

УДК 577.37

Ю. А. Акімов, В. Д. Герасимов

ЗМІНИ ЕЛЕКТРИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НЕРВОВИХ КЛІТИН І М'ЯЗОВИХ ВОЛОКОН ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЗБАГАЧЕННЯ ІХ НАТРІЄМ

Останнім часом більшість дослідників для доказу ролі натрію в генерації потенціалів дії видаляють цей катіон із зовнішнього розчину, замінюючи його неелектролітами чи іншими катіонами, або пригнічують натрієву провідність мембран специфічними інгібіторами, наприклад, тетродотоксином. При такій постановці дослідження немає повної впевненості, що в клітинах підтримується вихідна, нормальна внутріклітинна концентрація Na. Тому доцільно для контролю користуватись іншими методами — змінювати натрієвий градієнт на збудливій мембрані підвищенням його внутріклітинної концентрації. На гігантському аксоні кальмара це легко здійснюється з допомогою внутріклітинної перфузії розчином з високою концентрацією натрію. На об'єктах меншого розміру збагачення натрієм можливе при безпосередньому введенні натрію в клітину через мікроелектрод — дифузійно [10], під тиском або електрофоретично [3, 16, 18], а також пригніченням активного транспорту натрію [15]. Цими двома способами збагачення клітин натрієм ми і скористувались у даному дослідженні.

Методика досліджень

Електричні властивості нервових клітин гангліїв слимака (*Helix pomatia*) і м'язових волокон *m. sartorius* жаби вивчали за допомогою мікроелектродного методу. Збагачення натрієм досягалось пригніченням клітинного метаболізму і активного транспорту катіонів — дією на клітини ціаністого натрію, азиду натрію, строфантину К, охолодженого безкалієвого розчину. В ряді випадків натрій (у вигляді хлориду або ацетату) вводили в клітини через мікроелектрод, заповнений 1—2,5 М розчином цієї солі дифузійно або під тиском [4]; при цьому сполучнотканинні оболонки, що покривають клітини, видаляли. Звичайно відвідні електроди заповнювали 2,5 М розчином хлористого калію. Метаболічні отрути і строфантин додавали в зовнішній розчин, що постійно омивав клітини.

Розчини Рінгера мали такий склад (в ммоль на 1 л води): для м'язових волокон жаби — NaCl — 112, KCl — 2, CaCl₂ — 1,8, KHCO₃ — 0,5; для нейронів слимака — NaCl — 90, KCl — 5, CaCl₂ — 10. Для нейронів слимака паралельно використовувались контрольні розчини, в яких надлишкова концентрація NaCl замінювалась осмотично еквівалентною концентрацією сахарози. Тоничність цих розчинів була дещо вища за нормальну.

Вміст K і Na в гангліях слимака в нормальних умовах і при дії інгібіторів метаболізму визначали на полум'яному фотометрі. Потім розраховували внутріклітинний вміст цих іонів приймаючи величину міжклітинного простору за 37% [5].

Результати досліджень

Введення хлориду або ацетату натрію в нейрони через мікроелектрод на протязі 10—20 хв викликало різнонаправлені зміни потенціалу спокою (ПС) клітин. Одні клітини після цього деполяризувались, у інших же ПС підвищувався на 5—10 мВ. Відсоток гіперполяризованих клі-

тин зростав при внутріклітинній генерації потенціалів дії (ПД). Після збагачення клітин натрієм охолодженого до +7°С безкалієвого розчину середньому на 10 мВ, всі ПД зникли, тривалість яких була вищою, ніж при нормальної концентрації натрію. ПД і зникнуло їх амплі-

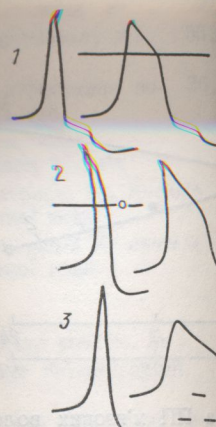


Рис. 1. Вплив безкалієвого охолодженого розчину на тривалість потенціалів дії нейронів. 1, 2 — потенціали дії різних нейронів у нормальному розчині (зліва) і в безкалієвому розчині (справа) 6 год дії (справа) — те саме при збільшенні концентрації натрію в розчині до 160 ммоль/л. Бровка: 20 мВ, 5 с.

них властивостей клітин зростає при охолодженні до безкалієвого розчину до нормальної амплітуди без охолодження. ПД нейронів, збагачених натрієм, є аналогічним чинником приблизно 10 мВ.

Неохолоджений безкалієвий розчин не викликає аналітичних змін у нейронах. Після 6 год дії безкалієвого розчину був вище вихідного потенціалу спокою на 20 год і більше в нормальних умовах незважаючи на незміненість ПС. І в тих, і в інших клітинах кілька мілівольтів.

В нормальному розчині концентрація NaCl $\times 10^{-5}$ г/мл навіть при введенні в клітини (на 3—4 мВ) стрічки строфантину в нормальних умовах близько на 20%. На ПД. Так, вже до 3

Герасимов

ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОВИХ ВОЛОКОН ПІСЛЯ ЗАБАГАЧЕННЯ ІХ НАТРІЄМ

Для доказу ролі натрію в регіоні із зовнішнього розчину, за допомогою катіонів, або пригнічують ними інгібіторами, наприклад, слідом немає повної впевненості, нормальна внутріклітинна кон-
 троль користуватись іншими ме-
 на збудливій мембрані підви-
 ації. На гігантському аксоні
 гою внутріклітинної перфузії
 ю. На об'єктах меншого роз-
 посередньому введенні натрію
 [10], під тиском або елек-
 ченням активного транспорту
 чення клітин натрієм ми і

Кень

в слимака (*Helix pomatia*) і м'язо-
 мікроелектродного методу. Збага-
 метаболізму і активного транспорту
 натрію, строфантину К, охолоджен-
 (у вигляді хлориду або ацетату)
 1—2,5 М розчином цієї солі дифу-
 зії оболонки, що покривають клі-
 ювали 2,5 М розчином хлористого
 овнішній розчин, що постійно оми-

1 л води): для м'язових волокон
 5; для нейронів слимака — NaCl —
 паралельно використовувались конт-
 зі замінювалась осмотично еквіва-
 лентів була дещо вища за нор-

умовах і при дії інгібіторів мета-
 розраховували внутріклітинний
 стору за 37% [5].

Кень

нейрони через мікроелек-
 правлені зміни потенціалу
 го деполяризувались, у ін-
 ок гіперполяризованих клі-

тин зростав при внутріклітинній ін'єкції ацетату натрію. Характерис-
 тики потенціалів дії (ПД) істотно не змінювались.

Після збагачення клітин іонами натрію в результаті 6 год дії охо-
 лодженого до $+7^\circ\text{C}$ безкалієвого розчину, ПС нейронів знижувався в се-
 редньому на 10 мВ, всі нейрони зберігали збудливість і генерували ПД,
 тривалість яких була вища, ніж у нормі (рис. 1). Підвищення зовніш-
 ньої концентрації натрію в цих умовах дещо збільшувало тривалість
 ПД і знижувало їх амплітуду (рис. 1, 3). Глибокі порушення електрич-

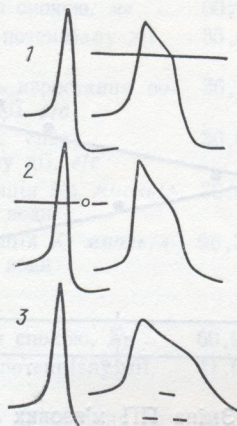


Рис. 1. Вплив безкалієво-
 го охолодженого розчи-
 ну на тривалість потен-
 ціалів дії нейрона.

1, 2 — потенціали дії двох
 різних нейронів у нормаль-
 ному розчині (зліва) і після
 6 год дії (справа) безка-
 лієвого розчину ($t=7^\circ\text{C}$);
 3 — те саме при збільшенні
 концентрації натрію в роз-
 чині до 160 ммоль. Калі-
 бровка: 20 мВ, 5 мс.

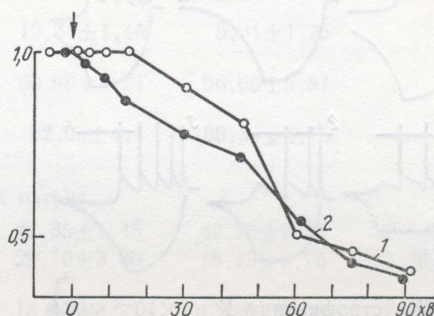


Рис. 2. Зміна максимальних швидкостей на-
 ростання і спаду потенціалу дії під впли-
 вом строфантину К (1×10^{-4} г/мл) на
 нейрон.

1 — максимальна швидкість наростання потенці-
 алу дії, 2 — максимальна швидкість спаду по-
 тенціалу дії. По горизонталі — час у хвили-
 нах, по вертикалі — нормована величина максима-
 льних швидкостей наростання і спаду. Стрілка —
 початок дії строфантину.

них властивостей клітин наставали після 20 год перебування їх в охо-
 лодженому безкалієвому розчині: ПС знижувався на 25—27 мВ, здат-
 ність до нормальної генерації ПД зникала, клітина генерувала ПД низь-
 кої амплітуди без овершуту і з малими швидкостями наростання та
 спаду. ПД нейронів, що перебували в нормальних умовах, не змінюва-
 лись аналогічним чином при штучній деполяризації клітин постійним
 струмом приблизно на таку саму величину.

Неохолоджений безкалієвий розчин і охолоджений розчин Рінгера
 не викликали аналогічних змін в електрофізіологічних властивостях
 нейронів. Після 6 год дії безкалієвого розчину ($t=20-22^\circ\text{C}$) ПС клітин
 був вище вихідного на 11—13 мВ. При видержуванні гангліїв протягом
 20 год і більше в нормальному розчині Рінгера, охолодженому до $+7^\circ\text{C}$,
 незважаючи на незначне зниження ПС, збудливість повністю зберіга-
 лась. І в тих, і в інших випадках амплітуда ПД зменшувалась лише на
 кілька мілівольтів.

В нормальному розчині Рінгера строфантин у концентраціях 4×10^{-5}
 г/мл навіть при дії на протязі 1,5 год лише дещо деполяризував
 клітини (на 3—4 мВ) і зменшував амплітуду ПД. Підвищення концент-
 рації строфантину в розчині до 1×10^{-4} г/мл знижувало ПС і ПД при-
 близно на 20%. Найбільше змінювались швидкості наростання і спаду
 ПД. Так, вже до 30 хв максимальні швидкості наростання і спаду

($V_{нар.}$ і $V_{сп.}$) знижувались, відповідно, на 10 і 20%, а до кінця 1,5 год експозиції — понад два рази (рис. 2). Вхідний опір нейронів не змінювався, або збільшувався в міру дії строфантину на 20—30%.

Строфантин у безкалієвому розчині діяв сильніше, ніж у нормальному розчині Рінгера. Проте у відсутності калію виразніше виявлялась різниця в чутливості різних нейронів до цього глікозиду. На рис. 3 наведені результати, одержані при дії строфантину на «строфантин-чутливі» і «строфантин-нечутливі» нейрони. В першій групі нейронів

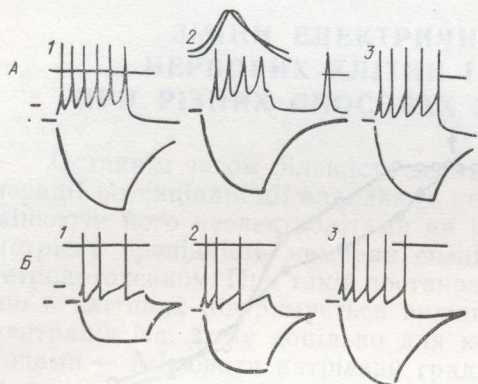


Рис. 3. Дія строфантину К (1×10^{-4} г/мл) в безкалієвому розчині на електричні властивості різних нейронів.

А — нейрон чутливий до строфантину; 1, 2 — відповідь нейрона на 15 і 20 хв дії строфантину; 3 — відповідь нейрона після відмивання строфантину безкалієвим розчином. Калібровка: 20 мВ, 50 мс, 5 мс. Б — нейрон нечутливий до строфантину; 1 — відповідь у нормальному розчині Рінгера; 2, 3 — те саме, відповідно, на 15 і 90 хвилин дії строфантину в безкалієвому розчині. Калібровка: 20 мВ, 50 мс.

строфантин викликав значну деполяризацію, зменшував амплітуду та істотно збільшував тривалість ПД. Крім того нейрони починали генерувати спонтанні ПД з низькими $V_{нар.}$ і $V_{сп.}$, а їх вхідний опір зменшувався на 15—20% (рис. 3, А). Дія строфантину в безкалієвому розчині, як і в нормальному розчині Рінгера, була оборотною.

У нейронів, мало чутливих до дії строфантину, описані зміни не спостерігались навіть при більш тривалій експозиції (рис. 3, Б). Навпаки, протягом перших 15 хв дії строфантину ПС у цих клітин міг навіть підвищуватись, а вхідний опір збільшуватись. Через 1,5 год ПС знижувався до вихідної величини, тоді як вхідний опір підвищувався ще більше (рис. 3, Б). Очевидно, такі зміни ПС поряд з різким збільшенням вхідного опору були зв'язані не стільки з дією самого строфантину, скільки з ефектом, викликаним видаленням із зовнішнього середовища іонів калію [1].

Найбільш ефективні в зміні електричних характеристик нейронів були інгібітори клітинного дихання і окисного фосфорилування — ціанід натрію та азид натрію. Обидва інгібітори за порівняно короткий строк викликали зменшення ПС, амплітуди, $V_{нар.}$ і $V_{сп.}$ ПД. Як показало фотометричне визначення вмісту калію і натрію в гангліях і розрахунок їх внутріклітинного вмісту в нейронах, зміна електричних характеристик під дією інгібіторів обміну речовин супроводжувалась значним накопиченням натрію в клітинах і зменшенням внутріклітинної концентрації калію (див. таблицю).

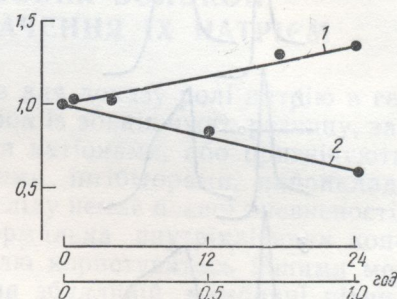


Рис. 4. Зміна ПП м'язових волокон при дії охолодженого безкалієвого розчину (1) і під впливом строфантину К в охолодженому розчині Рінгера (2).

По горизонталі — час у годинах, верхня шкала для кривої 1, нижня шкала для кривої 2. По вертикалі — нормована величина потенціалу спокою.

Зміни електричних властивостей

Вплив інгібіторів метаболізму

Електричні параметри і внутріклітинні концентрації іонів у нейронах

Потенціал спокою, мВ
Овершут потенціалу дії, мВ
Швидкість наростання потенціалу дії, в/с
Швидкість спаду потенціалу дії, в/с
Концентрація Na, ммоль/л клітинної води
Концентрація K, ммоль/л клітинної води

Потенціал спокою, мВ
Овершут потенціалу дії, мВ
Швидкість наростання потенціалу дії, в/с
Швидкість спаду потенціалу дії, в/с
Концентрація Na, ммоль/л клітинної води
Концентрація K, ммоль/л клітинної води

На відміну від нечутливості в охолодженому м'язових волокон помірних величин ПС м'яза в охолодженому пово збільшувався і рівень на 15% (рис. 4). ПС відбувалось і при нормальній температурі. В обох випадках зменшення ПС становило на 16% — з 97, лодженому розчині Рінгера до лодженому безкалієвому розчині.

При дії 1×10^{-4} г/мл строфантину зменшувалась здатність генерувати спонтанні ПД. Під впливом строфантину в нормальному розчині Рінгера протягом години знизилась амплітуда ПД, здалегідь відержанні ПД деполяризація м'язового опору мембрани. В той же час в безкалієвому охолодженому розчині збільшувалась будь-якою помірною величиною ПС.

на 10 і 20%, а до кінця 1,5 год Вхідний опір нейронів не зміню-
рофантину на 20—30%.
діяв сильніше, ніж у нормаль-
сті калію виразніше виявлялась
цього глікозиду. На рис. 3 на-
строфантину на «строфантин-
они. В першій групі нейронів

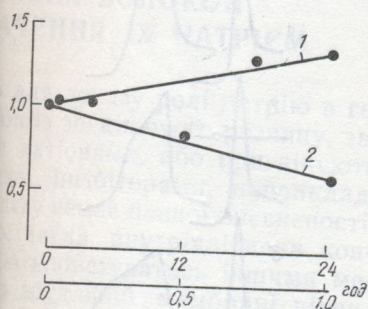


Рис. 4. Зміна ПП м'язових волокон при дії охолодженого безкалієвого розчину (1) і під впливом строфантину К в охолодженому розчині Рінгера (2).

По горизонталі — час у годинах, верхня шкала для кривої 1, нижня шкала для кривої 2. По вертикалі — нормована величина потенціалу спокою.

цію, зменшував амплітуду та цього нейрони починали генерувати, а їх вхідний опір зменшували в безкалієвому розчині, оборотно.

рофантину, описані зміни не експозиції (рис. 3, Б). Навинину ПС у цих клітин міг набуватися. Через 1,5 год ПС хідний опір підвищувався ще ПС поряд з різким збільшен- з дією самого строфантину, з зовнішнього середовища

них характеристик нейронів ного фосфорилювання — ція- ітори за порівняно короткий $V_{нар}$ і $V_{сп}$ ПД. Як показа- і натрію в гангліях і розра- нах, зміна електричних ха- речовин супроводжувалась зменшенням внутріклітинної

Вплив інгібіторів метаболізму на електричні властивості і електролітичний склад нейронів

Електричні параметри і внутріклітинні концентрації іонів у нейронах	Норма	Тривалість дії інгібіторів, хв		
		60	120	180
Ціаністий натрій				
Потенціал спокою, мв	60,17±0,85	43,30±1,28	36,59±2,84	
Овершут потенціалу дії, мв	35,60±1,65	21,69±2,31	11,13±2,74	
Швидкість наростання потенціалу дії, в/с	36,17±1,35	12,78±1,40	5,68±1,98	
Швидкість спаду потенціалу дії, в/с	30,00±1,11	12,34±1,46	5,81±1,75	
Концентрація Na, ммоль/л клітинної води	36,37±1,12	60,98±5,51	96,66±5,81	
Концентрація K, ммоль/л клітинної води	96,31±0,9	82,05±4,1	80,30±4,75	
Азид натрію				
Потенціал спокою, мв	60,90±0,63	47,35±1,45	42,75±2,28	38,56±1,11
Овершут потенціалу дії, мв	41,60±0,63	29,70±3,30	18,15±2,76	17,75±2,82
Швидкість наростання потенціалу, дії, в/с	39,85±1,82	18,60±2,27	10,50±1,98	7,75±2,23
Швидкість спаду потенціалу дії, в/с	28,75±1,50	16,55±1,95	10,85±2,02	7,68±2,06
Концентрація Na, ммоль/л клітинної води	36,37±1,12	61,56±4,02	69,41±3,87	79,03±4,11
Концентрація K ммоль/л клітинної води	96,31±0,9	80,31±2,25	78,24±2,37	71,20±2,56

На відміну від нервових клітин м'язові волокна не втрачали збудливості в охолодженому до $+5$ — $+7^\circ\text{C}$ безкалієвому розчині. ПС і ПД м'язових волокон помітно збільшувались. На рис. 4, 1 наведена зміна середніх величин ПС м'язових волокон ($t=21^\circ\text{C}$) при видержуванні м'яза в охолодженому безкалієвому розчині протягом 24 год. ПС поступово збільшувався і до кінця 24 год експозиції перевищував вихідний рівень на 15% (рис. 4, 1). Слід відзначити, що аналогічне підвищення ПС відбувалось і при видержуванні м'яза в нормальному розчині Рінгера. В обох випадках амплітуда ПД також підвищувалась у середньому на 16% — з $97,4 \pm 2,1$ до $114 \pm 3,2$ мв ($n=28$) в нормальному охолодженому розчині Рінгера і з $99,6 \pm 2,8$ до $115,8 \pm 1,6$ мв ($n=23$) в охолодженому безкалієвому розчині.

При дії 1×10^{-4} г/мл строфантину більшість м'язових волокон втрачали здатність генерувати ПД у відповідь на пряме подразнення електричним струмом. Під впливом строфантину м'язові волокна в нормальному розчині Рінгера і в безкалієвому розчині деполяризувались: ПС протягом години знижувався на 10—15% (рис. 4, 2). Якщо м'яз був заздалегідь видержаний в нормальному холодному розчині Рінгера, деполяризація м'язового волокна супроводжувалась значним зменшенням опору мембрани. В тих же випадках, коли м'язи спочатку видержували в безкалієвому охолодженому розчині, деполяризація не супроводжувалась будь-якою помітною зміною опору мембрани.

Обговорення результатів досліджень

Як і слід було чекати, накопичення натрію в клітинах приводить до зменшення амплітуди ПД, збільшення їх тривалості, уповільнення швидкостей наростання і спаду ПД і поступової деполяризації клітин.

В нормальних умовах пасивний рух Na в клітину урівноважується активним його виведенням назовні з допомогою механізму натрієвої помпи. Додаткова ін'єкція натрію всередину клітин через мікроелектрод посилює цей процес [2, 10]. Підрахунки показали, що середня швидкість накопичення в клітині натрію, що дифундує з мікроелектрода опором $3-6 \text{ Мом}$, заповненого 1 М розчином хлористого натрію, досягає $2 \cdot 10^{-13} \text{ моль/с}$ [10]. Оскільки об'єм соми нейронів ЦНС слимака в основному не перевищує об'єму кулі діаметром 200 мк , внутріклітинна концентрація натрію при такій швидкості має досягти половинного значення його зовнішньої концентрації, приблизно, через 10 хв , а через 20 хв зрівнятися з нею. Істотно, що при ін'єкції під тиском зниження натрієвого градієнта на мембрані клітини повинно розвиватися скоріше. Проте, нам не вдавалось зареєструвати через 20 хв навіть після ін'єкції під тиском очікуваної зміни амплітуди ПД. Отже, вільний натрій видалявся з клітини майже з такою ж швидкістю, з якою надходив до неї, або переходив у зв'язаний стан. Гіперполяризація нейронів, спостережувана в ряді випадків, очевидно, підтверджує існування в цих умовах активного виходу натрію і наявність при цьому його електрогенного компонента [3, 16].

При відсутності додаткового введення натрію в клітину середня швидкість збільшення внутріклітинної концентрації (активності) Na , вимірювана з допомогою натрій-селективних електродів після відключення помпи оуабаїном, становить $0,54 \text{ ммоль/хв}$ [17]. В цих умовах (середня внутріклітинна активність $\text{Na} - 3,6 \text{ ммоль}$ [17], активність Na в зовнішньому середовищі — 90 ммоль) натрієвий градієнт через мембрану повинен би знизитись до нуля за час, рівний, приблизно, 160 хв . Виходячи з цього, можна вважати, що ні охолодження клітин до $+7^\circ \text{C}$, ні виділення із зовнішнього середовища калію, саме по собі не є достатньо ефективним засобом пригнічення натрієвої помпи. Значне зниження амплітуди ПД і деполяризація клітин наставали у нейронів тільки після 20 год перебування їх в охолодженому безкалієвому розчині.

М'язові волокна продовжували генерувати ПД, амплітуда яких була вища за вихідну, перебуваючи в охолодженому безкалієвому розчині 24 год , ПС при цьому підвищувався на 15% . Деякі автори також відзначали, що, за рідким винятком, ПС м'язових волокон *m. sartorius* жаби після 24 год перебування в охолодженому до $+2^\circ \text{C}$ безкалієвому розчині не знижувався, а досягав величин, що перевищували 100 мв [6]. Інші дослідники встановили, що внутріклітинна концентрація натрію в тих же волокнах в аналогічних умовах підвищувалась з 10 до 25 ммоль/кг тільки після видержування протягом 40 год [14].

Томас [17, 18] знайшов, що видалення зовнішнього калію пригнічує натрієву помпу нейронів слимака слабкіше, ніж оуабаїн, але все ж не такою мірою, як це відзначено в наших дослідах. Така розбіжність пояснюється, можливо, тим, що спостереження автора обмежувались порівняно коротким, порядку 10 хв , початковим періодом дії безкалієвого розчину. Цілком імовірно, що при більш тривалому перебуванні клітин у цьому розчині навколоклітинні, примембранні концентрації калію можуть підвищуватись (завдяки його виходу, наприклад, з гліальних клітин, що оточують нейрон) і відновлювати активність помпи. З іншого боку, слід враховувати, що видалення зовнішнього K^+ викликає і про-

тилежний ефект, а саме: зменшення калієвого концентраційного градієнта призводить до зменшення сили, що рухає калієву помпу. Наприклад, у «G» нейронів *Helix aspersa* дії безкалієвого розчину помпи збагачається годинами [8].

Строфантин виявляє сильний вплив на натрієву помпу, ніж охолодження. Кількість змін електричних властивостей в випадках відповідної деполяризації внутріклітинного натрію помпи. Проте, деякі ефекти строфантину-чутливі і стосуються клітин в ЦНС *Helix aspersa*. В цих клітинах виявилось значне зниження натрієвої помпи ($0,083$). Можливо, це є нормальними умовами б

За літературним даним строфантин пригнічує активність натрієвої помпи до концентрації $5 \times 10^{-4} \text{ мол/л}$ деполяризація на 7 — постійному рівні, а підвищення вихідної величини концентрації натрію збі

Найбільш ефектним інгібітором метаболізму є дія супроводжувалася деполяризацією натрію (див. таблицю). Концентрація натрію збільшилась, швидкість відповідної деполяризації активного транспорту натрію в клітині зменшилась. Натрієвий градієнт в клітині зменшився в $2,5$, а ціаніду — у 10 разів при дії азиду. Концентрація натрію при дії азиду знизилась, швидкість наростання деполяризації знизилась (специфічність дії ц

На закінчення слід зазначити, що в результаті ми розглядали роль і вплив ряду факторів на діяльність натрієвої помпи. Враховували роль і вплив ряду факторів на діяльність натрієвої помпи, як це представлено на малюнку 1. Його пояснення не об

1. Герасимов В. Д. Влияние концентрации натрия на свойства мембран и составом. — Биофизика.
2. Костюк П. Г. Изменения в свойствах мембран и составом. — Биофизика.
3. Костюк П. Г., Костюк В. Г. Натриевый насос и связь с другими ионами. — Биофизика.

татів досліджень

натрію в клітинах приводить до зменшення їх тривалості, уповільнення поступової деполяризації клітин. Рух Na в клітину урівноважується допомогою механізму натрієвої помпи. Вивчення механізму натрієвої помпи в клітинах показало, що середня швидкість транспорту натрію, досягаємого хлористого натрію, досягає в клітинах ЦНС слимака в осередку діаметром 200 мк, внутріклітинна концентрація має досягти половинного значення, приблизно, через 10 хв, а через 20 хв після ін'єкції під тиском зниження натрію повинно розвиватися скоріше. Через 20 хв навіть після ін'єкції натрію в клітину середня концентрація (активності) Na , в клітинних електродів після відключення вихідного електроду [17]. В цих умовах (середня концентрація Na в зовнішньому розчині, активність Na в зовнішньому розчині через мембрану клітини, приблизно, 160 моль/л. Вихідний розчин клітин до $+7^\circ\text{C}$, ніякий, саме по собі не є достатньою для натрієвої помпи. Значне зниження концентрації натрію в клітині асистувало у нейронів тільки після зниження концентрації натрію в зовнішньому розчині.

Вивчення ПД, амплітуда яких зменшувалась при охолодженні до $+2^\circ\text{C}$ безкалієвому розчину, на 15%. Деякі автори також вивчали м'язових волокон *m. sartorius* при охолодженні до $+2^\circ\text{C}$ безкалієвому розчину, що перевищувало 100 мВ [6]. В клітинній концентрації натрію в зовнішньому розчині підвищувалась з 10 до 100 моль/л протягом 40 год [14]. Зовнішній розчин калію пригнічує ПД, ніж оуабаїн, але все ж не повністю. Така розбіжність поглядів автора обмежувалась поведінкою періодом дії безкалієвого розчину в тривалому перебуванні клітин в безкалієвому розчині мембранні концентрації калію виходили, наприклад, з гліальних клітин. З іншого боку зовнішнього K^+ викликає і про-

тижезний ефект, а саме — підвищення ПС зв'язане із збільшенням калієвого концентраційного градієнта на мембрані клітини, що може маскувати деполяризацію, обумовлену пригніченням $\text{Na}-\text{K}$ помпи. Наприклад, у «G» нейронів ЦНС *anisodoris* ПС підвищується після 70—80 хв дії безкалієвого розчину на 13—14 мВ. При такому способі пригнічення помпи збагачення натрієм відбувається дуже повільно і вимірюється годинами [8].

Строфантин виявився більш сильним інгібітором активного транспорту натрію, ніж охолоджений безкалієвий розчин. При його дії швидкість змін електричних параметрів ПД нервових і м'язових клітин в ряді випадків відповідала теоретично очікуваній швидкості накопичення внутріклітинного натрію, що виявляється в умовах повного виключення помпи. Проте, деякі нейрони були нечутливі до дії строфантину. Строфантин-чутливі і строфантин-нечутливі нейрони були також виявлені в ЦНС *Helix aspersa* [13]. Відношення $R_{\text{Na}}/R_{\text{K}}$ у строфантин-чутливих клітин виявилось вищим (0,177), ніж у строфантин-нечутливих (0,083). Можливо, мембрани чутливих до строфантину нейронів у нормальних умовах більш проникні для іонів натрію [13].

За літературними даними, оуабаїн теж не у всіх клітин повністю пригнічує активний транспорт натрію. Так, при його тривалій дії в концентрації 5×10^{-4} моль на «G» нейрони в перші хвилини спостерігається деполяризація на 7—20 мВ, після чого деякий час ПС підтримується на постійному рівні, а потім поступово збільшується, і навіть інколи перевищує вихідну величину. Через 6—8 год дії оуабаїну внутріклітинна концентрація натрію збільшується на 50—100% [9].

Найбільш ефективними в пригніченні іонного транспорту виявились інгібітори метаболізму — азид натрію і, особливо, ціаністий натрій. Їх дія супроводжувалась швидким підвищенням внутріклітинної концентрації натрію (див. таблицю). Протягом 1 год внутріклітинна концентрація натрію збільшувалась із швидкістю 0,41—0,42 моль/хв. Така швидкість відповідає накопиченню натрію в нейронах при пригніченні їх активного транспорту оуабаїном [17]. Швидке збільшення внутріклітинного натрію і зменшення калію супроводжувалось помітною зміною електричних характеристик нейронів, особливо, $V_{\text{нар.}}$ і $V_{\text{сп.}}$ ПД. При цьому відношення $R_{\text{Na}}/R_{\text{K}}$ протягом 1 год збільшувалось при дії азиду у 2,5, а ціаніду — у 3,5 рази. В дальшому швидкість накопичення натрію при дії азиду знижувалась (0,17—0,23 моль/хв), а під впливом ціаніду наростала (0,59 моль/хв). Такі відмінності, очевидно, зв'язані із специфічністю дії ціаніду і азиду на клітинний метаболізм.

На закінчення слід відзначити, що при обговоренні одержаних результатів ми розглядали участь тільки іонів натрію в генерації ПД і не враховували роль інших катіонів. Якщо вважати, що перенесення зарядів через мембрану під час генерації ПД здійснюється також і катіонами калію, як це показано для нейронів моллюсків [7, 11, 12], аналіз представленої нами фактичного матеріалу значно утруднюється і для його пояснення необхідні додаткові дослідження.

Література

1. Герасимов В. Д., Янишевский Л., Скубалайка Э. Выпрямляющие свойства мембран гигантских нервных клеток в растворах с различным ионным составом. — Биопизика, 1967, 12, 97—103.
2. Костюк П. Г. Ионные процессы в гигантских нейронах моллюсков. — Журнал эволюц. биохим. физиол., 1969, 5, 218—226.
3. Костюк П. Г., Крышталь О. А., Пидопличко В. И. Электрогенный натриевый насос и связанные с ним изменения проводимости поверхностной мембраны нейрона. — Биопизика, 1972, 17, 1048—1054.

4. Левин С. В., Марахова И. И., Чайлахян Л. М., Чернопотова Н. К. Метод внутриклеточной инъекции через микропипетки с наружным диаметром кончика 0,5—1 мк при использовании давления.—Цитология, 1971, 13, 1534—1537.
5. Сорокіна З. О., Активність іонів калію і натрію у гігантських нейронах моллюсків.—Фізіол. журн. АН УРСР, 1966, 12, 776—779.
6. Cross S. B., Keynes R. D., Rybova K. The coupling of sodium efflux and potassium influx in frog muscle.—J. Physiol., 1965, 181, 865—880.
7. Geduldig D., Gruenewald R. Voltage clamp of the Aplysia giant neurone: early sodium and calcium currents.—J. Physiol., 1970, 211, 217—244.
8. Gorman A. L. F., Marmor M. F. Steady-state contribution of the sodium pump to the resting potential of a molluscan neurone.—J. Physiol., 1974, 242, 35—48.
9. Gorman A. L. F., Marmor M. F. Long-term effect of ouabain and sodium pump inhibition on a neuronal membrane.—J. Physiol., 1974, 242, 49—60.
10. Kerkut G. A., Thomas R. C. An electrogenic sodium pump in snail nerve cells.—Comp. Biochem. Physiol., 1965, 14, 167—183.
11. Kostyuk P. G. Ionic background of activity in giant neurones of molluscs.—In: Symposium on Neurobiology of Invertebrates, Akademiai Kiado, Budapest, 1967, 145—167.
12. Krishtal O. A., Magura I. S. Calcium ions as inward current carriers in molluscan neurones.—Comp. Biochem. Physiol., 1970, 35, 857—866.
13. Lambert J. D. C., Kerkut G. A., Walker R. J. The electrogenic sodium pump and membrane potential of identified neurones in *Helix aspersa*.—Comp. Biochem. Physiol., 1974, 47A, 897—916.
14. Sjodin R. A., Beaube L. A. Strophantidin—sensitive component of potassium and sodium movements in skeletal muscle as influenced by the internal sodium concentration.—J. Physiol., 1968, 52, 389—407.
15. Skou J. C. Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane.—Physiol. Rev., 1965, 45, 596—617.
16. Thomas R. C. Membrane current and intracellular sodium changes in a snail neurone during extrusion of injected sodium.—J. Physiol., 1969, 201, 495—514.
17. Thomas R. C. Intracellular sodium activity and the sodium pump in snail neurones.—J. Physiol., 1972, 220, 55—71.
18. Thomas R. C. Electrogenic sodium pump in nerve and muscle cells.—Physiol. Rev., 1972, 52, 563—594.

Відділ нервово-м'язової фізіології
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
10.V 1976 р.

Ju. A. Akimov, V. D. Gerasimov

CHANGES IN ELECTRICAL PROPERTIES OF CELLS UNDER VARIOUS METHODS OF THEIR ENRICHMENT BY SODIUM

Summary

Electrical characteristics of the snail nerve cells and of the frog *m. sartorius* fibres were investigated under various methods of their enrichment by sodium ions. Enrichment of cells by sodium ions was conducted by the following methods: intracellular injection, cooling, removal of potassium ions from the bathing solution, application of strophantin and metabolic inhibitors.

Under such experimental conditions the following changes of cell properties took place: maximum rates of rise and decay of the action potential gradually decreased, the action potential was prolonged and its amplitude decreased, and finally the cells became unexcitable. A degree of such changes depends on both the method of enrichment used and intrinsic properties of the cell itself. Under the strophantin action strophantin-sensitive and strophantin-insensitive neurons were found. The most effective cell enrichment by sodium and resulted changes in its electrical properties was obtained by the metabolic inhibitors.

Department of Nervous-Muscle Physiology,
The A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

УДК 612.73

І. А.

ВПЛИ
НА
ГЛА

Оскільки при і
мівні, так і збуджув
вклад тих чи інших
м'язових клітин. М
ергічних чи адрене
детально вивчити си
ком'язових клітинах
в поєднанні з інтрам

Об'єкт досліджень
свинки. В дослідках вико
вану м'язову смужку, де
проточним і підігрітим д
знаходяться в товщі м'яз
сами, тривалістю 0,2—0,3
могою скляних мікроеле
реєстрували скоротливу
Для блокування як
соній (1×10^{-4} г/мл) і
вів — α - і β -адреноблока
 1×10^{-4} г/мл та симпатол

Оскільки при ін
вові елементи, то си
збуджувальних і галь
вального, так і гальм
ни постсинаптичних
під впливом атропіну
на поступово пере
постсинаптичні потен
тичні (ГПСП), м'язо
но, що ЗПСП можуть
амплітуди ГПСП, як
ки при внесенні атро
піну практично незво
6 год ми не спостеріг

Досліди з вивчен
і ЗПСП, і супроводж
ням тих самих холін