

ДЕЙСТВИЕ ЭТАНОЛАМИНА НА ХЕМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МЕМБРАНЫ ГИГАНТСКИХ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ

Р. Г. КАМАЛЯН, Э. А. АВАГИМЯН, В. Л. АРВАНОВ, С. Н. АИРАПЕТЯН

Добавление этаноламина в омывающую нейрон среду приводит к усилению действия ацетихолина на мембранный потенциал и проницаемость мембраны как при дельтаполяризационных, так и гиперполяризационных ответах мембраны. По мере инкубации нейрона в бескальциевом растворе эффект этаноламина на хемочувствительность мембраны ослабевает и затем полностью исчезает. После предварительного обогащения нейрона ионами натрия он вызывает уменьшение K^+ -вызванной кратковременной гиперполяризации мембраны.

Предполагается, что этаноламин инактивирует электрогенный натриевый насос, вызывая тем самым усиление хемочувствительности мембран.

Этаноламин (ЭА) является биологически активным соединением, оказывающим многогранное влияние на метаболизм и физиологические функции организма [5]. Имеются данные о влиянии его на процессы нейрогуморальной регуляции метаболизма изолированных органов [3—7]. Результаты фармакологических исследований свидетельствуют о действии ЭА на чувствительность адрено- и холинорецепторов сердечно-сосудистой системы [4—9]. Показано действие этого соединения на процессы проницаемости глюкозы и аминокислот в животных [8] и ионов калия в растительных тканях [13].

В свете сказанного представляло интерес изучение действия ЭА на работу электрогенного Na -насоса и хемочувствительность нейрональных мембран.

Материал и методика. Опыты проводились на идентифицированных нейронах изолированного ганглия улитки *Helix*. Препарат фиксировался в специальной камере с помощью микроиглол. Поверхностная соединительнотканная оболочка иссекалась острием бритвы, закрепленной на специальном держателе. В нейрон внутриклеточно вводилось два стеклянных микроэлектрода, соответственно для регистрации электрической активности и пропускания тока через мембрану нейрона. Микроэлектроды заполнялись 2,5 М KCl . Электрические сигналы с регистрирующего микроэлектрода через агаровый мостик подавались на катодный повторитель, усилитель УПТ-2 и далее на регистрирующие приборы—самопишущий потенциометр ЭПП-09 и осциллограф С1-16 с фоторегистрирующим устройством ФОР-2. Для измерения сопротивления мембраны через второй микроэлектрод подавался прямоугольный толчок тока порядка 10^{-9} — 10^{-8} А, величина которого регистрировалась вторым каналом усилителя. Через камеру перфузировали нормальный раствор Рингера ($NaCl$ —80, KCl —4, $CaCl_2$ —7, $MgCl_2$ —15, $Tris\ HCl$ —5 ммоль) с постоянной скоростью 0,2 мл/сек. Концентрация ионов калия в растворе уменьшалась за счет соответствующего увеличения содержания

ионов натрия. Используемая концентрация ЭА в растворе Рингера составляла 10^{-3} М, а ацетилхолина (АХ)— $5 \cdot 10^{-5}$ М. Опыты проводились в зимние месяцы при комнатной температуре. 22°.

Результаты и обсуждение. Ранее было показано, что инактивация электрогенного Na-насоса сопровождается увеличением АХ-чувствительности нейрональной мембраны [1, 2, 10]. В первой серии экспериментов нами исследовалось действие ЭА на чувствительность мембраны к АХ в условиях инактивации Na-насоса и при восстановлении его активности (рис. 1). Известно, что инкубация нейронов в бескальиевом растворе приводит к инактивации электрогенного Na-насоса, в резуль-

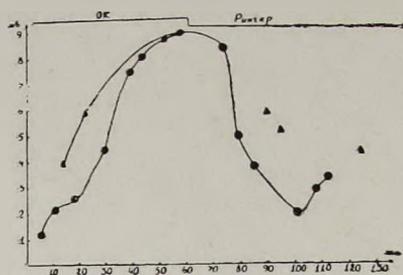


Рис. 1. Зависимость действия ЭА на АХ-ответы мембраны от времени инкубации в бескальиевом растворе.

тате чего происходит накопление ионов натрия в клетке [14]. Как видно из рис. 1, перенос нейронов в бескальиевый раствор сопровождается увеличением деполяризационных АХ-ответов мембраны. Инкубация нейронов в ЭА-содержащем растворе приводит к усилению действия АХ на мембранный потенциал. Однако по мере инкубации нейрона в бескальиевом растворе этот эффект ЭА уменьшается и полностью исчезает через 50—60 мин инкубации, когда, по-видимому, окружающее нейрон пространство полностью освобождается от ионов калия. При добавлении во внешнюю среду 4 ммоль K^+ , что приводит к активации Na-насоса [12, 14], вновь отмечается усиление АХ-ответов мембраны в присутствии ЭА.

Установлено, что при переносе нейрона в нормальный раствор Рингера, после предварительной инкубации в бескальиевом растворе, имеет место активный выброс избыточного натрия из клетки электрогенным Na-насосом, сопровождающийся кратковременной гиперполяризацией мембраны [1, 11, 12]. На рис. 2 показано действие ЭА на гиперполяризацию мембраны, вызванную активацией Na-насоса. Параллельно с этим исследовалось влияние ЭА на АХ-чувствительность мембраны. Как видно из рис. 2 а, перенос нейрона в нормальный раствор Рингера после предварительной инкубации в бескальиевом растворе приводит к кратковременной гиперполяризации мембраны на 6 мв. При переносе же его в те же условия, но после предварительной инкубации в бескальиевом ЭА-содержащем растворе, эта величина уменьшалась до 1 мв. (рис. 2 б). При последующем вымывании ЭА из среды наблюдалось полное восстановление этого показателя. Измерение сопротивления мембраны в ходе этого эксперимента показало, что добавление ЭА не

вызывает существенных изменений сопротивления мембраны. Эти данные позволяют предположить, что уменьшение насос-вызванной гиперполяризации мембраны в ЭА-содержащем растворе обусловлено его ингибирующим действием на работу электрогенного Na-насоса. На рис. 2 показано также, что АХ-вызванное увеличение проводимости мембраны в нормальном растворе Рингера непосредственно после инкубации в бескальциевом растворе (т. е. в условиях активации Na-насоса) составляло 7% (рис. 2а). В присутствии же ЭА эффект АХ дости-

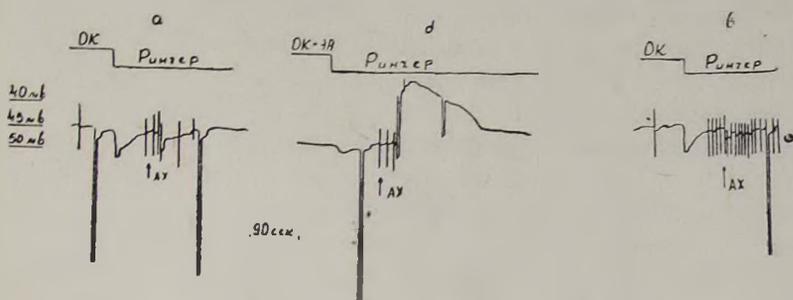


Рис. 2. Действие ЭА на K^+ -вызванную гиперполяризацию и АХ-ответы мембраны. а) после 15-минутной преинкубации в бескальциевом растворе; б) после 15-минутной преинкубации в ЭА-содержащем бескальциевом растворе; в) после вымывания ЭА из среды.

гал 74%, что сопровождалось значительным усилением и деполяризационного действия последнего (рис. 2б). При вымывании ЭА из среды АХ-ответы мембраны восстанавливались (рис. 2в).

Результаты более детального изучения действия ЭА на работу электрогенного Na-насоса представлены на рис. 3. Показано, что ЭА значительно уменьшает величину K^+ -вызванной гиперполяризации (рис. 3а). Когда же нейрон инкубировали в ЭА-содержащем бескальциевом растворе, но перед добавлением нормального Рингера вымывали ЭА из среды, величина кратковременной гиперполяризации полностью восстанавливалась (рис. 3в).

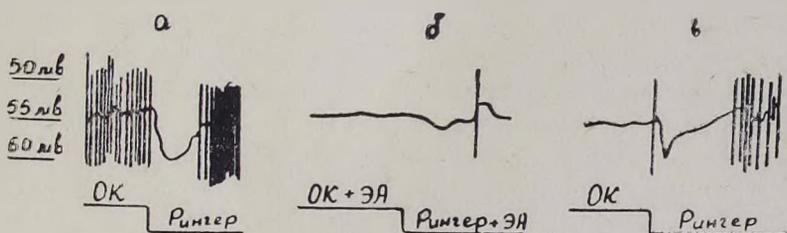


Рис. 3. Действие ЭА на K^+ -вызванную гиперполяризацию мембраны. а) в норм. растворе Рингера после 15-минутной преинкубации в бескальциевом растворе; б) при постоянном присутствии ЭА в среде; в) перед добавлением норм. Рингера ЭА был удален из бескальциевого раствора.

Действие ЭА на АХ-чувствительность мембраны изучалось также на нейронах, гиперполяризующихся под действием АХ. На рис. 4 вид-

но, что присутствие ЭА в среде усиливает и гиперполяризационные ответы мембраны.

Приведенный экспериментальный материал показывает, что ЭА уменьшает величину кратковременной K^+ -вызванной гиперполяризации, обусловленной работой электрогенного Na-насоса. Она восстанавливается при предварительном вымывании ЭА из инкубационной среды (рис. 2, 3). Добавление ЭА не вызывает изменения сопротивления мембраны (рис. 2). По-видимому, эти данные можно объяснить тем, что ЭА, связываясь с рецептором, ингибирует активность Na-K-АТФазы мембраны, препятствуя тем самым активному электрогенному транспорту избыточного натрия из клетки.

Параллельно с этим показано, что ЭА усиливает действие АХ на мембранный потенциал и сопротивление мембраны (рис. 1, 2, 4). Срав-

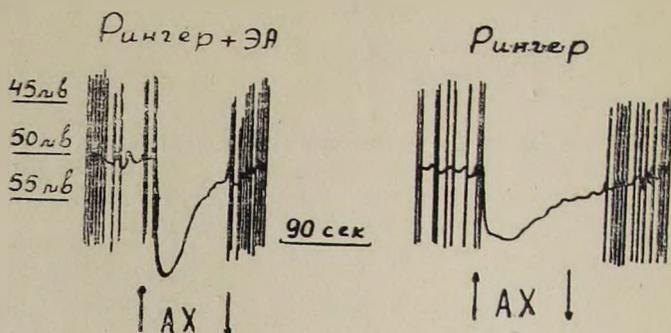


Рис. 4. Действие ЭА на гиперполяризационные АХ-ответы.

нивая действие ЭА на АХ-чувствительность мембраны в условиях активации Na-насоса (путем предварительного обогащения нейрона ионами натрия—рис. 2) и при инактивации его в бескальциевом растворе (рис. 1), можно видеть, что по мере вымывания ионов калия из среды, наряду с увеличением деполяризационного действия АХ, отмечается ослабление влияния ЭА на АХ-ответы мембраны. С другой стороны, как нами было ранее показано, инактивация электрогенного Na-насоса приводит к увеличению хемочувствительности мембраны в результате увеличения количества взаимодействующих с медиатором рецепторов за счет насос-вызванного набухания нейрона [2, 10].

В связи с этим можно высказать предположение, что ЭА действует как ингибитор электрогенного Na-насоса, чем и обусловлено вызванное им повышение хемочувствительности мембраны.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР,
Ереванский зооветеринарный институт

Поступило 25.XII 1978 г.

ԷԹԱՆՈԼԱՄԻՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԽԵՆՈՒՆՁԻ ՀՍԿԱՅԱԿԱՆ
ՆՅՅՐՈՆՆԵՐԻ ՄԵՄԲՐԱՆԻ ՔԵՄՈԶԳԱՑՈՂՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ռ. Գ. ԲԱՄԱԼՅԱՆ, Է. Ա. ԱՎԱԳԻՄՅԱՆ, Վ. Լ. ԱՐՎԱՆՈՎ, Ս. Ն. ՀԱՅՐԱՊԵՏՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է էթանոլամինի ազդեցությունը նեյրոնալ մեմբրանների էլեկտրազեն Na -պոմպի աշխատանքի և թիմոզայոզուլոթյան վրա:

Ցույց է արվել, որ էթանոլամինի ավելացումը ինկուբացիոն միջավայրի վրա, 10^{-3}M խտությամբ, բարձրացնում է մեմբրանների զգացողությունը ացետիլ-խոլինի նկատմամբ: K^+ իոնների բացակայության դեպքում էթանոլամինի ազդեցությունը մեմբրանի բեմոզգացողության վրա թուլանում է ինկուբացիայի ընթացքում:

Նեյրոնը Na^+ -ով հագեցնելու դեպքում էթանոլամինը կասեցնում է K^+ -ի առաջացրած մեմբրանների կարճատև հիպերբեռացումը:

Կարելի է ենթադրել, որ նեյրոնի մեմբրանների բեմոզգացողության ուժեղացումը էթանոլամինի ազդեցությամբ պայմանավորված է էլեկտրազեն նատրիումական պոմպի ակտիվացման արգելակմամբ:

ETHANOLAMINE EFFECT ON THE CHEMOSENSITIVITY
OF THE SNAIL GIANT NEWRONAL MEMBRANE

R. G. KAMALYAN, A. A. AVAGIMYAN, V. L. ARVANOV, S. N. AYRAPETYAN

Effect of ethanolamine (EA) on the electrogenic Na pump activity and on the neuron membrane chemosensitivity has been studied. The addition of 10^{-3}M EA to the medium increases the membrane sensitivity to acetylcholine (Ach). In potassium-free solution effect of EA on the membrane Ach. sensitivity is weaker. EA depresses the potassium-induced hyperpolarization of the neuron membranes enriched by Na ions. It is supposed that the increase in membrane chemosensitivity by EA is due to inactivation of the electrogenic Na pump.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айрапетян С. Н. Вопросы биохимии мозга, 9, 233—250, Ереван, 1974.
2. Арванов В. Л., Айрапетян С. Н. Мат-лы симп. «Транспортные АТФазы», 6, Тбилиси, 1978.
3. Демин Ю. М. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1970.
4. Жанполадян Е. Г. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1973.
5. Камалян Г. В. Коламин и его биологическое значение. Ереван, 1960.
6. Камалян Г. Б., Барсесян Г. В. Тр. Ереванск. зоовет. ин-та, 27—29, 1965.
7. Камалян Р. Г., Ширинян Э. А., Камалян Г. В. Биолог. ж. Армении, 27, 5, 1974.
8. Мовсисян С. Г. Вопросы биохимии мозга, 2, 87—90, Ереван, 1961.
9. Самвелян В. М., Саркисян О. К. Мат-лы симп. «Биология этаноламина и его применение в народном хозяйстве», 110, Ереван, 1974.
10. Ayrapetyan S. N., Arvanov V. L. Comparative biochemistry and physiology, 58C, 153—155, 1977.
11. Carpenter D., Alving V. J. Gen. Physiol., 52, 1—21, 1968.
12. Casttels R., Droogmans D., Hendrichx H. J. Physiol., 217, 281—291, 1971.
13. Steveninck R. G. Nature, 190, 1072—1074, 1961.
14. Thomas R. Physiol. Rev., 62, 563—632, 1972.