УДК 612.261.273.2

В. Я. Березовський, В. Ю. Горчаков, Б. С. Сушко

КІНЕТИКА ТРАНСПОРТУ КИСНЮ КРІЗЬ ОСАДОВІ ФОСФОЛІПІДНІ ПЛІВКИ

Відомо, що кисень надходить із середовища до клітин організму шляхом дифузії в напрямку градієнта парціального тиску — P_{O_2} [5]. При розрахунку P_{O_2} з використанням формули Крога — Ерланга [10], виходять з припущення про гомогенність тканин щодо проникності кисню. Проте, ще в минулому сторіччі було показано, що різні речовини характеризуються неоднаковою здатністю пропускати кисень [3]. Завдяки розвитку електронномікроскопічної техніки стало відомо, що шлях кисню від еритроцита, розташованого в капілярі великого кола кровообігу, до споживаючих його органел клітини, пролягає крізь плазму крові, мембрану ендотелію, базальну мембрану, міжклітинну рідину та цитоплазматичну мембрану клітини. Всі ці структури істотно відрізняються за своїм біохімічним складом, вмістом ліпідів, білків, мукополісахаридів, води та інших сполук. Розчинність кисню в таких середовищах неоднакова. Коефіцієнти дифузії кисню в різних тканинах перебувають у межах від $1{,}1 \cdot 10^{-4}$ до $4 \cdot 10^{-8}$ *см*²/*с*, тобто відрізняються в 10 000 раз [11]. Оскільки ліпіди значно краще розчиняють кисень, навіть в одній тканині шлях кисню від еритроцита до мітохондрії пролягає в гетерогенному середовищі. Відомо також, що в'язкість жирів, які складаються з суміші довголанцюгових вуглеводневих молекул, в 100—1000 разів вища від в'язкості води. Завдяки цьому коефіцієнт дифузії крізь фосфоліпідні мембрани може бути настільки ж меншим [4]. З допомогою прямих внутріклітинних вимірювань показано, що парціальний тиск кисню в цитоплазмі становить одиниці Торр, незважаючи на 150 Торр в середовищі інкубації [1, 7]. Отже, поверхневий шар клітин, що складається з фосфоліпідної цитоплазматичної мембрани та двох примембранних нерухомих шарів рідини, здійснює певний опір потоку кисню до клітини [2, 4, 7]. Навіть для штучних мембран показана залежність проникності кисню від довжини ланцюга молекул полімеру [6].

Ми досліджували вплив осадової фосфоліпідної мембрани на транспорт кисню в модельних умовах з використанням системи: вода — фосфоліпідна мембрана — споживач кисню.

Методика досліджень

Досліди проводили з фосфоліпідами тканини легень щурів та лецитином. Поверхневоактивну речовину легень (ПАР) одержували за такою схемою: 50 *мг* тканини легень гомогенізували і змішували з 25 *мл* 0,9% розчину хлористого натрію, після чого при 900 *g* протягом 10 *хв* суміш осаджували на центрифузі. Надосадову рідину центрифугували при 65 000 *g* на протязі 1 *год*. Осад переносили в 14 *мл* 0,9% NaCl, після чого цей розчин збовтували на приладі В-1 на протязі 10 *хв*. Для структурної організації розчини ПАР залишали на 12 *год* при 0° С. Перед дослідом розчин наливали в комірку за 30 *хв* до початку вимірювань, які проводили при температурі 35° С. За цей час на розподілі фаз газ—рідина і рідина — метал формувалася плівка з ПАР легень (або лецитину). Лецитин одержували за [13] і розчиняли в хлороформ-метаноловій

Результати досліджень

На рис. 2 і 3 наведені результати визначення концентрації калію та натрію в яйцеклітинах, цілих ембріонах та окремих зародках коропа. Як видно з рис. 2, на всіх досліджуваних стадіях розвитку коропа внутріклітинна концентрація іонів калію не зазнає будь-яких змін (рис. 2,

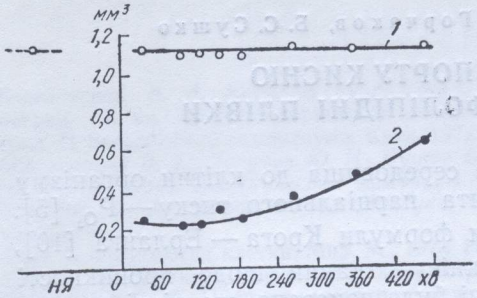

Рис. 1. Зміна об'ємів зародків коропа в процесі розвитку.

По горизонталі — час розвитку, в *хв*; по вертикалі — об'єм, в *мм*³, *1* — цілі ембріони, *2* — окремі зародки, переривчаста лінія — незапліднена яйцеклітина (НЯ).

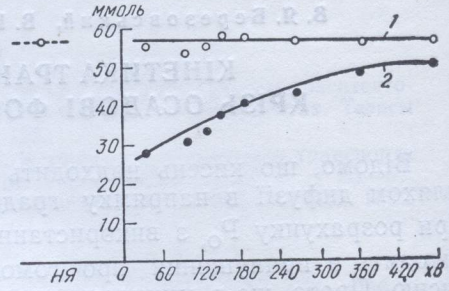

Рис. 2. Зміна концентрації калію в клітинах у ранньому ембріогенезі коропа.

По горизонталі — час розвитку, в *хв*; по вертикалі — концентрація, в *ммоль*. Інші позначення див. рис. 1.

1), залишаючись близькою до рівня в незаплідненій яйцеклітині (рис. 2 переривчаста лінія). Але в дослідах на окремих бластодермах виявилось, що концентрація калію в них з віком збільшується, досягаючи на стадії бластули максимального рівня (рис. 2, *2*).

При розвитку ембріонів коропа відбувається також значне зменшення концентрації іонів натрію тільки в клітинах та ізольованих від

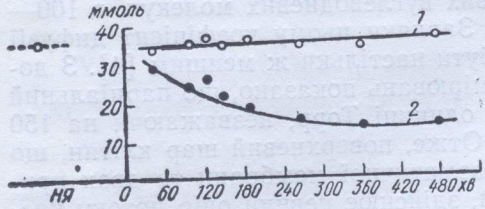

Рис. 3. Зміна концентрації натрію в клітинах у ранньому ембріогенезі коропа. Умовні позначення див. рис. 2.

жовтка бластодермах (рис. 3, *2*). В цілому в ембріоні коропа, що розвивається (рис. 3, *1*) концентрація натрію не змінювалась на всіх досліджених стадіях розвитку і була близька до рівня в незаплідненій яйцеклітині (переривчаста лінія на рис. 3).

Внутріклітинна концентрація кальцію в цілих ембріонах коропа мало змінювалась на протязі перших 9 *год* розвитку, залишаючись приблизно на рівні 20 *ммоль*, характерному для незаплідненої яйцеклітини. Водночас виявилось, що в бластодермах, відокремлених на різних стадіях розвитку, концентрація кальцію була значно нижче, ніж у цілих яйцеклітинах і ембріонах та становила приблизно 2—3 *ммоль*.

Отже, одержані результати вказують на істотні зміни іонного складу клітин зародків в процесі раннього розвитку коропа. Характерно, що вже на перших стадіях розвитку відбувається нагромадження іонів

калію клітинами зародків коропа. Вміст же іонів натрію в клітинах зародків у процесі розвитку коропа значно зменшується.

При зіставленні одержаних нами і літературних даних можна відзначити, що зміни іонних співвідношень, переважно іонів калію і натрію, між жовтком і бластодермою не є специфічними для раннього ембріогенезу коропа. Подібні зміни були зареєстровані й іншими дослідниками при вивченні розвитку в'юна [1], форелі [2], жаби [7].

Тепер ще важно вказати конкретні механізми, які регулюють іонний склад цитоплазми клітин, що з'являються в процесі розвитку тварин. Можливо, що в процесі розвитку відбуваються якісь перебудови в заново утворених мембранах клітин, які безпосередньо контактують з жовтком та відповідають за селективний перенос іонів калію. За рахунок цього з жовтка в клітини зародків надходитиме значно більше калію, ніж натрію. Не виключено, що вже на перших стадіях ембріонального розвитку тварин відбувається формування системи «іонних насосів», подібних до тих, які відповідальні за підтримку іонної постійності в клітинах дорослого організму. Участь системи активного транспорту іонів у регуляції іонного складу клітин на ранніх стадіях ембріогенезу тим більш імовірна, оскільки нещодавно з'явились вказівки на наявність оубаїн-чутливої Na^+, K^+ АТФази в ранніх ембріонах в'юна [1] і жаби [6] і обговорюється її роль у ранньому ембріональному розвитку.

Дослідження в області вивчення формування іонного гетерогенітету клітин у процесі раннього ембріонального розвитку тільки розпочаті. Дальше вивчення цього питання важливе як для фізіології клітини в цілому, так і для пізнання механізмів регуляції раннього ембріонального розвитку тварин.

Література

1. *Бериташвили Д. Р., Квавилашвили И. Ш., Кафиани К. А.* Изменение отношения K/Na в зародышах вьюна на ранних стадиях развития.— Цитология, 1969, **11**, № 5, с. 574—581.
2. *Бериташвили Д. Р., Квавилашвили И. Ш., Ротт Н. Н., Игнатьева Г. М.* Накопление калия развивающимися бластодермами форели.— Онтогенез, 1970, **1**, № 6, с. 628—630.
3. *Волхонович О. П.* Визначення вмісту калію, натрію і кальцію в ізольованих нервових клітинах з допомогою інтегруючого полум'яного мікроспектрофотометра.— Фізіол. журн., АН УРСР, 1975, **21**, № 3, с. 413—414.
4. *Катц Б.* Нерв, мышца и синапс, М., «Мир», 1968. 200 с.
5. *Kostellow A. B., Morrill G. A.* Intracellular sodium ion changes in the early amphibian embryos and the influence on nuclear metabolism.— Exptl. cell. Res., 1968, **50**, p. 639—644.
6. *Kroeger H., Lezzi M.* Regulation of gene action in insect development. Ann. rev. entomol., 1966, **11**, p. 1—22.
7. *Slack C. J., Warner A. E., Warren R. L.* The distribution of sodium and potassium in amphibian embryos during early development.— J. Physiol., 1973, **232**, p. 297—312.
8. *Woodward D. J.* Electrical sings of new membrane production during cleavage of Rana pipiens eggs.— J. Gen. Physiol., 1968, **52**, p. 509—531.

Лабораторія біохімії нервової системи
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
9.XI 1976 р.

ній частині гіпофіза, як у контролі I, так і в контролі II, загальна кількість нейросекрету виявилась зменшеною (1,5—2,0 ум. од.) за рахунок спустошення дрібних, середніх та частково великих термінальних розширень, що здебільшого прилягали до гіперемійованих капілярів. Ці дані були побічним показником активного виходу нейрогормонів, що містяться в нейросекреторній речовині, до капілярів загального кровообігу. Відповідно в плазмі крові досліджуваних тварин рівень вазопресину-АДГ виявився високим (рис. 3).

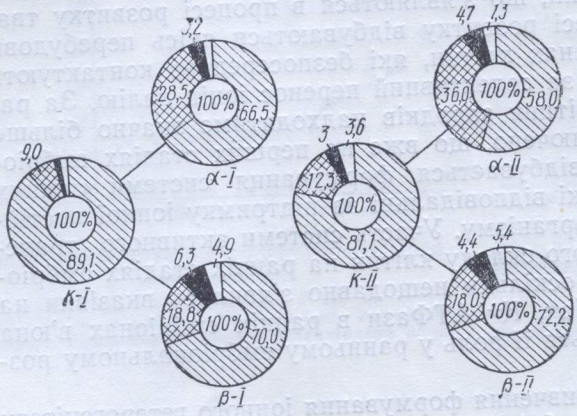

Рис. 2. Процентне співвідношення типів нейросекреторних клітин супраоптичного ядра білих щурів у контролі (К-I, К-II) і в дослідах з мікроін'єкціями феноксибензаміну (α-I, α-II) — та індералу (β-I, β-II).

Заштриховано навскіс — блідозабарвлені активно функціонуючі НСК; заштриховано сіткою — блідозабарвлені НСК із зниженою функціональною активністю; чорні — темнозабарвлені; білі — пікноморфні НСК.

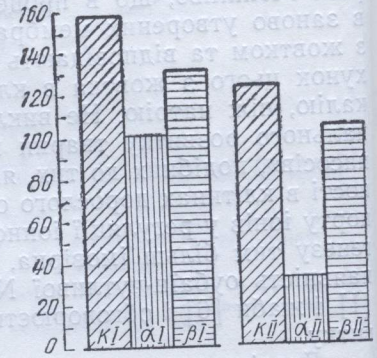

Рис. 3. Рівень вазопресину в плазмі крові білих щурів у контролі (К-I, К-II) і в дослідах з мікроін'єкціями феноксибензаміну (α-I, α-II) та індералу (β-I, β-II).

По вертикалі — вміст вазопресину в мікроодиницях на 1 *мл* плазми крові.

В серіях дослідів з мікроін'єкціями в ПВП середнього мозку фе
ноксибензаміну (досліди α-I та α-II) характер реакції на больове под
разнення значно відрізнявся від контролю. Одразу ж після больового
подразнення кількість активно функціонуючих НСК у супраоптичному
ядрі не перевищувала 66,5%, водночас кількість НСК із зниженою
функціональною активністю становила 28,5% (рис. 2). Середні дан
об'ємів ядер та ядерець НСК відрізнялись від контролю I більш низь
кими показниками: відповідно 443,499±16,567 *мкм*³ та 10,450±
±0,503 *мкм*³ (див. таблицю). В основі супраоптичного ядра за ходом
нейросекреторних волокон гіпоталамо-гіпофізарного тракту лише по
одинокі фрагменти нейросекреторних волокон були заповнені ГПГ ней
росекрету.

Реакція судин у межах ядра виявлялась слабо. В задній частин
гіпофіза на відміну від контролю I, кількість нейросекреторної речови
ни становила 3,5 ум. од.; в окремих місцях дрібні та середні термінальн
розширення виявились частково або повністю вільними від ГПГ ней
росекрету.

Рівень вазопресину-АДТ в плазмі крові досліджуваних тварин бу
значно нижчий, ніж у контролі I (рис. 3).

Взагалі, реакція нейросекреторних елементів СГНС на больов
подразнення в дослідах α-I виявилась відносно слабкою; інтенсивніст
процесів синтезу нейросекрету та його виведення з НСК до аксонів б