

3. Ониани Т. Н. Корреляция между эмоциональным напряжением и динамикой электрической активности нео- и архипалеокортекса в цикле бодрствование — сон // Нейрофизиология эмоций и цикла бодрствование — сон. — Тбилиси: Мецниереба, 1976. — Т. 2. — С. 5—27.
4. Ониани Т. Н., Коридзе М. Г., Кавкасидзе М. Г., Гветадзе Л. Б. Влияние электрического раздражения структур среднего и промежуточного мозга на динамику различных фаз сна и их соотношение // Там же. — С. 28—62.
5. Andy O. J., Stephan H. The septum, a comparative study on its site insectivorous and primates // Anat. Rec. — 1963, 145, N 2. — P. 201—208.
6. Apostol G., Greutzfeldt O. D. Crosscorrelation between the activity of septal units and hippocampal EEG during arousal // Brain Res. — 1974. — 67, N1. — С. 65—75.
7. Buchwald J. S., Grover F. S. Amplitudes of background fast activity characteristic of specific brain sites // J. Neurophysiol. — 1970. — 33, N 1. — P. 148—159.
8. Bures I., Petran M., Zachar I. Electrophysiological methods in biological research. — Prague: Acad. publish. house Czechoslovak Acad. Sci., 1967. — 824 p.
9. Gogolak G., Stumpf C., Petsche H., Sterc J. The firing pattern of septal neurons and the form of the hippocampal theta wave // Brain Res. — 1968. — 7, N 2. — P. 201—207.
10. Henneman E., Somjen G., Carpenter D. O. Functional significance of cell site in spinal motoneurons // J. Neurophysiol. — 1965. — 28, N 3. — P. 560—580.
11. Isaacson R. L. The limbic system. — New York; London: Plenum press, 1974. — 279 p.
12. Koella W. P. Neurotransmitters and Sleep // Psychopharmacology of sleep. — New York: Raven press, 1981. — P. 19—52.
13. Kravniak P. F., Siegel A., Meibach R. C. Origin of the fornix system in the squirrel monkey // Brain Res. — 1979. — 160, N 3. — P. 401—411.
14. Olmstead C. E., Best P. J., Mays L. E. Neural activity in the dorsal hippocampus during paradoxical sleep, slow wave sleep and waking // Там же. — 1973. — 60, N 2. — P. 381—391.
15. Rank J. B. Behavioral correlates and firing repertoires of neurons in the dorsal hippocampal formation and septum of unrestrained rats // The Hippocampus. — Vol. 2. — New York; London: Plenum press, 1975. — P. 207—244.
16. Rosvold H. E., Dolgado L. M. R. The effect on delayed alternation test performance of stimulating or destroying electrically structures within the frontal lobes of the monkeys brain // J. comp. physiol. psychol. — 1956. — 49, N 3. — P. 365—372.
17. Schwab M. A., Javoy-Agid F., Agid J. Labeled wheatgerm agglutinin (WGA) as a new highly sensitive retrograde tracer in the rat brain hippocampal system // Brain Res. — 1978. — 152, N 1. — P. 145—150.
18. Swanson L. W., Cowan W. M. The connections of the septal region in the rat // J. comp. neurol. — 1979. — 186, N 4. — P. 621—656.
19. Wyss J. M. Hypothalamic and brainstem afferents to the hippocampal formation in rat // Abstr. Soc. Neurosci. — 1977. — N 3. — P. 209.

Ин-т физиологии им. И. С. Бериташвили
АН ГССР, Тбилиси

Поступила 20.04.87

УДК 612.015:616.006

Ионная проводимость клеточных мембран развивающихся зародышей выюна

Е. А. Гойда, П. Р. Медына

За последнее десятилетие предметом пристального внимания ученых стали электрофизиологические параметры мембран эмбриональных развивающихся клеток [2]. Установлено, что плазматическая мембрана яйцеклетки в момент оплодотворения генерирует потенциал активации, весьма сходный с потенциалом действия нервных структур, но имеющий замедленную временную развертку. Причем кратковременная деполяризация мембран при оплодотворении является необходимым условием активации яиц к развитию, поскольку при фиксации потенциала на уровне, более отрицательном, чем —20 мВ, оплодотворения не происходит [8].

На следующем этапе развития, при синхронных дроблениях бластомеров, у развивающихся зародышей иглокожих, рыб, амфибий обнаружены периодические колебания уровня трансмембранного потенциала (ТМП) и проводимости мембран, которые регулярно повторяются, отражая динамику функциональной активности клеточных структур в

каждом клеточном цикле [1]. Важную роль электрофизиологии процессов пролиферации еще недостаточно, чтобы адекватно описать ритмических явлений. Поэтому исследование электрофизиологии эмбриональных клеток с использованием которого, одна из задач.

С учетом сказанного в электрофизиологические свойства (например, *Gurnus fossilis* L.) в течение развития методом фиксации мембран для ионов калия.

Методика

Яйцеклетки выюна получали и оплодотворяли в среде Бюкса. Для фиксации яйцеклеток зиготы помещали в среду Бюкса (среда Б) и с помощью микроэлектродов вводили в нее. Затем фиксировали в среде Бюкса до появления 2-й борозды. На более поздних стадиях развития эмбрионального отделения их значительно легче проводить в плазму. Освобожденные от перивителлиновой оболочки яйцеклетки переносили в камеру, в которой позволяет производить электрофизиологические опыты и 2 мл/мин при 10 мВ. Затем посредством механического воздействия микроэлектродов. Сопротивление готовленных из стекла «Пирекс» микроэлектродов 10 МОм.

Фиксацию потенциала производили с помощью измерительного, другого — токового электрода, введенным в работу Первиса [6], на котором мембран рассчитывали, как во время фиксированных гипотез на 5 или 10 мВ. Для получения прямоугольных импульсов подачу прямоугольных импульсов производили с помощью фиксированной скорости 2 с. Регистрацию уровней фиксации проводимости, а также потенциал производили с помощью базы ЭВМ СМ-3.

В проведенных опытах использовали растворы (ммоль/л), представляющие собой фиксированные по ионной силе. Раствор А: KCl — 1,4, NaCl — 40, pH 7,6. Раствор Б: KCl — 1,4, NaCl — 40, pH 7,6. Раствор В: KCl — 1,4, NaCl — 40, pH 7,6. Раствор Г: KCl — 1,4, NaCl — 40, pH 7,6. Раствор Д: KCl — 40, NaCl — 40.

Результаты и их обсуждение

Перивителлиновая оболочка яйцеклетки выюна подвержена механическим повреждениям. Поэтому предстояло исследовать электрофизиологию на уровне ТМП, и можно ли получить большого числа зигот. Однако мы заметили,

каждом клеточном цикле [2]. Некоторые авторы указывают на возможную роль электрофизиологических параметров мембран в регуляции процессов пролиферации клеток [7]. Однако имеющихся сведений еще недостаточно, чтобы аргументированно обосновать механизм подобных ритмических явлений. Весьма перспективным здесь может оказаться исследование электрических характеристик мембран делящихся эмбриональных клеток с использованием метода фиксации потенциала, применение которого, однако, сопряжено с рядом технических трудностей.

С учетом сказанного в данной работе ставилась задача изучить электрофизиологические свойства мембраны зародышей вьюна (*Misgurnus fossilis* L.) в течение периода дробления бластомеров с применением метода фиксации потенциала, а также характер проницаемости мембран для ионов калия, натрия, хлора.

Методика

Яйцеклетки вьюна получали и оплодотворяли по Нейфаху [5]. Через 20 мин после активации яйцеклеток зиготы помещали в раствор Гольтфретера с пониженным содержанием натрия (среда Б) и с помощью специальных препаровальных игловок освобождали от перивителлиновых оболочек. Следует отметить, что эти оболочки снимаются легко до появления 2-й борозды дробления, и зародыши при этом не повреждаются. На более поздних стадиях развития оболочки становятся жесткими, и операция механического отделения их значительно усложняется. Кроме того, заметим, что все эти манипуляции легче проводить в пластмассовых чашках Петри.

Освобожденные от перивителлиновых оболочек зародыши пастеровской оплавленной пипеткой переносили в камеры из оргстекла (емкость 0,5 мл), конструкция которых позволяет производить смену растворов со скоростью 0,2 мл/мин при длительных опытах и 2 мл/мин при необходимости экстренной смены инкубационной среды. Затем посредством механических микроманипуляторов из комплекта КМ-2, контролируя топографию попадания под объективом микроскопа МБС-2, вводили в зародыш микроэлектроды. Сопротивление микроэлектродов с внутренним капилляром, изготовленных из стекла «Пирекс» и заполненных 3 моль/л раствором KCl, не превышало 10 МОм.

Фиксацию потенциала производили с помощью двух микроэлектродов: одного — измерительного, другого — токового. Электронная часть собрана по схемам, предложенным в работе Первиса [6], на основе операционных усилителей К 544 УД1А. Проводимость мембран рассчитывали, используя данные, полученные при регистрации тока во время фиксированных гиперполяризующих смещений мембранного потенциала на 5 или 10 мВ. Для получения вольт-амперных характеристик мембран применяли подачу прямоугольных импульсов напряжения различной амплитуды и длительностью 2 с. Регистрацию уровней фиксированного потенциала, ионного тока, расчет и регистрацию проводимости, а также подачу импульсов на вход усилителя фиксации потенциала производили с помощью информационно-вычислительного комплекса ИВК-3 на базе ЭВМ СМ-3.

В проведенных опытах использовали среды с различным ионным составом (ммоль/л), представляющие собой раствор Гольтфретера и его модификации, сбалансированные по ионной силе. Раствор А: KCl — 1,4, NaCl — 110, CaCl₂ — 1,8, трис-HCl — 5; pH 7,6. Раствор Б: KCl — 1,4, NaCl — 40, CaCl₂ — 1,8, сахара — 140, трис-HCl — 5; pH 7,6. Раствор В: KCl — 1,4, NaCl — 0, CaCl₂ — 1,8, холинхлорид — 110, трис-HCl — 5; pH 7,6. Раствор Г: KCl — 1,4, CaCl₂ — 1,8, сахара — 220, трис-HCl — 5; pH 7,6. Раствор Д: KCl — 40, NaCl — 40, CaCl₂ — 1,8, сахара — 60, трис-HCl — 5; pH 7,6.

Результаты и их обсуждение

Перивителлиновая оболочка служит барьером, предохраняющим зародыш от механических повреждений и резких изменений условий инкубации. Поэтому предстояло выяснить, как скажется лишение оболочки на уровне ТМП, и можно ли проводить опыты в проточной камере. Для получения большого числа зародышей, лишенных оболочек, используют трипсин. Однако мы заметили, что проводимость мембран после обра-

ботки зародышей трипсином увеличивается в 2—5 раз и восстанавливается лишь через 3—4 ч их дальнейшего развития. Поэтому зародыши освобождали от перивителлиновой оболочки механическим способом с помощью препаровальных игл. Установлено, что значения проводимости мембран и ТМП у зародышей, лишенных оболочки, почти не отличались от значений этих показателей у контрольных клеток, не подвергавшихся микрохирургическим операциям, поэтому все дальнейшие опыты проводили на освобожденных от оболочек эмбрионах.

После прокалывания микроэлектродом мембраны зародыша регистрируется ТМП — $15 \text{ мВ} \pm 5 \text{ мВ}$, который медленно в течение 10—

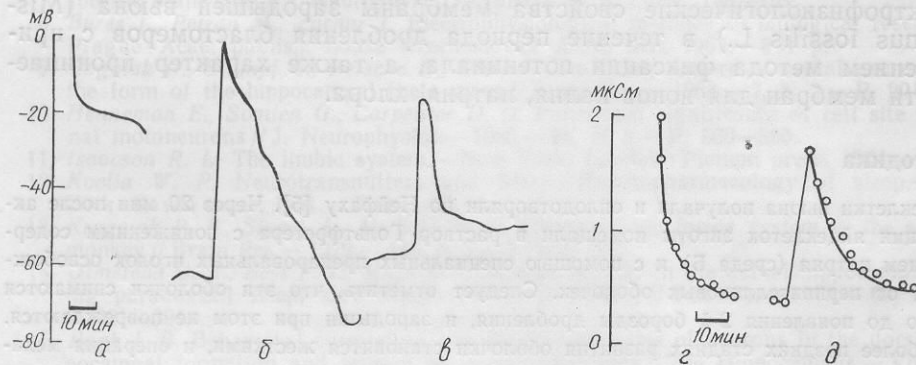


Рис. 1. Уровень ТМП (а—в) и проводимость мембран (г, д) зародышей мыша в момент прокола микроэлектродом:

а, г — введение микроэлектрода в клетку через 40 мин после оплодотворения; б, д — повторное введение микроэлектрода в ту же клетку через 2—3 с после его выведения; в — введение в клетку второго измерительного микроэлектрода.

15 мин увеличивается до характерного уровня ТМП на данной стадии развития (рис. 1, а). Этот эффект (так называемое заживание) наблюдается также и при повторных проколах мембраны микроэлектродом (рис. 1, б). При регистрации ТМП в момент введения в ту же клетку второго (измерительного) электрода наблюдаются быстрая деполяризация мембраны до -15 — -20 мВ и последующее восстановление уровня ТМП как и в первом случае (рис. 1, в). Показано, что во время введения в клетку микроэлектрода увеличивается проводимость мембраны (рис. 1, г, д), а продолжительность ее нормализации соответствует времени реполяризации при заживлении мембраны после микроукола. Поэтому наиболее целесообразно вводить микроэлектрод в первые 1,5 ч развития, когда уровень ТМП в клетке низкий и мембрана быстрее восстанавливает свои электрические характеристики.

При изучении механизмов колебаний (динамики) ТМП неизбежны значительные отклонения его уровня от контрольного вследствие изменений ионного состава среды. Исключить возможное влияние изменений уровня ТМП на характер ионной проводимости мембран можно, используя метод фиксации потенциала. Однако применение этого метода для изучения клеток больших размеров нежелательно, так как потенциал может фиксироваться неравномерно по всей их поверхности. Следует также учитывать тот факт, что во время развития происходит постоянная структурная перестройка зародыша, уменьшаются размеры клеток, а коэффициент электрической связи между дробящимися клетками, равный единице до 6-го дробления, постепенно снижается и уже после 10-го дробления составляет $0,20 \pm 0,09$ [1].

Для проверки уровня фиксации потенциала в зародыш мыша вводили третий измерительный электрод. В первые 3—4 ч развития (стадия 32—64 бластомеров) контролируемый уровень потенциала не отличался от такового фиксированного потенциала, не изменялся во времени и не зависел от места введения микроэлектродов. Измерения проводили при значениях фиксированного потенциала -30 , -40 , -50 , -60 мВ . Как показали наши измерения, начиная со стадии 64 бласто-

меров и до стадии морулы, потенциал (по отношению к предыдущему уровню развития) сопровождалось бо- ем потенциала в различных показывающих, что применение дования электрофизиологичес- первые 5—6 ч развития вполне

Нами ранее было показано зависима [3]. С помощью уп- водимость мембран зародыше-

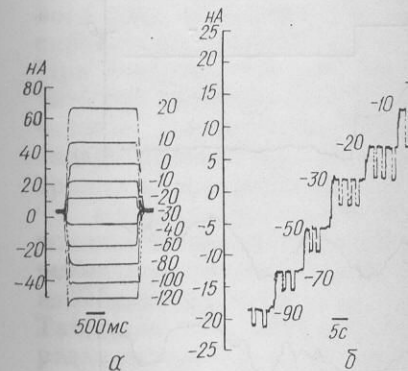


Рис. 2. Потенциалозависимость ионных токов зародышей мыша:

а — кривые ионных токов, полученные при фиксации потенциала на различных значениях, указанных возле соответствующих ступенчатой деполяризации мембраны зародыша, значение которых указано возле соответствующих импульсов -10 мВ ; б — вольтамперные характеристики, измеренные на различных стадиях развития, начало интерфазы.

ции потенциала (рис. 2, а), а вольтамперные характеристики (рис. 2, б) в пределах -30 — -60 мВ . Вольтамперные характеристики, полученные на различных стадиях развития, имеют линейный характер в пределах -30 — -60 мВ , что свидетельствует о линейном характере деполяризации мембран при изменении потенциала. Вольтамперные характеристики, полученные при фиксации потенциала на -60 мВ , свидетельствуют о том, что при этом потенциале предполагается изменение калиевой проводимости.

Несмотря на прямолинейный характер вольтамперных характеристик, при фиксации потенциала на -60 мВ в течение 15 мин после начала фиксации потенциала ионный ток, который несет на себе деполяризацию мембран до -60 мВ , не изменяется. Природа этих изменений требует дальнейшего изучения.

Учитывая сказанное, ионные токи, измеренные при фиксации потенциала на -60 мВ . Одновременно с измерением потенциала на другом электроде, введенном в соседнюю камеру, реально сопоставить изменения уровня ТМП.

Как видно из результатов, в течение времени развития зародышей мыши проводимость мембран изменялась в зависимости от потенциала.

меров и до стадии морулы, контролируемые значения потенциала отклонялись от прежнего уровня на 1—2 мВ. Образование морулы (6 ч развития) сопровождалось более значительным (4—5 мВ) отклонением потенциала в различных blastomeres зародыша. Эти результаты показывают, что применение метода фиксации потенциала для исследования электрофизиологических характеристик зародышей вьюна в первые 5—6 ч развития вполне реально.

Нами ранее было показано, что проводимость мембран потенциалозависима [3]. С помощью упомянутого метода была рассчитана проводимость мембран зародышей вьюна при различных уровнях фикса-

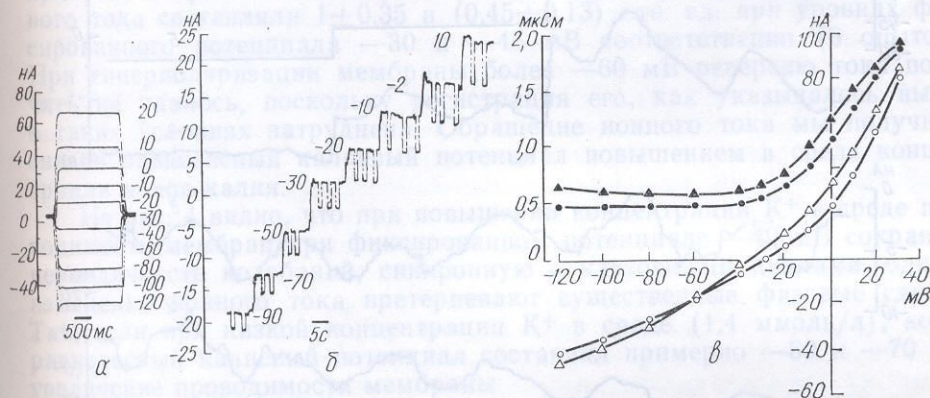


Рис. 2. Потенциалозависимость ионного тока (а, б) и проводимости мембран (в) зародышей вьюна:

а — кривые ионных токов, полученные при изменении уровней мембранного потенциала от —30 мВ до значений, указанных возле соответствующих кривых; б — кривые изменения ионного тока при ступенчатой деполяризации мембраны зародышей вьюна от —90 до уровней мембранного потенциала, значение которых указано возле соответствующих ступенек тока. Амплитуда гиперполяризующих импульсов — 10 мВ; в — вольт-амперные характеристики (○, △) и проводимость мембран (●, ▲), измеренные на различных стадиях клеточного цикла: (△, ▲) — начало митоза, (●, ○) — начало интерфазы.

ции потенциала (рис. 2, а), а также построены вольт-амперные характеристики (рис. 2, б) в пределах —120—+30 мВ. Как видно из рис. 2, в, вольт-амперные характеристики и значения проводимости мембран, полученные на различных стадиях клеточного цикла, имеют почти прямолинейный характер в пределах —120—30 мВ, при дальнейшей деполяризации мембран происходят усиление ионного тока и увеличение проводимости. Вольт-амперные кривые пересекаются в точке, соответствующей потенциалу —60 мВ, что соответствует калиевому равновесному потенциалу. Предполагается, что в течение клеточного цикла изменяется калиевая проводимость мембран.

Несмотря на прямолинейный характер вольт-амперных характеристик, при фиксации потенциала в диапазоне —60—120 мВ через 10—15 мин после начала фиксации происходят значительные флуктуации ионного тока, которые носят непериодический характер и исчезают при деполяризации мембран до —60, —50 мВ, что зависит и от партии икры. Природа этих изменений ионного тока требует дальнейшего изучения.

Учитывая сказанное, ионные токи и проводимость мембран измеряли при значениях фиксированного потенциала —30, —40, —50, —60 мВ. Одновременно с измерением проводимости в условиях фиксации потенциала на другом зародыше, развивающемся в аналогичных условиях в соседней камере, регистрировали уровень ТМП. Поскольку дробление идет синхронно во всех зародышах одной партии, то вполне реально сопоставить изменения ионного тока с колебательной динамикой уровня ТМП.

Как видно из результатов опытов, представленных на рис. 3, во время развития зародышей вьюна синхронно с дроблениями blastomeres изменялись проводимость мембран, ионный ток и уровень ТМП.

При этом средние значения ТМП почти не отличались от таковых, измеренных ранее на зародышах в перивителлиновой оболочке (рис. 3, 1). На стадии 2—4 бластомеров они составляли $-25,3 \text{ мВ} \pm 3,1 \text{ мВ}$ (25 опытов). Постепенно уровень ТМП увеличивался и на стадиях 32—64 бластомеров достигал $-58,5 \text{ мВ} \pm 3,0 \text{ мВ}$ в точках максимумов (см. рис. 3, 1). Амплитуда колебаний в каждом митотическом цикле через 3 ч развития составляла $9,7 \text{ мВ} \pm 1,0 \text{ мВ}$. В другой серии опытов было установлено, что проводимость в первые 2—3 ч развития варьировала

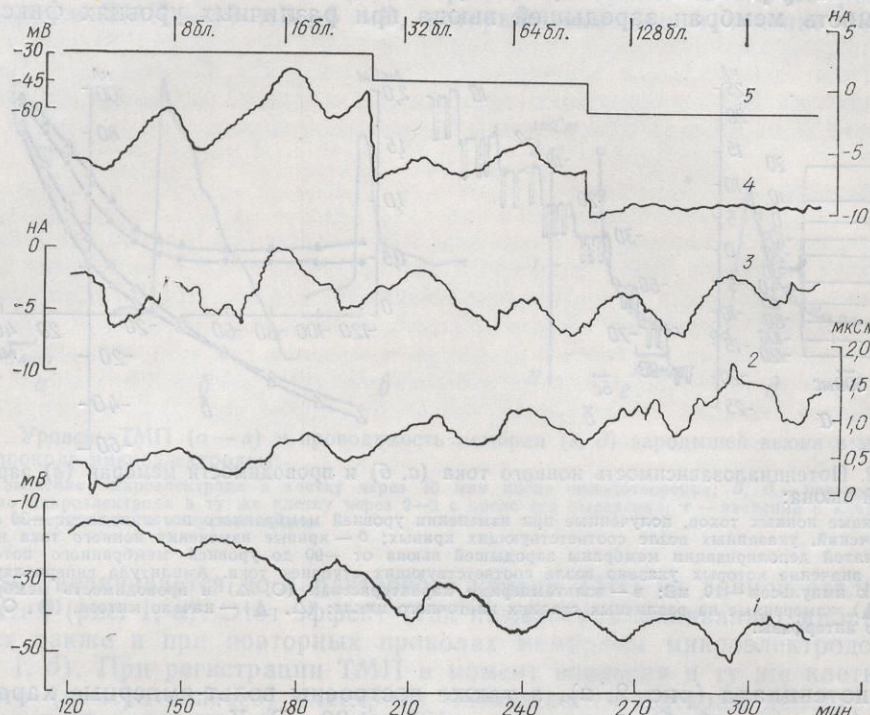


Рис. 3. Динамика изменений электрофизиологических характеристик мембран зародышей вьюна в период дробления:

1 — уровень ТМП; 2 — проводимость мембран; 3 — ионный ток при фиксированном потенциале -40 мВ ; 4 — ионный ток при различных уровнях фиксированного потенциала, которые изображены в виде ступенек (5). Ионные токи и проводимости мембран измеряли в режиме фиксации потенциала.

в пределах от 0,1 до 0,3 мкСм, но по мере дальнейшего развития зародышей она постепенно увеличивалась до $0,71 \text{ мкСм} \pm 0,15 \text{ мкСм}$ (16 опытов; рис. 3, 2). Амплитуда колебаний проводимости на стадии 16 бластомеров составляла $0,15 \text{ мкСм} \pm 0,02 \text{ мкСм}$, в отдельных опытах — 0,5 мкСм, при значении в точке максимума 0,8 мкСм, т. е. в течение клеточного цикла изменения проводимости мембраны составляли 62 %.

При фиксации потенциала на уровне -40 мВ (этот уровень отвечает средним значениям ТМП зародышей) амплитуда колебаний тока у различных зародышей составляла от 2 до 5 нА. Но в то же время, если среднее значение амплитуды колебаний ионного тока в отдельном опыте принять за 1, то вариабельность амплитуды колебаний составляла не более $\pm 0,25$ (16 опытов; рис. 3, 3). Как видно из рис. 3, колебания проводимости синхронны с чередующимися через равные промежутки времени клеточными делениями. Причем максимум проводимости, измеренной в условиях фиксации потенциала, совпадает по времени с максимальным уровнем ТМП, а возрастание проводимости сопровождается усилением выходящего тока. В пользу предположения, высказанного при анализе вольт-амперных кривых, о калиевой природе изменений проводимости в клеточном цикле свидетельствует и характерная зависимость амплитуды колебаний ионного тока от уровня фикс-

сированного потенциала. Двойная вариабельность изменений ионного тока изучали в течение одного амплитуду колебаний ионного потенциала -30 мВ принимая

Из представленных на гиперполяризации мембраны шагнется от 4 до 2 нА, а -60 мВ достигает нуля. Е при -50 и при -65 мВ с ного тока составляли 1 ± 0 сированного потенциала. При гиперполяризации мембры не удалось, поскольку в таких условиях затруднено снизив равновесный калиевый тратии ионов калия.

Из рис. 4 видно, что при проводимости мембран при фиксации периодичность колебаний, изменения ионного тока. Так, если при низкой концентрации равновесный калиевый потенциал увеличивается проводимости мембраны сопровождалось усилением ионного тока (рис. 4; стадия 32 бластомеров), то при высокой концентрации K^+ в среде (40 ммоль/л) равновесный потенциал для калия достигал положительных значений.

Рис. 4. Изменения проводимости (1) и ионного тока (2) в течение циклов дробления бластомеров вьюна при различных концентрациях калия (ммоль/л): а — 1,4; б — 40; в — 1,4. Уровень фиксации потенциала — -40 мВ .

наблюдалась реверсия калиевого потенциала. В течение времени совпадало с усилением ионного тока (рис. 4; стадия 32 бластомеров). При этом картина синхронной ритмичности колебаний проводимости и ионного тока (рис. 4; стадия 32 бластомеров) свидетельствует об опосредованном влиянии изменений мембран ооцитов *Xenopus laevis* на ионную активность аденилатциклазы в прометафазу каждого клеточного цикла. Эти данные позволяют предполагать наличие в мембранах ооцитов цАМФ и колебательной активности мембран.

Поскольку электрофизиологические характеристики мембран постоянно изменяются, то в течение развития зародышей весьма сложно. Та же картина (А на В) вызывала гиперполяризацию мембраны, причем она не зависела от концентрации калия, а вносила свой вклад в общую ионную

актовых, (рис. 3, 3,1 мВ в 32-х см. е через в было ровала

сированного потенциала. Поскольку отмечена значительная индивидуальная вариабельность проводимости мембран зародышей, характер изменений ионного тока при различных уровнях фиксации потенциала изучали в течение одного опыта. Для сравнения результатов среднюю амплитуду колебаний ионного тока при значениях фиксированного потенциала -30 мВ принимали за 1.

Из представленных на рис. 3, 4 результатов видно, что по мере гиперполяризации мембраны амплитуда колебаний ионного тока уменьшается от 4 до 2 нА, а при значениях фиксированного потенциала -60 мВ достигает нуля. В отдельных опытах такой эффект наступал при -50 и при -65 мВ. Средние значения амплитуды колебаний ионного тока составляли $1 \pm 0,35$ и $(0,45 \pm 0,13)$ отн. ед. при уровнях фиксированного потенциала -30 и -45 мВ соответственно (6 опытов). При гиперполяризации мембраны более -60 мВ реверсию тока получить не удалось, поскольку регистрация его, как указывалось выше, в таких условиях затруднена. Обращение ионного тока мы получили, снизив равновесный калиевый потенциал повышением в среде концентрации ионов калия.

Из рис. 4 видно, что при повышении концентрации K^+ в среде проводимость мембран при фиксированном потенциале -40 мВ сохраняет периодичность колебаний, синхронную с клеточными циклами, однако изменения ионного тока претерпевают существенные фазовые сдвиги. Так, если при низкой концентрации K^+ в среде (1,4 ммоль/л), когда равновесный калиевый потенциал составлял примерно -60 и -70 мВ, увеличение проводимости мембраны сопровождалось усилением выходящего тока (рис. 4; стадия 8 бластомеров), то при высокой концентрации K^+ в среде (40 ммоль/л), когда равновесный потенциал для K^+ достигал положительных значений,

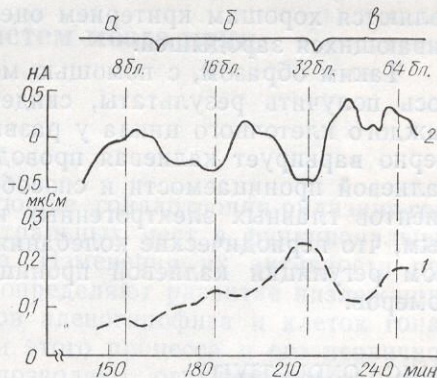


Рис. 4. Изменения проводимости мембран (1) и ионного тока (2) в течение клеточных циклов дробления бластомеров под действием повышенной концентрации ионов калия (ммоль/л):

а — 1,4; б — 40; в — 1,4. Уровень фиксированного потенциала — -40 мВ.

наблюдалась реверсия калиевого тока, а увеличение проводимости по времени совпадало с усилением входящего тока (рис. 4; стадия 16 и 32 бластомеров). При последующей отмывке избытка ионов калия картина синхронной ритмичности изменений ионного тока восстанавливалась (рис. 4; стадия 64 бластомеров). В связи с этим интересны сведения об опосредовании увеличения калиевой проводимости мембран ооцитов *Xenopus laevis*, стимуляцией синтеза цАМФ [9]. В то же время у зародышей выюна, как было нами ранее обнаружено [4], активность аденилатциклазы и количество цАМФ увеличиваются в прометафазу каждого клеточного цикла в период дробления. Анализ этих данных в совокупности с результатами настоящей работы позволяет предполагать наличие взаимосвязи периодического нарастания пула цАМФ и колебательного характера изменений калиевой проводимости мембран.

Поскольку электрофизиологические характеристики мембран постоянно изменяются, то выяснение вклада отдельных ионов в общую проводимость мембран и их влияния на уровень ТМП делящихся зародышей весьма сложно. Так, замена ионов натрия на холин (раствора А на В) вызывала гиперполяризацию мембраны лишь на 1–3 мВ, причем она не зависела от стадии клеточного цикла. Незначителен также вклад в общую ионную проводимость мембран клеток развиваю-

Одновременно с измерением электрофизиологических параметров мембран исследовали влияние уровня фиксированного потенциала в пределах -30 — -50 мВ на правильность прохождения этапов развития зародыша. Показано, что жизнеспособность исследованных клеток после выведения из них микроэлектродов не отличается от таковой контрольных зародышей, не подвергавшихся проколам, и не зависит от уровня фиксированного потенциала в пределах -30 — -60 мВ. При сдвигах фиксированного потенциала в сторону более положительных значений, чем -30 мВ, наблюдали увеличение проводимости, о чем сообщалось ранее [3]. Зародыши, которые подвергались воздействию низкими уровнями фиксированного потенциала в течение длительного времени (более 4 ч), погибали через 10 ч развития. Кроме того, мы обнаружили, что у зародышей, выживаемость которых составляла не более 40 % через 24 ч развития, всегда регистрировались низкий уровень ТМП (менее -25 мВ) и высокая ионная проводимость мембран (более $1,5$ мкСм). Из этого следует, что электрические характеристики мембран являются хорошим критерием оценки физиологического состояния развивающихся зародышей.

IONIC CONDUCTIVITY OF CELL MEMBRANES IN DEVELOPING LOACH EMBRYOS

The voltage clamp method has been investigated for the possibility to be applied for studying electrical characteristics of membranes during cleavage of loach (*Misgurnus fossilis* L.) embryos. Voltage clamp membrane potential level is distributed uniformly along the whole embryo surface. Deviations from the mean value do not exceed 2 mV during the first 6 hours of the development. Dynamics of the membrane conductivity and ion current under conditions of voltage clamp in this period is shown. Changes in the membrane conductivity of the embryos for Na^+ and Cl^- are insignificant in the space of time under study. Oscillations of the outward current and membrane conductivity for K^+ are synchronous with the cell cycles of blastomers cleavage. Amplitude of the conductivity oscillations amounts to 30-60 % of the maximum rates. It is suggested that the periodical fluctuations of the transmembrane potential level during synchronous cleavage of *Misgurnus fossilis* L. blastomers are caused by cyclic nucleotide-dependent oscillations of the potassium membrane conductivity.

1. Божкова В. П., Ковалев С. А., Чайлахян Л. М., Шильянская Э. Н. Исследование электрической связи между клетками зародышей выюна на ранних стадиях развития // Онтогенез.— 1971.— 2, № 5.— С. 512—516.

- Ин-т биохимии им. А. В. Палладин
АН УССР, Киев

Роль катехоламинергич в регуляции функции го

Нейроциты гипоталамуса, в том числе и гипоталамический соматотроп (Гн-РГ), занимают одну из высших ступеней иерархии репродуктивного процесса. В половом созревании предшествующие звенья комплекса — гонады — достигают своего [4, 6]. Однако поиски исходных факторов физиологической детерминации полового созревания с точки зрения происхождения онтогенетических факторов их микроокружения, моноамины, опиоидные пептиды, возможно, и становятся в этом качестве катехолами-

Исследования проводили на петухах 1-го года жизни. Птицы ежедневно в течение периода исследования содержались в вольере, содержащий предшественник и блокатор его периферического действия — фенилпропионовую кислоту. Дозы 1-ДОФА на 100 г массы тела. Группы животных содержали в логичном режиме инъецировали блокатор в период (30 мкг/100 г). Возраст животных — 1-2 года. Активность репродуктивного комплекса определяли по количеству яиц и степени развития семенников. Результаты исследования логически с помощью набора реак-