

Э. Л. АРЕВШАТОВ, С. Н. АИРАПЕТЯН, Э. Г. ГЕВОРГЯН

О ДЕЙСТВИИ ИОНОВ ЛИТИЯ НА АКТИВНЫЕ И ПАССИВНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ГИГАНТСКИХ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ

На гигантских нейронах виноградных улиток *Helix* изучались активные и пассивные свойства мембран в условиях полной замены в омывающем растворе ионов натрия ионами лития.

Показано, что при этом происходят: подавление электрогенного эффекта натриевого насоса; потеря ионов калия и обогащение ионами лития (в условиях холода больше, чем при комнатной температуре); инактивация дыхательной активности.

Предполагается, что подавление электрогенного эффекта натриевого насоса обусловлено не полным угнетением насосных процессов в клетке, а переходом их на нейтральный режим в результате уменьшения сопротивления мембраны.

После открытия Кернаном [6] электрогенного натриевого насоса было проведено большое количество исследований в целях полного понимания физиологического значения его в нормальной жизнедеятельности клетки. Одним из тестов при изучении электрогенного натриевого насоса является замена ионов натрия ионами лития.

Предварительная инъекция ионов натрия в клетку, проведенная на мотонейронах кошки и гигантских нейронах улитки, вызывала гиперполяризацию мембраны, тогда как инъекция ионов лития не приводила к аналогичному эффекту. Наряду с этим было показано, что при замене ионов натрия ионами лития во внешнем физиологическом растворе нейроны не теряют способности генерировать потенциал действия (ПД) [5].

Биохимические исследования, проведенные на Na^+ , K^+ — АТФ-азных системах, которые являются основными компонентами активного транспорта ионов, показали, что отсутствие или замена в среде ионов натрия или калия приводит к их инактивации [10]. Приведенные выше данные позволили предположить, что ионы лития заменяют ионы натрия в генерации ПД, но не выкачиваются из клетки.

Использование теста замены ионов натрия ионами лития в наших опытах дало некоторые расхождения с имеющимися литературными данными, что и послужило поводом для более детального исследования действия ионов лития на свойства мембран.

Материал и методика. Опыты проводились на изолированных ганглиях виноградной улитки. В качестве исходного раствора был использован физиологический раствор для *Helix*, предложенный Керкхуртом [7], который имел следующий состав: NaCl —80 мМ, KCl —5 мМ, MgCl —5 мМ, CaCl —5 мМ, трис HCl буфер, pH —7,8. Замена ионов натрия ионами лития в омывающем растворе производилась в эквивалентном отношении (раствор без Na (Li)).

Для отведения мембранного потенциала (МП) использовались стеклянные микроэлектроды, заполненные солевым раствором (2,5—3 М КСl), имеющие сопротивление 10—15 МОМ. МП измерялся электрометром с высоким входным сопротивлением, к которому параллельно присоединялся катодный осциллограф с предварительным каскадом усиления для регистрации ПД.

Концентрация ионов калия в нейронах определялась на пламенном фотометре после 30-минутного выдерживания изолированных ганглиев в соответствующих средах (в мМ на литр воды клеток). Внеклеточное пространство принималось равным 34,34% [1]. Ингибиторы обмена применялись в следующих концентрациях: NaCN—4 мМ, строфантин—1 мМ.

Для насыщения нейронов ионами натрия или лития и обеднения ионами калия ганглии помещались в соответствующие растворы Рингера (содержащие 5 мМ калия) на 30—60 мин при температуре 4°.

Количество поглощенного ганглиями кислорода (в кубических миллиметрах и граммах влажного веса ганглиев в час) измерялось на аппарате Варбурга в атмосфере воздуха при температуре 25°—26°.

Результаты и обсуждение. Морено и др. [9] показали, что следовая гиперполяризация (СГ) одиночных спайков в нормальных рингеровских растворах вызвана электрогенным натриевым насосом. Замена ионов натрия ионами лития во внешнем физиологическом растворе в наших опытах привела к исчезновению СГ одиночных спайков. При переносе клетки в нормальный рингеровский раствор СГ спайков восстанавливается (рис. 1). Исчезновение электрогенной компоненты натриевого насоса может произойти или в результате полного подавления насоса, или в результате перехода электрогенного режима на нейтральный ввиду уменьшения сопротивления мембраны.

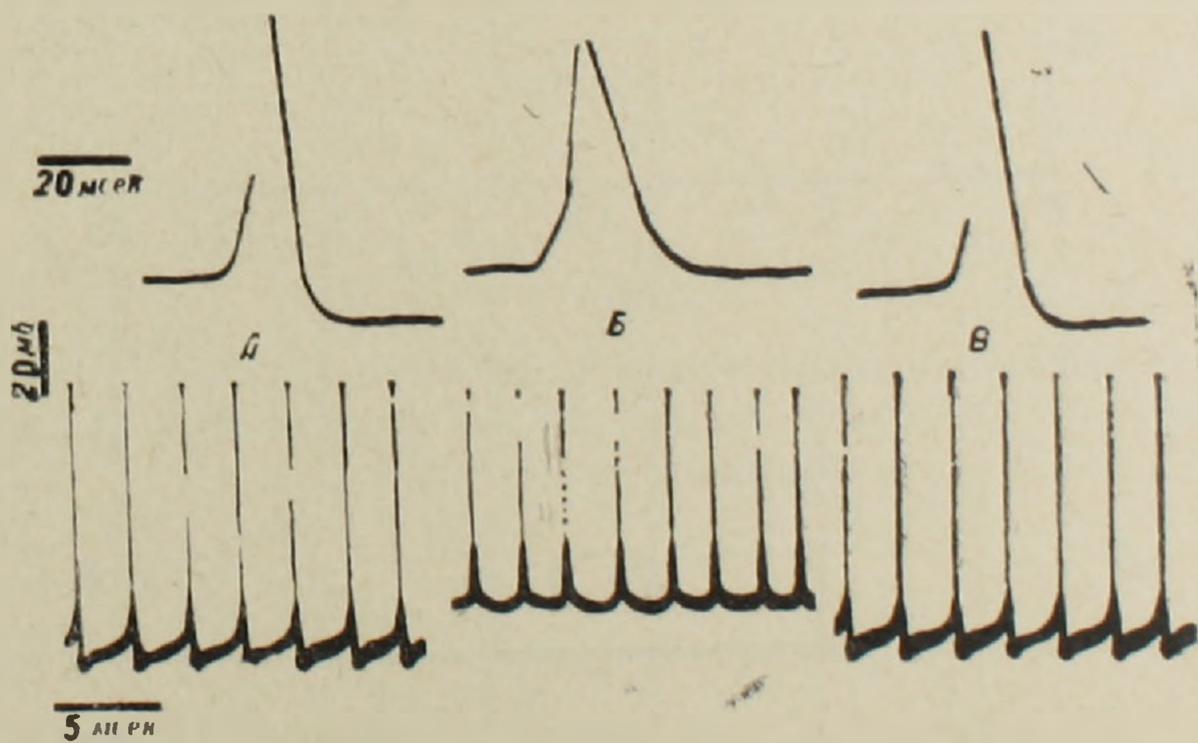


Рис. 1. Действие раствора без Na (L1) на ПД нейронов. А, В—ответы нейрона в нормальном рингеровском растворе; Б—ответы нейрона в растворе без Na (L1).

При действии ионов лития мембрана деполяризовалась. Чтобы выяснить, является ли деполяризация МП результатом только шунтирующего действия ионов лития или имеет место подавление электрогенного характера натриевого насоса в результате увеличения проводимости мембраны для ионов калия, мы исследовали гиперполяризационный

эффект бескальевого раствора на мембрану в нормальном рингеровском растворе и в растворе без Na (Li). Из рис. 2 видно, что гиперполяризационный эффект бескальевого раствора в растворе без Na (Li) больше, чем в норме. Это, по-видимому, можно объяснить тем, что в растворе без Na (Li) существенно повышается проводимость мембраны для ионов калия.

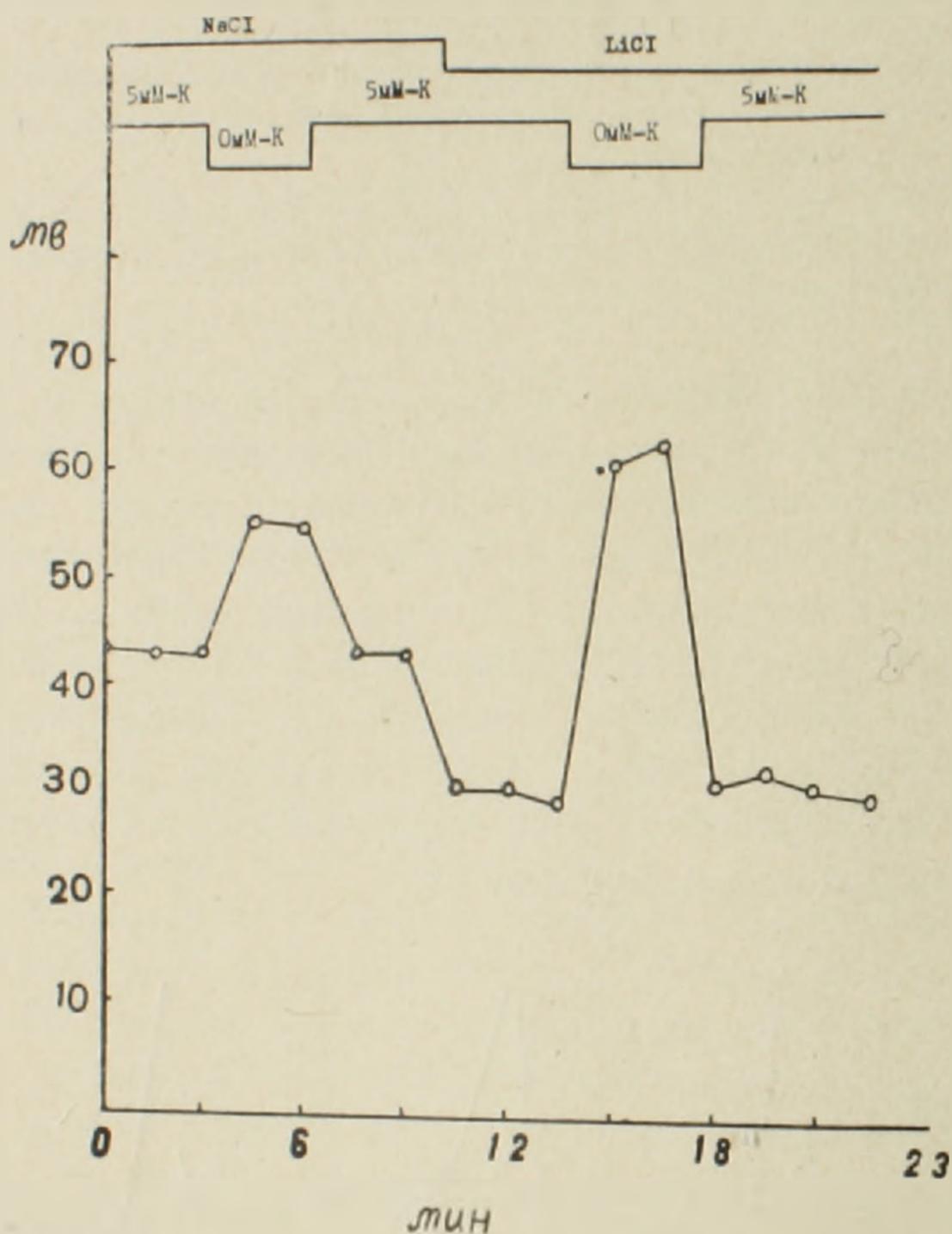


Рис. 2. Гиперполяризационный эффект бескальевого раствора в нормальном Рингере и в растворе без Na (Li). На оси ординат—МП (в мв), на оси абсцисс—время (в минутах).

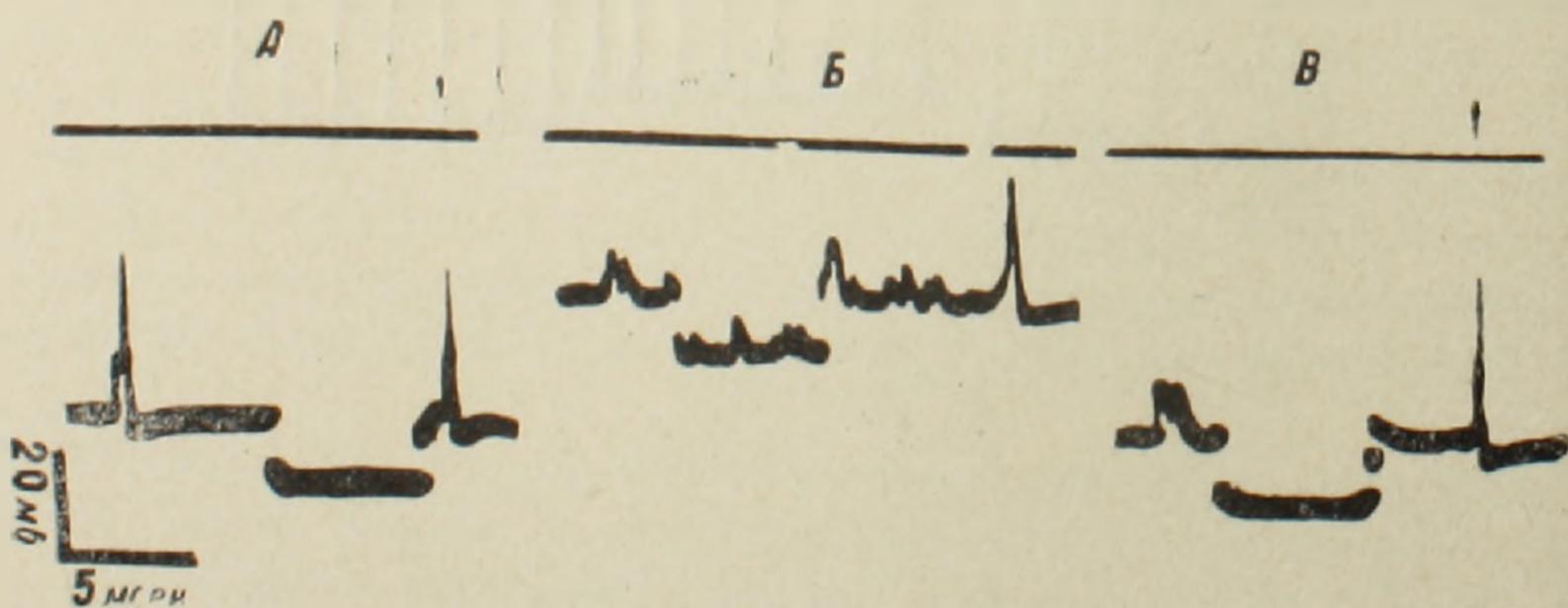


Рис. 3. Анэлектронические ответы нейрона в условиях отсутствия (А, В) и в присутствии (Б) оубаина в нормальном рингеровском растворе.

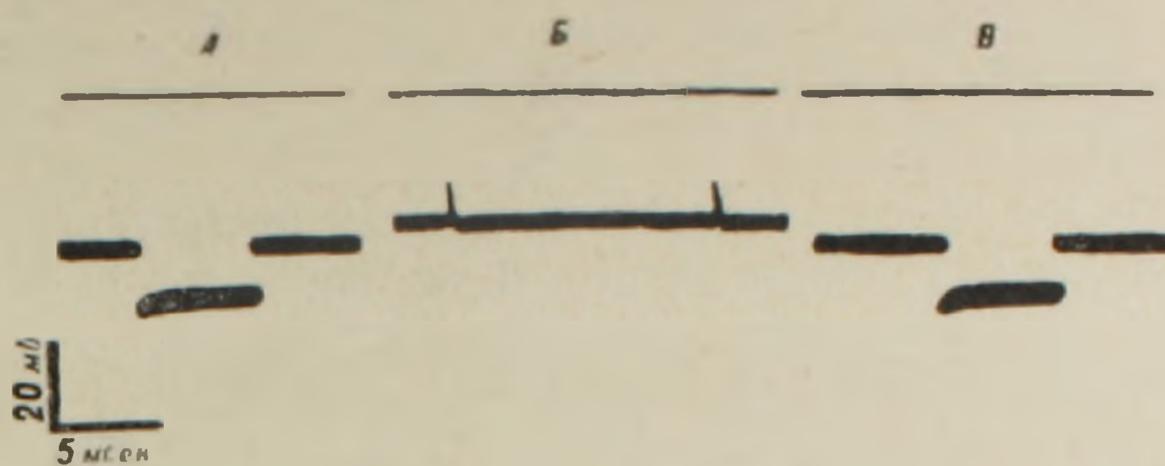


Рис. 4. Анэлектрические ответы нейрона в условиях отсутствия (А, В) и в присутствии оубаина в растворе без Na (Li).

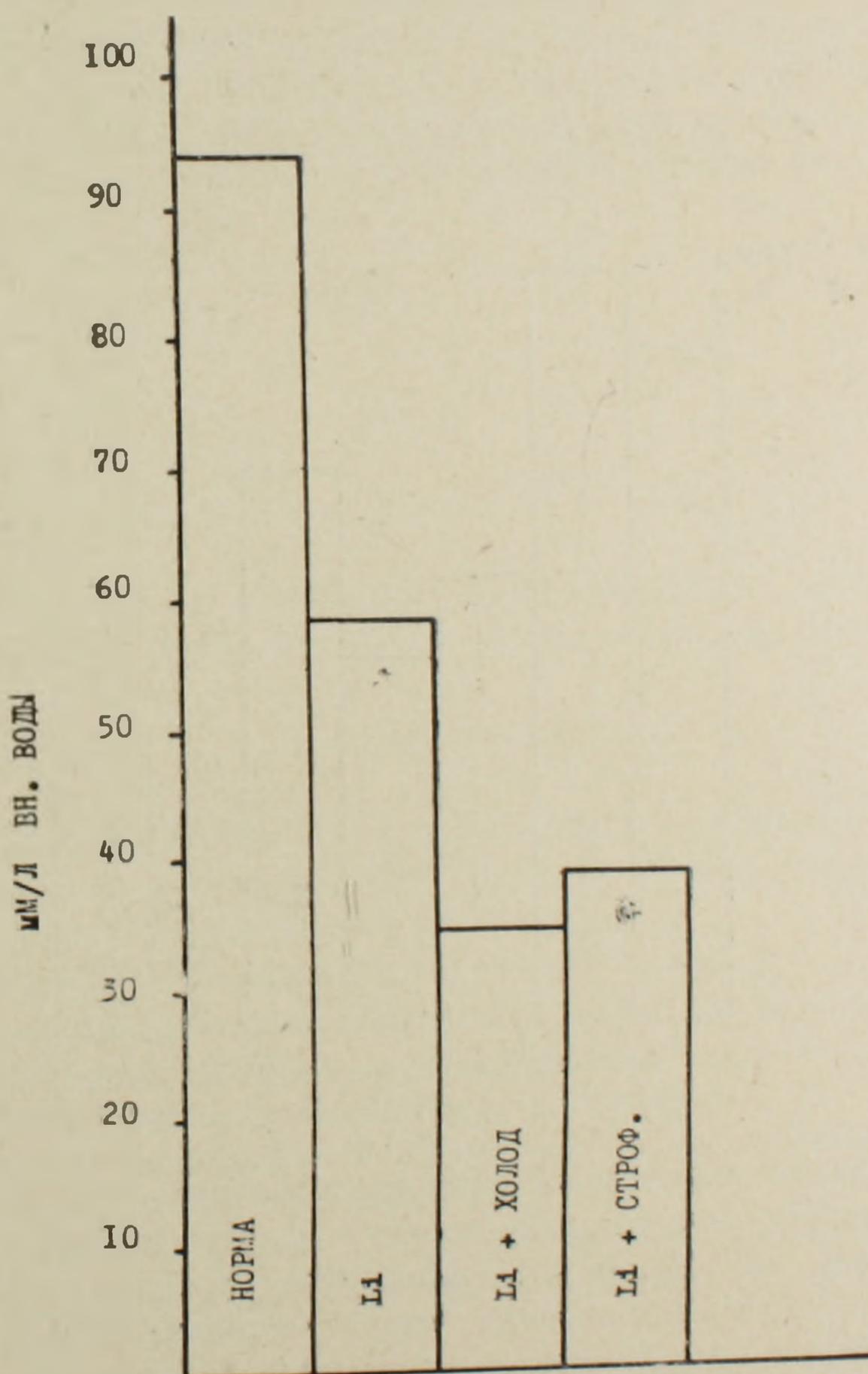


Рис. 5. Внутриклеточное содержание ионов калия (в миллимолях на литр внутриклеточной воды) в различных экспериментальных условиях.

Оуабанин, специфический ингибитор активного транспорта ионов, вызывал деполяризацию и повышение проводимости мембраны в обоих растворах, однако в растворе без Na (Li) этот эффект менее выражен (рис. 3 и рис. 4).

Известно, что в условиях *in vitro* клетки постепенно теряют ионы калия и обогащаются ионами натрия. В растворах же, где ионы натрия заменены ионами лития, потеря ионов калия должна сопровождаться обогащением ионами лития. Если в растворе без Na (Li) насосные процессы не протекают, то при понижении температуры, когда происходит уменьшение проводимости мембраны для ионов [3, 4], должны замедляться процессы потери ионов калия и обогащения ионами лития. Однако эффект, полученный нами, противоречил вышесказанному, т. е. в условиях холода происходит большая потеря ионов калия и обогащение ионами лития в клетке, чем при комнатной температуре. Такой же эффект был получен и в растворе со строфантином (рис. 5).

Основываясь на приведенных выше данных, можно предположить, что ионы лития частично выкачиваются из клетки.

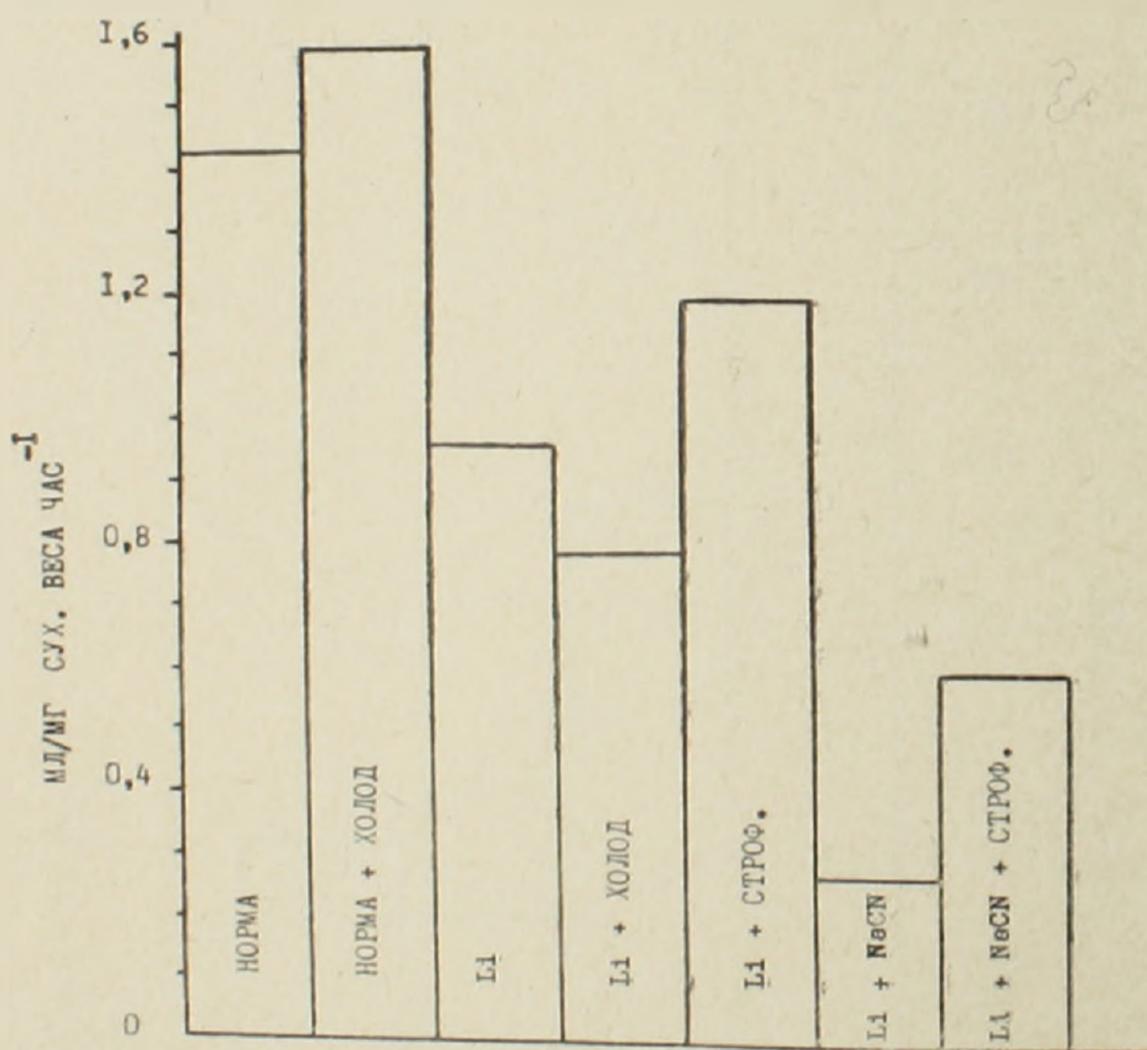


Рис. 6. Дыхательная активность нейрона (в мл на мг сухого веса в час) в различных экспериментальных условиях.

Исследование дыхательной активности показало, что хотя ионы лития инактивируют ее, в условиях холода и цианида эта инактивация выраженнее, чем при комнатной температуре. Строфантин в растворе без Na (Li) активировал дыхание, а цианид снимал его активационное действие (рис. 6). Этот факт свидетельствует о том, что активация дыхания, вызванная строфантином, не связана с действием его на Na^+ , K^+ — АТФ-азу, а является следствием эндогенной активации. Такие же данные были получены и Ле Февре с сотр. [8] на срезах головно-

го мозга крыс. Эти авторы объясняют активационное действие строфантина на дыхание нейрона активацией гликолиза в клетке.

Таким образом, из изложенного следует, что подавление электрогенного режима натриевого насоса в условиях раствора без Na (Li) не обусловлено полным угнетением насосных процессов в клетке. Тот факт, что в условиях без Na (Li) раствора не происходит градуального уменьшения амплитуды спонтанных ответов нейрона, наблюдаемого в нормальном растворе с оубаином (рис. 1, 3), а также то, что в условиях комнатной температуры нейроны теряют меньше внутриклеточного калия, чем в условиях холода, позволяет предположить частичное выкачивание ионов лития из клетки. Кроме того, эти данные показывают, что насос работает в нейтральном режиме в результате существенного повышения проводимости мембраны для ионов калия. Наконец, наши данные свидетельствуют о двойном действии строфантина на дыхательную активность нейрона: с одной стороны, инактивируя ее подавлением Na, K — АТФ-азы, с другой — увеличивая эндогенную активность клетки. Последний факт требует более тщательного исследования.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН АрмССР
Зангезурская лаборатория адаптивных систем, г. Кафан

Поступило 3.XII 1972 г.

Է. Լ. ԱՐԵՎՇԱՏՈՎ, Ս. Ն. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ, Է. Գ. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

ԼԻԹԻՈՒՄ ԻՈՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽԵՈՒՆՋԻ ԳԻԳԱՆՏ ՆԵՅՐՈՆՆԵՐԻ ԹԱՂԱՆԹԻ ԱԿՏԻՎ ԵՎ ՊԱՍԻՎ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է *Helix italiana* խխունջների հատկությունները արտաքին էլեկտրոլիտային լուծույթում, նատրիումական իոններն լիթիումի իոններով լրիվ փոխարինելու պայմաններում:

Այդ նպատակով գրանցվել են նեյրոնների հանգստի և գործողության պոտենցիալները, ինչպես նաև շափվել է նեյրոնների ներբջջային կալիում իոնների քանակը և շնչառական ակտիվությունը:

Ստացվել են հետևյալ արգյունքները՝

Նատրիումի իոններն լիթիումով փոխարինելու պայմաններում նատրիումական էլեկտրոդեն մխոցի ինակտիվացիա:

Ցածր ջերմաստիճաններում ներբջջային կալիում իոնների ավելի մեծ կորուստ, և բջջի լիթիում իոններով արագ հարստացում, քան սենյակային ջերմաստիճանում:

Շնչառական ակտիվության ավելի փոքր ինակտիվացիա, լիթիում իոնների առկայությամբ սենյակային ջերմաստիճանում, քան լիթիում և ցիանիդ իոնների առկայությամբ ցածր ջերմաստիճաններում:

Ենթադրվում է, որ նատրիումական միոցի էլեկտրոդեն էֆեկտի ճնշումը կապված է ոչ թե բնդհանրապես միոցային պրոցեսների ճնշման հետ, այլ հետևանք է վերջինի մասնակի ճնշմանը, ինչպես նաև միոցի անցմանը էլեկտրոդեն ուժիմից էլեկտրաշեղոք ուժիմի՝ կապված բջջաթաղանթի դիմադրության անկման հետ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Зелинская В. С., Олейникова Т. Н., Сорокина З. А. Сб. Физиология и биохимия беспозвоночных. Л., 84—91, 1968.
2. Марахова И. И. Тез. секц. докл. IV междунар. биофизического конгресса, 3, 101—102, М., 1972.
3. Del Castillo J., Machne Xenta. J. physiol. 120, 431—434, 1953.
4. Geduldin D. A. J. physiol., 194, 521—533, 1968.
5. Ito M., Oshima T. Proc. Roy. Soc. Biol. 161, 92—108, 1964.
6. Kernan R. P. Nature, Lond. 193, 986—987, 1962.
7. Kerkut G. A., French M. C., Walker R. J. Comp. Biochem. Physiol. 32, 681—690 1970.
8. LeFevre M. E., Cronkite J. F., Brodsky W. A. Biochem. Biophys. Acta, 222, 212—215, 1970.
9. Moreno J., Wald F. Mazzuchelly, Separatum Experientia, 25, 825—828, 1968.
10. Skou J. C. Membrane Transport and metabolism. Pragua, 228—236, 1960.