентраційний градієнт Na_e/Na_i підвищувався. І хоч вміст внутріклітинного калію залишався без змін, його концентраційний градієнт K_i/K_e також підвищувався. При гострому застосуванні ДОКА спостерігались аналогічні зміни [29].

Оскільки поряд з цим підвищувався електросудорожний поріг (ЕСП), автори прийшли до висновку, що ДОКА знижує збудливість мозку шляхом зменшення внутріклітинної концентрації натрію.

Таким чином виявилось, що зміни співвідношень концентрацій натрію Na_e/Na_i залежать від змін збудливості мозку [12, 21, 22, 27, 30]. Залежності між збудливістю мозку й концентраційним співвідношенням K_i/K_e не спостерігалось [28].

Згаданий ефект був описаний й іншими дослідниками [5, 12]. Однак, у дальших дослідях, проведених Вудбері й співробітниками [29] на молодих і дорослих щурах, виявилось, що тоді як у дорослих щурів ДОКА викликав зниження збудливості і зменшення вмісту внутріклітинного натрію (підвищення Na_e/Na_i), у молодих щурів збудливість мозку зростала поряд з підвищенням внутріклітинної концентрації натрію.

Аналізуючи літературні дані щодо впливу ДОКА на функціональний стан центральної нервової системи, можна бачити, що більшість дослідників [4, 7, 19, 21, 25, 27, 28, 30, 31] вважає його препаратом, що гальмує діяльність мозку, й лише зрідка вказується на збуджувальний ефект ДОКА [1, 3, 24, 29].

Літературні дані щодо впливу ДОКА на обмін електролітів нечисленні, суперечливі й не дають чіткого уявлення про зміни в обміні води й електролітів, що настають у мозку при застосуванні препарату.

Усе це свідчить про те, що механізм дії ДОКА на функціональну

діяльність та обмін електролітів у мозку остаточно не з'ясований і потребує дальшого вивчення, що й послужило основою для проведення даної роботи.

Метою нашого дослідження було вивчення особливостей обміну води й електролітів у великих півкулях головного мозку молодих щурів при застосуванні різних доз ДОКА.

Методика досліджень

Досліди проводились на самцях щурів тримісячного віку лінії Вістар. Досліджували вміст води, натрію, калію й хлоридів у сироватці крові та у тканині великих півкуль мозку при одноразовому та повторному введенні (протягом двох-трьох тижнів) ДОКА по 1 та 2,5 мг на 100 г ваги на добу. Наприкінці досліду тварин збезголювали через 4 год після одноразової та через добу після останньої внутрим'язової ін'єкції ДОКА при тривалому його застосуванні. Після видалення мозкових оболонок та видимих кровоносних судин великі півкулі мозку роздрібнювали й швидко вміщували у платинові тиглі, що закривались кришками, й зважували. Кров швидко центрифугували для одержання сироватки, 1 мл якої зважували й разом з мозковою тканиною висушували у вакуумній шафі при 105°C до постійної ваги для визначення вмісту води. Після висушування тканини великих півкуль мозку спалювали у муфельній печі для одержання золи, яку розчиняли у двічі дистильованій воді, фільтрували через беззолні фільтри й досліджували на полум'яному фотометрі фірми Ланге. Обчислення внутрі- та позаклітинних концентрацій електролітів здійснювали за формулами Бенсона й співробітників [2], що ґрунтуються на припущенні, що мірою об'єму позаклітинної рідини є «хлоридний простір» [6, 9, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 26—30]. Оскільки зміни обох чи однієї з водних фаз щодо сухого залишку можуть змінювати загальну масу тканини, загальний вміст води та її фаз, обчислювали на кг сухої ваги тканини великих півкуль мозку, а концентрації електролітів виражались у мекв/кг сухої речовини.

Результати досліджень

Як свідчать одержані дані (табл. 1), під впливом одноразової ін'єкції ДОКА настають такі зміни: рівень води у великих півкулях мозку знижується внаслідок переважного зменшення вмісту позаклітинної рідини (на 18,2%), причому співвідношення поза- до внутріклітинної фази зрушується в бік збільшення останньої (31,2% : 68,8% — контроль, 28% : 72% — дослід). Загальний вміст натрію й калію не змінюється, проте концентраційний градієнт Na_e/Na_i різко знижується (4,3 — контроль, 1,9 — дослід) завдяки збільшенню внутріклітинної концентрації натрію (на 80,8%) і зменшенню позаклітинного рівня (на 21%).

Ця закономірність змін зберігається й при обчисленні концентрацій натрію на внутрі- та позаклітинну воду. Отже одержані зміни не залежать від зрушень у водних середовищах, а зумовлені безпосереднім впливом ДОКА на розподіл електроліту у великих півкулях мозку. Щодо змін в обміні калію слід відзначити, що K_i/K_e значно збільшувалось (69 — у контролі, 90,8 — у досліді) внаслідок зменшення позаклітинної концентрації. Рівень внутріклітинної концентрації залишався без змін, що свідчить про те, що ДОКА спричиняє втрату калію з позаклітинного середовища.

Внутріклітинне співвідношення електролітів K_i/Na_i зменшувалось (11 — контроль, 6,2 — дослід) в результаті накопичення натрію у внутріклітинній рідині.

При повторному введенні ДОКА в тій самій дозі протягом двох тижнів (табл. 2) у розподілі води й електролітів відбувались аналогічні зміни. Так, сумарна кількість води зменшувалась на 4,7% за рахунок зменшення кількості позаклітинної рідини (на 20,5%). Співвідношення водних фаз також зрушувалось при порівнянні з контролем у бік кількісного переважання вмісту внутріклітинної рідини (у контролі воно становило 29,9% : 70,1%, у досліді — 25% : 75%).

Таблиця 1

Вплив одноразового введення ДОКА на розподіл води, натрію та калію у великих піхвалях головного мозку щурів

	Статистичні показники	$(H_2O)_t$		$(H_2O)_e$	$(H_2O)_i$		$(Na)_t$		$(Na)_e$	$(Na)_i$	$\left(\frac{Na_e}{Na_i}\right)$		$(K)_t$		$(K)_e$	$(K)_i$	$\left(\frac{K_i}{K_e}\right)$		$[Na]_i$	$[K]_i$	$\left[\frac{K}{Na}\right]_i$
		$г/кг$ сухої тканини			$мкгв/кг$ сухої тканини							$мкгв/кг$ сухої тканини							$мкгв/кг$ води		
Конт-роль	M	3663	1144	2519	242,0	195,0	47,0	4,3	517,0	7,6	509,4	69,0	18,0	202,0	11,0						
	$\pm m$	31,1	33,6	23,2	3,2	4,1	3,2	0,3	9,7	0,2	9,8	2,5	1,0	3,9	0,9						
ДОКА	M	3348	936	2412	239,0	154,0	85,0	1,9	515,0	5,7	509,3	90,8	36	211	6,2						
	$\pm m$	45,1	22,6	44,0	6,2	3,8	6,3	0,1	7,1	0,2	6,9	4,3	0,3	4,4	0,4						
100%	p	$< 0,001$		$< 0,05$	$< 0,5$		$< 0,001$		$< 0,001$		$< 0,001$		$> 0,5$		$< 0,001$		$< 0,001$		$< 0,2$		$< 0,001$

Примітка. t — тканинний, e — позаклітинний, i — внутріклітинний вміст.

Таблиця 2

Розподіл води, натрію та калію у великих піхвалях головного мозку щурів під впливом тривалого введення ДОКА

	Статистичні показники	$(H_2O)_t$		$(H_2O)_e$	$(H_2O)_i$		$(Na)_t$	$(Na)_e$	$(Na)_i$	$\left(\frac{Na_e}{Na_i}\right)$	$MeKb/Kz$ сухої тканини				$MeKb/Kz$ сухої тканини				$MeKb/Kz$ води			
		g/kg сухої тканини										$(K)_t$	$(K)_e$	$(K)_i$	$\left(\frac{K_i}{K_e}\right)$	$[Na]_i$	$[K]_i$	$\left(\frac{K}{Na}\right)_i$				
Конт-роль	M	3617	1084	2533	227,0	172,0	55,0	3,5	467,0	6,8	460,0	68	22,0	182,0	9,0							
	$\pm m$	44,7	14,3	32,7	5,0	2,6	5,3	0,4	9,4	0,1	9,3	1,5	2,1	3,7	0,05							
ДОКА	M	3448	862	2586	233,0	151,0	82,0	1,9	504,0	5,3	498,7	96	32,0	193,0	6,2							
	$\pm m$	22,0	43,5	42,4	7,4	7,1	4,5	0,1	16,6	0,3	16,5	6,9	1,7	8,1	0,2							
2 тиж-ні	p	$< 0,01$		$< 0,5$	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,1$	$< 0,001$	$< 0,05$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,5$	$< 0,001$							
ДОКА	M	3705	1172	2533	239,0	201,0	38,0	6,9	511,0	8,5	503,0	60,0	15,0	198,0	17,0							
	$\pm m$	15,8	14,7	9,0	6,6	1,7	4,6	0,8	8,8	0,1	8,9	0,1	1,8	3,4	1,9							
3 тиж-ні	p	$< 0,001$		$< 0,2$	$< 0,001$	$< 0,02$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,001$	$< 0,02$	$< 0,01$	$< 0,001$							

Як і в першій серії дослідів, відбувалось зниження концентраційного градієнта Na_e/Na_i (у контролі — 3,5, у досліді — 1,9) завдяки збільшенню внутріклітинної концентрації натрію (на 49,1%) й зменшенню його позаклітинного вмісту (на 12,2%). Але порівняно з даними, одержаними при одноразовій ін'єкції ДОКА, зміни були менш виразні. Можливо, це обумовлюється тим, що в цих дослідях тканини досліджували лише через добу після останньої ін'єкції препарату.

Щодо змін в обміні калію, слід відзначити, що його внутріклітинний вміст підвищився (на 8,5%). Оскільки рівень позаклітинного калію зменшувався (на 22,1%), градієнт K_i/K_e зростав більшою мірою, ніж при одноразовому введенні ДОКА, становлячи 96 замість 68 у контролі. Внутріклітинне співвідношення електролітів також помітно знижувалось (у контролі — 9, у досліді — 6,2) в результаті підвищення внутріклітинної концентрації натрію (на 45,4%).

Тривале застосування більш масивних доз ДОКА (2,5 мг/100 г/добу) протягом трьох тижнів, на відміну від попередніх даних, супроводжувалось підвищенням загального вмісту води (табл. 2) внаслідок збільшення вмісту позаклітинної рідини (на 8%). Об'єм внутріклітинної води залишався без змін. Співвідношення водних фаз змінювалось у бік кількісного переважання позаклітинного об'єму рідини (у контролі — 29,9% : 70,1%, у досліді — 34% : 66%).

У співвідношенні концентрацій натрію відбувались протилежні зміни. Так, концентрація внутріклітинного натрію зменшувалась у середньому на 32,8%, тоді як вміст позаклітинного натрію збільшувався на 16,8%. Згадані зміни у співвідношенні кількостей позаклітинного та внутріклітинного натрію спричиняли зниження концентраційного градієнта Na_e/Na_i на 22,2% (контроль — 3,5, дослід — 2,8).

При цьому калієвий концентраційний градієнт K_i/K_e , навпаки, знижувався внаслідок переважного збільшення його вмісту у позаклітинному середовищі, що підвищився порівняно з контролем на 25%.

Загальний вміст калію також збільшувався завдяки підвищенню (на 9,3%) внутріклітинної його концентрації.

Водночас внутріклітинне співвідношення кількостей натрію та калію (K_i/Na_i — іонний градієнт) значно підвищувалось (на 90%) в результаті різкого зменшення внутріклітинної концентрації натрію (на 31,9%) поряд з накопиченням іонів калію у клітинах великих півкуль головного мозку.

Обговорення результатів досліджень

Аналізуючи одержані дані, можна бачити, що розподіл води й електролітів у мозку під впливом ДОКА залежить від застосованої дози препарату. Так, введення у дозі 1 мг/100 г ваги, він спричиняв зменшення загального вмісту води внаслідок її втрати з міжклітинного середовища. Причому співвідношення об'ємів водних фаз зрушувалось у бік відносного збільшення вмісту внутріклітинної рідини.

У більш масивних дозах (2,5 мг/100 г) він викликав підвищення загального рівня води завдяки збільшенню її кількості у позаклітинному середовищі. Оскільки поряд з цим у тому ж напрямку змінювалась позаклітинна концентрація електролітів, можна думати, що згадані зміни у розподілі води зумовлені змінами у концентраціях натрію й калію та спрямовані на підтримання ізоосмії.

Щодо змін у розподілі електролітів, слід відзначити, що введення у дозі 1 мг/100 г ваги ДОКА зумовлював підвищення внутріклітинної концентрації натрію поряд зі зменшенням його позаклітинного вмісту, в зв'язку з чим натрієвий концентраційний градієнт Na_e/Na_i значно

знижувався. Співвідношення концентрації калію K_i/K_e при цьому підвищувалось внаслідок зменшення позаклітинної кількості його.

Більш масивні дози (2,5 мг/100 г) викликали протилежні зміни у розподілі натрію й калію між клітинами та позаклітинним середовищем великих півкуль головного мозку. Підвищення внутріклітинного вмісту натрію поряд зі зниженням концентраційного співвідношення Na_e/Na_i відзначали Вудбері й співробітники [29, 24] у корі мозку молодих щурів при тривалому застосуванні ДОКА (протягом 50 днів у дозі 1,2 мг/100 г ваги). При цьому калієвий концентраційний градієнт також підвищувався. Щодо значення одержаних змін відносно дії ДОКА на функціональну активність мозку, можна вважати, виходячи з даних, одержаних Вудбері й співробітниками та іншими авторами [4, 26—30], що малі дози ДОКА викликають збудження нервових клітин мозку, тоді як більш масивні дози спричиняють пригнічення нервових процесів.

Оскільки відомо, що співвідношення концентрацій натрію є показником інтенсивності активного переносу — дії натрієвої «помпи» — [10, 11, 23] слід гадати, що ДОКА істотно впливає на активний транспорт іонів натрію та залежно від дози пригнічує або стимулює його.

Така точка зору узгоджується з поглядом [24, 29], що первинний ефект кортикостероїдів на збудливість мозку пов'язаний з їх впливом на активний транспорт натрію, оскільки ДОКА діє подібно дилантину [28], що стимулює активний транспорт натрію з клітин.

Гальмування з допомогою ДОКА активного транспорту натрію через клітини встановлено в літературі [14]. Зміни внутріклітинних іонних градієнтів також узгоджуються з викладеною точкою зору. Оскільки внутріклітинне співвідношення електролітів K_i/Na_i служить показником активності ферментативних систем (зокрема транспортної АТФ-ази), отже й інтенсивності енергетичних процесів [18], можна вважати, що зниження іонного градієнта у клітинах мозку під впливом ДОКА у дозі 1 мг/100 г ваги свідчить про пригнічення активного транспорту іонів натрію, тоді як підвищення його при дії більш масивних доз — про підсилення активного переносу натрій-іонів.

Висновки

1. Розподіл води та електролітів у великих півкулях мозку під впливом ДОКА залежить від застосованої дози препарату.
2. Як одноразове, так і тривале (протягом двох тижнів) введення ДОКА у дозі 1 мг/100 г супроводжується збільшенням внутріклітинної й зменшенням позаклітинної концентрації натрію (Na_e/Na_i знижується) поряд з втратою калію з міжклітинного середовища (K_i/K_e підвищується). Рівень води при цьому знижується внаслідок зменшення об'єму позаклітинної рідини.
3. Тривале введення (протягом трьох тижнів) ДОКА у дозі 2,5 мг/100 г спричиняє протилежні зміни. Рівень внутріклітинного натрію знижується, а позаклітинного — підвищується (Na_e/Na_i збільшується). Калієвий концентраційний градієнт K_i/K_e знижується переважно за рахунок збільшення його позаклітинного вмісту. Об'єм води у мозку збільшується за рахунок збільшення кількості позаклітинної рідини.
4. Внутріклітинні іонні градієнти (K_i/Na_i) також змінюються у протилежних напрямках залежно від застосованої дози препарату. При введенні ДОКА по 1 мг/100 г співвідношення K_i/Na_i зменшується, при збільшенні дози — підвищується.

Литература

1. Малышенко Н. М.—Пробл. эндокринолог., 1968, 14, 1, 62.
2. Benson J., Preier E., Hallaway B., Johnson M.—Amer. Journ. Physiol., 1956, 187, 3, 456.
3. Chambers W., Freedman S., Sawyer C.—Exptl. Neurol., 1963, 8, 458.
4. Civian M., Lico M., Rodrigues J.—Arch. int. Pharmacodyn., 1963, 146, 81.
5. Colfer H.—Proc. Assoc. Res. Nerv. a. Ment. Dis., 1947, 26, 98.
6. Costa P., Bonnycastle D.—Arch. internat. Pharmacodyn., 1952, 91, 330.
7. Cotlove E.—Amer. J. Physiol., 1951, 167, 665.
8. Cotlove E.—Amer. J. Physiol., 1954, 176, 396.
9. Davenport V.—Amer. J. Physiol., 1949, 156, 322.
10. Dean R.—Biol. Symposia, 1941, 3, 331.
11. Hodgkin A.—Biol. Rev., 1951, 26, 332.
12. Hoagland H.—Rec. Progr. Horm. Res., 1954, 10, 29.
13. Hoagland H.—In: Hormones, Brain Function a. Behaviour, Acad. Press N. Y., 1957.
14. Jones E.—Nature, 1955, 176, 4475, 280.
15. Manery J.—Physiol. Rev., 1954, 34, 334.
16. Mudge G., Vislocky K.—J. Clin. Invest., 1949, 28, 3, 482.
17. Nichols H., Nichols N., Weil W., Wallace W.—J. Clin. Invest., 1953, 32, 1299.
18. Skou J.—Physiol. Rev., 1965, 45, 596.
19. Spiegel E.—Fed. Proc., 1943, 2, 67.
20. Swinyard E.—Amer. J. Physiol., 1949, 156, 163.
21. Timiras P., Woodbury D., Goodman L.—J. Pharm. Exptl. Therap., 1954, 112, 80.
22. Timiras P., Woodbury D., Agarwal S.—J. Pharm. Exptl. Therap., 1955, 115, 154.
23. Ussing H.—Physiol. Rev., 1949, 29, 127.
24. Vernadakis A., Woodbury D.—In: Methods in Hormone Research., Acad. Press., N. Y., 1966, 111.
25. Winter C., Flataker L.—J. Pharm. Exptl. Therap., 1952, 105, 398.
26. Woodbury D., Davenport V.—Amer. J. Physiol., 1949, 157, 2, 234.
27. Woodbury D.—Rec. Progr. Horm. Res., 1954, 10, 65.
28. Woodbury D.—J. Pharm. Exptl. Therap., 1955, 115, 1, 74.
29. Woodbury D., Timiros P., Vernadakis A.—In: Hormones, Brain Function a. Behaviour ed. by H. Hoagland, Acad. Press., N. Y., 1957, 27.
30. Woodbury D.—Pharmacol. Rev., 1958, 10, 275.
31. Ziegler M., Anderson J., McQuarrie J.—Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1944, 4, 56, 242.

Надійшла до редакції
26.V 1969 р.

ВЛИЯНИЕ ДОКА НА ВНЕ- И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДЫ И ЭЛЕКТРОЛИТОВ В БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

М. Н. Левченко

*Отдел патологии нейро-гуморальных регуляций Института физиологии
им. А. А. Богомольца АН УССР, Киев*

Резюме

Исследовалось влияние однократного и длительного введения различных доз ДОКА на вне- и внутриклеточное распределение воды, натрия и калия в больших полушариях мозга трехмесячных крыс-самцов линии Вистар.

Установлено, что распределение воды и электролитов в мозге под влиянием ДОКА зависит от применяемой дозы препарата. Как однократное, так и длительное (в течение двух недель) введение ДОКА в дозе 1 мг/100 г сопровождается увеличением внутриклеточной и уменьшением внеклеточной концентрации натрия (Na_e/Na_i снижается) вместе с потерей калия из внеклеточного пространства (K_i/K_e возрастает).

Длительное введение (на протяжении трех недель) ДОКА в дозе 2,5 мг на 100 г веса вызывает противоположные сдвиги. Уровень внутриклеточного натрия снижается, а внеклеточного — возрастает, что приводит к повышению натриевого концентрационного градиента Na_e/Na_i .

Калиевый концентрационный градиент K_i/K_e понижается, преимущественно, вследствие увеличения внеклеточного содержания. Объем воды в мозге увеличивается в результате накопления внеклеточной жидкости. Внутриклеточные ионные градиенты K_i/Na_i также изменяются в противоположных направлениях в зависимости от применяемой дозы препарата. При введении ДОКА в дозе 1 мг/100 г соотношение K_i/Na_i уменьшается, а с увеличением дозы до 2,5 мг/100 г оно возрастает.

EFFECT OF DOCA ON THE EXTRA- AND INTRACELLULAR DISTRIBUTION OF WATER AND ELECTROLYTES IN RAT CEREBRAL HEMISPHERES

M. N. Levchenko

Department of Pathology of Neuro-humoral Regulations, the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Summary

It is established, that the distribution of water and electrolytes in the brain under effect of DOCA depends on the dose of the applied preparation. Both single and long-term (during two weeks) DOCA administration in a dose of 1 mg/100 g is accompanied by an increase in intracellular and decrease in extracellular concentration of sodium — Na_i/Na_e drops together with the loss of potassium from the extracellular space (K_i/K_e rises).

The long-term administration (during three weeks) of DOCA in a dose of 2.5 mg per 100 g of weight results in the contrary shifts. The intracellular sodium level decreases, and extracellular one increases, which leads to the drop in the sodium concentration gradient Na_e/Na_i .

The potassium concentrational gradient K_i/K_e falls chiefly due to the extracellular content increase. Water volume in the brain rises as a result of accumulation of extracellular fluid. Intracellular ionic gradients K_i/Na_i also change in opposite directions depending of the applied preparation dose. While administrating DOCA in a dose of 1 mg/100 g K_i/Na_i correlation decreases and with an increase in the dose up to 2.5 mg/100 g it rises.