

Биолог. журн. Армении, № 1. (45) 1992

УДК 577.352.5:577.354

## ЗАВИСИМОСТЬ НАТРИЕВЫХ ТОКОВ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ ОТ УРОВНЯ ФИКСАЦИИ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА И ВЕЛИЧИНЫ Тестирующего ИМПУЛЬСА В ПРИСУТСТВИИ И ОТСУТСТВИИ ВЫХОДЯЩЕГО ПОТОКА ВОДЫ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

В. Е. АИРАПЕТЯН, М. А. СУЛЕЙМАНИ

Отдел биофизики АН Армении, Ереван

Выявлено уменьшение амплитуды натриевых токов, замедление кинетики их активации и инактивации и присутствие выходящего потока воды через мембрану и перемещение максимумов в зависимости от уровня фиксации мембранного потенциала и величины тестирующего импульса.

Հայտնաբերվել է նատրիումական հոսանքների լարիտյի փոքրացում, նրանց ակտիվացման և անախտիվացման կինետիկայի դանդաղում և մարտնչումի մեղաշարժ:

The decrease of sodium current amplitude, delay of the kinetics of their activation and inactivation and shift of their maximum was revealed.

Поток воды — натриевые токи — мембранный потенциал

Ранее при исследовании ионных токов мембраны изменение объема клетки и поток воды через мембрану в расчет не принимались, и объем клетки рассматривали как относительно постоянную величину. Однако работами Теззки [8] было показано, что в период восходящей фазы потенциала действия происходит набухание аксона кальмара, а в период нисходящей фазы, наоборот, аксон сморщивается, т. е. происходит уменьшение его объема. Это свидетельствует о том, что во время генерации потенциала действия возникает поток воды через мембрану, который попеременно меняет свое направление в такт восходящей и нисходящей фазам потенциала действия. С этой точки зрения представляется интересным исследование влияния потока воды на ионные токи мембраны. Этот вопрос тем более актуален в отношении нейронов моллюсков, так как многие нейроны обладают регулярной электрической активностью. Недавно нами [1, 3] и другими авторами [6] было показано, что поток воды влияет на ионные

токи мембраны. В тех случаях, когда направления потока воды и ионных градиентов совпадают, ионные токи увеличиваются, а когда направлены обратно, они уменьшаются. В настоящей работе представлены результаты исследования зависимости влияния выходящего потока воды на натриевые токи анализированного нейрона от уровня фиксации мембранного потенциала и величины тестирующего импульса.

*Материал и методика.* Опыты проводили на периферические изолированные нейроны окологлоточного нервного кольца ганглиев наземной улитки *Helix pomatia*. Изоляцию нейронов проводили по методике Костенко и соавт. [4] с различными модификациями, сочетающими ферментативную обработку с механическими приемами дезагрегации. Для исследования ионных токов мембраны исследовали методом внутриклеточного анализа нейронов, разработанным Костяковым и соавт. [5]. Основной принцип метода заключается в следующем. Цилиндрическую клетку помещают в пору, меньшую по диаметру, чем диаметр клетки, проделанную в коллагеновой микрошпательке, образующей контур внутренней поверхности клетки. Часть клеточной мембраны, затянутаю в пору, разрушают. Разорванные края мембраны слипаются со стенками поры, что предотвращает утечку ионов между отсеками. Через отверстие в мембране можно достаточно быстро заменить среду внутри клетки. Для поддержания мембранного потенциала анализированного нейрона на желаемом уровне использовали стандартную схему фиксации [7].

При регистрации токов симметричной емкостью 1 пФ, а линейные токи утечки вычитали путем сложения ответов на деполаризующие и гиперполяризующие смещения потенциала одинаковой амплитуды и длительности с помощью анализатора сигналов Ф-37. Кривые токов выводили на графопроектор.

Использованные растворы имели следующий состав (мМ): внешний—NaCl—80, CaCl<sub>2</sub>—7, MgCl<sub>2</sub>—13, Трис-НС—14 (рН—7,6), глюкоза—10; внутренний—Трис-Р—120 (рН—7,4), глюкоза—10.

*Результаты и обсуждение.* Установлено, что при всех значениях тестирующего импульса при наличии выходящего потока воды через мембрану происходит уменьшение амплитуды натриевого тока и замедление кинетики его активации и инактивации. Что касается максимума проводимости мембраны для ионов натрия, то при наличии выходящего потока воды через мембрану он зависит от уровня фиксации мембранного потенциала, индивидуальных свойств клетки и однозначен. Хотя в большинстве случаев максимум проводимости мембраны для ионов натрия не сдвигался вдоль оси потенциала при наличии выходящего потока воды через мембрану, были случаи, когда он отклонялся влево вдоль оси потенциала. Этот сдвиг имеет место преимущественно при потенциалах фиксации более положительных, чем —80 мВ. А при более отрицательных, чем —80 мВ, уровнях фиксации максимум проводимости мембраны для натрия не изменяется.

Как было показано нами ранее [1], в уменьшении амплитуды натриевых токов и замедлении их кинетики могут участвовать несколько механизмов: изменение локальных концентраций ионов натрия у внутренних и наружных устьев натриевых каналов, непосредственно поток воды и изменение скорости движения ионов через канал. На спинальных ганглиях крысы было установлено, что выходящий поток воды оказывает влияние на воротное устройство натриевого канала [2]. Возможно, это справедливо и для натриевых каналов

нейронов улитки, потому что и здесь происходит замедление кинетики токов.

Была исследована также зависимость натриевых токов от уровня фиксации мембранного потенциала без потока воды. Натриевые токи получены при поддерживаемых потенциалах, равных  $-60$ ,  $-70$ ,  $-80$ ,  $-110$  мВ, тогда как тестирующие импульсы оставались на постоянном уровне, равном  $0$  мВ.

Амплитуды натриевых токов почти не изменялись, но наблюдалось смещение максимумов вправо при изменении поддерживаемого потенциала от  $-60$  до  $-110$  мВ. При обратном изменении поддерживаемого потенциала от  $-110$  до  $-60$  мВ наблюдалось обратное смещение максимумов влево.

Предполагается, что смещение максимумов натриевых токов при увеличении поддерживаемого потенциала от  $-60$  до  $-110$  мВ вправо, а при возвращении этого показателя на прежние уровни — влево обусловлено увеличением задержки в первом случае и уменьшением ее — во втором. Кинетика активации и инактивации натриевых токов почти не изменилась. Сравнительное постоянство амплитуды натриевых токов при изменении поддерживаемого потенциала в указанном диапазоне показывает, что фиксация мембранного потенциала на уровне  $-60$  мВ уже достаточна для снятия инактивации натриевых каналов и их перевода в активное состояние с помощью деполяризационных стимулов достаточной величины и длительности.

Трудно объяснить неоднозначность поведения максимума проводимости мембраны для ионов натрия при наличии выходящего потока воды и в зависимости от потенциала фиксации. Для выяснения этого вопроса необходимы более детальные исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рычков Г. Е., Сидейкина М. А., Айристан С. И. Биологические мембраны, 7, 6, 733—739, 1989.
2. Чизмаков Н. В., Сорокина Э. А. Нейрофизиология, 18, 518—525, 1986.
3. Ayrapetyan S. N., Rycklov G. Y., Suleymanian M. A. *Comp. Biochem. Physiol.*, 89A, 2, 179—186, 1988.
4. Kostenko M. A., Geletiyuk V. I., Vepriutsev B. N. *Comp. Biochem. Physiol.*, 49A, 89—100, 1974.
5. Kostyuk P. G. *Annu. Rev. Neurosci.*, 5, 107—120, 1982.
6. Kukita F., Yamagishi Sh. *J. Membr. Biol.*, 75, 33—41, 1983.
7. Moore J. W. *Proc. IREE*, 47, 1899, 1959.
8. Tasaki I., Iwasa K. *Jpn. J. Physiol.*, 32, 69—81, 1982.

Получено 3 XII 1990 г.