

УДК 612.31+612.014.423:462

Я. В. Ганіткевич, М. Ю. Клевець, А. А. Белаш

ЗМІНИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ СЕКРЕТОРНИХ КЛІТИН ПІД ВПЛИВОМ ПРЕПАРАТІВ ПОВЕРХНЕВО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Жовчні кислоти та інші препарати поверхнево активних речовин (ПАР) характеризуються високою фізіологічною активністю та здатністю спричиняти виразний вплив на структуру і функцію клітинних мембран [2, 4, 12]. При дії ПАР виявлені зміни біоелектричних явищ у нервах, м'язах, нервово-м'язових синапсах [1, 13, 16].

Ми вивчали вплив трьох препаратів ПАР на мембранний потенціал (МП) секреторних клітин.

Методика досліджень

Досліди провадили на виноградних слимаках (*Helix pomatia*). Відпрепаровані слинні залози закріплювали в спеціальній камері та перфузували розчином Рінгера [6]. Техніка мікроелектродного відведення МП секреторних клітин відповідала описаній раніше [9]. В кожному досліді визначали МП для 30—40 клітин даної залози.

Для впливу на функціональний стан секреторних клітин застосовували поверхнево активні речовини тваринного, рослинного і синтетичного походження. Препарати глікохолату натрію (Schuchardt), сапоніну (США) і твіну-80 (Lawson) в малих концентраціях ($1 \cdot 10^{-5}$ — $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл) додавали до перфузійного розчину. Цифровий матеріал оброблено варіаційно-статистичним методом на обчислювальній машині «Промінь».

Результати досліджень та їх обговорення

Вимірювання МП секреторних клітин слинних залоз виявило відносно високу їх однорідність. Для 100 клітин, досліджених в 10 залозах, МП становив $18,7 \pm 0,18$ мв ($M \pm m$); крайні величини становили 15,2 і 22,2 мв. Тривала перфузія слинних залоз не викликала будь-яких істотних змін МП заново досліджуваних секреторних клітин.

В найменшій концентрації ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) глікохолат натрію викликає повільне, поступове зростання МП, який досягає максимуму наприкінці години. В більшій концентрації ($1 \cdot 10^{-4}$ г/мл) підвищення настає швидше, максимальний ефект спостерігається через 30 хв і виявлений він помітно сильніше. Наприкінці досліді спостерігається деяке зниження МП. Подібні зміни викликає глікохолат натрію в концентрації $5 \cdot 10^{-3}$ г/мл, з тією різницею, що незначне підвищення МП наприкінці досліді виявляється недостовірним.

Під впливом сапоніну в найменшій концентрації ефект підвищення МП настає через 30 хв і наприкінці досліді ступінь виявлення його слабший. В більших концентраціях сапонін викликає лише короточасне нерізке підвищення МП; при цьому здебільшого достовірних змін не виявлено. При дії сапоніну, особливо в більших концентраціях, виникають видимі зміни стану слинної залози: тканина стає більш щільною і пружною, часто виникає поламка мікроелектродів.

Твін-80 в найменшій концентрації викликає різке збільшення МП, який зростає на 50—67% початкової величини. В більших концентраціях

ях, навіть при $5 \cdot 10^{-3}$ г/мл, твін-80 достовірних змін МП секреторних клітин не викликає. На рисунку показана динаміка МП при дії препаратів ПАР. Якщо під впливом глікохолату натрію і сапоніну МП змінюється поступово, то при дії твіну-80 збільшення МП виявляється зразу ж при першому визначенні.

МП клітин слинної залози виноградного слимака при дії препаратів ПАР

Діюча речовина	Концентрація в г/мл	Величина МП ($M \pm m$) і достовірність змін			
		початкова	при перфузії розчинами протягом		
			5—25 хв	30—50 хв	55—75 хв
Глікохолат натрію	$1 \cdot 10^{-5}$	$19,6 \pm 0,52$	$21,0 \pm 0,69$	$23,4 \pm 0,96$	$24,2 \pm 0,90$
	<i>p</i>		$>0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	$1 \cdot 10^{-4}$	$18,8 \pm 0,62$	$24,3 \pm 1,07$	$26,0 \pm 0,70$	$21,4 \pm 0,34$
	<i>p</i>		$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	$5 \cdot 10^{-4}$	$19,0 \pm 0,59$	$22,7 \pm 0,88$	$24,3 \pm 0,60$	$20,0 \pm 0,46$
	<i>p</i>		$<0,05$	$<0,05$	$>0,05$
Сапонін	$1 \cdot 10^{-5}$	$19,8 \pm 0,43$	$20,5 \pm 0,68$	$24,7 \pm 1,58$	$22,9 \pm 1,29$
	<i>p</i>		$>0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	$1 \cdot 10^{-4}$	$19,2 \pm 0,33$	$21,4 \pm 0,82$	$19,0 \pm 1,32$	$17,8 \pm 0,85$
	<i>p</i>		$<0,05$	$>0,05$	$>0,05$
	$5 \cdot 10^{-4}$	$18,1 \pm 0,73$	$19,3 \pm 0,86$	$21,4 \pm 0,53$	$19,0 \pm 0,85$
	<i>p</i>		$>0,05$	$<0,05$	$>0,05$
Твін-80	$1 \cdot 10^{-5}$	$19,0 \pm 0,61$	$28,6 \pm 1,06$	$31,9 \pm 1,32$	$28,0 \pm 1,09$
	<i>p</i>		$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$
	$1 \cdot 10^{-4}$	$18,4 \pm 0,70$	$18,0 \pm 0,62$	$17,1 \pm 0,31$	$18,1 \pm 0,78$
	<i>p</i>		$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$
	$1 \cdot 10^{-3}$	$18,3 \pm 1,10$	$17,1 \pm 1,00$	$18,1 \pm 1,10$	—
	<i>p</i>		$>0,05$	$>0,05$	
	$5 \cdot 10^{-3}$	$17,1 \pm 0,76$	$16,3 \pm 1,08$	$16,7 \pm 0,92$	—
	<i>p</i>		$>0,05$	$>0,05$	

Як видно з рисунка, а також даних статистичної обробки (див. таблицю), при підвищенні МП під впливом ПАР спостерігається також збільшення варіабільності МП. Величини МП різних клітин при перфузії залози розчинами ПАР виявляють значно більші коливання, ніж у вихідних пробах при перфузії розчином Рінгера.

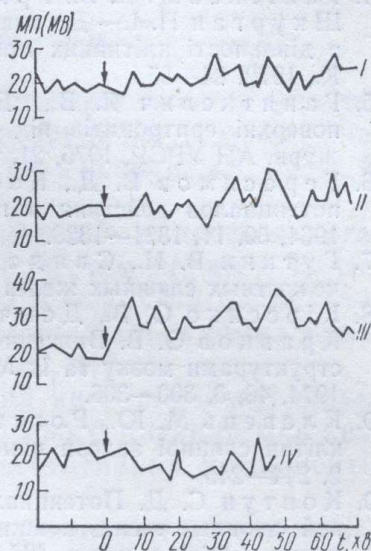
Для з'ясування механізму дії ПАР на біоелектричні явища в секреторних клітинах проведені дослідження з ацетилхоліном та з одночасною дією глікохолату натрію і ацетилхоліну. При одночасній дії ацетилхоліну і глікохолату натрію викликають підвищення МП, подібне до того, яке виникає при дії одного ацетилхоліну або одного глікохолату натрію.

Одержані результати вказують, що на відміну від слинних залоз вищих хребетних [7, 10, 14, 15], слинні залози виноградного слимака досить однорідні за величиною МП їх клітинних елементів. Досліджені препарати ПАР викликають однаково спрямовані зміни МП секреторних клітин, що полягають у гіперполяризації мембран. Найбільш виражений гіперполяризуючий ефект викликає неіоногенний твін-80, який відзначається також найбільшою серед даних препаратів поверхневою активністю [5]; слабше діє аніонактивний глікохолат натрію і найменший ефект спостерігається під впливом неіоногенного сапоніну. Водно-

час виступає закономірна залежність між фізіологічним ефектом і концентрацією ПАР. Із збільшенням концентрації препаратів дія їх на МП слабшає і, незважаючи на високі концентрації ПАР, достовірних змін МП вони не викликають. Лише для глікохолату натрію виявлене початкове зростання ефекту із збільшенням його концентрації. Подібна закономірність спостерігалася нами раніше при дослідженні дії жовчних кислот на збудливість хеморецептивних систем [3].

Зростання ПКП під впливом препаратів ПАР також може бути менш виявленим для більших концентрацій ПАР [1]. Однак, якщо на інших об'єктах із збільшенням концентрації ПАР дія їх із стимулюючої переходить через неактивну зону в гальмівну, то на секреторних клітинах молюсків достовірного гальмівного ефекту не спостерігалось навіть при дуже високих концентраціях ($5 \cdot 10^{-3}$ г/мл для твіну-80).

Результати досліджень з ацетилхоліну підтверджують попередні спостереження одного з нас [9] про гіперполяризуючу дію ацетилхоліну на секреторні клітини слинних залоз. Відсутність сумарної дії ефекту при одночас-



Динаміка змін МП клітин слинної залози молюска при перфузії розчинами ПАР.

I — глікохолат натрію (10^{-5} г/мл), II — сапонін (10^{-5} г/мл), III, IV — твін-80 (відповідно 10^{-5} і 10^{-3} г/мл). Стрілкою позначено початок перфузії розчинами ПАР.

ній дії ацетилхоліну і глікохолату натрію дозволяє зробити припущення про деяку схожість механізмів їх впливу на МП. Виходячи з даних [15], можна припускати, що ПАР, подібно до ацетилхоліну, збільшують проникність (переважно для іонів K^+) базальної мембрани, внаслідок чого зростає МП секреторних клітин. Слід враховувати можливість дії ПАР на мембранні ферменти, оскільки жовчні кислоти та інші ПАР можуть значно підвищувати активність мембранних Na^+ , K^+ , Mg^{++} та Ca^{++} АТФаз [8, 11, 12]. Не виключені особливі механізми, характерні для дії деяких ПАР, на що може вказувати виявлений ефект твіну-80. Виразна дія ПАР на слинні залози дозволяє гадати, що поверхнево активні властивості молекул та поверхневі сили на поверхні протоплазматичних мембран відіграють певну роль у формуванні МП секреторних клітин.

Висновки

1. Поверхнево активні препарати глікохолату натрію, сапоніну і твіну-80 викликають гіперполяризацію мембрани секреторних клітин слинних залоз.

2. Найбільш виразний ефект на слинні залози спричиняє твін-80, під впливом якого величина МП секреторних клітин зростає на 50—67%.

3. При збільшенні концентрації ПАР (з $1 \cdot 10^{-5}$ до $5 \cdot 10^{-4}$ г/мл і вище) ефект їх дії на МП слабшає або зовсім не виявляється.

Література

1. Байдан Л. В., Владимирова И. А., Ганиткевич Я. В. Влияние некоторых поверхностно активных веществ на синаптические потенциалы мышечных волокон.— В кн.: Физиологическая роль поверхностно активных веществ. Тез. докл. Всес. симпозиума, Черновцы, 1975, 9—11.
2. Владимиров Ю. А., Поглазов А. Ф. Структурная организация мембран.— В кн.: Биологические мембраны, М., 1973, 7—47.
3. Ганиткевич Я. В. Влияние желчи и ее основных составных частей на Н-холинореактивные системы скелетных мышц.— Бюлл. exper. биол. и мед., 1964, 57, 8, 78—82.
4. Ганиткевич Я. В., Гришина М. Г., Токарик Е. Ф., Хролінська Р. Ю., Шкурган П. І.— До вивчення ролі поверхнево активних речовин (ПАР) організму в діяльності клітинних мембран.— В кн.: Тез. допов. IX з'їзду Укр. фізіол. тов-ва, К., 1972, 84—85.
5. Ганиткевич Я. В., Божескова Т. М.— Зміни електричних властивостей поверхні еритроцитів під впливом деяких поверхнево активних речовин.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1975, 21, 1, 84—89.
6. Герасимов В. Д., Костюк П. Г., Майский В. А. Особенности генерации потенциалов действия в гигантских нейронах моллюсков.— Физиол. журн. СССР, 1964, 50, 11, 1321—1328.
7. Гуткин В. И., Свядош Е. А. Мембранный потенциал ацинарных клеток подчелюстных слюнных желез кошек.— Биофизика, 1970, 15, 5, 857—862.
8. Кірсенко О. В., Демченко П. О., Вавілова Г. Л., Ярошенко Н. А., Кравцов О. В. Вивчення взаємодії поверхнево активних речовин з мембранними структурами мозку та їх Mg^{2+} , Na^{+} , K^{+} АТФазною властивістю.— Укр. біох. журн., 1974, 46, 3, 300—306.
9. Клевец М. Ю., Рогатюк С. Є. Вплив ацетилхоліну на мембранный потенціал клітин слинної залози виноградного слимака.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1974, XX, 2, 244—245.
10. Ковтун С. Д. Потенциалы покоя секреторных клеток подчелюстной и подъязычной слюнных желез кошки и их спонтанные изменения при внутриклеточном отведении.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1966, 12, 6, 781—786.
11. Макогоненко Е. М., Кудинов С. А., Алексеенко И. Р. Солюбилизация Mg^{2+} зависимой Ca^{2+} активизируемой АТФазы фракции плазматических мембран синапсом.— Укр. біохім. журн., 1975, 47, 1, 61.
12. Brierley G. P., Jurkowitz M., Merola A. J., Scott K. M. Activation of Energy — Linked K^{+} Uptake by Nonionic Detergents.— Arch. Bioch. a Biophys., 1972, 152, 744—754.
13. Helde K., Güth V. Die Wirkung der Desoxycholsäure auf Aktionspotential und Mechanogramm des Spontan schlagenden und des elektrisch gereizten Vorhofs des Rattenherzens.— Zeitschr. Biol., 1965, 115, 1, 20—29.
14. Lundberg A. The electrophysiology of the submaxillary gland of the cat.— Acta Physiol. Scand., 1955, 35, 1—25.
15. Petersen O. H. The importance of extracellular sodium and potassium for acetylcholine evoked salivary secretion.— Experientia, 1970, 26, 10, 1103—1104.
16. Walsch R. R., Lee J. P. Action of surface active agents on axonal conduction.— Am. Journ. Physiol., 1962, 202, 6, 1241—1243.

Кафедри фізіології людини і тварин
Чернівецького та Львівського університетів

Надійшла до редакції
29.XII 1975 р.

Ja. V. Ganitkevich, M. Ju. Klevec, A. A. Belash

CHANGES IN SECRETORY CELLS MEMBRANE POTENTIAL UNDER THE EFFECT OF SURFACE ACTIVE SUBSTANCES PREPARATIONS

Summary

Hyperpolarized action of small concentrations ($1 \cdot 10^{-5}$ — $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml) of surface active substances preparations was found in experiments with secretory cells of the *Helix pomatia* salivary glands. The nonionogenic SAS Tween-80 shows the most expressed effect raising the MP value by 50-67%. Sodium glycocholate and saponine increase MP to a less extent. When concentration of SAS increases, their effect on MP weakens. No hyperpolarizing effect is observed with combined action of sodium glycocholate and acetylcholine.