

А К А Д Е М И Я Н А У К С С С Р

П-1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ СССР

И М Е Н И И. М. С Е Ч Е Н О В А



Том XLVI, № 9

С Е Н Т Я Б Р Ъ



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР

МОСКВА

1960

ЛЕНИНГРАД

ВСЕСОЮЗНОЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО им. И. П. ПАВЛОВА
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ СССР им. И. М. СЕЧЕНОВА

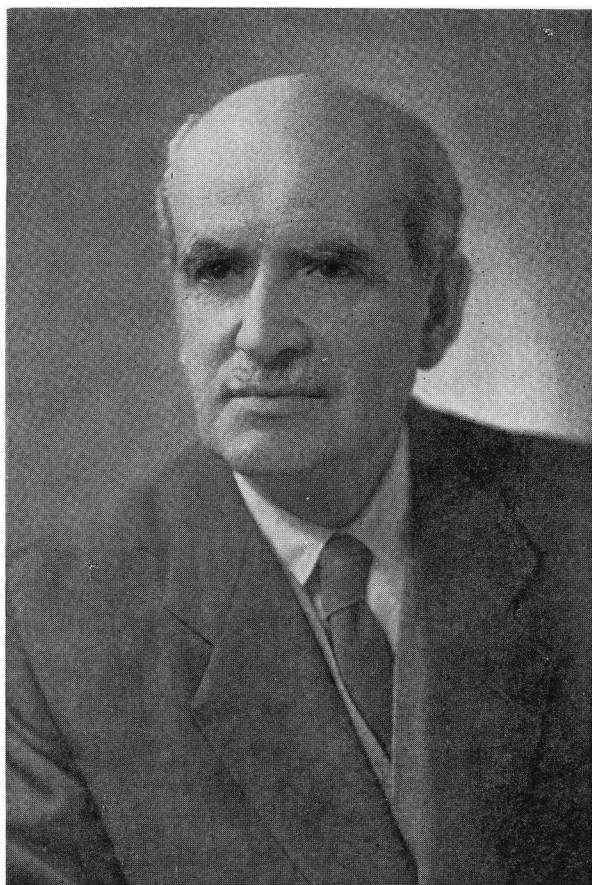
Основан И. П. ПАВЛОВЫМ в 1917 г.

Главный редактор Д. А. Бирюков (Ленинград)
Зам. главного редактора Д. Г. Квасов (Ленинград)

Члены редакционной коллегии:

П. К. Анохин (Москва), С. Я. Арбузов (Ленинград), И. А. Булыгин (Минск),
Г. Е. Владимиров (Ленинград), И. И. Голодов (Ленинград), В. Е. Делов (Ленинград),
Е. К. Жуков (Ленинград), Н. В. Зимкин (Ленинград), В. С. Ильин (Ленинград),
С. П. Нарикашвили (Тбилиси), А. П. Полосухин (Алма-Ата),
А. В. Соловьев (Ленинград)

Отв. секретарь Ф. П. Ведяев (Ленинград)



ХАЧАТУР СЕРГЕЕВИЧ
КОШТОЯНЦ

*Настоящий выпуск журнала посвящается
выдающемуся физиологу нашей страны,
одному из основоположников эволюцион-
ной физиологии, члену-корреспонденту
АН СССР, академику АН Армянской ССР
профессору*

*ХАЧАТУРУ СЕРГЕЕВИЧУ
КОШТОЯНЦУ*

*в связи с 60-летием со дня рождения.
Редколлегия Физиологического журнала
СССР им. И. М. Сеченова сердечно по-
здравляет юбиляра и желает ему даль-
нейших творческих успехов в развитии
физиологической науки.*

ХАЧАТУР СЕРГЕЕВИЧ КОШТОЯНЦ

26 сентября 1960 г. исполняется 60 лет со дня рождения известного советского физиолога Х. С. Коштоянца.

Научную работу Х. С. Коштоянц начал в студенческие годы: его первая статья была опубликована в 1923 г. Пятилетняя работа в лаборатории проф. И. П. Разенкова, выдающегося ученика И. П. Павлова, а также на кафедре физиологии Московского университета, руководимой проф. А. Ф. Самойловым, имела большое значение в научном формировании Х. С. Коштоянца. В лаборатории Разенкова он выполнил ряд исследований по вопросам физиологии желудка и поджелудочной железы. Его данные по влиянию длительных пищевых режимов на секреторную деятельность желудка прочно вошли в физиологические сводки и руководства. Вместе с тем в эти годы уже выявился интерес Хачатуря Сергеевича к проблемам эволюции функций, нашедший выражение в его исследованиях, посвященных особенностям эмбриофизиологии регуляции пищеварительных желез.

С тех пор вот уже в течение трех десятилетий научные интересы Х. С. Коштоянца прикованы к проблемам эволюционной физиологии. В 1932 г. увидела свет его монография «Физиология и теория развития», которая явилась серьезным толчком к развитию эволюционной физиологии в нашей стране. Акад. Л. А. Орбели не раз подчеркивал большую роль Х. С. Коштоянца в закладке основ эволюционной физиологии. Существенное влияние на Хачатуря Сергеевича как ученого по сравнительной физиологии имела его работа в лаборатории проф. Г. Иордана в Голландии (1930—1931 гг.).

В 1930 г. Хачатур Сергеевич создал первую в СССР лабораторию сравнительной физиологии. С тех пор им опубликованы сотни научных работ и подготовлены многие десятки специалистов. Его ученики работают в различных научных учреждениях нашей страны и за рубежом.

Огромный фактический материал, добытый советской и зарубежной сравнительной физиологией, обобщен Х. С. Коштоянцем в монументальном руководстве «Основы сравнительной физиологии», первый том которого, посвященный вегетативным функциям, был опубликован в 1940 г. (2-е издание в 1950 г.), а второй том «Сравнительная физиология нервной системы» — в 1957 г. Экспериментальные исследования Хачатуря Сергеевича относятся к исследованию эволюции самых различных физиологических функций. Так, статьи, опубликованные им в 30-х годах, касались сравнительной и онтогенетической физиологии пищеварительного аппарата, физиологии гладкой мускулатуры моллюсков, осморегуляции у морских и пресноводных рыб и многих других вопросов. Определенные итоги работ в этом направлении освещены в монографии «О соотношении функций вегетативных и анимальных органов в свете их эволюции» (1937).

К концу 30-х годов интересы Х. С. Коштоянца в области эволюционной физиологии начинают концентрироваться вокруг проблемы эволюции

функций нервной системы. В ходе экспериментальной разработки этой проблемы вычленился ряд вопросов первостепенной важности.

В первую очередь здесь следует выделить исследования вопроса о филогенетическом источнике характерных структур и процессов, определяющих функциональную специфичность нервной клетки. Конкретно речь идет о том, какие элементарные свойства белковых структур, обладающих раздражимостью, легли в основу дальнейшей эволюции этих свойств. Эти исследования, проведенные на самых разнообразных объектах, значительно обогатили фактическую основу положения диалектического материализма о раздражимости и сократимости, как общих свойствах живого.

Опыты по изучению возбудимости, а также ритмической электрической активности у одноклеточных организмов привели Х. С. Коштоянца к выводу о том, что еще до морфологической дифференцировки нервной системы в филогенезе животных, на стадии безнервных организмов, появились и приобрели функциональное значение те биологические и биофизические явления, которые лежат в основе деятельности нервной системы.

В органической связи с названным направлением работ находятся исследования по выяснению другого вопроса — о конкретных путях участия белковых структур и энзимо-химических реакций в осуществлении нервного возбуждения. Исходя из медиаторной теории, и в известной степени в противовес ей, Х. С. Коштоянц сформулировал в 1937 г. свою энзимо-химическую гипотезу возбуждения. В отличие от медиаторной теории, в которой активному гуморальному агенту (типа ацетилхолина, адреналина и т. п.) отводилась роль передаточного звена между двумя системами, способными возбуждаться, он предложил рассматривать выделение такого агента в качестве одного из этапов непрерывного биохимического процесса, протекающего при непосредственном участии белков и ферментов и являющегося основой возбуждения (или торможения). Это был новый подход к пониманию нервных процессов. Возбуждение рассматривается здесь как реакция, протекающая с вовлечением всего белково-энзиматического содержимого протоплазмы; в этой реакции важное значение медиатора определяется тем, что он активно вторгается в биохимические процессы клетки и направляет метаболизм в ~~наружном~~ направлении, приводящем к внешним проявлениям возбуждения или торможения.

Исследования последних лет подтвердили правильность такого подхода.

Х. С. Коштоянцем и его сотрудниками было показано, что результат нервного влияния на эффектор определяется состоянием и направлением метаболических процессов как в иннервирующем аппарате, так и в исполнительном органе. Адресованное воздействие на эти процессы с помощью активных метаболитов и антиметаболитов помогло расшифровать некоторые детали сложной цепи процессов, лежащих в основе возбуждения и торможения. В частности, в руководимых им лабораториях большое внимание было уделено изучению роли реактивных групп белков (сульфгидрильных групп). Значительное число работ, относящихся к этому направлению, было подытожено в монографии Коштоянца «Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция», удостоенной Ломоносовской премии I степени.

Многолетняя работа Х. С. Коштоянца и коллектива его учеников заложила основу для исследований механизма действия медиаторов на молекулярном уровне, а также для исследований зависимости нервных процессов в рецепторах и центрах от состояния важнейших энзимо-химических систем: цикла лимонной кислоты, системы нуклеиновые кислоты — нуклеазы и другие.

Особое место в творчестве юбиляра занимают исследования по истории физиологии. Его монография «Очерки по истории физиологии в России» была в 1947 г. удостоена Сталинской премии.

В ряду русских физиологов прошлого И. М. Сеченов вызывал особый интерес и симпатию Х. С. Коштоянца. Возможно, это объясняется не только исключительным местом, которое занимает Сеченов в истории русской науки, но и тем, что в годы обучения Хачатура Сергеевича в Московском университете там преподавал физиологию ученик Сеченова проф. М. Н. Шатерников, прививший своим студентам безграничную любовь к памяти Сеченова. Увлекательная книга Коштоянца о Сеченове, выдержала много изданий на разных языках. Ряд специальных публикаций Хачатура Сергеевича по вопросам истории Физиологической науки помогает нашим современникам правильно понять условия и предпосылки тех или иных научных открытий и оценить роль их исследователей.

Х. С. Коштоянц неоднократно принимал участие в работах международных научных конгрессов и совещаний. Он являлся активным деятелем международных физиологических конгрессов, начиная с Римского конгресса 1932 г., и состоит членом Ассамблеи международных физиологических конгрессов, представляя в ней Советский Союз.

Исследования Х. С. Коштоянца получили широкое международное признание. Он избран членом научных организаций и обществ во многих странах мира (Венгрия, Индия, Финляндия, Франция, Чехословакия и др.).

С 1927 г. Х. С. Коштоянц состоит в рядах КПСС.

Хачатур Сергеевич относится к числу тех советских ученых, которые настойчиво и активно выступают по философским вопросам и в творчестве которых борьба за материализм в естествознании находит поддержку и опору непосредственно в экспериментальных исследованиях.

С юношеских лет, с 1917 г., Коштоянц принимает активное участие в общественной жизни страны, работая в различных партийных, профсоюзных и культурных организациях. В 1946—1950 гг. он был избран депутатом Верховного Совета СССР.

За свои исследования и работу по подготовке кадров Х. С. Коштоянц награжден орденом Ленина.

Х. С. Коштоянц член-корреспондент Академии наук СССР (с 1939) и действительный член Академии наук Армянской ССР (с 1943).

Советские физиологи, знающие и любящие Хачатура Сергеевича как одного из ярких представителей нашей науки, желают дорогому юбиляру многих лет жизни и новых творческих успехов.

Группа товарищей и учеников

Поступило 15 V 1960

РОЛЬ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА В ПРОЯВЛЕНИИ «ГРУППОВОГО ЭФФЕКТА» У РЫБ

Х. С. Коштоянц, Г. А. Малюкина и С. П. Александрюк

Кафедра физиологии животных и человека Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова

Рядом исследователей было показано, что в группе рыб интенсивность потребления кислорода и двигательная активность ниже, чем у изолированной особи (Bowen, 1931, 1932; Schuett, 1933, 1934; Shlaifer, 1938, 1939, 1940; Escobar, Minahan a. Shaw, 1936). Это явление было названо «групповым эффектом» (Schuett, 1934). «Групповой эффект» не в одинаковой степени свойственен рыбам разных видов. В частности, работами нашей лаборатории было показано, что у типично стайных рыб он ярко выражен, тогда как у рыб, ведущих одиночный образ жизни, «групповой эффект» отсутствует (Штефан, 1957).

Рядом исследователей было показано, что при повреждении или удалении у рыб переднего мозга стайные отношения нарушаются.

Сама операция удаления переднего мозга не вызывает нарушений ни в положении тела, ни в локомоциях; рыбы нормально плавают и питаются (Ferrier, 1879; Polimanti, 1912). Несколько снижается их возбудимость и подвижность (Janzen, 1933; Hesch, 1936). У рыб, лишенных переднего мозга, сохраняются условные рефлексy, связанные со зрением, вкусом, слухом и боковой линией (Strieck, 1925; Nolte, 1932; Малюкина, 1954; Бару, 1955; Карамян, 1956), утрачивается лишь обоняние (Strieck, 1925).

Однако, не влияя сколько-нибудь заметно на поведение отдельной особи, удаление переднего мозга оказывает значительное влияние на поведение рыбы в стае.

Так, Кумакуре (Kumakura, 1928) удалось показать, что золотые рыбки (*Carassius auratus*) в первые дни после удаления переднего мозга теряли способность плавать в стае.

В опытах Вибалька (Wiebalck, 1937) удаление переднего мозга вызвало рассыпание стаи у *Smaris alcedo* и *Box salpae*.

Удаление переднего мозга у колюшек (*Gasterosteus aculeatus*) ведет к нарушению сложного поведения при размножении: оперированные самцы не могут довести до конца постройку гнезда, бросают его, начинают строить новое и т. д.; защита потомства у них резко ослаблена, они менее агрессивны (Schönherr, 1954).

Понижение агрессивной реакции после обширных повреждений переднего мозга у ушастого окуня (*Lepomys cyanellus*) наблюдал также и Хейл (Hale, 1956).

Таким образом, рядом исследователей было показано, что удаление переднего мозга влечет за собой нарушение сложного поведения рыб (стайных отношений, поведения в нерестовый период и т. д.).

Однако все исследования, проводимые в этом направлении, заключали в себе лишь визуальные наблюдения за поведением стаи.

Учитывая, что рыбам, находящимся в группе, свойствен «групповой эффект», мы попытались использовать объективные методы измерения потребления кислорода и двигательной активности для выяснения роли переднего мозга в стайном поведении рыб.

Опыты по измерению скорости потребления кислорода нами проводились на 5 видах рыб: смаридах (*Smaris smaridis* L.), султанках (*Mullus barbatus* L.), гольянах (*Phoxinus phoxinus* L.), карасях (*Carassius carassius* L.) и бычках (*Gobius niger* L.).

В качестве респирационных сосудов использовались либо стеклянные цилиндры с притертыми крышками (опыты на смаридах и султанках), либо специальная респирационная камера (опыты на смаридах, бычках, гольянах и карасях).

Респирационная камера состояла из двух отделений: малого, емкостью в 2 л, куда помещалась 1 рыба, и большого, емкостью в 6 л, где содержалась группа от 4 до 7 рыб. Оба отделения герметически изолировались от атмосферного воздуха.

Время экспозиции подбиралось таким образом, чтобы снижение содержания кислорода к концу опыта не превышало 1/3 от исходного содержания его в воде. В наших опытах продолжительность экспозиции равнялась 1 часу. До и после этого времени методом Винклера устанавливалось содержание кислорода в воде и по разности вычислялось количество кислорода, потребленного рыбами. Опыты проводились приблизительно в одно и то же время суток. Температурные колебания не превышали 0.5° и всегда отмечались в протоколе.

Первоначальные измерения интенсивности потребления кислорода обычно проводились после 4—6-дневного выдерживания животных в сосудах и камере. За это время рыбы адаптируются к новой обстановке, у них устанавливается постоянный уровень обмена. При вынужденной пересадке рыб из одного сосуда в другой опыты проводились спустя 1.5—2 часа. В большинстве случаев животные не пересаживались и вынимались из сосудов лишь для операции. Кормление производилось один раз в сутки за 12—14 часов до начала эксперимента.

В перерывах между опытами вода в сосудах либо постоянно обновлялась (опыты на морских рыбах), либо аэрировалась (опыты на гольянах и карасях).

Скорость потребления кислорода в наших опытах выражалась в миллиграммах в час (мг/час), отнесенных к 1 г веса рыбы.

Измерения интенсивности обмена у одиночной рыбы и у группы рыб проводились одновременно.

Всего было поставлено 410 опытов: из них 222 — на смаридах, 62 — на султанках, 58 — на гольянах, 48 — на карасях и 20 — на бычках.

В связи с тем, что большинством авторов «групповой эффект» был установлен в основном для золотых рыбок (*Carassius auratus*), прежде чем приступать к исследованию роли переднего мозга в стайных отношениях, необходимо было убедиться в наличии «группового эффекта» у всех подопытных видов рыб.

Результаты опытов показали, что у смарид, султанок, гольянов и карасей количество кислорода, потребленного каждой рыбой в группе, меньше количества кислорода, потребленного изолированной особью, т. е. «групповой эффект» имел место во всех случаях. Наиболее ярко он был выражен у таких типично стайных рыб, как смарид (*Smaris smaridis* — 35.8%) и гольян (*Phoxinus phoxinus* — 31.3%).

Опыты на бычках (*Gobius niger*) показали, что у этих рыб, ведущих одиночный образ жизни, «групповой эффект» отсутствует. Более того, потребление O₂ особью в группе всегда превышало потребление одиночки.

С целью выяснения роли переднего мозга в стайных отношениях в хроническом опыте нами проводилось удаление полушарий переднего мозга у подопытных рыб. У рыбы, завернутой во влажную марлевую салфетку, в черепе, непосредственно над передним мозгом, вырезалось отверстие и ватным тампоном удалялась жировая масса, заполняющая пространство над мозгом. На границе между полушариями переднего мозга и промежуточным мозгом осторожно, чтобы не повредить промежуточного мозга, делался разрез. Затем впереди каждого полушария перерезались обонятельные тракты и оба полушария тонким пинцетом извлекались из черепа. В связи с тем, что морские рыбы (смарида, султанка) плохо переносят даже кратковременное пребывание на воздухе, в большинстве

опытов полушария не удалялись из черепа, а лишь подвергались разрушению. В этих случаях операция длилась не более 1 мин. Обычно рыбы

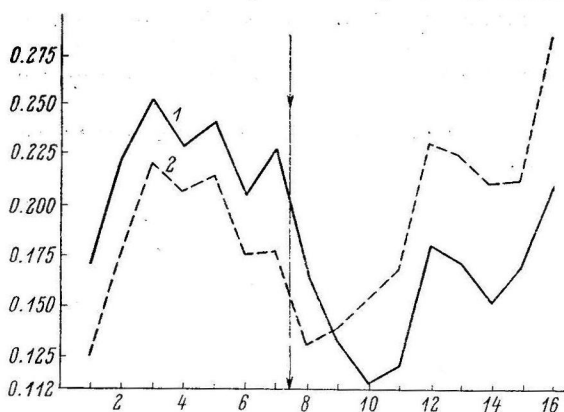


Рис. 1. Потребление O_2 изолированной особью (1, сплошная линия) и рыбой в группе (2, пунктирная линия) до и после удаления у них переднего мозга.

По оси ординат — потребление O_2 в мг/час; по оси абсцисс — дни опытов. Стрелка — день операции. (Кривые на рис. 1, 2, 4 преобразованы методом подвижной средней).

ния интенсивности обмена у изолированной особи, так и за счет повышения потребления кислорода в группе оперированных рыб.

В литературе имеются указания на то, что стая золотых рыбок, рассыпавшаяся после удаления переднего мозга, вновь собирается спустя 2—8 дней (Kumakura, 1928). В связи с этим можно было предположить, что через несколько дней после разрушения полушарий переднего мозга «групповой эффект» вновь восстановится.

Для проверки этого предположения нами были проведены опыты по измерению потребления кислорода у смарид в течение 12 дней после разрушения у них переднего мозга (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что «групповой эффект» не только не восстанавливается со временем, а, напротив, обратные отношения в потреблении O_2 , наступившие в результате операции, со временем возрастают.

Это хорошо согласуется с визуальными наблюдениями, проведенными Вибальком (Wiebalck, 1937), который показал, что стаи *Smaris alcedo* и *Vox salpae* рассыпаются после удаления у рыб переднего мозга.

Удаление переднего мозга сопровождается разрушением первичных обонятельных центров. В связи с этим можно было предположить, что исчезновение «группового эффекта» у оперированных рыб связано с выключением у них обоняния. С этой целью нами были предприняты опыты с выключением обонятельной рецепции путем прижигания, затыкания ноздрей или перерезкой обонятельных трактов.

хорошо переносили удаление переднего мозга. Спустя 2—3 часа после операции они нормально плавали и питались. Измерения потребления кислорода возобновлялись обычно спустя 18—20 часов.

Как показали опыты на смаридах, разрушение переднего мозга привело к тому, что потребление кислорода изолированной рыбой снизилось в среднем с 0.190 до 0.158 мг/час, а в группе возросло с 0.122 до 0.173 мг/час, т. е. «групповой эффект» исчез (рис. 1). Подобные результаты были получены нами на султанках, гольянах и карасях.

Таким образом, удаление переднего мозга влечет за собой исчезновение «группового эффекта» как за счет пониже-

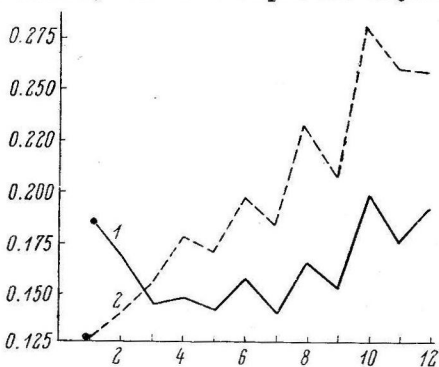


Рис. 2. Потребление O_2 у смарид.

Обозначения те же, что и на рис. 1. 1. Кривая — среднее потребление O_2 интактными рыбами. Объяснения в тексте.

В качестве примера приводим результаты опытов, проведенных на смаридах. Предварительно были проделаны измерения потребления кислорода у одиночной интактной смариды и у группы интактных рыб. Результаты этих опытов приведены на рис. 3, а. Среднее потребление кислорода изолированной смаридой составило в этих опытах 0.255 мг/час, а каждой рыбой в группе — 0.166 мг/час.

Убедившись в наличии четко выраженного «группового эффекта», мы произвели разрушение обонятельной рецепции прижиганием ноздрей. Через 18 часов после этой операции измерения интенсивности потребления O_2 возобновились. Как видно на рис. 3, б «стайный эффект» у смарид не исчез и не уменьшился. Для получения полной уверенности в выключении обонятельной рецепции мы предприняли опыты с перерезкой обонятельных трактов. Перерезка обонятельных трактов производилась острым скальпелем непосредственно перед полушариями переднего мозга. Оперированные животные помещались в сосуд с хорошим протоком воды. Спустя 18 часов измерения потребления O_2 возобновлялись.

Как показали данные этих измерений (рис. 3, в), «групповой эффект» у этих рыб сохранился: изолированная смарида потребляла в среднем 0.265 мг O_2 на г/час, а в группе — 0.185 мг.

Спустя 4 дня у этих рыб было произведено полное удаление обоих полушарий переднего мозга. Измерение потребления кислорода показали, что «групповой эффект» после операции исчезает. Так, среднее потребление O_2 изолированной смаридой составило 0.163 мг/час, тогда как каждая рыба в группе потребляла 0.205 мг/час (рис. 3, г).

Таким образом, исчезновение «группового эффекта» при удалении переднего мозга, не связано с выключением первичных обонятельных центров.

Параллельно с измерением потребления O_2 нами систематически проводились визуальные наблюдения за двигательной активностью подопытных рыб.

Оказалось, что изоляция влечет за собой значительное повышение двигательной активности рыбы, что, по-видимому, связано с увеличением количества ориентировочных реакций при изоляции стайной рыбы. В группе животные обычно гораздо спокойнее, менее подвижны. Удаление переднего мозга ведет к тому, что оперированная изолированная рыба становится малоподвижной, в то время как двигательная активность оперированных особей в группе резко возрастает.

Не ограничиваясь визуальными наблюдениями, мы провели опыты с регистрацией двигательной активности интактных, а затем оперированных смарид, голянов и карасей. Регистрация двигательной активности производилась различными способами.

В опытах на смаридах применялась графическая регистрация. Рыба за спинной плавник прикреплялась к капсуле Маррея, и с помощью системы воздушной передачи ее движения регистрировались на кимографе. Однако этот метод давал возможность судить только о качественных изменениях активности, тогда как способ, примененный нами в опытах на голянах и карасях, позволил сделать и количественные измерения двигательной активности.

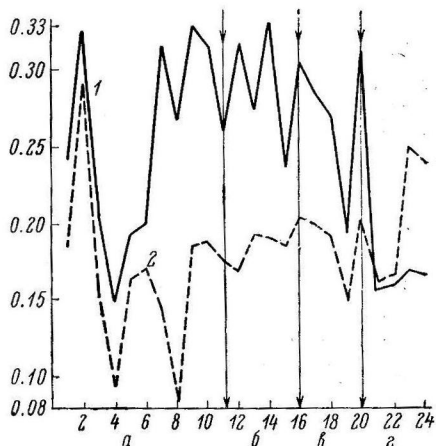


Рис. 3. Потребление O_2 у смарид.

Обозначения те же, что и на рис. 1. Объяснения в тексте.

Для регистрации применялась плексигласовая камера, разделенная «светонепроницаемой перегородкой на две неравные части. В меньшую часть помещалась одна рыба, в большую — группа из 6—7 рыб. Сверху над камерой подвешивались стеклянные капилляры. Каждый капилляр в верхней части оканчивался металлическим стерженьком. Стерженьки всех капилляров были пропущены сквозь отверстия горизонтальной металлической планки. Это устройство включалось в электрическую цепь. Расстояние между капиллярами подбиралось таким образом, что при лю-

бом движении рыба, касаясь одного из них, приводила его в колебание, и электрическая цепь замыкалась.

В качестве регистрирующего прибора использовались счетчики АТС, устройство которых таково, что каждое замыкание в электрической цепи фиксировалось цифрами на его шкале.

Как показали опыты, двигательная активность интактной изолированной рыбы почти в 2 раза выше, чем у каждой особи в группе. Причем у таких типично стайных рыб, как гольяны, разница в двигательной активности составляет 68.9%, в то время как у карасей лишь 38.5%.

Уменьшение двигательной активности у рыб в группе можно

объяснить «успокаивающим» действием стаи за счет снижения ориентировочных реакций.

Удаление переднего мозга у этих рыб вызывает резкое снижение двигательной активности изолированной особи (рис. 4).

Однако оперированные рыбы не утрачивают способности к высокой двигательной активности; так, двигательная активность в группе очень велика (рис. 4).

Таким образом, удаление переднего мозга приводит к снижению двигательной активности одиночки, тогда как в группе двигательная активность значительно возрастает. Видимо, группа оказывает теперь на оперированную рыбу скорее «раздражающее», нежели «успокаивающее» влияние.

Такое же «раздражающее» действие оказывает, по-видимому, группа и на рыб, которым не свойствен стайный образ жизни. Так, опыты на бычках показали, что у сгруппированных интактных рыб резко повышено потребление O_2 и двигательная активность по сравнению с одиночной особью.

Наблюдения за изолированными рыбами показали, что удаление переднего мозга у них сопровождается снижением частоты движения глаз и оперкулярных движений в единицу времени.

ВЫВОДЫ

1. Рыбам, ведущим стайный образ жизни, свойствен «групповой эффект», а именно: в группе рыб интенсивность потребления кислорода и двигательная активность ниже, чем у изолированной особи. У бычков, ведущих одиночный образ жизни, «группового эффекта» не наблюдается.

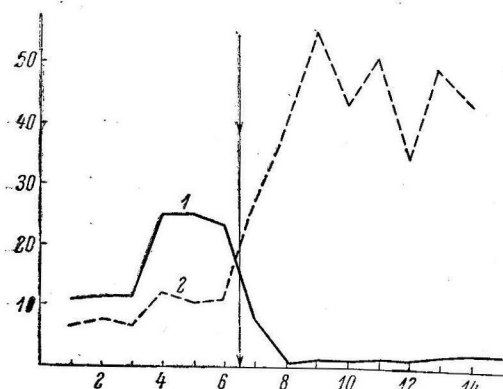


Рис. 4. Двигательная активность у изолированного гольяна (1) и у рыбы в группе (2) до и после удаления у них переднего мозга.

По оси ординат — показания счетчика.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

2. Удаление переднего мозга приводит к исчезновению «группового эффекта» как за счет понижения потребления кислорода изолированной особи, так и за счет увеличения интенсивности потребления кислорода у каждой рыбы в группе. Двигательная активность у изолированной особи после удаления переднего мозга понижалась, двигательная активность в группе — возрастала.

3. Исчезновение «группового эффекта» не связано с удалением первичных обонятельных центров, расположенных в переднем мозге.

Таким образом, полученные результаты дают основание полагать, что передний мозг играет значительную роль в стайных отношениях у рыб.

ЛИТЕРАТУРА

- Бару А. В. В кн.: Вопросы сравнительной физиологии и патологии высшей нервной деятельности. Медгиз, 1955.
- Карамян А. И. Эволюция функций мозжечка и больших полушарий. Медгиз, 1956.
- Малюкина Г. А. Материалы по физиологии анализаторов боковой линии рыб. Дисс. МГУ, 1954.
- Штефан М. Сравнительно физиологическое исследование группового эффекта у рыб. Дисс. МГУ, 1957.
- Bowen E. S., *Ecolog. Monographs.*, 1, 3, 35, 1931; *Biol. Bull.*, 63, 258, 1932.
- Cateten., Y., *Erg. Biol.*, 11, 335, 1935.
- Escobar R., R. Minahan, R. Shaw, *Physiol. Zool.*, 9, № 1, 566, 1936.
- Ferrier D. *Die Funktionen des Gehirns.* Braunschweig, 1879.
- Hale E. B., *Physiol. Zool.*, 29, № 2, 107, 1956.
- Hosch L., *Zool. Jahrb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.*, 57, 57, 1936.
- Janzen W., *Zool. Jahrb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.*, 52, 591, 1933.
- Kumakura S. Цит. по: Cateten. Y., 1935.
- Nolte W., *Zs. vergl. Physiol.*, 18, № 2, 255, 1932.
- Polimanti O. Цит. по: Cateten., Y., 1935.
- Schlaifer A., *Physiol. Zool.*, 11, 864, 408, 1938; 12, № 4, 381, 1939; *Ecology*, 21, 488, 1940.
- Schöner L. *Zool. Jahrb., Abt. allg. Zool. u. Physiol.*, 65, № 4, 357, 1954.
- Schuett F., *Ecology*, 14, 106, 1933; 15, 258, 1934.
- Strieck F., *Zs. vergl. Physiol.*, 2, № 2, 122, 1924 (1925).
- Wiebalck U., *Zool. Anz.*, 117, 325, 1937.

Поступило 15 V 1960

RÔLE OF THE FOREBRAIN IN THE «GROUP EFFECT» IN FISH

By Kh. S. Koshtoiants, G. A. Maliukina and S. P. Alexandriuk

From the Chair of animal physiology, Lomonosov State University, Moscow

To fish gathering in shoals the group effect is proper, namely: the consumption of O_2 and the motoractivity in fishes of the group is lower, than in the isolated species.

The rôle of the forebrain in the group effect was investigated on two species of the Black Sea fish (*Smaris smar* L., *Mullus barbatus* L.) and on two species of the fresh-water fish (*Carassius carassius* L. and *Phoxinus phoxinus* L.). It was shown that excision of the forebrain leads to the disappearance of the group effect: consumption of O_2 and the motor activity increase in fishes of the shoal and decrease in the isolated specimen.

Bearing in mind that excision of the forebrain involves destruction of the primary olfactory centres, chronic experiments were performed with dissection of the olfactory paths and cauterization of the nostrils. Measurements of the O_2 consumption in fishes deprived of smell proved that disappearance of the group effect does not depend on the destruction of the primary olfactory centres. The results obtained permit to emphasize the rôle of the forebrain in the shoal relationships in fish.

АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА ЭФФЕКТА ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ НЕРВНОМЫШЕЧНОГО ПРИБОРА НАСЕКОМЫХ

И. В. Чудакова

Кафедра физиологии животных и человека Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Исследования последних 20 лет, посвященные изучению строения, функции и обмена нервной и мышечной систем насекомых, обнаружили наряду с закономерностями, общими с позвоночными животными, целый ряд специфических отличий. К числу особенностей деятельности нервно-мышечной системы насекомых относится феномен множественных сокращений крыловых и тимбалльных мышц, возникающих в ответ на одиночный моторный импульс (Pringle, 1949, 1957; Roeder, 1951). Своеобразную реакцию длительного последствия на крыловых мышцах некоторых насекомых (представителей отрядов чешуекрылых и прямокрылых) обнаружила А. К. Воскресенская (1947, 1950, 1959), которая считает, что для проявления этой реакции является необходимым совместное участие соматической и вегетативной нервных систем, иннервирующих крыловую мускулатуру.

В работе, выполненной в нашей лаборатории (Чудакова, 1950), удалось показать с помощью метода осциллографической регистрации токов действия нервов и мышц длительную электрическую активность нервной и мышечной систем после прекращения раздражения нервного прибора. В этой работе было показано также необходимое участие ганглиозных элементов в возникновении указанной длительной электрической активности. При рефлекторной стимуляции ганглиозных элементов 3-го грудного ганглия удалось зарегистрировать длительную электрическую активность как нервно-мышечного прибора крыла, так и метаторакальных ног азиатской саранчи.

В настоящей работе проводится дальнейший анализ механизма возникновения следовой ритмической активности нервно-мышечного прибора метаторакальной ноги саранчи.

Из работ ряда авторов (Ewer, Ripley, 1953; Pringle, 1939) и из наших опытов следует, что в условиях предварительного нарушения связи нервных стволов с 3-м грудным ганглием раздражение нервов, иннервирующих ногу саранчи или таракана, вызывает обычный ответ нервно-мышечного прибора без каких бы то ни было следовых явлений. Из этого, конечно, не следует, что следовая ритмическая активность нервно-мышечного прибора ног насекомого всецело формируется в ц. н. с., а периферические образования не играют в этом явлении никакой роли. Известно, что у насекомого в нормальных условиях центральная и проприоцептивная стимуляция могут обеспечить длительную ходьбу в ответ на короткое раздражение (Pringle, 1940). В условиях наших опытов (Чудакова, 1960) воз-

никновение последействия можно было бы представить себе следующим образом: кратковременное раздражение электрическим током брюшной нервной цепочки → возбуждение восходящих афферентных аксонов → возбуждение мотонейронов конечностей → возбуждение и сокращение мышц конечностей → раздражение колокольчиковообразных сенсилл (или других чувствующих образований, реагирующих на мышечное сокращение) → афферентные стимулы от этих рецепторов в 3-й грудной ганглий → возбуждение мотонейронов конечностей и т. д.; таким образом мог бы иметь место длительный время не затухающий цикл. Можно предположить, что аналогичные рефлексy с мышц антагонистов, а также других конечностей, включаясь в этот цикл, влияют на его длительность, так как известно большое значение для координированных движений афферентного притока, поступающего по межсегментарным путям (Gray, 1950; Hughes, 1957, 1958). Проблема в целом требует дальнейших исследований; в настоящем сообщении приводятся результаты опытов по выяснению источника реакции последействия и роли афферентации.

МЕТОДИКА

Опыты проводились с октября 1959 г. по март 1960 г. на имаго азиатской саранчи *Locusta migratoria* L.

У насекомого удаляли голову, затем его фиксировали на подвижном столике бинокулярной лупы спинной стороной вверх; фиксацию ног производили в бедренном суставе с помощью пластилина; основания крыльев закрепляли булавками. Для вскрытия полости тела по средней линии брюшка и грудных сегментов производили сплошной разрез, затем удаляли кишечник и половые органы. Обнажали 3-й грудной ганглий и перерезали непарный нерв в месте выхода его из ганглия. В работе использовался солевой раствор для насекомых следующего состава: NaCl — 9 г, CaCl₂ — 0.2 г, KCl — 0.2 г, NaHCO₃ — 0.02 г, NaH₂PO₄ — 0.01 г на 1 л раствора.

Раздражающие серебряные электроды подводили под брюшную нервную цепочку в положение А на рис. 1. Для раздражения использовались прямоугольные толчки тока длительностью 1 мсек. с частотой 30 периодов в 1 сек. от стимулятора типа ГРАХ-1.

Для регистрации токов действия нерва служили платиновые электроды (рис. 1, В), подводившиеся с помощью микроманипулятора под нижнюю более толстую ветвь нерва N₃ (обозначение по Ивановой, 1956), иннервирующего метаторакальную конечность. Токи действия мышц голени отводили с помощью тонких металлических электродов, вкалывающихся через хитин.

Регистрация токов действия производилась с помощью двухканальной усилительной установки, собранной по схеме Л. И. Чудакова, с выходами на шлейфы № 4 осциллографа МПО-2. Сопротивление входа усилителя 0.5 мом. Усилители собраны по двухтактной схеме. Использовалась полоса частот от 60 до 2000 гц.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-й серии опытов была поставлена задача выяснить, какое влияние оказывают рефлексy с других конечностей на протекание реакции последействия нервно-мышечного прибора метаторакальной ноги. Раньше (Чудакова, 1960) было показано, что при одновременной перерезке непарного нерва у места выхода его из ганглия и коннектив, соединяющих

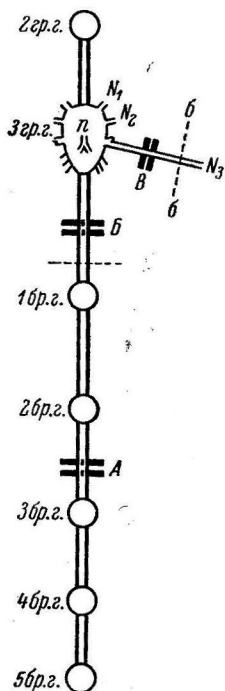


Рис. 1. Схема пре-апарата.

гр. г. — грудной ганглий; бр. г. — брюшной ганглий; N₁—N₃ — соматические нервы; n — непарный нерв. Перерезка обозначена пунктиром б-б. Остальные обозначения в тексте.

между собой 3-й и 2-й грудные ганглии, не происходит существенного изменения в характере последствия нервно-мышечного прибора ноги. Из этого факта можно было сделать предварительный вывод, что рефлексоторные афферентные влияния, поступающие в 3-й грудной ганглий по межсегментарным путям с вышележащих грудных сегментов, не причастны к процессу формирования реакции последствия в метаторакальной конечности.

В настоящей работе этот факт подтвердился в условиях более строгой постановки опыта, а именно: перерезка стволов непарного нерва производилась до начала опыта, а не одновременно с перерезкой коннектив между 3-м и 2-м грудными ганглиями. Опыт шел в следующем порядке: после получения устойчивой реакции последствия (рис. 2, а, а') перерезались коннективы между 3-м и 2-м грудными ганглиями. В течение 20—25 мин. после этого каждые 5 мин. проверялась устойчивость реакции последствия (рис. 2, б, б'), затем производилась перерезка нервов, отходящих от 3-го грудного ганглия (кроме ветви N_3 , лежащей на электродах); эта перерезка обычно также не оказывала существенного влияния на величину и характер реакции последствия (рис. 2, в, в'). Таким образом, интенсивность и длительность реакции последствия в одной конечности не связаны с афферентными влияниями, поступающими в 3-й грудной ганглий со стороны других конечностей.

Остается возможным участие афферентных импульсов с проприоцептивных образований той же конечности, поддерживающих в ней длительный процесс возбуждения после прекращения раздражения. Для проверки этого предположения были поставлены опыты по следующей более простой форме. После препаровки, производимой в обычной последовательности, брюшную цепочку перерезали над 1-м брюшным ганглием. Раздражающие электроды ставили в положение В (рис. 1). Перерезали коннективы, идущие ко 2-му грудному ганглию, и все нервы (кроме ветви нерва N_3 , лежащей на отводящих электродах), отходящие с обеих сторон 3-го грудного ганглия. Регистрировали нормальную реакцию последствия на нервно-мышечном приборе (рис. 3, а, а'), затем нерв N_3 перерезали дистальнее отводящих электродов. Последующие раздражения вызывали на нерве обычную реакцию последствия (рис. 3, б, б'). Следует отметить, что после названной перерезки характер протекания последствия на нервном стволе обычно несколько изменялся в сторону небольшого укорочения реакции последствия и увеличения амплитуды токов действия нерва, что, вероятно, можно объяснить прекращением притока в ганглий афферентной импульсации от рецепторов конечности. Однако сам факт сохранения реакции последствия, хотя и в несколько видоизмененной форме, после прекращения возможности текущего афферентного притока в грудной ганглий заставляет признать, что местом возникновения реакции последствия являются элементы ц. н. с., в данном случае 3-го грудного ганглия, изолированного от других органов.

Чтобы выяснить, является ли реакция последствия специфической для деятельности 3-го грудного ганглия или она свойственна также другим элементам ц. н. с., была проведена небольшая серия опытов на изолированной брюшной нервной цепочке. Раздражающие электроды (А) и отводящие (В) подводили под коннективы между 1-м и 2-м брюшными ганглиями (рис. 4, а). Записывали фон (рис. 4, б), затем наносили раздражение, во время которого с отводящих электродов регистрировали токи действия. Оказалось, что после прекращения раздражения в течение 3—4 сек. протекает реакция последствия (рис. 4, б'). После перерезок коннектив в местах, обозначенных на рис. 4, а, на электродах оставался изолированный участок коннектив, лишенный связей с ганглиями. В ответ на последующее раздражение коннектив в них возникали токи действия

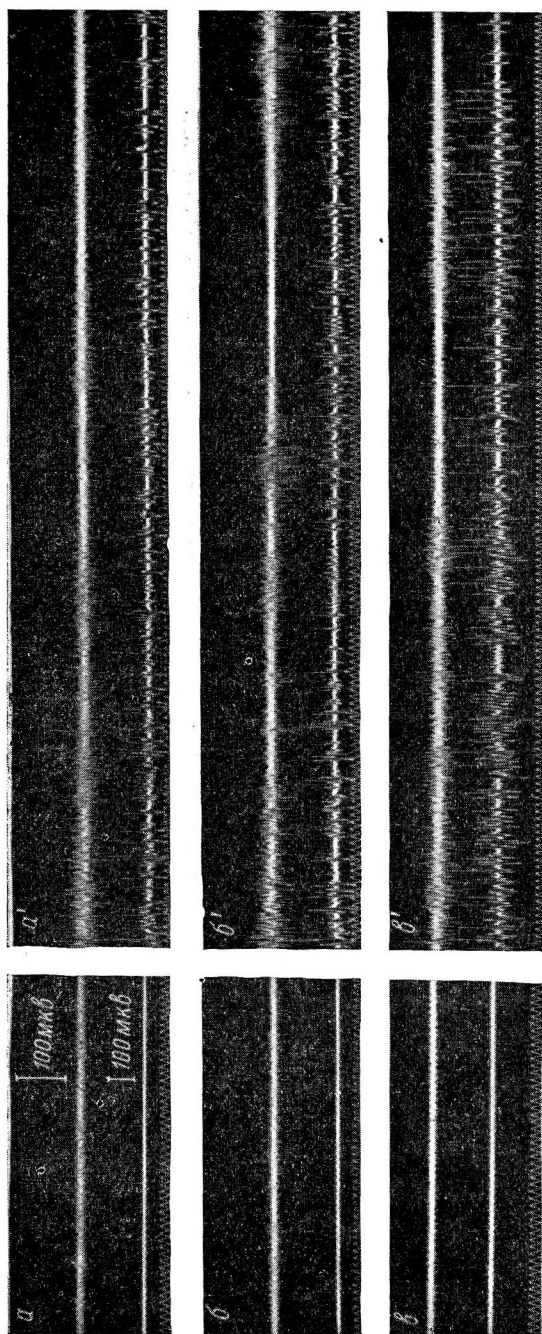


Рис. 2. Влияние афферентной стимуляции с грудных сегментов на следовую ритмическую активность нервно-мышечного прибора метаторакальной ноги.

а — фон, а' — последствие; б — фон, б' — последствие после перерезки коннектив между 2-м и 3-м грудными ганглиями; в — фон, в' — последствие после перерезки всех нервов (кроме ветви нерва N₃), отходящих от 3-го грудного ганглия. Сверху вниз: запись токов действия нерва N₄, иннервирующего метаторакальную конечность, разгибателя лапки, отметка времени (50 гц).



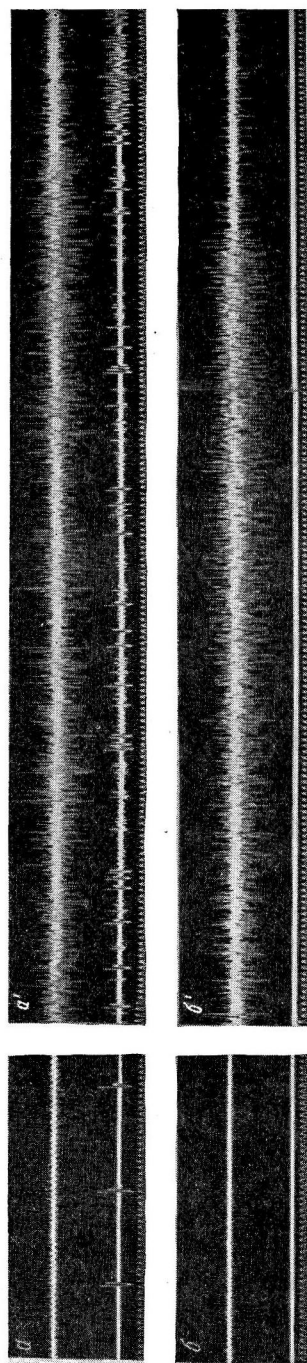


Рис. 3. Зависимость реакции последствия в нерве метоторакальной ноги от афферентных импульсов с проприоцепторов той же конечности.

a — фон, *a'* — последствие; *б* — фон, *б'* — последствие после перерезки нерва дистальнее отводящих электродов *B* (на рис. 1 перерезка обозначена пунктиром *б—б'*).

Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

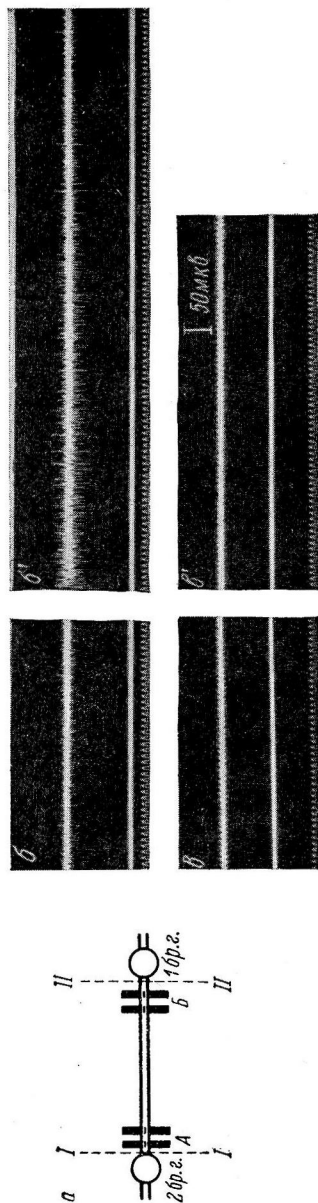


Рис. 4. Последствие на изолированной брюшной нервной цепочке.

a — схема расположения раздражающих (*A*) и отводящих (*B*) электродов; *бр. з.* — брюшной ганглий; *б* — фон, *б'* — последствие; *б* — фон, *б'* — последствие после перерезки обозначенных пунктирами *I—I* и *II—II*. Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

только во время стимуляции, после прекращения которой реакции последействия не наблюдается (рис. 4, в, в').

Из этих опытов можно сделать вывод, что реакция последействия характерна для возбуждения ганглиев нервной цепочки насекомого. В этом, вероятно, проявляется еще один из общих принципов деятельности ц. н. с. беспозвоночных и позвоночных животных.

ВЫВОДЫ

1. В условиях рефлекторной стимуляции клеток 3-го грудного ганглия регистрировался феномен последействия на нервно-мышечном приборе метаторакальной ноги азиатской саранчи.

2. Методом перерезок коннектив и нервов установлено, что рефлекторные афферентные влияния с межсегментарных путей вышележащих грудных сегментов, а также с противоположной стороны данного сегмента не оказывают существенного влияния на характер реакции последействия.

3. В ответ на кратковременную стимуляцию со стороны восходящих чувствительных путей в нервных элементах 3-го грудного ганглия возникает длительная (длящаяся несколько секунд после прекращения раздражения) импульсная активность. В пределах времени эксперимента афферентные влияния с исследуемой конечности не обязательны для возникновения и устойчивости данного феномена, хотя их выключение несколько видоизменяет характер импульсной активности нервов и мышц в последействии.

4. Реакция последействия наблюдалась помимо 3-го грудного ганглия в других ганглиях брюшной нервной цепочки саранчи.

ЛИТЕРАТУРА

- Воскресенская А. К., Физиол. журн. СССР, 33, № 3, 381, 1947; 36, № 2, 176, 1950; Функциональные свойства нервно-мышечного прибора насекомых. Изд. АН СССР, М.—Л., 1959.
- Иванова Т. С., Энтомолог. обзор., 35, № 4, 782, 1956.
- Чудакова И. В., Журн. общ. биол., 21, № 1, 77, 1960.
- Ewer D. W., S. H. Ripley, Journ. Exp. Biol., 30, № 2, 170, 1953.
- Gray, Symp. Soc. Exp. Biol., № 4, 112, 1950.
- Hughes G. M., Journ. Exp. Biol., 34, № 3, 306, 1957; 35, № 3, 567, 1958.
- Pringle J. W. S., Journ. Exp. Biol., 16, № 2, 220, 1939; 17, № 1, 8, 1940; Journ. Physiol., 108, № 2, 226, 1949; Insect Flight. Cambr. Univ. Press., 1957.
- Roeder K. D., Biol. Bull., 100, № 1, 95, 1951.

Поступило 12 IV 1960

ANALYSIS OF THE AFTER-EFFECT MECHANISM OF THE NEUROMUSCULAR APPARATUS IN THE INSECTS

By I. V. Chudakova

From the Chair of animal and human Physiology, Lomonosov State University, Moscow

АНАЛИЗ ПРИРОДЫ СЛЕДОВЫХ РИТМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ ПРИБОРЕ КРЫЛА НАСЕКОМЫХ (*LOCUSTA MIGRATORIA*)

А. К. Воскресенская и В. Л. Сви́дeрский

Институт эволюционной физиологии им. И. М. Сеченова АН СССР, Ленинград

Крыловые мышцы насекомых, в особенности фибриллярные не прямые летательные мышцы высших насекомых, среди поперечнополосатых скелетных мышц всеми исследователями выделяются в особую группу мышц, отличающуюся как по структуре, так и по функциональным свойствам. Эти мышцы называются иногда «высокочастотными» мышцами в силу того, что специализация их функций направлена в сторону обслуживания частых вибраций крыльев.

Нашими прежними исследованиями (Воскресенская, 1947, 1950, 1959) было показано, что крыловые мышцы саранчи и некоторых чешуекрылых являются типичными нетоническими мышцами, целиком подчиненными в своей деятельности нервному импульсу. Было показано также, что наиболее характерной чертой крыловых мышц этих насекомых являются следовые ритмические сокращения, возникающие после прекращения раздражения нервного прибора и продолжающиеся десятками секунд.

Природа этих следовых реакций исследовалась нами ранее в миографической методике при регистрации механической реакции крыловых мышц. Было показано, что следовые ритмические сокращения в крыловых мышцах саранчи *Locusta migratoria* осуществляются лишь при условии целостности и нормальной функции системы симпатического непарного нерва, который является аналогом симпатических нервов позвоночных животных по структуре, функции и по химической природе его влияний. На основании этих исследований было высказано предположение, подтвержденное различными косвенными экспериментами, что эти следовые ритмические реакции летательных мышц имеют центральное нейрогенное происхождение.

Материалы наших последних исследований (Воскресенская и Сви́дeрский), проведенных на тимбальных мышцах цикад, позволяют предполагать, что развитие следовых ритмических реакций нейрогенного происхождения составляет основу специализации функций так называемых «высокочастотных» мышц насекомых, обслуживающих частые вибрации крыльев или органа, производящего звук, у цикад. У высших насекомых эти следовые ритмические реакции приобретают еще более своеобразный характер.

Между тем в зарубежной литературе (Pringle, 1949, 1954, 1957; Roeder, 1951) за последние годы обсуждается наличие миогенных ритмических реакций в крыловых мышцах насекомых. Поэтому нам представлялось важным в прямом опыте с применением электрофизиологической методики показать центральную природу изучаемых нами следовых ритмических реакций и роль симпатической нервной

системы в их осуществлении в наиболее простом примере — в крыловых мышцах прямокрылого (азиатской саранчи), что и явилось задачей настоящей работы.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на имаго азиатской саранчи (*Locusta migratoria*). Саранча выводилась из яиц и выращивалась в лаборатории при температуре 30—35°. Для опытов употребляли насекомых в хорошем функциональном состоянии, не менее чем через 10 дней после окрыления. Саранчу укрепляли на пробковой пластинке спинной стороной вверх, удаляли голову, вскрывали брюшко и грудь продольным разрезом по средней линии спинной стороны. Удаляли пищеварительную трубку, обнажали нервную цепочку.

Препарат помещали в экранированную камеру. К третьему грудному ганглию (метаторакальному) при помощи микроманипулятора с двух сторон подводили тонкие платиновые электроды диаметром 0.3 мм, снабженные специальным устройством, дающим возможность после прекращения раздражения переключать их для отведения потенциалов. Раздражение ганглия осуществляли электронным стимулятором. Применяли прямоугольные импульсы постоянного тока. В предварительных опытах определяли оптимальную частоту, амплитуду и длительность раздражающих импульсов для следовых реакций каждой мышцы заднего крыла. В большинстве случаев в наших опытах применялись импульсы амплитудой в 3 в, длительностью в 1 мсек., с частотой 70—80 в 1 сек. При этих условиях раздражения следовые ритмические электрические реакции в мышцах заднего крыла продолжались от 25 до 70—80 сек., а визуально наблюдаемые следовые сокращения совпадали с наличием двухфазных высокоамплитудных потенциалов в мышце и продолжались в среднем около 10 сек.

Для отведения мышечных потенциалов применяли тонкие стальные электроды, которые вводили в исследуемую в данном опыте мышцу. Исследовали мышцы заднего крыла — 1-й и 2-й пронатор-экстензор и депрессор-экстензор по Снодграссу (Snodgrass, 1929). Потенциалы действия мышц и ганглия регистрировали при помощи шлейфного осциллографа типа МПО-2. Использовался четырехканальный усилитель переменного тока с симметричным входом с частотной характеристикой в пределах от 0.2 до 3000 гц и с входным сопротивлением 500 ком.

Было показано ранее, что мышцы заднего крыла азиатской саранчи получают двигательную иннервацию из 3-го грудного ганглия по 2-й и 3-й паре соматических нервов. По ходу этих нервных стволов они включают в себя веточки непарного вентрального (симпатического) нерва из 1-го и 2-го сплетения этого нерва в данном сегменте тела (Воскресенская, 1950; Иванова, 1956). Симпатическая нервная система непарного нерва у саранчи видна только при окраске препарата метиленовой синью и при соответствующем увеличении под бинокулярной лупой. После каждого опыта контролировали целостность или локализацию разрушения всех нервных связей, а также уточняли место установки раздражающих и отводящих электродов под микроскопом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во время раздражения ганглия электрические ответы в крыловой мышце точно воспроизводят ритм раздражения. На рис. 1 представлена запись потенциалов действия мышцы 1-го пронатора-экстензора во время раздражения ганглия. Каждый импульс, подаваемый с нерва, сопровождается в мышце одним двухфазным потенциалом с амплитудой 2.5 мв и длительностью 5—10 мсек. Сразу после прекращения раздражения как в крыловой мышце, так и в ганглии регистрируются следовые ритмические потенциалы, которые протекают синхронно и точно соответствуют заданной частоте раздражения (80 в 1 сек.). Амплитуда следовых потенциалов в этот период в мышце равняется 1.5—2.5 мв, в ганглии — 0.5—1.0 мв. Таким образом, в первые секунды после прекращения раздражения отношение ритма следовых электрических реакций в ганглии и в крыловой мышце азиатской саранчи равняется 1 : 1 (рис. 2, б).

Ритм потенциалов в ганглии не изменялся до конца следовой реакции, амплитуда же ганглионарных следовых потенциалов на 3-й сек. после прекращения раздражения резко уменьшалась до 0.3—0.2 мв, и затем ганглионарные следовые потенциалы по величине и ритму оставались постоянными до полного прекращения следовой ритмической активности.

Следовые потенциалы в крыловых мышцах, постепенно уменьшаясь по амплитуде до 1.0—1.5 мв, начиная с 3—4 сек. после прекращения раздражения урежались в ритме, постепенно отставая от ритма следовых потенциалов ганглия. Примерно к 10-й сек. после прекращения раздражения отношение ритма ганглионарных потенциалов к мышечным становилось равным 2 : 1 (рис. 2, в). К этому же времени обычно прекращалась

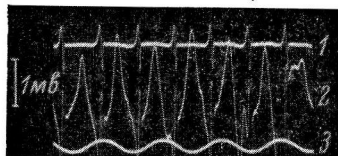


Рис. 1. Потенциалы действия крыловой мышцы (1-й пронактор-экстензор) азиатской саранчи во время раздражения ганглия (2).

1 — отметка раздражения, 3 — отметка времени (50 гц).

и визуально наблюдаемая механическая следовая реакция в крыловых мышцах в виде ритмических сокращений. В дальнейшем отставание ритма следовой активности продолжало нарастать, для одного мышечного потенциала требовалось несколько разрядов в ганглии (рис. 2, г). К концу следовой реакции это отношение ритмов в ганглии и в крыловой мышце доходило до 20 : 1 и даже до 40 : 1, т. е. при сохранении активности ганглия в заданном ритме 80 в 1 сек. в крыловой мышце регистрировалось всего 2 следовых потенциала в 1 сек. Вслед за этим в мышце появлялся обычно ряд редких потенциалов, после чего наступал покой. После

этого и ритмическая деятельность ганглия уравнивалась с фоном его активности до раздражения.

Расхождение ритмов следовой активности в грудном ганглии и в крыловых мышцах у саранчи по ходу следовой ритмической реакции графически представлено на рис. 3.

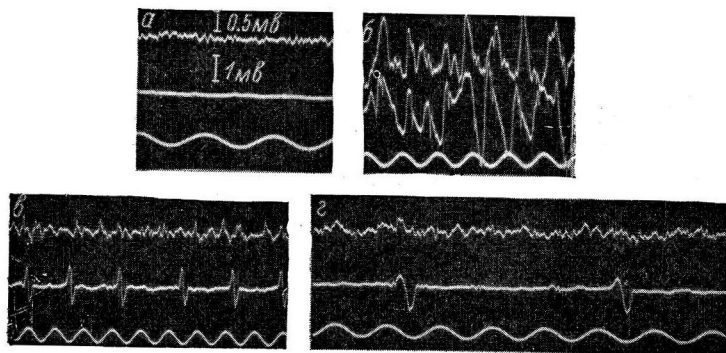


Рис. 2. Фоновая электрическая активность ганглия (а), следовые потенциалы в грудном ганглии и в крыловой мышце в первые 2 сек. после прекращения раздражения (б) и постепенное урежение ритма мышечных следовых потенциалов по сравнению с ганглионарными через 10 сек. (в) и 20 сек. (г) после прекращения раздражения.

Сверху вниз: электрическая активность ганглия, крыловой мышцы и отметка времени (50 гц).

Те же самые закономерности протекания следовых ритмических реакций регистрировались и в мышце депрессор-экстензор (по Сподграссу) с той лишь разницей, что общая продолжительность следовой реакции в этой мышце была обычно меньше, не 60—70, а 30—40 сек., а урежение ритма мышечных потенциалов — в 2 раза и соответственно прекращение следовых сокращений в механической записи наступало не на 10-й сек., а на 6—8-й сек. после прекращения раздражения.

Приведенный материал показывает, что следовые сокращения крыловых мышц у саранчи имеют центральное нейрогенное, а не миогенное происхождение и затухание этой следовой реакции в крыловых мышцах происходит раньше, чем в ганглионарных нервных клетках.

После того как была зарегистрирована нормальная следовая реакция, в следующей серии опытов производили разрушение периферических сплетений непарного нерва хирургическим путем. Таким образом, крыловые мышцы лишались симпатической иннервации. Последующее раздражение ганглия по-прежнему сопровождалось серией ритмических потенциалов, отводимых от поверхности ганглия, но следовые ритмические потенциалы, так же как и следовые сокращения в крыловых мышцах, отсутствовали (рис. 4).

Следовые потенциалы, отводимые от ганглия при этих условиях, по-прежнему точно воспроизводили ритм предшествующего раздражения, так же уменьшались по амплитуде на 2—3-й сек. после прекращения раздражения. Однако после десимпатизации крыловых мышц и выключения при этом мышечных следовых реакций следовая электрическая деятельность ганглия была примерно в 2 раза короче, чем в норме при ненарушенной иннервации крыловых мышц. Следовая электрическая активность

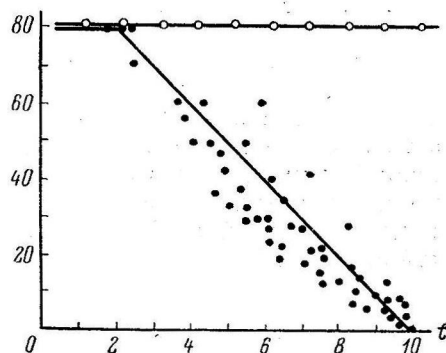


Рис. 3. График зависимости ритма следовых реакций от времени после прекращения раздражения.

По оси абсцисс — время (в условных единицах); по оси ординат — частота ответов (в сек.). Сплошная линия — ответы крыловой мышцы; линия с кружочками — ответы грудного ганглия.

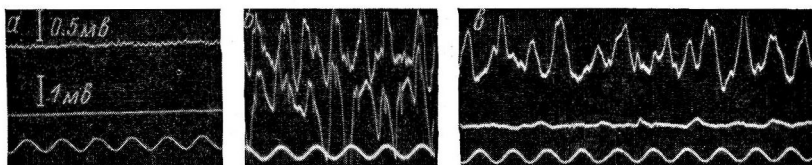


Рис. 4. Влияние разрушения симпатической иннервации на следовые ритмические реакции в крыловом нервно-мышечном приборе.

а — фоновая электрическая активность ганглия; б — следовые потенциалы в ганглии и в крыловой мышце при интактной иннервации; в — следовые потенциалы в ганглии и отсутствие их в крыловой мышце, лишенной симпатической иннервации.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

ганглия уравнивалась с фоном его активности к 10—15-й сек. после прекращения раздражения. Этот факт, по-видимому, свидетельствует о том, что следовая активность ганглия, порождающая следовую ритмическую деятельность крыловых мышц, в свою очередь поддерживается этой деятельностью, может быть путем поступления проприоцептивных импульсов по афферентным нервам.

В работе И. В. Чудаковой (1960) показано, что после перерезки основного ствола непарного нерва и разрушения его периферических сплетений в третьем грудном сегменте следовая ритмическая активность в непрямой крыловой мышце (спинногрудной) укорачивается по длительности, но не исчезает полностью. Такие явления мы также наблюдали в наших опытах,

но лишь при частичном разрушении симпатической иннервации в данном сегменте тела. Полная же десимпатизация крыловых мышц была связана с полным прекращением следовых ритмических реакций в них.

А. К. Воскресенская (1950) показала, что следовые сокращения крыловых мышц усиливаются введением в мышцу адреналина в соответствующей концентрации. Эрготоксин оказывает двухфазное действие: сначала усиливает, а затем обратимо выключает следовые сокращения крыловых мышц. Эти материалы послужили одним из доказательств химической однородности влияния непарного нерва насекомых и симпатического нерва позвоночных животных в скелетном нервно-мышечном приборе. Аналогичные результаты были получены и в наших опытах при изучении следовых электрических реакций в крыловом нервно-мышечном приборе у азиатской саранчи. Эрготоксин вводился в крыловую мышцу (в концентрации

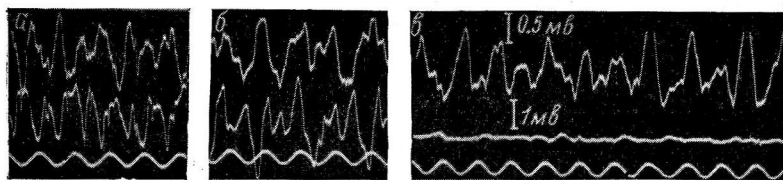


Рис. 5. Влияние эрготоксина в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$, введенного в крыловую мышцу, на следовые потенциалы.

а — следовые потенциалы в ганглии и в крыловой мышце в 1-ю сек. после прекращения раздражения до введения эрготоксина; б — следовые потенциалы в ганглии и в крыловой мышце в первые минуты после введения эрготоксина; в — выключение следовых потенциалов в крыловой мышце через 12 мин. после инъекции эрготоксина.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

$1 \cdot 10^{-4}$ в растворе Рингера для насекомых) туберкулиновым шприцем с тонкой иглой в количестве 0.05 мл. Предварительно была зарегистрирована нормальная следовая реакция в крыловой мышце и 3-м грудном ганглии (рис. 5, а). Через 3 мин. после инъекции эрготоксина произведена регистрация следовых потенциалов в ганглии и крыловой мышце, представленная на рис. 5, б. Мышечные следовые потенциалы явно усилены по амплитуде (1-я фаза действия эрготоксина). В дальнейшем, через 10—15 мин. после инъекции эрготоксина, следовые потенциалы в крыловой мышце полностью выключались при полной сохранности следовой ритмической реакции в нервном ганглии (рис. 5, в).

Приведенные материалы опытов показывают, что крыловые мышцы насекомого, лишенные адаптационного влияния со стороны симпатической нервной системы непарного нерва, не в состоянии ответить на следовой процесс возбуждения в двигательных нервных клетках иннервирующего их ганглия. При этом крыловая мышца теряет свою специфику как специализированная летательная мышца. С другой стороны, эти опыты еще раз подтверждают, что химическая природа влияний непарного нерва насекомых в скелетном нервно-мышечном приборе аналогична адренергическим влияниям симпатических нервов позвоночных животных.

ВЫВОДЫ

1. Изучались следовые потенциалы после прекращения раздражения нервного прибора при отведении от поверхности 3-го грудного ганглия и мышц заднего крыла — 1-го и 2-го пронатора-экстензора и депрессора-экстензора (по Снодграссу) у азиатской саранчи.

2. После 10-секундного раздражения ганглия прямоугольными импульсами постоянного тока в ганглии регистрируются следовые потенциалы действия, продолжающиеся от 25 до 70 сек., которые точно сохраняют ритм заданного раздражения. Амплитуда следовых потенциалов ганглия на 2—3-й сек. после прекращения раздражения уменьшается от начальной амплитуды 0.5—1.0 до 0.2—0.3 мв.

3. Следовые потенциалы действия в крыловых мышцах с амплитудой 1.5—2.5 мв синхронны с ганглионарными следовыми потенциалами в течение первых 3—4 сек. Отношение потенциалов в ганглии к потенциалам в мышце равняется 1 : 1; затем мышечные потенциалы постепенно урежаются в ритме, отношение ритма ганглионарных потенциалов к мышечным увеличивается до 2 : 1 к 10-й сек. и до 20 : 1 и выше к концу следовой реакции.

4. Следовые ритмические потенциалы в ганглии не сопровождаются следовыми потенциалами в крыловых мышцах после выключения симпатической иннервации их хирургическим или фармакологическим путем.

5. Адреналин усиливает, а эрготоксин выключает следовую ритмическую активность крыловых мышц.

6. Следовые ритмические реакции крыловых мышц азиатской саранчи имеют нейрогенное центральное происхождение и обеспечиваются адаптационно-трофическим влиянием симпатической иннервации.

ЛИТЕРАТУРА

- Воскресенская А. К., Физиол. журн. СССР, 33, № 3, 381, 1947; 36, № 2, 176, 1950. Функциональные свойства нервно-мышечного прибора насекомых. Изд. АН СССР, М.—Л., 1959.
- Иванова Т. С., Энтомолог. обзор., 35, № 4, 782, 1956.
- Чудакова И. В., Журн. общ. биол., 21, 77, 1960.
- Pringle T. W. S. S., Journ. Physiol., 108, 226, 1949; 124, 269, 1954; Recent Advances in Invertebrate Physiology. A symposium. Oregon, 1957.
- Roeder K. D., Biol. Bull., 100, № 2, 95, 1951.
- Snodgrass R. E., Smithsonian missel — anous collectons, 82, № 2, 1929.

Поступило 8 II 1960

ANALYSIS OF THE NATURE OF RHYTHMICAL TRACE REACTIONS IN THE NEUR OMUSCULAR APPARATUS OF THE INSECT WING

By A. K. Voskressenskaia and V. L. Sviderskii

From the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

АКТИВНЫЕ ЦЕНТРЫ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРА И ИЗМЕНЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ ПРИ ОХЛАЖДЕНИИ

Т. М. Турпаев

Институт морфологии животных им. А. Н. Северцова АН СССР, Москва

Вопрос о биохимической природе взаимодействия ацетилхолина со специфическими чувствительными к этому веществу структурами эффекторной клетки — холинорецептивной субстраницей или холинорецепторами — является одним из наименее изученных в функциональной биохимии медиаторного процесса. Вместе с тем знание механизма этой первичной реакции между медиатором и рабочей клеткой значительно приблизило бы нас к пониманию сущности нервных влияний и позволило бы расшифровать способы действия различных веществ, субстратом действия которых является рецептор ацетилхолина.

Высказывались предположения о белковой (Welsh, 1948) и, в частности, ферментативной (Peruzzi, 1946; Карасик, 1947) природе холинорецептора. Х. С. Коштойнцем (1951) подчеркивалась важная роль функциональных, особенно сульфгидрильных групп в осуществлении действия ацетилхолина. В отношении сердечной мышцы лягушки показано, что холинорецептор является белком, который инактивируется при 40° (Турпаев, 1958). Этот белок содержит свободные SH-группы, необходимые для взаимодействия с ацетилхолином (Турпаев, 1955а и б). Показано, что реакция ацетилхолина с холинорецептором подобно энзиматическим реакциям подчиняется уравнению Михаэлиса и Ментена (см. Турпаев, 1958) и протекает как в интактной сердечной мышце, так и в тканевом гомогенате (Нистратова и Турпаев, 1959; Турпаев, Нистратова, 1959).

Значительный интерес для понимания роли структуры белка — холинорецептора в осуществлении действия ацетилхолина представляют опыты при низкой температуре. При охлаждении до $0 - +1^{\circ}$ ацетилхолин не оказывает своего угнетающего действия на сокращения сердечной мышцы вследствие изменения молекулярной структуры холинорецептора, обнаруживаемого по снижению реакционной способности SH-групп этого белка (Нистратова и Турпаев, 1959).

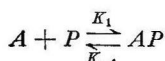
В настоящей работе приведены данные по дальнейшему исследованию кинетики реакции взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами и по изменению свойств холинорецептора при охлаждении.

Активные центры холинорецептора

Большое сходство в кинетике различных ферментативных реакций, обусловленное, по-видимому, присущим ферментам свойством образовывать с соответствующими субстратами промежуточные активированные

комплексы (см., например, Johnson, Eyring, Polissar, 1954), позволяет предположить, что аналогичный механизм взаимодействия с субстратами имеет место и у неферментных белков, осуществляющих различные неферментивные процессы в животном организме. Исходя из этого предположения, мы сделали попытку применить некоторые положения кинетической теории ферментативных процессов к изучению реакции взаимодействия ацетилхолина с эффекторной клеткой (Турпаев, 1958).

При действии ацетилхолина на эффекторную клетку первичной является реакция взаимодействия ацетилхолина со специфическим белком — холинорецептором. Если предположить, что ацетилхолин (A) образует с белком — рецептором (P) комплексное соединение (AP)



и что эффективность действия ацетилхолина (y , выраженная в процентах) зависит от относительного количества этого комплекса, т. е.

$y = 100 \frac{[AP]}{[P]}$, то по закону действия масс

$$y = \frac{100 [A]}{K_A + [A]}, \quad (1)$$

где K_A — константа диссоциации комплекса AP , равная $\frac{K_{-1}}{K_1}$ и имеющая размерность концентрации.

Для определения константы K_A более удобной формой уравнения (1) является

$$\frac{1}{y} = \frac{K_A}{100} \cdot \frac{1}{[A]} + \frac{1}{100}, \quad (1')$$

аналогичная форме уравнения Михаэлиса и Ментона (Michaelis, Menten, 1913), предложенной Лайнвивером и Берком (Lineweaver, Burk, 1934) для определения констант ферментативных реакций.

Из уравнения (1') следует, что если значения обратных величин эффективности действия ацетилхолина $\left(\frac{1}{y}\right)$ откладывать против обратных величин концентраций ацетилхолина $\left(\frac{1}{[A]}\right)$, то наклон линии, соединяющей экспериментальные точки будет равен $\frac{K_A}{100}$.

В предыдущей работе (Турпаев, 1958а) в опытах на изолированном желудочке сердца лягушки было показано, что эффективность действия ацетилхолина, определяемая по степени угнетения сердечной мышцы $\left(y = 100 \frac{H-h}{H}\right)$, где H — амплитуда сокращений миокарда до введения ацетилхолина, h — амплитуда сокращений после введения в канюлю ацетилхолина) находится в зависимости от концентрации ацетилхолина, описываемой уравнением 1 (см. рис. 1, А). Следовательно, при действии ацетилхолина на сердечную мышцу одна молекула ацетилхолина реагирует с одной молекулой рецептора, что свидетельствует о наличии в молекуле рецептора одного активного центра.

Однако при дальнейшей работе по кинетике реакции взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами сердечной мышцы лягушки описанным раньше методом (Т. М. Турпаев, 1958) накопился экспериментальный материал, показывающий, что у желудочков сердец некоторых лягушек эффективность действия ацетилхолина находится в более сложной зависимости от концентраций ацетилхолина, чем это показывает приведенное уравнение (1). Математический анализ

этой зависимости показал, что обратные величины эффективности действия ацетилхолина $\left(\frac{1}{y}\right)$ находятся в линейной зависимости не от обратных величин концентраций ацетилхолина $\left(\frac{1}{[A]}\right)$, а от обратных

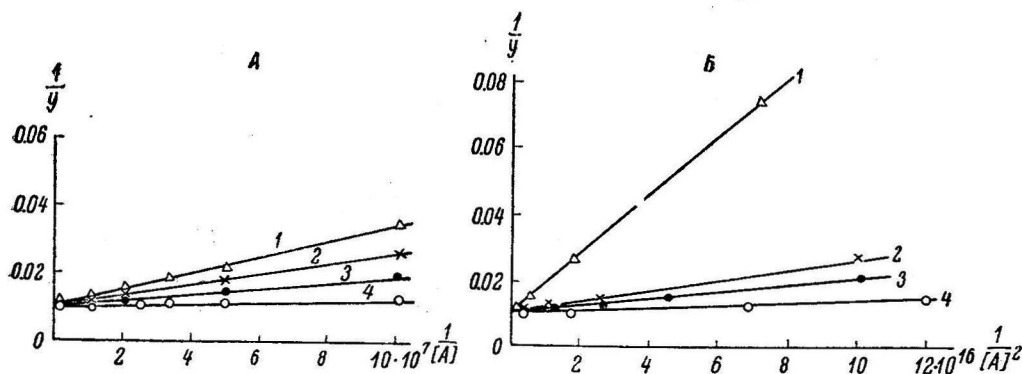


Рис. 1. Зависимость обратных величин эффективности действия ацетилхолина $\left(\frac{1}{y}\right)$ на изотонические сокращения изолированного желудочка сердца лягушки от обратных величин концентрации ацетилхолина.

А — опыты на 4 сердцах. Линии 1, 2, 3 и 4, соединяющие экспериментальные точки, соответствуют уравнению (1') с константами, соответственно равными $2.2 \cdot 10^{-8}$; $1.1 \cdot 10^{-8}$; $0.9 \cdot 10^{-8}$ и $0.3 \cdot 10^{-8}$ г/мл. По оси абсцисс — обратные величины концентрации ацетилхолина $\left(\frac{1}{[A]}\right)$. Б — опыты на 4 сердцах. Линии 1, 2, 3, 4, соединяющие экспериментальные точки, соответствуют уравнению (2') с константами, равными $9 \cdot 10^{-16}$; $1.6 \cdot 10^{-16}$; $1.0 \cdot 10^{-16}$ и $0.4 \cdot 10^{-16}$ г²/мкл². По оси абсцисс — обратные величины квадрата концентрации ацетилхолина $\left(\frac{1}{[A]^2}\right)$.

величин квадрата концентрации ацетилхолина $\left(\frac{1}{[A]^2}\right)$ (рис. 1, Б), соответствующей уравнению

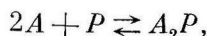
$$y = \frac{100 [A]^2}{K_{2A} + [A]^2}. \quad (2)$$

или

$$\frac{1}{y} = \frac{K_{2A}}{100} \cdot \frac{1}{[A]^2} + \frac{1}{100}, \quad (2')$$

где K_{2A} — константа с размерностью [концентрация].

Это уравнение кинетики реакции взаимодействия ацетилхолина с рецепторами эффекторной клетки указывает на то, что одна молекула рецептора реагирует не с одной, а с двумя молекулами ацетилхолина



т. е. в молекуле холинорецептора некоторых сердец имеются два активных центра, реагирующих с ацетилхолином.

Кинетика реакции взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами в интервале температур $0 - +14^\circ$

Влияние температуры на кинетику реакции взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами изучали на изолированном на канюле и сокращающемся от одиночных индукционных ударов (в ритме 10 в 1 мин.)

желудочке сердца лягушки. Желудочек помещали в специальную камеру (Турпаев, 19556), температура в которой поддерживалась ультратермостатом с точностью $\pm 0.1^\circ$. Зависимость эффективности действия ацетилхолина от концентрации этого вещества определяли в интервале температур $0 - +14^\circ$ с последующим вычислением констант диссоциации комплекса ацетилхолин—рецептор и количества неактивных рецепторов методом двойных обратных координат (Турпаев, 1958).

Опыты показали, что при охлаждении и для реакции типа $A + P \rightleftharpoons AP$, и для реакции типа $2A + P \rightleftharpoons A_2P$ наблюдаются сходные изменения в по-

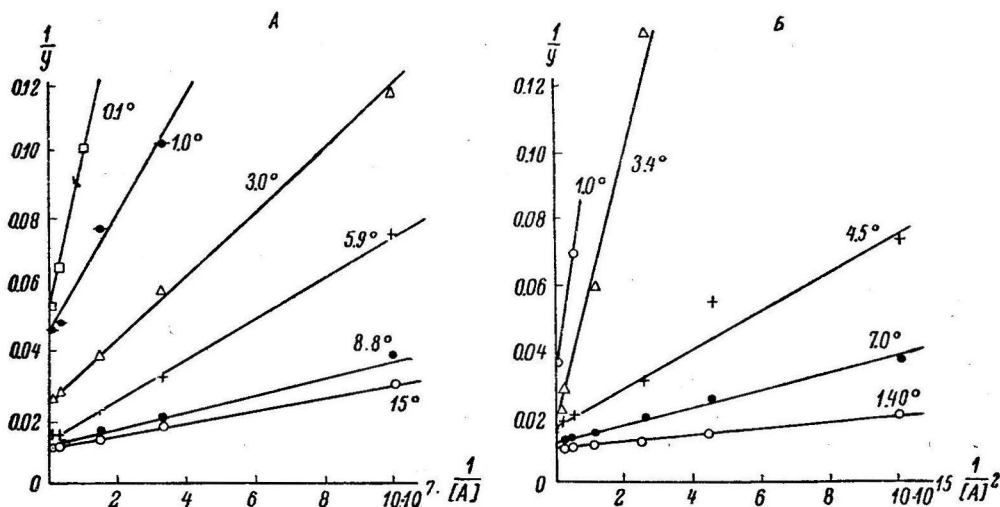


Рис. 2. Влияние охлаждения на положение кривых зависимости обратных величин концентрации ацетилхолина.

Опыты на желудочках, холинорецепторы которых взаимодействуют с ацетилхолином по уравнениям $A + P \rightleftharpoons AP$ (А) и $2A + P \rightleftharpoons A_2P$ (Б). Обозначения те же, что на рис. 1.

ложению кривых зависимости обратных величин эффективности действия ацетилхолина от обратных величин концентраций и квадрата концентраций ацетилхолина. На рис. 2 приведены типичные кривые обоих типов реакций при разных температурах. Анализ этих кривых, проведенный методом двойных обратных величин, показал, что при снижении температуры до 0 снижение эффективности действия ацетилхолина в реакциях обоих типов происходит как за счет увеличения константы реакций K_A и K_{2A} , так и за счет увеличения количества неактивных холинорецепторов. На рис. 2 эти изменения в константах выражаются в изменении ординаты точек пересечения экспериментальных кривых с осью $\frac{1}{y}$ и в изменении наклона этих кривых. Таким образом, в температурном интервале $0 - +14^\circ$ уравнения (1) и (2) принимают вид

$$y = \frac{(100 - n) [A]}{K_A + [A]} \quad \text{или} \quad \frac{1}{y} = \frac{K_A}{100 - n} \cdot \frac{1}{[A]} + \frac{1}{100 - n}, \quad (3)$$

$$y = \frac{(100 - n) [A]^2}{K_{2A} + [A]^2} \quad \text{или} \quad \frac{1}{y} = \frac{K_{2A}}{100 - n} \cdot \frac{1}{[A]^2} + \frac{1}{100 - n}, \quad (4)$$

где $\frac{K_A}{100 - n}$ и $\frac{K_{2A}}{100 - n}$ наклон кривой к абсциссе, n — количество неактивных при данной температуре холинорецепторов, определяемое

по отрезку, отсекаемому на ординате прямой, соединяющей экспериментальные точки и равному $\frac{1}{100-n}$.

На рис. 3 показаны изменения констант диссоциации комплекса ацетилхолин — рецептор (K_A и K_{2A}) и количества неактивных рецепторов при температурах $0—+14^\circ$, откуда следует, что при охлаждении обе величины увеличиваются. Таким образом, охлаждение не только

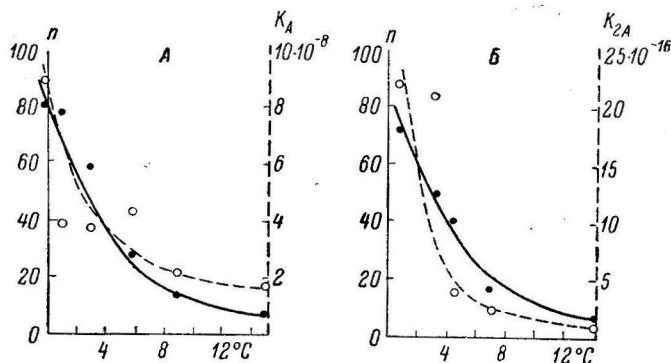


Рис. 3. Изменение количества неактивных холинорецепторов (n) и констант диссоциации комплекса ацетилхолин-холинорецептор K_A и K_{2A} при снижении температуры.

По опытам с желудочками, холинорецепторы которых взаимодействуют с ацетилхолином по уравнениями $A+P \rightleftharpoons AP$ (А) и $2A+P \rightleftharpoons A_2P$ (Б).

уменьшает сродство рецептора к ацетилхолину (показателем сродства является величина обратная K_A или K_{2A}), но и количество реагирующих с ацетилхолином рецепторов.

Термодинамические константы (ΔH и ΔS) холодовой инактивации холинорецепторов

Допустим, что выключение части рецепторов ацетилхолина из реакции при понижении температуры является следствием смещения равновесия в реакции



где P_n — неактивные рецепторы, P_a — активные рецепторы ацетилхолина с константой равновесия $K_a = \frac{P_a}{P_n}$. При повышении темпе-

ратуры реакция смещается вправо, в результате чего рецепторы переходят в активное состояние, а при снижении температуры, наоборот, увеличивается количество неактивных холинорецепторов вследствие смещения равновесия влево.

Как известно из термодинамики, зависимость константы равновесия химической реакции от температуры описывается уравнением

$$K = e^{-\frac{\Delta F}{RT}} = e^{-\frac{\Delta H}{RT}} \cdot e^{\frac{\Delta S}{R}}.$$

Для реакции (5) константа равновесия будет равна

$$K_a = \frac{P_a}{P_n} = e^{-\frac{\Delta F_a}{RT}} = e^{-\frac{\Delta H_a}{RT}} \cdot e^{\frac{\Delta S_a}{R}}$$

или

$$4.575 \lg \left(\frac{P_a}{P_n} \right) = -\Delta H_a \cdot \frac{1}{T} + \Delta S_a,$$

где термодинамические константы ΔF_a , ΔH_a и ΔS_a — разности свободных энергий, теплосодержания и энтропий между P_n и P_a , R — газовая постоянная, равная 1.987 кал./град. · г · мол., e — основание натуральных логарифмов. Символ a означает, что термодинамические константы ΔF_a , ΔH_a и ΔS_a и константа K_a относятся к реакции (5) активации рецептора.

Таким образом, если откладывать $\lg \left(\frac{P_a}{P_n} \right)$ (т. е. логарифмы отношений количества активных рецепторов к количеству неактивных рецепторов) против обратных величин абсолютной температуры, то наклон линии, соединяющей экспериментальные точки, будет равен

— $\frac{\Delta H_a}{4.575}$. Значение ΔS_a может быть определено для температуры, при которой $P_a = P_n$, т. е. когда $K_a = 1$. В этом случае $\Delta S_a = \frac{\Delta H_a}{T}$.

Отношение количества активных холинорецепторов к неактивным определяли из уравнения

ΔH_a и ΔS_a активации холинорецепторов в интервале температур 0 — +14° и количество активных центров в молекуле холинорецепторов

	ΔH_a (в г·кал.)	ΔS_a (в энтропических единицах)	Количество активных центров
	34000	122	1
	51700	187	1
	55700	210	1
	56800	207	1
	62000	225	1
	62200	225	1
	64100	226	1
Среднее . .	55000	200	1
	81300	296	2
	82000	297	2
	91000	330	2
	120000	434	2
Среднее . .	93600	340	2

$$\frac{P_a}{P_n} = \frac{100 - n}{n},$$

где n — количество неактивных рецепторов, вычисленное из уравнений (3) или (4).

На рис. 4 приведены кривые зависимости $\lg \frac{100 - n}{n}$ от обратных величин абсолютной температуры для обоих типов реакций взаимодействия ацетилхолина с холинорецепторами. В таблице приведены данные ΔH_a и ΔS_a и количества активных центров в молекуле холинорецепторов, откуда видно, что ΔH_a и ΔS_a реакции типа $2A + P \rightleftharpoons A_2P$ значительно больше ΔH_a и ΔS_a реакции типа $A + P \rightleftharpoons AP$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данные этой работы показывают, что холинорецептор сердечной мышцы лягушки содержит один или два активных центра, реагирующих с молекулой ацетилхолина. При действии холода уменьшается как сродство рецептора к ацетилхолину, так и количество рецепторов, участвующих в реакции. По-видимому, при охлаждении имеет место такое изменение конфигурации белковой молекулы холинорецептора, которое приводит

сначала к снижению сродства активного центра к ацетилхолину, а при более глубоком охлаждении и к полной инактивации активного центра. Эти данные находятся в соответствии с нашими предыдущими наблюдениями по изменению структуры белковой молекулы холинорецептора под влиянием холода, обнаруживаемому по изменению реакционной способности SH-групп холинорецепторов сердечной мышцы лягушки при температуре 0—1° (Нистратова, Турпаев, 1959).

Если предположить, что активный центр холинорецептора подобно активному центру ферментов является свойством третичной структуры

белковой молекулы (Eyring, Lumry, Spikes, 1954), то можно думать, что наступающее при охлаждении снижение сродства холинорецепторов к ацетилхолину и полное выключение их из реакций является результатом деструкции этого активного центра за счет разрыва связей, образующих третичную структуру белковой молекулы. В пользу предположения об изменении структуры белка — рецептора ацетилхолина при снижении температуры говорят чрезвычайно высокие значения ΔH_a и ΔS_a процесса активации холинорецепторов в температурном интервале от 0 до +14°. Совпадение этих величин с величинами ΔH и ΔS процесса тепловой денатурации белков (см., например, Eyring, Stern, 1939; Johnson, Eyring, Polissar, 1954) свидетельствует о глубоком изменении струк-

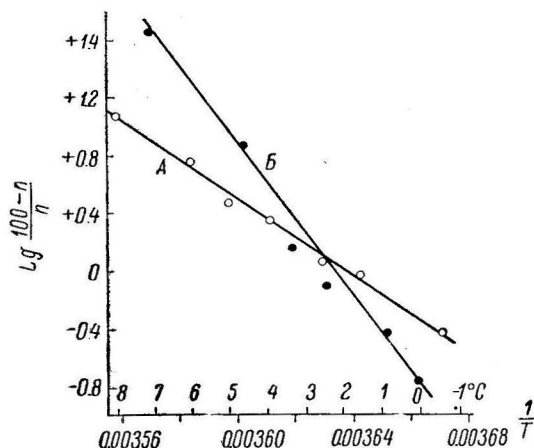


Рис. 4. Зависимость логарифма отношения активных холинорецепторов к неактивным ($\lg \frac{100-n}{n}$) от обратных величин абсолютной температуры ($\frac{1}{T}$).

При взаимодействии ацетилхолина с рецепторами $A+P \rightleftharpoons AP - \Delta H_a = 62\ 000$; $\Delta S_a = 225$ (А) и $2A+P \rightleftharpoons A_2P - \Delta H_a = 120\ 000$; $\Delta S_a = 434$ (Б).

туры молекулы холинорецепторов при охлаждении, сопровождающемся, по-видимому, разрывом большого количества водородных связей. Значительно более высокие значения ΔH_a для реакции взаимодействия ацетилхолина с рецептором, имеющим два активных центра, по сравнению с рецептором, имеющим только один активный центр, свидетельствует о том, что для холодовой деструкции холинорецептора с двумя активными центрами необходим разрыв значительно большего количества связей.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружены два типа действия ацетилхолина на изотонические сокращения изолированного желудочка сердца лягушки. На желудочки одних лягушек эффективность действия ацетилхолина (y) находится в следующей зависимости от концентрации ацетилхолина (A)

$$y = \frac{100 [A]}{K_A + [A]},$$

других

$$y = \frac{100 [A]^2}{K_{2A} + [A]^2},$$

где $K_A - K_{2A}$ константы. Эти уравнения свидетельствуют о том, что реакция взаимодействия ацетилхолина со специфическими чувствительными к этому веществу структурами эффекторной клетки — холинорецепторами (P), протекает либо из расчета моль ацетилхолина на моль рецептора ($A + P \rightleftharpoons AP$), либо из расчета два моля ацетилхолина на моль рецептора ($2A + P \rightleftharpoons A_2P$). Таким образом, холинорецепторы могут содержать один или два активных центра, вступающих во взаимодействие с ацетилхолином.

2. При понижении температуры до 0° имеет место уменьшение эффективности действия ацетилхолина вследствие уменьшения сродства холинорецепторов к ацетилхолину и уменьшения количества функционирующих холинорецепторов.

3. Обнаружены высокие значения термодинамических констант перехода холинорецепторов из неактивного состояния в активное при нагревании от 0 до 14° . Для реакции типа $A + P \rightleftharpoons AP$ $\Delta H_a = 55000$ г·кал., $\Delta S_a = 200$ энтроп. ед., для реакции типа $2A + P \rightleftharpoons A_2P$ $\Delta H_a = 93600$ г·кал., $\Delta S_a = 340$ энтроп. ед. Эти данные свидетельствуют о том, что холодовая деструкция активных центров холинорецепторов сопровождается разрывом большого количества связей, образующих третичную структуру молекулы этого белка.

ЛИТЕРАТУРА

- Карасик В. М., Физиолог. журн. СССР, 33, № 4, 463, 1947.
 Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. Изд. АН СССР, М., 1951.
 Коштоянц Х. С. и Т. М. Турпаев, ДАН СССР, 54, 181, 1946.
 Нистратова С. Н. и Т. М. Турпаев, Биохимия, 24, 172, 1959.
 Турпаев Т. М., Биохимия, 20, 456, 1955а; ДАН СССР, 102, 323, 1955б; Биохимия, 23, 71, 1958.
 Турпаев Т. М. и С. Н. Нистратова. В сб.: Тиоловые соединения в медицине, 65, Киев, 1959.
 Eyring H., R. Lumry, J. D. Spikes. Mechanism of Enzyme Action, 123. Baltimore, Johns Hopkins Press, 1954.
 Eyring H., A. E. Stern, Chem. Rev., 24, 253, 1939.
 Johnson F. H., H. Eyring, M. J. Polissar. The Kinetic Basis of Molecular Biology. N. Y. — London, 1954.
 Lineweaver H., D. Burk, Journ. Am. Chem. Soc., 56, 658, 1934.
 Michaelis L., M. L. Menten, Biochem. Z., 49, 333, 1913.
 Peruzzi P., Boll. Soc. Ital. Biol., Sperim., 22, 428, 1946.
 Welsh J. H., Bull. Johns Hopkins Hosp., 83, 568, 1948.

Поступило 7 V 1960

ACTIVE CHOLINORECEPTOR CENTRES AND THE CHANGE IN THEIR PROPERTIES AT COOLING

By *G. M. Turpaiev*

From the Severtsov Institute of the Animal Morphology, Moscow

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ОБРАЗОВАНИЯ X-ФАКТОРА ПРИ ДЕЙСТВИИ АЦЕТИЛХОЛИНА НА СЕРДЦЕ ЛЯГУШКИ

Т. Г. Путинцева

Лаборатория общей и сравнительной физиологии института морфологии животных
им. А. Н. Северцова, Москва

Применение различных ингибиторов метаболических процессов при изучении механизма действия передатчиков нервного возбуждения позволило Х. С. Коштойянцу построить энзимо-химическую гипотезу нервного возбуждения, согласно которой медиатор действует, включаясь в цепь тканевых биохимических процессов органа и вызывая при этом определенные изменения функционального состояния этого органа (Коштойянец, 1938, 1950).

Перспективный путь изучения веществ, выделяющихся из ткани при действии на нее нейрогумора, намечен опытами Мом-Лухдхольм (Mohm-Lundholm, 1953), в которых было показано, что действие адреналина на различные ткани (кишку кролика, трахеальную мускулатуру быка и матку морской свинки) сопровождается выделением молочной кислоты и что ряд веществ, угнетающих гликолиз и тем самым тормозящих образование молочной кислоты, снимает действие адреналина на эти ткани. Результаты этих опытов дали автору право предположить, что эффект действия адреналина на ткани осуществляется через молочную кислоту.

В предыдущих работах нами было показано, что при воздействии ацетилхолина на изолированный желудочек сердца лягушки (*R. temporaria*) в перфузионную жидкость выделяется вещество (*x*-фактор), оказывающее стимулирующее действие на другое изолированное и предварительно атропинизированное сердце лягушки.

x-фактор не является симпатиним, поскольку действие его на сердце, в отличие от действия извне введенного адреналина, норадреналина, а также симпатина, выделяющегося наряду с ацетилхолином при раздражении блуждающего нерва, не снимается симпатоколитиком редергамом. Кроме этого, *x*-фактор отличается от адреналина, норадреналина и симпатина по ряду физико-химических свойств (Путинцева и Турпаев, 1959, 1960). После получения этих данных перед нами встал вопрос о возможной очистке *x*-фактора и установлении тех биохимических процессов, от которых зависит образование этого вещества.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ДАННЫЕ

Поскольку сердечная мышца выделяет в перфузируемую жидкость большое количество веществ, которые могут оказывать различное влияние на свойства исследуемого нами *x*-фактора, то перед нами встала задача по возможности очистить *x*-фактор от сопутствующих ему веществ. С этой

целью были проведены опыты с адсорбированием α -фактора активированным углем (карболен ОУ ГОСТ 4453—48).

Опыты проводились следующим образом. В 10—15 мл перфузата, полученного из нескольких желудочков лягушачих сердец при действии на них ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл, добавляли активированный уголь из расчета 50 мг на 1.5 мл перфузата. Угольную взвесь подкисляли соляной кислотой, и в течение 15—20 мин. производили встряхивание. После центрифугирования центрифугат сливали, а оставшийся уголь 4—5 раз промывали подкисленной дистиллированной водой с последующим центрифугированием. После сливания последней порции отцентрифугированной дистиллированной воды уголь заливали

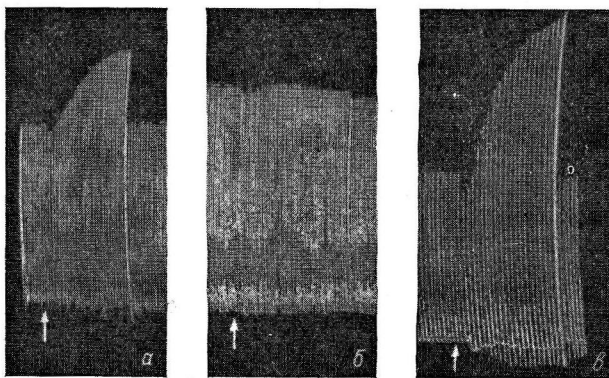


Рис. 1. Действие α -фактора до и после очистки его активированным углем на изолированное сердце лягушки.

а — введение перфузата, полученного после 20-минутного действия на изолированный желудочек раствора ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл; б — введение того же перфузата после адсорбции α -фактора активированным углем и в — введение α -фактора после снятия его с активированного угля.

96°-м спиртом в количестве, равном исходному количеству перфузата, т. е. 10—15 мл, и оставляли на 20 часов при комнатной температуре, после чего спирт, в который, по нашим предположениям, должен был перейти α -фактор, центрифугировали, сливали в сосуд и выпаривали в струе теплого воздуха. Снятый таким образом с угля α -фактор разводили в 10—15 мл раствора Рингера, вследствие чего получали исходную концентрацию α -фактора, и испытывали на атропинизированном сердце лягушки. Оказалось, что α -фактор адсорбируется активированным углем и снимается с него спиртом (рис. 1). На рис. 1 видно, что перфузат, содержащий α -фактор, после адсорбции этого вещества активированным углем не оказывает на изолированное сердце никакого действия, а в некоторых случаях вызывает слабое угнетение амплитуды сокращений. После снятия с угля раствор α -фактора оказывал на изолированное сердце стимулирующее действие, причем оно было выражено сильнее, чем до адсорбции (рис. 1, а); следует отметить, что α -фактор снимается с угля как при комнатной температуре, так и при температуре 3—4°. После очистки свойства α -фактора несколько меняются: если раньше он оказывал стимулирующий эффект в течение 15—20 мин., то после очистки его с помощью активированного угля этот эффект длится 5—6 и более часов (рис. 2).

В прежних опытах перфузат, взятый из желудочка сердца после воздействия на него ацетилхолина, сохранял способность стимулировать

изолированное сердце только в течение 20—24 часов, а после снятия с угля x -фактор, разведенный в растворе Рингера, сохраняет эту способность (рис. 3) в течение нескольких месяцев (раствор x -фактора хранился в течение 5 месяцев; большие сроки хранения не производились).

Хранение x -фактора в сухом виде после испарения спирта также показало, что стимулирующие свойства его сохраняются в течение нескольких месяцев. Ранее нами было показано (Путинцева и Турпаев, 1959), что при кипячении перфузата, содержащего x -фактор, в течение 10—15 мин. на водяной бане в слабо щелочной среде (рН-8—9) x -фактор полностью разрушается, что проявляется в отсутствии его стимулирующего действия на изолированное сердце. Однако после очистки x -фактора активированным углем, кипячение его раствора не вызвало разрушения x -фактора, что выразилось в отчетливом проявлении стимулирующего сердечную деятельность эффекта.

Рис. 2. Длительность действия x -фактора до и после очистки его активированным углем на изолированное сердце лягушки.

а — введение перфузата, полученного после 20-минутного действия на изолированный желудочек раствора ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ г/мл; возвращение к исходной амплитуде происходит через 15 мин.; б — введение x -фактора, снятого с активированного угля; в — остановка барабана кимографа на 40 мин.

Стрелки — начало вышеуказанных процессов.

После установления некоторых физико-химических свойств x -фактора вполне естественной была попытка определить метаболические процессы, от которых зависит его образование. Для этой цели была предпринята серия исследований, в которой использовались различные метаболические яды, такие как фтористый натрий, монойодацетат, цианистый калий, малонат, 2,4-динитрофенол и азид натрия. Эти вещества, действуя на определенные ферментные системы, позволяют выяснить роль различных звеньев метаболического процесса в образовании x -фактора.

Опыты проводились следующим образом. В желудочек сердца, являющегося источником x -фактора (донор), на 10—20 мин. вводили метаболический яд, после чего в этот же желудочек на 20 мин. вводили смесь ацетилхолина и этого яда. В том случае, если данная концентрация яда не изменяла амплитуду сокращений изолированного сердца, на котором производили испытание изъятых из желудочка перфузата (реципиента), или изменяла ее незначительно, то перфузат испытывали на сердце-

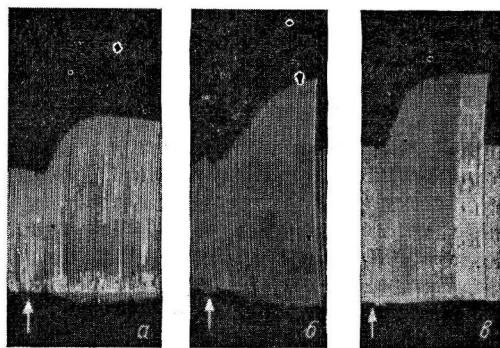
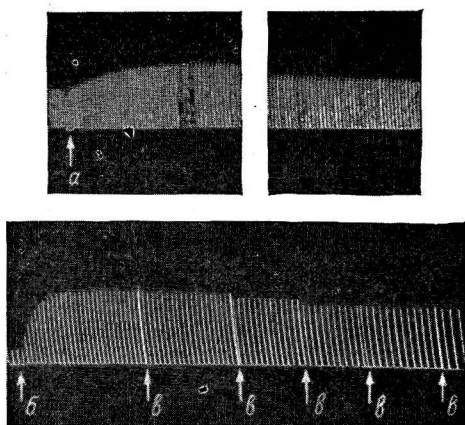


Рис. 3. Действие x -фактора после длительного хранения его при температуре 3° на изолированное сердце лягушки.

а — введение перфузата, полученного после 20-минутного действия на изолированный желудочек ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ г/мл; б — тот же перфузат после хранения его в течение 1 месяца при температуре 3° ; в — введение того же перфузата после хранения его в течение 5 месяцев при температуре 3° .

рецепиенте без предварительной обработки последнего метаболитическим ядом. Если же данная концентрация яда вызывала значительное угнетение амплитуды сокращений сердца-рецепиента, то это сердце подвергалось предварительному действию метаболитического яда, и на фоне этой сниженной амплитуды вводили перфузат из желудочка, полученный в результате одновременного воздействия на него ацетилхолина и метаболитического яда. В этом перфузате из интересующих нас веществ содержались ацетилхолин, метаболитический яд и х-фактор. Действие ацетилхолина не проявлялось, так как изолированное сердце-рецепиент было обработано атропином, который, как известно, снимает действие ацетилхолина на сердце; метаболитический яд также не изменял амплитуды сокращений, так как сердце-рецепиент до введения в него перфузата уже работало на растворе Рингера, содержащем этот яд. Таким образом, единственным веществом, вызывающим увеличение амплитуды сокращений сердца-рецепиента, являлся х-фактор.

Действие фтористого натрия. Фтористый натрий образует неактивный комплекс с магнийсодержащими ферментами, в частности с эналазой, и тем самым тормозит процесс гликолиза на уровне фосфоглицериновой кислоты (Warburg и Christian, 1942). В желудочек сердца лягушки за 20 мин. до введения раствора ацетилхолина вводили фтористый натрий в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл с тем, чтобы он произвел эффект своего действия на метаболизм сердечной мышцы. После этого в желудочек на 20 мин. была введена смесь ацетилхолина ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) и фтористого натрия ($1 \cdot 10^{-3}$ г/мл). Полученный таким образом перфузат испытывали на атропинизированном сердце-рецепиенте, предварительно обработанном раствором фтористого натрия в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл, который в этом разведении вызывает значительное угнетение амплитуды сердечных сокращений. Введение испытываемого перфузата на этом фоне вызывает сильное увеличение амплитуды сокращений, что свидетельствует о выделении сердечной мышцей х-фактора (рис. 4).

Действие моноиодацетата. Моноиодацетат относится к агентам, блокирующим сульфгидрильные группы ферментов. Сегал и Боер (Segal и Boyer, 1953), Б. П. Ушаков и С. А. Короленко (1954) обнаружили, что большое число дегидрогеназ, а особенно триозофосфат-

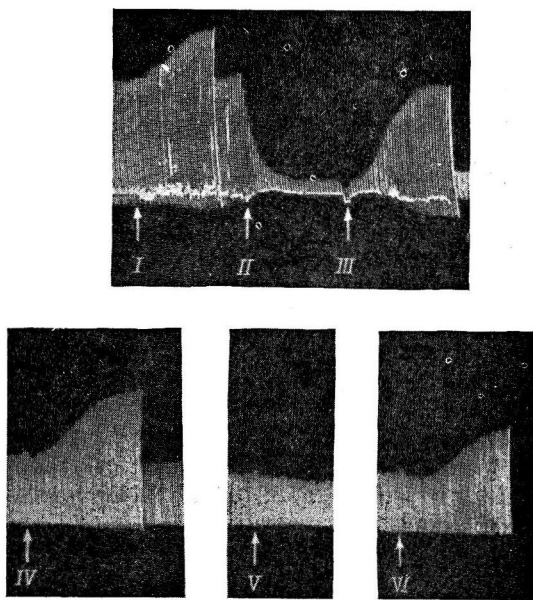


Рис. 4. Действие фтористого натрия и 2,4-динитрофенола на выделение х-фактора из желудочка сердца лягушки под влиянием ацетилхолина.

I — введение перфузата, полученного после 20-минутного действия на изолированный желудочек раствора ацетилхолина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл; II — введение раствора фтористого натрия в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл; III — то же, что в I, только после 20-минутной обработки изолированного желудочка сердца-донора раствором фтористого натрия в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл; IV — то же, что I; V — введение перфузата, полученного после 20-минутного действия ацетилхолина ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) на изолированный желудочек, обработанный в течение 10 мин. раствором 2,4-динитрофенола в концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ г/мл; VI — то же, что I после отмывания желудочка сердца-донора раствором Рингера в течение 40 мин. от 2,4-динитрофенола.

дегидраза, чувствительны к действию этого метаболического яда. Таким образом, это вещество подавляет гликолитический процесс на уровне фосфоглицеринового альдегида, что приводит к накоплению фруктозо-1,6-дифосфата. Поскольку тормозящий сердечную деятельность эффект монойодацетата не отмывается раствором Рингера в течение 25—30 мин., то в связи с этим желудочек сердца лягушки предварительно в течение 10 мин. обрабатывался этим ядом в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл, после чего раствор монойодацетата извлекали и после многократного промывания желудочка в него на 20 мин. вводили ацетилхолин в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл. Перфузат, полученный из этого желудочка, вызвал на сердце-реципиенте резко выраженный положительный инотропный эффект.

Действие малоната. Как известно, малонат тормозит сукцин-дегидразу, что приводит к накоплению в основном янтарной кислоты, вызывая тем самым нарушение цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Малонат в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл не оказывает влияния на сердечные сокращения, а в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл сильно тормозит их. В связи с этим опыт проводили так же, как с фтористым натрием. При этом было показано, что малонат в концентрациях $1 \cdot 10^{-4}$ — $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл не прекращает выделения α -фактора из мышечных волокон сердца в перфузионную жидкость при действии на желудочек ацетилхолина.

Действие цианистого калия. Цианистый калий, блокирующий железо цитохромоксидазы и тем самым тормозящий активность этого фермента, подавляет тканевое дыхание почти на 90%.

В наших опытах использовался цианистый калий в концентрации $3 \cdot 10^{-4}$ г/мл, который в течение первых 5 мин. своего действия лишь несколько угнетал амплитуду сокращения изолированного сердца. Этого времени было совершенно достаточно, чтобы испытать перфузат, полученный из желудочка. Оказалось, что перфузат, полученный при воздействии на желудочек смеси цианистого калия ($3 \cdot 10^{-4}$ г/мл) и ацетилхолина ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл) в течение 20 мин., оказывает стимулирующий эффект на изолированное сердце, что свидетельствует о независимости выделения α -фактора от тканевого дыхания.

Действие разобщающих ядов 2,4-динитрофенола и азида натрия. Разобщающие яды осуществляют разрыв между процессами окислительного распада и аккумуляции энергии этого распада в виде макроэргических соединений (Ronzoni, 1936; Loomis a. Lirpman, 1948). Кроме этого, 2,4-динитрофенол вызывает усиление распада макроэргических фосфорных соединений, таких как аденозинтрифосфорная кислота и креатинфосфат (Witter, Newcomb a. Stotz, 1953). Этот метаболический яд в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл за 10—12 мин. своего действия вызывает полное прекращение сердечной деятельности, которую можно вернуть к норме только в результате 30—40-минутного отмывания раствором Рингера.

Исходя из этих свойств 2,4-динитрофенола, опыт был поставлен следующим образом: в желудочек сердца на 10—12 мин. вводили раствор 2,4-динитрофенола в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл; в желудочек после отмывания его от этого яда на 20 мин. вводили ацетилхолин ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл). Опыты показали, что в этом случае выделения α -фактора не происходит и сердце-реципиент при действии на него перфузата не изменяло амплитуду сокращений. Однако через 30—40 мин. отмывания желудочка раствором Рингера введение ацетилхолина вновь вызывает появление в перфузате α -фактора, на который сердце-реципиент отвечает увеличением амплитуды сокращений (рис. 4). Очень быстрое восстановление способности выделять α -фактор наблюдается при действии на обработанное 2,4-динитрофенолом сердце раствора аденозинтрифосфорной кислоты ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл).

Азид натрия, подобно 2,4-динитрофенолу, угнетает окислительное фосфорилирование (Tainter, 1934; Marujama, 1954, 1956); кроме этого, он оказывает токсическое действие на клеточное дыхание и гликолитические процессы. Поскольку угнетение клеточного дыхания и гликолиза не влияет на выделение α -фактора, то азид натрия был применен нами в качестве вещества, тормозящего окислительное фосфорилирование. Азид натрия ($1 \cdot 10^{-5}$ г/мл), как и 2,4-динитрофенол, полностью снимает выделение α -фактора мышечными элементами сердца. Восстановление этой способности происходит после 20—25-минутного отмывания желудочка от этого яда раствором Рингера.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные нами опыты показали, что вещество или вещества, выделяющиеся наряду с α -фактором из сердечной мышцы, не влияют на основное свойство α -фактора стимулировать сердечную деятельность. Однако они уменьшают степень проявления одних свойств и маскируют проявление других. Так, например, после адсорбции активированным углем и снятия с него α -фактор оказывает более выраженный стимулирующий сердечную деятельность эффект, чем прежде. Ранее было показано, что свойство α -фактора усиливать сердечную деятельность сохраняется только в течение 20—24 часов, в то время как после адсорбции активированным углем и снятия с него это свойство α -фактора сохраняется месяцами.

Эти данные свидетельствуют о наличии в перфузате сердечной мышцы веществ, разрушающих α -фактор. Наибольшей активностью эти вещества обладают при кипячении перфузата в слабо щелочной среде, поскольку опыты показали, что α -фактор, содержащийся в перфузате, т. е. неочищенный, не разрушается при кипячении в нейтральной и кислой средах и полностью инактивируется при 10—15-минутном кипячении в слабой щелочной среде. Однако после очистки активированным углем α -фактор сохраняет свою активность при кипячении в условиях различных значений pH, в том числе и при pH=8—9.

На основании результатов этих опытов можно предположить, что наряду с α -фактором, выделяющимся из желудочка сердца при действии на него ацетилхолина в перфузат, выделяется вещество (или вещества), которое вызывает разрушение α -фактора как при длительном хранении его при комнатной температуре, так и при кипячении в слабой щелочной среде. По-видимому, эти вещества не адсорбируются активированным углем, вследствие чего получается α -фактор, очищенный от них. В результате этого либо появляется усиление уже выявленных нами свойств α -фактора, либо появляются совершенно новые свойства, обнаружение которых было невозможно ранее из-за присутствия этих веществ.

Опыты с метаболическими ядами показали, что ни фтористый натрий, ни моноиодацетат, нарушающие процесс гликолиза, ни малонат, действующий на сукциндегидразу, в результате чего нарушается цикл Кребса, ни цианистый калий, ингибирующий цитохромоксидазную систему, не нарушают образования α -фактора сердечной мышцей под влиянием ацетилхолина. Только разобшающие яды, такие как 2,4-динитрофенол и азид натрия, которые тормозят окислительное фосфорилирование и вызывают разрушение имеющихся в сердце аденозинтрифосфорной кислоты и креатинфосфата — веществ, дающих энергию для осуществления сократительной деятельности, полностью тормозят образование α -фактора. Тот факт, что метаболические яды, тормозящие окислительное фосфорилирование, вызывают прекращение образования α -фактора, говорит о том, что последний каким-то образом связан с обменом макроэргических веществ. Об этом также свидетельствуют опыты, показавшие быстрое вос-

становление утраченной сердцем после обработки его 2,4-динитрофенолом способности мышцы сердца выделять x -фактор при введении в него аденозинтрифосфорной кислоты.

Таким образом, изложенный экспериментальный материал показывает, что ацетилхолин при своем действии на ткань вмешивается в обменные процессы этой ткани, что приводит к накоплению и выделению вещества, обладающего высокой биологической активностью. Эти данные находятся в полном соответствии с гипотезой энзимохимической передачи нервного возбуждения, развиваемой Х. С. Коштоянцем.

В настоящее время трудно вполне определенно ответить на вопрос о биологическом значении x -фактора при осуществлении действия ацетилхолина на сердечную мышцу; однако можно предположить, что x -фактор, так же как и симпатин, выделяющийся наряду с ацетилхолином при раздражении блуждающего нерва, может являться причиной так называемого «ускользания» сердца из-под действия блуждающего нерва при длительном его раздражении. Возможно, что x -фактор играет в этом процессе главенствующую роль, так как по сравнению с симпатином он оказывает на сердце более длительное стимулирующее действие.

ВЫВОДЫ

1. При действии ацетилхолина на сердечную мышцу в ней наряду с x -фактором выделяются вещества, разрушающие x -фактор при длительном хранении его при комнатной температуре и кипячении и изменяющие некоторые его свойства. После очистки x -фактора с помощью активированного угля от разрушающих его веществ срок сохранения активности раствора x -фактора увеличивается с 20—24 часов до нескольких месяцев; в сухом виде x -фактор сохраняет активность также в течение нескольких месяцев. Очищенный x -фактор в отличие от неочищенного сохраняет свою активность при кипячении в слабо щелочной среде.

2. Метаболические яды, такие как фтористый натрий, моноиодацетат, малонат, цианистый калий, не оказывают действия на выделение x -фактора сердечной мышцей.

3. Разобшающие яды (2,4-динитрофенол и азид натрия) тормозят выделение x -фактора, что говорит о связи этого вещества с обменом макроэргических соединений.

ЛИТЕРАТУРА

- Коштоянц Х. С., ДАН СССР, нов. серия, 19, № 4, 317, 1938; Физиолог. журн. СССР, 36, № 1, 92, 1950.
Путинцева Т. Г. и Т. М. Турпаев, ДАН СССР, 129, 6, 1442, 1959; Физиолог. журн. СССР, 46, № 1, 84, 1960.
Ушаков Б. П. и С. А. Короленко, Физиолог. журн. СССР, 40, № 2, 208, 1954.
Loomis W. F. and F. Lipmann, Journ. Biol. Chem., 173, 807, 1948.
Marujama K., Arch. Biochem. Biophys., 52, 485, 1954; 60, 74, 1956.
Mohm-Lundholm E., Acta physiol. scand., 29, 108, 5, 1953.
Ronconi E., Journ. Biol. Chem., 115, 749, 1936.
Segal H. L. and V. P. D. Boyer, Biol. Chem., 204, 265, 1953.
Tainter M. L., Journ. Pharmacol. and Exp. Therap., 51, 45, 1934.
Warburg O. and W. Christian, Biochem. Z., 310, 384, 1942.
Witter R. E., E. H. Newcomb and E. Stotz, Journ. Biol. Chem., 202, 291, 1953.

Поступило 14 V 1960

ON THE MECHANISM OF X-FACTOR FORMATION UNDER THE ACTION OF ACETYLCHOLINE ON THE FROG'S HEART

By T. G. Putintseva

From the laboratory of general and comparative physiology, Severtsov Institute of Animal Morphology, Moscow

К ВОПРОСУ О РОЛИ РЕАКТИВНЫХ ГРУПП БЕЛКА ВО ВКУСОВОЙ РЕЦЕПЦИИ

Г. Ю. Юрьева

Кафедра физиологии животных и человека Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Многочисленными экспериментальными исследованиями Х. С. Кош-тоянца и его сотрудников был обоснован вывод о роли реактивных групп белковых тел, а именно сульфгидрильных групп, в химической рецепции как эффекторов, так и рецепторов (Коштоянц, 1951).

Было выяснено, в частности, большое значение состояния сульфгидрильных групп для химической чувствительности интерорецепторов сосудов, кишечника (Коштоянц, 1951) и вкусовых рецепторов (Юрьева, 1957). Эти данные находятся в ряду исследований, направленных на выяснение биохимической основы вкусовой рецепции (Лазарев, 1920, 1922; Hahn, 1934, 1936; Bourne, 1948, Brücke, Hellauer a. Umrath, 1948; Baradi a. Bourne, 1951a, 1953; Landgren, Liljestrand a. Zotterman, 1954; Bourne a. Baradi, 1956; Коштоянц и Рожа, 1958).

Несмотря на большую убедительность фактических данных о глубокой зависимости чувствительности элементов нервной системы к раздражителям от состояния сульфгидрильных групп, Х. С. Коштоянц неоднократно подчеркивал, что эти функциональные группы, как ни важна их роль в молекуле белка, не являются единственно ответственными за функциональные проявления элементов нервной системы и что следует искать значение и других функциональных групп белка. В связи с этим нам было поручено выяснить значение аминных групп в чувствительности вкусового рецептора.

Для экспериментального анализа этого вопроса нами был использован метод избирательного блокирования аминных групп такими реагентами, как формальдегид и уксусный альдегид.

Дэньюэл (1956) указывает, что при обычной температуре и в нейтральной среде формальдегид почти мгновенно реагирует с аминокислотой, блокируя ее аминогруппу. Реакция при разбавлении оказывается обратимой; формальдегид, по-видимому, превращается в свою гидратированную форму и дает метилоламинопроизводные. Формальдегид, кроме того, способен образовывать метиленовые мостики между аминогруппой и какой-либо другой группой, содержащей лабильный атом водорода. Такие связи оказываются более прочными и, очевидно, в этом случае реакция является малообратимой или необратимой. В своей обзорной статье «Химическая модификация белков» Путнам (1956) описывает подобный же характер взаимодействия формальдегида с белками. Такой же способностью более или менее избирательно блокировать аминные группы обладает уксусный альдегид. Но он, по-видимому, служит более мягким реагентом на аминные группы и в малых концентрациях не приводит к обра-

зованию стабильных соединений (в наших опытах физиологическая реакция чаще, чем для формальдегида, оказывалась обратной при значительном разведении раствора уксусного альдегида). Уксусный альдегид, так же как формальдегид, взаимодействует с аминогруппой при нейтральной реакции среды и комнатной температуре, что позволяет считать эти вещества удобными индикаторами на аминные группы в условиях физиологического эксперимента.

МЕТОДИКА

Опыты проводились по ранее описанной нами методике (Юрьева, 1957) на вкусовых рецепторах языка лягушки. Показателем степени чувствительности рецепторов служили биоэлектрические потенциалы, возникающие в язычном нерве (вкусовом нерве лягушки) в ответ на орошение языка стандартными вкусовыми раздражителями (0.012% раствор хинина, 5%-й раствор глюкозы, 3%-й раствор поваренной соли), дистиллированной и водопроводной водой, которые также являются мощными стимуляторами изучаемых рецепторов (Zotterman, 1949, 1950; Andersson a. Zotterman, 1950). Кровообращение языка заменялось перфузией его раствором Рингера. Воздействие реагентов на аминные группы осуществлялось путем введения их в перфузионное русло языка. Формальдегид использовался в концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ — $7 \cdot 10^{-4}$ г/мл, уксусный альдегид — $1 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-2}$ г/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты экспериментов показали, что формальдегид, так же как и уксусный альдегид, значительно снижает вкусовую чувствительность, судя по резкому ослаблению или полному прекращению импульсации язычного нерва в ответ на раздражение языка водой или вкусовыми веществами.

В приводимых ниже осциллограммах (рис. 1 и 2) показано резкое снижение величины импульсных ответов на водные и вкусовые раздражители под влиянием ингибиторов аминных групп — формальдегида и уксусного альдегида. Влияние этих веществ на рецепторы сказывается очень быстро и может быть обнаружено через 2—3 мин. после введения вещества в перфузат. Последующее интенсивное отмывание рецепторного аппарата раствором Рингера через перфузионную систему иногда приводит к постепенному возобновлению ответных реакций рецепторов на раздражители, видимо восстанавливая нарушенную ингибитором нормальную структуру белка. Обычно это восстановление бывает неполным. Чаще, однако, длительной перфузией раствором Рингера не удавалось восстановить утраченную чувствительность рецепторов к раздражителям (рис. 2, V). Следовательно, разбавление реагента не способно вызвать полную обратимость реакции и таким образом реституировать нарушенную структуру белковой молекулы.

В пользу нашего предположения о том, что угнетающее влияние формальдегида и уксусного альдегида на рецепторы обусловлено их специфическим взаимодействием с аминными группами белковых структур рецепторного аппарата, говорят результаты следующей серии экспериментов.

Здесь мы попытались добиться восстановления рецепторной функции применением веществ, которые, как нам кажется, могут конкурировать с белками за взаимодействие с агентами, блокирующими аминные группы, и поэтому должны вызывать реституцию нормальной белковой структуры. Эти вещества, по-видимому, должны содержать в своей молекуле реактивные аминные группы. В качестве одного из таких агентов была выбрана аминокислота аргинин, которая содержит в своей молекуле две свободные аминогруппы и поэтому должна быть довольно активным восстановителем заблокированных аминогрупп. Как показывают результаты опытов, действие аргинина оказалось весьма эффективным и в большинстве

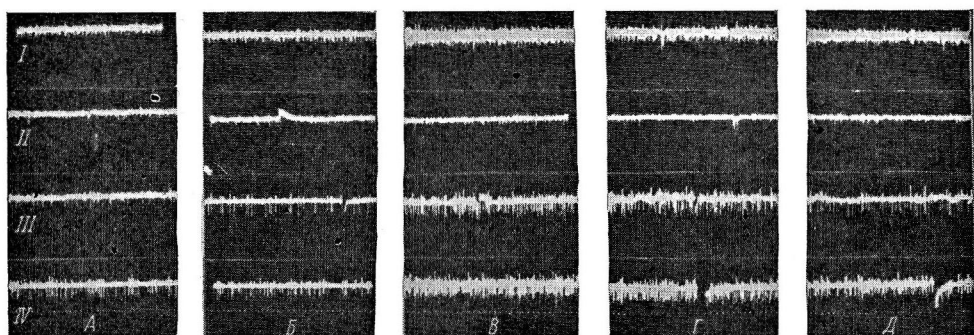


Рис. 1. Величины импульсных ответов язычного нерва лягушки под влиянием формальдегида.

I — нормальная импульсация язычного нерва при аппликации на язык воды и вкусовых веществ; *II* — то же через 3 мин. после введения в перфузат 1.0 мл $7 \cdot 10^{-4}$ г/мл формальдегида; *III* — то же через 5 мин. после введения в перфузат 2 мл 2%-го аргинина; *IV* — то же через 3 мин. после повторного введения в перфузат 2 мл 2%-го аргинина.

A — импульсация язычного нерва при аппликации на язык дистиллированной воды, *B* — водопроводной воды, *B* — 0.012%-го раствора хинина, *Г* — 5%-го раствора глюкозы, *Д* — 3%-го раствора хлористого натрия. Отметка времени — 0.05 сек.

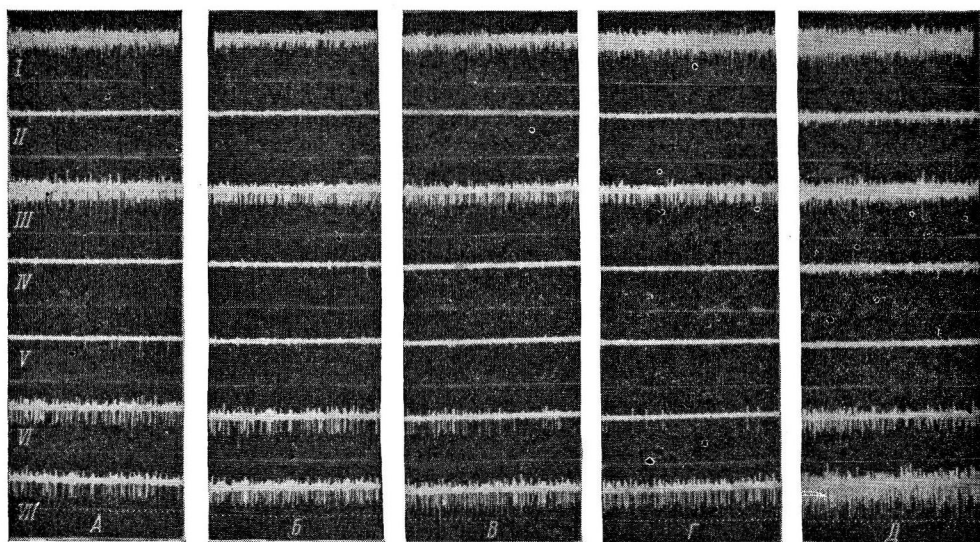


Рис. 2. Величины импульсных ответов язычного нерва лягушки под влиянием уксусного альдегида.

I — нормальная импульсация язычного нерва при аппликации на язык воды и вкусовых веществ; *II* — то же через 1.5 мин. после введения в перфузат 1.5 мл $1 \cdot 10^{-2}$ г/мл уксусного альдегида; *III* — то же через 2 мин. после введения в перфузат 4 мл 2%-го аргинина; *IV* — то же через 1.5 мин. после введения в перфузат 1.5 мл $1 \cdot 10^{-2}$ г/мл уксусного альдегида; *V* — то же через 2 мин. после перфузии через кровеносную систему языка 4 мл раствора Рингера; *VI* — то же через 2 мин. после введения в перфузат 2 мл 2%-го раствора аргинина; *VII* — то же через 2 мин. после повторного введения в перфузат 2 мл 2%-го раствора аргинина.

A — импульсация язычного нерва при аппликации на язык дистиллированной воды, *B* — водопроводной воды, *B* — 0.012%-го раствора хинина, *Г* — 5%-го раствора глюкозы, *Д* — 3%-го раствора хлористого натрия. Отметка времени — 0.05 сек.

случаев приводило к полному восстановлению чувствительности рецепторов (рис. 2, III).

Как можно судить по рис. 2, восстанавливающее действие аргинина не сводится к простому разбавлению действующего раствора уксусного альдегида, а представляет собой процесс конкурентного замещения, поскольку такой же объем рингеровского раствора, введенного в перфузионную систему, не приводит к восстановлению утраченной чувствительности рецепторов или восстановление оказывается весьма незначительным. В этом опыте угнетение рецепторной чувствительности дважды вызывалось уксусным альдегидом (рис. 2, II, IV). В первом случае последующее полное восстановление было достигнуто введением в перфузат 4 мл 2%-го раствора аргинина (рис. 2, III). После вторичного угнетения через рецепторную систему перфузировали 4 мл раствора Рингера, однако это не вызвало никаких следов восстановления (рис. 2, V). Введение вслед за этим в перфузат 2 мл аргинина привело к некоторому возобновлению импульсных ответов (рис. 2, VI); дополнительное введение еще 2 мл раствора аргинина почти полностью восстановило рецепторную чувствительность (рис. 2, VII). Таким образом, восстанавливающее действие аргинина гораздо эффективнее, чем простое отмывание препарата раствором Рингера. Это, как нам кажется, подтверждает правильность того вывода, что применявшиеся нами реагенты — формальдегид и уксусный альдегид блокируют аминные группы белковой молекулы, в результате чего вызывают угнетение вкусовой чувствительности.

Если биологическая активность белка после обработки исследуемой функциональной группы специфическим реагентом исчезает, а после деблокировки восстанавливается, то можно считать эту группу существенно важной для проявления активности.

Результаты наших опытов дают право считать, что аминокислотные группы белка наряду с сульфгидрильными группами играют важную роль в течение тех сложных процессов, которые имеют место при вкусовом восприятии. Наши данные подтверждают общий вывод Х. С. Коштыянца о том, что чувствительность вкусовых рецепторов (как и других химических рецепторов) к различного рода раздражителям и способность их трансформировать энергию внешнего раздражения в нервное возбуждение находятся в глубокой зависимости от нормальной структуры белковых тел этих рецепторов и специально от состояния реактивных групп белка.

ВЫВОДЫ

1. Были проведены опыты на вкусовых рецепторах перфузируемого языка лягушки. Показателем чувствительности рецепторов служили биоэлектрические потенциалы язычного нерва, возникающие при раздражении языка вкусовыми веществами и водой.

2. Действие на рецепторы (через перфузируемую кровеносную систему языка) формальдегида и уксусного альдегида как агентов, блокирующих аминные группы белка, вызывало резкое снижение чувствительности рецепторов к применяемым вкусовым и водным раздражителям.

3. Последующее длительное отмывание рецепторов (через кровеносную систему языка лягушки) раствором Рингера, как правило, не восстанавливало рецепторной чувствительности или восстановление было лишь частичным.

4. Более эффективное восстанавливающее действие на чувствительность рецепторов оказывало введение в перфузат аминокислоты аргинина — предполагаемого донатора аминокислот.

5. Результаты исследований дают возможность предполагать, что аминокислотные группы белка наряду с сульфгидрильными группами играют определенную роль в процессах вкусового восприятия.

ЛИТЕРАТУРА

- Дэнюэль П. В сб.: Белки (под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли), 2. Изд. ИЛ, М., 1956.
 Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. Изд. АН СССР, М., 1951.
 Коштоянц Х. С. и К. Рोजа, Биофизика, 3, 6, 1958.
 Лазарев П. П., Изв. Физическ. инст., 1, 2, 1920.
 (Лазарев П.) Lasareff P., Arch. ges. Physiol., 194, 293, 1922.
 Путнам Ф. В сб.: Белки (под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли), 1. Изд. ИЛ, М., 1956.
 Юрьева Г. Ю., Биофизика, 2, 6, 1957.
 Andersson B. a. Y. Zotterman, Acta physiol. scand., 20, 1, 1950.
 Baradi A. F. a. G. H. Bourne, Nature, 166, 977, 1951a; Science, 113, 660, 1951b; International review of cytology, 2, 1953.
 Bourne G. H., Nature, 161, 445, 1948.
 Bourne G. H. a. A. F. Baradi, XX international physiological congress, 121, Brussels, 1956.
 Brücke H. V., H. F. Hellauer a. K. Umrath, Arch. int. Physiol., 55, 362, 1948.
 Hahn H., Zs. Sinnesphysiol., 65, 3, 4, 1934; Klin. Wschr., 15, 933, 1936.
 Landgren S., G. Liljestrand a. Y. Zotterman, Acta physiol. scand., 30, 105, 1954.
 Zotterman Y., Acta physiol. scand., 18, 181, 1949; Experientia, 6, 2, 57, 1950.

Поступило 23 III 1960

ON THE RÔLE OF THE REACTIVE GROUPS
OF PROTEIN IN THE TASTE RECEPTION

By G. Yu. Yurieva

From the Chair of animal and human physiology, Lomonosov State University, Moscow

In experiments on a perfused tongue of a frog the dependence was studied of the sensitivity of the taste receptors from the normal structure of the protein bodies of these receptors, namely from the state of the reactive aminogroups of protein. As an index of the sensitivity of the receptors served the bioelectric potentials of the n. lingualis elicited by the irrigation of the tongue with tasty substances and water.

It was shown that blocking the aminogroups with formal dehyde and acetic aldehyde introduced in the perfusate brings about a sharp decrease of sensitivity of the taste receptors with respect to their adequate stimuli, while the subsequent restoration of these groups with the aid of arginine (a supposed donator of the aminogroups) leads to normalization of the receptor sensitivity. These results permit to conclude that both the aminogroups and the sulphydryl groups, as previously established (Yurieva, 1957) play an important part in the processes of taste reception.

ВЛИЯНИЕ ГАНГЛИОБЛОКИРУЮЩИХ СРЕДСТВ НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ И СОДЕРЖАНИЕ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП В ВЕРХНЕМ ШЕЙНОМ ГАНГЛИИ

Н. Б. Высоцкая, Е. И. Ильина и Д. А. Харкевич

Лаборатория частной фармакологии Института фармакологии и химиотерапии АМН СССР и Кафедра фармакологии 1-го медицинского института им. И. М. Сеченова, Москва

Для суждения о механизме действия лекарственных веществ особое значение приобретает знание биохимических изменений, обуславливающих те или иные фармакологические эффекты. В этом направлении и было предпринято настоящее исследование, в котором изучалось влияние ганглиоблокирующих средств на активность некоторых ферментных систем и содержание сульфидрильных групп в верхнем шейном ганглии.

В работах, выполненных в нашей лаборатории ранее (Высоцкая, 1957а, б), было показано, что некоторые ганглиоблокирующие средства оказывают существенное влияние на содержание в верхнем шейном ганглии богатых энергией фосфорных фракций. Так было установлено, что угнетение передачи возбуждений в верхнем шейном ганглии, наблюдаемое при применении никотина, тетраэтиламмония, пентамина и пахикарпина, сопровождается значительным снижением содержания аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и креатинфосфата. В отличие от названных веществ гексоний не влияет на содержание в ганглии АТФ и неорганического фосфора, наблюдается лишь уменьшение креатинфосфата.

Характерно, что угнетение ганглионарной передачи, вызванное веществами, понижающими содержание АТФ, в той или иной степени восстанавливается при внутривенном введении АТФ. Что касается гексония, то применение АТФ не сказывается на его ганглиоблокирующей активности. Эти наблюдения дают право полагать, что уменьшение содержания АТФ в ганглии является одним из важных механизмов блокирующего влияния некоторых ганглиоблокирующих средств.

Дальнейшими исследованиями (Высоцкая, 1959) было показано, что одной из причин уменьшения АТФ в верхнем шейном ганглии является повышение активности аденозинтрифосфатазы.

Полученные данные побудили нас расширить исследования, касающиеся влияния ганглиоблокирующих средств на активность различных ферментных систем. Для этих целей были использованы гистохимические и биохимические методики.

В опытах на верхнем шейном ганглии кошек с помощью гистохимических методик было испытано влияние никотина, тетраэтиламмония, гексония, пентамина и мекамина на активность специфической и неспецифической холинэстеразы, кислой и щелочной фосфомоноэстеразы. Отдельные эксперименты были проведены с определением актив-

ности сукциндегидразы. Кроме того, определялось содержание сульфгидрильных групп. Опыты проводились *in vitro*. Ганглиоблокирующие средства испытывались в концентрациях от $1 \cdot 10^{-2}$ до $1 \cdot 10^{-6}$.

Активность специфической и неспецифической холинэстеразы определялась по методике Келле (Koelle, 1951). Срезы ткани ганглия перед обработкой их соответствующими реактивами помещались на 30—40 мин. в раствор ганглиолитика. Во избежание спонтанной диффузии фермента ганглиоблокирующие средства применялись в растворе сернистого натрия. В результате проведенных опытов выяснилось, что ни одно из испытанных нами ганглиоблокирующих средств не изменяло интенсивности окраски срезов, свидетельствующей об активности специфической и неспецифической холинэстеразы. Вместе с тем после воздействия зерина (10^{-4} M) активность холинэстеразы резко понижалась (срез обесцвечивался).

Кислая и щелочная фосфомоноэстераза определялись по модифицированному методу Гомори, основанному на энзиматическом расщеплении глицерофосфорнокислого натрия и выявления продуктов этого расщепления. В местах локализации кислой фосфомоноэстеразы при обработке срезов соответствующими реактивами наблюдается коричневое окрашивание за счет образования сульфида свинца. Для щелочной фосфомоноэстеразы характерно черное окрашивание, связанное с выпадением в осадок сульфида кобальта.

Проведенные исследования показали, что ни один из ганглиолитиков не оказывает тормозящего влияния на активность фосфомоноэстераз, даже если концентрация веществ была очень высокой ($1 \cdot 10^{-2}$).

В тех же условиях опыта был испытан фтористый натрий. Оказалось, что активность кислой фосфомоноэстеразы значительно снижается при применении фтористого натрия в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-5}$.

Если учесть, что фтористый натрий нарушает межнейронное проведение в верхнем шейном ганглии (Гребенкина, 1952), можно допустить, что в блокировании вегетативных ганглиев определенную роль играет угнетение фосфомоноэстераз. Такая возможность, по-видимому, не может быть исключена и для ганглиоблокирующих средств. В пользу такого предположения свидетельствуют данные Вальтера (Walter, 1954), в которых было показано, что при длительном применении пентамина активность кислой фосфатазы верхнего шейного ганглия снижается.

Отдельные эксперименты были проведены с определением активности сукциндегидразы. Принцип выявления фермента (метод Зелигмана и Рутенбурга) основан на восстановлении солей тетразолия до формазанов, дающих розово-фиолетовую окраску (Португалов и Яковлев, 1955).

Каких-либо изменений в окраске срезов ганглия по сравнению с контрольными при применении тетраэтиламмония, пентамина и никотина не наблюдалось.

Таким образом, ни одно из испытанных ганглиоблокирующих средств не оказывало тормозящего влияния на активность специфической и неспецифической холинэстеразы, кислой и щелочной фосфомоноэстеразы, а также сукциндегидразы. Иной результат был получен в отношении сульфгидрильных групп.

Для выявления сульфгидрильных (SH) групп использовалась методика с применением *n*-нитробромацетофенона (Яковлев и Нистратова, 1958). В результате соответствующей обработки срезов в местах локализации SH-групп наблюдается розовое окрашивание.

При изучении влияния ганглиоблокирующих средств на содержание SH-групп срезы помещали в растворы никотина, тетраэтиламмония, гексония и пентамина в концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-6}$ на срок от 6 до 24 часов. Результаты опытов показали, что пентамин и мекамин ($1 \cdot 10^{-6}$) не изменяли интенсивности окраски срезов. Никотин и тетраэтиламмоний в этих же концентрациях приводили к резкому снижению содержания SH-групп в ткани ганглия. Если в контрольных препаратах протоплазма нервных клеток и внутриядерные структуры выделялись своей яркой окраской, то после воздействия никотина и тетраэтиламмония срезы выглядели диффузно, окрашенными в бледно-розовый цвет. Такой эффект

наблюдается при применении этих двух веществ, начиная с концентрации порядка $1 \cdot 10^{-5}$ (рис. 1). Срезы, обработанные никотином и тетраэтиламмонием в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$, по интенсивности окраски не отличались от контрольных.

Менее отчетливый результат был получен в опытах с гексонием. В концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ гексоний в 5 случаях из 8 уменьшил окраску срезов, в 3 — не изменил. При уменьшении концентрации гексония до $1 \cdot 10^{-4}$ содержание SH-групп не менялось.

Таблица 1

Влияние ганглиоблокирующих веществ на содержание сульфгидрильных групп и активность холинэстеразы, фосфомоноэстеразы и сукциндегидразы в верхнем шейном ганглии

Вещества	Сульфгидрильные группы	Холинэстераза		Фосфомоноэстераза		Сукциндегидраза
		специфическая	неспецифическая	кислая	щелочная	
Тетраэтиламмоний	+	—	—	—	—	—
Гексоний	±	—	—	—	—	—
Пентамин	—	—	—	—	—	—
Никотин	+	—	—	—	—	—
Мекамин	—	—	—	—	—	—

Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о том, что никотин, тетраэтиламмоний и отчасти гексоний снижают содержание сульфгидрильных групп в ганглии. Естественным было выяснить, происходят ли эти изменения при внутривенном введении ганглиоблокирующих веществ. С этой целью были проведены исследования, выполненные с помощью полярографического метода, предложенного в 1922 г. Я. Гейровским и основанного на принципе определения зависимости силы тока от напряжения при электролизе раствора исследуемого вещества в специальных электролизерах. В работе был использован микрополярограф М-103 с автоматической фоторегистрацией кривых зависимости силы тока от напряжения. Определения производились с помощью ртутнокапельных электродов при 25° . Ввиду малого размера объекта (вес ганглия находится в пределах 10—15 мг) для определения SH-групп нами была использована каталитическая реакция Брдиčka (Brdička, 1937), позволяющая определить микроколичества SH-групп. Брдиčka установил, что вещества, содержащие SH-группы, дают четкую полярографическую волну в аммиачном буфере в присутствии соли двухвалентного кобальта. Полярографическая волна возникает при потенциале в 1.7 в. Для количественного определения SH-групп нами была снята калибровочная полярограмма различных концентраций цистеина. При этом было показано, что между количеством цистеина и высотой волны имеется прямая пропорциональность. В качестве контроля были проведены эксперименты, в которых сопоставлялось содержание SH-групп в тканях левого и правого ганглиев одного животного. При этом выяснилось, что содержание SH-групп в левом и правом ганглии существенно не отличается. Вместе с тем у разных животных наблюдались значительные колебания в содержании SH-групп. В связи с этим опыт и контроль обычно проводились на одном и том же животном. Состояние синаптической передачи опреде-

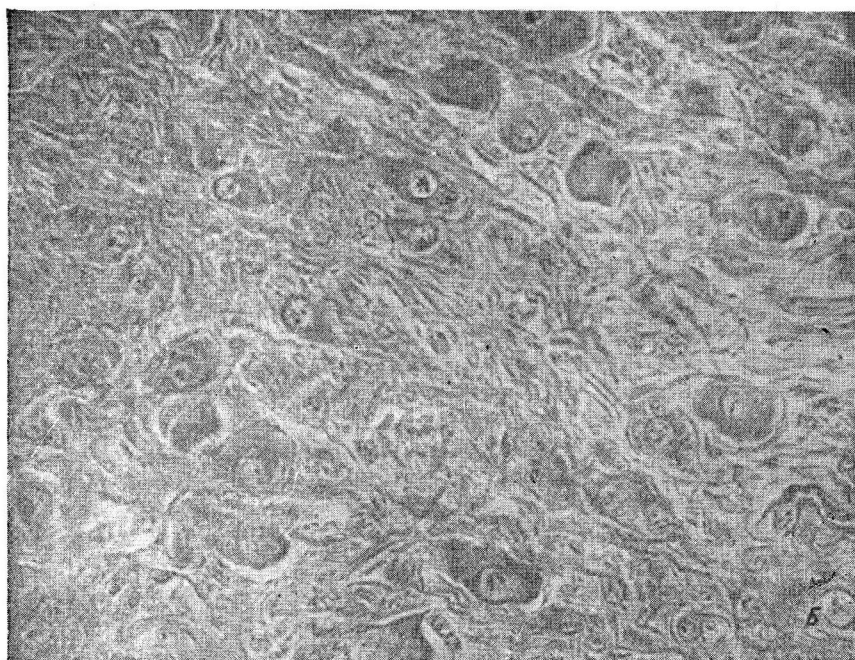
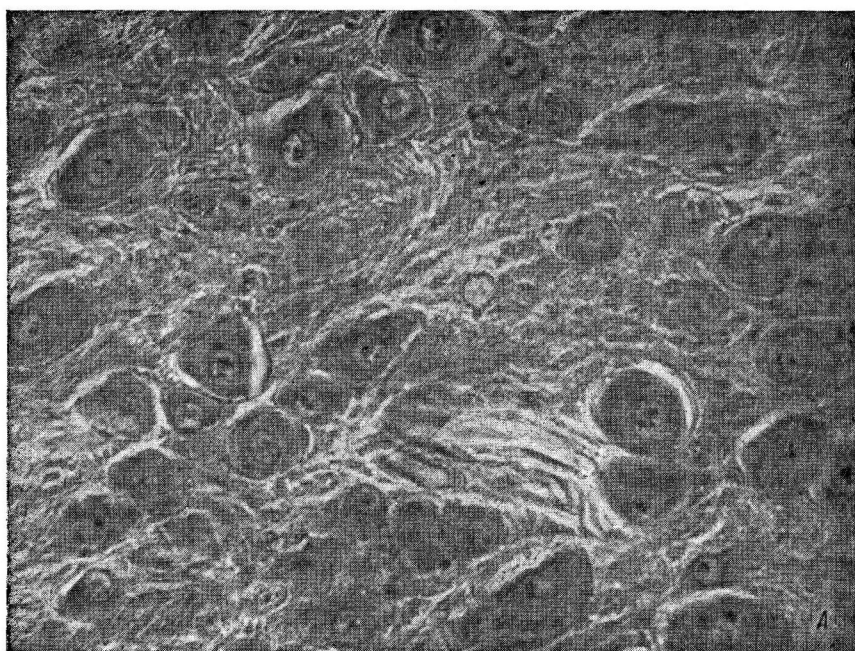


Рис. 1. Влияние никотина на содержание SH-групп в верхнем шейном ганглии.

А — контроль; Б — после воздействия никотином в концентрации $1 \cdot 10^{-4}$.

лялось по амплитуде сокращений третьего века при электрическом раздражении преганглионарного ствола.

Препараты вводились в дозах, полностью блокировавших ганглионарную передачу. Были испытаны (в мг/кг): никотин (1—2), тетраэтиламоний (10—15), пентамин (1—5), гексоний (10—15) и мекамин (5—10). Эти вещества вводились в бедренную вену. Через 12—30 мин. после наступления блокады ганглий экстирпировался и производилось определение SH-групп.

Проведенные исследования показали, что никотин, ТЭА, пентамин через 12—15 мин. после введения препарата вызывают уменьшение в содержании сульфгидрильных групп (рис. 2). Мекамин, очевидно, обладает фазным влиянием, так как через 10—12 мин. после введения в одних опытах наблюдается уменьшение содержания SH-групп, а в других — увеличение. При исследовании ганглий через 20—30 мин. после введения мекамина наступает уменьшение содержания SH-групп (рис. 3). Гексоний незначительно снижает содержание SH-

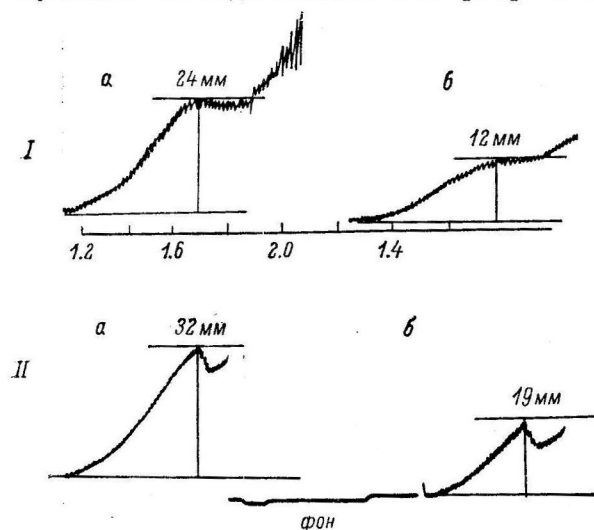


Рис. 2. Влияние никотина 2 мг/кг (I) и пентамина 5 мг/кг (II) на содержание SH-группы в верхнем шейном ганглии.

а — контроль; б — опыт.

групп; приблизительно в $1/3$ опытов имеется даже некоторая тенденция к их увеличению.

Как видно из данных табл. 2, наибольшие изменения в содержании SH-групп наблюдаются при введении никотина и пентамина, наименьшие — при применении гексония. В данном случае имеется определенный параллелизм между изменениями АТФ (Высоцкая, 1957а, б) и SH-группами в ганглии, содержание которых при применении ганглиоблокирующих средств, за исключением гексония, заметно снижается.

Таким образом, исследования, проведенные методом полярографии и с помощью гистохимической методики свидетельствуют о том, что многие ганглиоблокирующие средства приводят к уменьшению содержания SH-групп в верхнем шейном ганглии. Некоторые различия в результатах, полученных этими двумя методиками (см. табл. 1 и 2), очевидно связаны с их неодинаковой чувствительностью. Несомненно, что метод полярографии имеет значительные преимущества, так как он позволяет количественно определять незначительные изменения в содержании SH-групп. Аналогичные результаты получили Довлатян и Мирзоян (1959). Используя метод амперометрического титрования, они показали, что содержание SH-групп в гомогенате верхнего шейного ганглия после перфузии его растворами ганглиолитиков снижается.

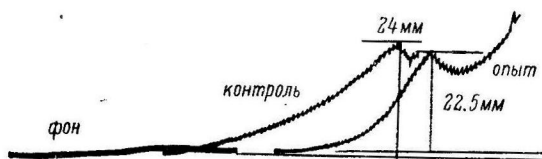


Рис. 3. Влияние мекамина 5 мг/кг на содержание SH-группы в верхнем шейном ганглии.

Одним из наиболее существенных вопросов является выяснение значения наблюдавшихся нами изменений в содержании SH-групп в механизме угнетающего влияния ганглиоблокирующих средств.

Общеизвестно, что SH-группы играют важную роль в деятельности нервной системы. Об этом свидетельствует хотя бы то, что связывание SH-групп тиоловыми ядами оказывает отрицательное влияние на передачу нервного возбуждения (Коптоянц, 1951, и др.). Эти и многие другие данные побудили нас испытать влияние различных веществ, содержащих сульфгидрильные группы или способствующих их освобождению, на активность ганглиоблокирующих средств.

Опыты проводились на наркотизированных кошках (хлоралоза 80 мг/кг с уретаном 0.5—1.0 на животное внутривенно). Регистрировались сокращения третьего века при максимальной силе раздражения преганглионарного ствола с частотой 20 стимулов в 1 сек. и продолжительностью каждого стимула 0.5 мсек. Схема опытов заключалась в следующем. Сначала вводилось ганглиоблокирующее средство (тетраэтиламмоний, гексоний, пентамин и никотин) в такой дозе, при которой амплитуда сокращений третьего века снижалась на 20—30%. Затем, после восстановления передачи возбуждения и ганглия до исходной, вводилось одно из веществ, содержащих сульфгидрильные группы (унитиол 75—150 мг/кг, цистеин 3—4 мг/кг, хлористоводородный цистеин 4 мг/кг). Кроме того, применялась мочевины в дозе 10—20 мг/кг. Через 5—15 мин. после применения какого-либо из этих веществ вторично вводилось ганглиоблокирующее средство. В опытах с мекамином вещества, содержащие SH-группы, и мочевины вводились на фоне угнетения ганглионарной передачи, вызванной мекамином (1 мг/кг).

В проведенных опытах унитиол, цистеин и мочевины заметно не ослабляли блокирующей активности испытанных ганглиолитиков. В отдельных экспериментах наблюдалась даже тенденция к некоторому углублению их угнетающего влияния на ганглионарную передачу. В этом отношении наши эксперименты не согласуются с данными М. А. Тараховского (1959).

Таким образом, в результате проведенных исследований мы располагаем данными, свидетельствующими о том, что некоторые ганглиоблокирующие средства снижают содержание SH-групп в верхнем шейном ганглии. Вместе с тем, как показали Г. Д. Смирнов, А. Л. Бызов и Ю. И. Рампан (1952), тиоловые яды угнетают передачу возбуждения в верхнем шейном ганглии. В этих опытах цистеин восстанавливал тормозящее влияние хлористого кадмия на ганглионарную передачу в условиях электрического раздражения пресинаптических волокон. Сопоставление этих данных дает все основания полагать, что блокирование сульфгидрильных групп, в том числе снижение их содержания при применении ганглиоблокирующих средств, должно оказывать неблагоприятное влияние на межнейронную передачу возбуждения в верхнем шейном ганглии. Что касается отрицательного результата, полученного при применении ганглиоблокирующих средств с веществами, содержащими сульфгидрильные группы, и мочевиной, то в этом случае, по-видимому, необходимы такие условия эксперимента, при которых сульфгидрильные группы, вводи-

Таблица 2

Влияние ганглиоблокирующих веществ на содержание сульфгидрильных групп в верхнем шейном ганглии

Вещества	Уменьшение содержания SH-группы (в %)
Никотин	23
Пентамин	27
ТЭА	9
Мекамин	9
Гексоний	0—5

мые извне, могли бы в функциональном отношении возместить недостаток сульфгидрильных групп, связанных с белковыми структурами верхнего шейного ганглия.

ЛИТЕРАТУРА

- Высоцкая Н. Б., Фармаколог. и токсиколог., № 2, 12, 1957а; № 4, 3, 1957б; № 6, 516, 1959.
 Гейровский Я. Техника полярографического исследования. 1951.
 Гребенкина М. Я. В кн.: Вопросы фармакологии вегетативной нервной системы. М.—Л., 1952.
 Довлатян С. В. и С. А. Мирзоян, Тез. докл. IX съезд Всесоюз. общ. физиолог., биохим. и фармаколог., 2, 104, Минск, 1959.
 Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. М., 1951.
 Португалов В. В. Очерки гистофизиологии нервных окончаний, М., 1955.
 Португалов В. В. и В. А. Яковлев, ДАН СССР, 103, № 6, 157, 1955.
 Смирнов Г. Д., А. Л. Бызов и Ю. И. Рампан, ДАН СССР, новая серия, 87, № 1, 155, 1952.
 Тараховский М. Л., Бюлл. экспер. биол. и мед., 67, № 2, 83, 1959.
 Яковлев В. А. и С. Н. Нистратова. Гистохимические методы в нормальной и патологической морфологии. 1958.
 Brdička K., Nature, 139, 1020, 1937.
 Koelle G. B., Journ. Pharmacol. а. exp. Therap., 103, № 2, 153, 1951.
 Walter W., Acta histochem., 1, № 1, 3, 1954.

Поступило 15 II 1960

THE INFLUENCE OF THE GANGLION-BLOCKING AGENTS ON THE ACTIVITY OF SOME ENZYMATIC SYSTEMS AND THE SULPHYDRYL GROUPS CONTENT IN THE UPPER CERVICAL GANGLION

By *N. B. Vysotskaia, E. I. Iliina, D. A. Kharkevich*

From the Institute of Pharmacology and Chemotherapy and the Chair of Pharmacology, Sechenov Medical Institute, Moscow

The influence of ganglion-blocking agents was studied on the activity of the specific and the unspecific cholinesterase, acid and alkaline phosphomonoesterase, succindehydrase and the content of sulphydryl groups in the cat upper cervical ganglion. Histochemical techniques as well as polarography were applied. Nicotine, tetraethylammonium, pentamine and mecamine were tested. Not one of these substances had any effect on the activity of the above enzymes. At the same time the content of the sulphydryl groups in the upper cervical ganglion, as determined by polarography, proved more or less to decrease under the influence of ganglion-blocking agents. Less active in this respect proved hexonium. Introduction of substances containing sulphydryl groups (cystein, unithiol) or aiding their liberation (urea) did not restore the ganglionic transmission disturbed by the ganglion-blocking agents.

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СТОРОН ЖИВОТНОГО ГИПНОЗА

М. Е. Лобашев, В. Б. Савватеев, Р. Ю. Касимов и В. В. ПономаренкЛаборатория физиологии низших животных Института физиологии им. И. П. Павлова
АН СССР, Ленинград

Явление животного гипноза представляет общебиологический интерес. Животный гипноз и приемы его получения известны с XVII в. Изучение этого явления давно привлекало внимание физиологов (Данилевский, 1879, 1888; Mangold, 1914; Павлов, 1921; Прессман, 1936; Тонких, 1938; Бирюков, 1956). Однако природа его продолжала оставаться мало исследованной. В некоторых зарубежных работах делаются попытки толковать явление животного гипноза антропоморфически, объясняя роль развития этого состояния чувством страха у животного (Gilman, Marcuse a. Moore, 1950; Ratner, 1958).

И. П. Павлов (1921) рассматривал животный гипноз как один из безусловных самоохранительных рефлексов задерживающего характера, в основе которого лежит процесс торможения в двигательном анализаторе. Глубина этого состояния зависит от силы действующего агента.

А. В. Тонких (1938) показала, что парасимпатические вещества (ацетилхолин и пилокарпин) удлиняют гипноз, а симпатические (адреналин) прекращают это состояние.

В последнее время в лаборатории Д. А. Бирюкова выясняется характер торможения, возникающего при действии ритмического освещения и сопровождающегося катаlepsией (Бирюков, 1956; 1958; Карманова, 1956, 1958). Авторы склонны рассматривать развивающийся при этом гипноз как особый вид внутреннего торможения.

С нашей точки зрения, животный гипноз, возникающий при любых формах воздействия (монотонном или ритмическом действии агента), является обычным охранительным торможением. При этом гипноз, вызываемый любыми агентами, может сопровождаться катаlepsией. Мы рассматриваем животный гипноз как следствие торможения, развивающегося во времени в зависимости от функционального состояния коры и подкорки, определяемого врожденными и приобретенными в онтогенезе свойствами ц. н. с. Мы обратили внимание на животный гипноз в связи с поисками корреляций основных свойств в. н. д. с различными врожденными ее свойствами. В 1951 г. началось систематическое исследование корреляции между силой возбудительного процесса и продолжительностью животного гипноза в различных аспектах.

Для вызывания гипноза был применен способ быстрого перевертывания животного на спину и его удерживание в таком положении в течение 20—30 сек.

Длительность гипноза определялась с момента окончания фиксации животного до его самостоятельного возвращения в нормальное положение. Объектами исследования были куры, осетровые рыбы и утки (домашние и дикие).

Функциональное состояние мозга
и животный гипноз

Влияние функционального состояния нервной системы на продолжительность животного гипноза было замечено раньше (Прессман, 1936; Савватеев, 1953). П. В. Симонов (1954) исследовал явление гипноза в связи с функциональным состоянием высших отделов ц. н. с. у кроликов. В его опытах все применявшиеся факторы, вызывающие торможение, удлиняли время гипноза, а факторы, усиливающие процесс возбуждения, сокращали его продолжительность.

В первой серии наших опытов изучалась длительность гипноза в зависимости от суточного изменения функционального состояния головного мозга у птиц (куры) и рыб (осетр).

На двух группах кур исследовались два различных режима суточного ритма сна и бодрствования: однодневный и двухдневный ритмы.

Одна группа находилась в бодрствующем состоянии непрерывно в течение 16 часов в сутки, другая также 16 часов, но с двумя периодами бодрствования по 8 часов каждый, разделенных двумя периодами сна по 4 часа (Лобашев и Савватеев, 1953).

При этом предполагалось, что в конце продолжительного светового дня будет наступать более глубокое истощение нервных клеток и соответственно удлиниться гипноз. При введении дополнительного сна и поддержания тонуса нервных клеток головного мозга на более высоком уровне продолжительность гипноза не должна была увеличиваться.

Длительность животного гипноза определялась в каждой группе кур (23 животных) два раза: после сна и в вечерние часы (табл. 1).

Таблица 1

Продолжительность животного гипноза у кур при разном суточном режиме сна и бодрствования (в сек.)

Суточный режим	Однодневный ритм		Двухдневный ритм	
Время суток (часы)	8	20	16	20—24
Продолжительность гипноза (в сек.)	186	443	162	263

О понижении работоспособности головного мозга первой группы (при однодневном ритме) мы судили по падению величины условных рефлексов в часы исследования гипноза (Савватеев, 1959).

Как и следовало ожидать, в группе с однодневным ритмом функциональное состояние нервных клеток к концу 16-часового бодрствования было более низким, чем в группе с укороченным восьмичасовым днем. Соответственно длительность гипноза к концу дня у первой группы увеличилась в 2,3, а во второй в 1,6 раза.

Из этого отчетливо видно, что при одинаковой сумме часов бодрствования в течение суток длительность гипноза увеличивается лишь при непрерывной 16-часовой нагрузке на нервную систему.

Выяснение влияния суточной периодичности на продолжительность животного гипноза проводилось и на представителях другого класса животных — осетровых рыбах (хрящевые ганоиды). Изучение гипнотического состояния у рыб представляет интерес, поскольку оно мало изучено.

Опыты были проведены на 120 осетрах (из реки Куры). Рыбы были в возрасте 6 месяцев. Результаты исследования показали, что к концу дня (19—21 час) длительность гипноза значительно увеличивается, а в утренние часы уменьшается (табл. 2).

Таблица 2

Длительность гипноза у осетров из р. Куры в течение суток (в сек.)

Время суток (часы)	9—11	11—13	13—15	15—17	17—19	19—21	21—23	23—1	1—3	7—9
Длительность гипноза	333	338	369	360	355	395	478	474	434	325

Эти опыты (табл. 2) свидетельствуют о суточной изменчивости функционального состояния нервной системы осетровых рыб, отражающейся в изменении длительности гипнотического состояния.

Во второй серии опытов на курах исследовалась продолжительность животного гипноза в зависимости от специального повышения и понижения силы возбудительного процесса. Так, в опытах В. Н. Шабуниной и Г. Д. Головачева наблюдалось увеличение длительности гипноза у кур при ослаблении возбудительного процесса в результате искусственно вызванного истощения нервных клеток.

У большой группы кур и петухов определялась продолжительность гипноза в норме. Затем куры помещались в камеру, где создавался шум трещотки силой до 100 дб. В результате воздействия трещотки происходило истощение нервных клеток и ослабление возбудительного процесса. Иногда у животных наступало каталептоидное состояние, и у них можно было произвольно создавать любые позы: птицы могли длительное время оставаться с вытянутыми ногами, развернутыми крыльями, с необычным положением головы и шеи и т. п. Во всех случаях животный гипноз у кур после применения трещотки был более продолжительным.

Прямым доказательством зависимости длительности животного гипноза от силы возбудительного процесса являются опыты с предварительной тренировкой последнего в онтогенезе.

У I группы цыплят на действие сверхсильного раздражителя (шум трещотки) вырабатывался пищедобывательный условный рефлекс. II группа также испытывала равное с I группой действие трещотки, но без пищевого подкрепления. III группа была контрольной. Цыплята этой группы воздействию трещотки не подвергались до момента испытания. После месячного воздействия трещотки на подопытных цыплят первых двух групп проводились испытания на продолжительность животного гипноза во всех трех группах. В трех испытаниях, которые производились с промежутком в 13 и 7 дней, длительность животного гипноза определялась до и после 10-минутного воздействия трещотки.

На табл. 3 представлены результаты таких опытов.

Таблица 3

Влияние тренировки силы возбудительного процесса у цыплят на продолжительность животного гипноза (по опытам В. Н. Шабуниной)

Повторные испытания	Длительность животного гипноза после действия трещотки (в % к его длительности до воздействия трещотки)		
	I группа	II группа	III группа
1-е	61.4	117.9	211.4
2-е	55.2	264.4	274.0
3-е	106.5	226.2	244.0
Среднее . . .	74.7	202.2	243.3

Как видно из данных табл. 3, у цыплят I группы, ранее тренированных к сверхсильному раздражителю, после 10-минутного применения трещотки длительность гипноза даже сокращается в сравнении с нормой. В результате сигнального пищевого значения шума трещотки не только не наблюдается истощения нервных клеток, но даже происходит повышение тонуса головного мозга.

В контроле и у цыплят II группы, где трещотка не имела сигнального пищевого значения, длительность гипнотического состояния увеличилась. Действие шума трещотки вызывало у этих кур истощение нервных

клеток и ослабление силы возбудительного процесса, что приводило к увеличению продолжительности животного гипноза.

Известно, что сила возбудительного и тормозного процессов, их свойство иррадиировать и концентрироваться во времени изменяются в онтогенезе. Поэтому в 3-й серии опытов изучалась продолжительность животного гипноза в онтогенезе.

Увеличение длительности гипнотического состояния с возрастом животных в свое время было отмечено А. П. Прессманом (1936). В его опытах цыплята в суточном возрасте имели незначительной длительности гипноз, сильно увеличивающийся во взрослом состоянии. Однако объяснение этому явлению не было дано.

Изучение животного гипноза в онтогенезе у кур и у рыб показало, что длительность его с возрастом претерпевает изменения. У цыплят в суточном возрасте гипноз почти отсутствует, составляя несколько секунд (3—25). К месячному возрасту длительность гипноза резко возрастает и в дальнейшем, нарастая к моменту полового созревания, испытывает волнообразные колебания, характер и размер которых обусловлены наследственной и модификационной изменчивостью.

Так, например, у цыплят породы австралорп длительность гипноза в возрасте одних суток составляет в среднем (в сек.): 11, в месячном — 334.1, в двухмесячном — 564.9, в трехмесячном — 604.6, а в четырехмесячном — 427.9.

У сеголеток осетра в возрасте 3 месяцев продолжительность гипноза в среднем равна 8.2 сек., а в 11 месяцев — 112.0 сек. У другого вида (шипа) наблюдается та же закономерность.

Одной из возможных причин непродолжительности гипноза в раннем онтогенезе является функциональная незрелость двигательного анализатора, затрудняющая концентрацию в нем тормозного процесса. Вероятно также, что проявление животного гипноза и его длительность зависят от соотношения силы возбудительного и тормозного процессов.

Исследования у кур пищевого двигательных условных рефлексов в онтогенезе показывают, что в раннем онтогенезе нервные процессы, в особенности тормозной, являются слабыми. Затем оба процесса усиливаются (Горшелева, 1936; Зелинский, 1958). Поэтому увеличение длительности гипнотического состояния в онтогенезе можно представить как результат онтогенетического становления уравновешенности основных нервных процессов животного.

Вероятно в силу слабой развитости процесса внутреннего торможения в первые дни жизни и в раннем онтогенезе, не удается получить длительный гипноз в этом возрасте. К месячному и двухмесячному возрасту у кур внутреннее торможение укрепляется. И как раз к этому возрасту относится резкий скачок длительности гипнотического состояния животного. У разных видов животных изменение длительности гипноза может происходить в другие возрастные периоды соответственно скорости развития основных нервных процессов.

Индивидуальная и наследственная изменчивость реакции гипноза

В следующих сериях опытов исследовалась изменчивость продолжительности животного гипноза в зависимости от индивидуальной, породной и видовой характеристики силы возбудительного процесса. Хотя индивидуальная изменчивость длительности гипноза достаточно велика, однако и в этом случае наблюдается положительная корреляция с силой возбудительного процесса. В опытах В. В. Пономаренко (1958а и 1958б) методом пищевого двигательных условных рефлексов определялась характеристика силы возбудительного процесса у отдельных особей как внутри породной группы, так и разных пород. Результаты исследования индивидуальной изменчивости продолжительности животного гипноза в зависимости от силы возбудительного процесса показывают, что чем сильнее

возбудительный процесс у отдельной особи, тем короче продолжительность гипноза.

Внутри каждой породной группы индивидуальная изменчивость по силе возбудительного процесса соответственно коррелирует с продолжительностью животного гипноза.

В опытах В. В. Пономаренко (1948) изучались также свойства в. н. д. у 5 породных групп кур, полученных из Кучинского птицеплемсовхоза и Островского птицевосхоза. При этом было показано четкое распределение их по силе возбудительного процесса. В группе с сильным возбудительным процессом оказались куры первомайские, русские белые и белый плимутрок; в группе слабых — леггорн и австралорп. В каждой породной группе обследовали с многократной повторностью по 6 животных.

Т а б л и ц а 4

Средняя продолжительность животного гипноза (в сек.)
у разных породных групп кур

Сильный возбудительный процесс			Слабый возбудительный процесс	
первомайская	русская белая	белый плимутрок	леггорн	австралорп
172	146	182	409	417

Так, куры первых трех породных групп, характеризующиеся большей силой возбудительного процесса, имеют значительно более короткую продолжительность животного гипноза (табл. 4). Куры леггорн и австралорп, обладающие меньшей силой возбудительного процесса, имеют гораздо более продолжительный гипноз. Следовательно, породные группы кур в процессе селекции приобрели различия по силе возбудительного процесса и другим свойствам. Хотя селекция домашних животных по свойствам нервной деятельности до сих пор еще не ведется, тем не менее в порядке их корреляции с отбираемыми хозяйственно полезными признаками свойства нервной деятельности также подвергаются неизбежной селекции. Этим и можно объяснить межпородные различия по длительности гипноза.

Следующий вопрос, подвергшийся исследованию, касался генетической природы изменчивости длительности гипноза. Если исходить из положения, что характеристика основных нервных процессов (возбуждения и торможения) в некоторых чертах определяется наследственно, то можно было предполагать, что продолжительность гипноза также предопределяется генетическими факторами. В пользу этого говорят несколько фактов. Во-первых, наличие разной продолжительности животного гипноза у различных пород кур, а также установленные в нашей лаборатории различия в продолжительности гипноза у диких, домашних и подсадных уток (Евгенов, 1953). Во-вторых, в ряде опубликованных исследований имеются прямые и косвенные доказательства эффективности селекции линий разных животных по некоторым свойствам нервной деятельности (Tryon, 1939; Searle, 1949).

Так, например, в работах Л. В. Крушинского (1959) показана возможность селекции крыс по чувствительности — резистентности к звуковому раздражителю. С нашей точки зрения, эта резистентность определяется селекцией по силе возбудительного процесса.

Третьим доводом в пользу предположения наследственной обусловленности продолжительности животного гипноза служит тот факт, что она в значительной степени зависит от уровня возбуждения безусловных центров. Так, например, при повышении пищевой возбудимости (голо-

дания) у молоди шипа длительность гипноза равна 32.4 сек., при понижении (насыщении) — 169.4 сек. Сходная картина наблюдается у других видов осетровых рыб, а также и у кур.

Для того чтобы получить прямое доказательство наследования реакции животного гипноза, мы применили метод межвидовой гибридизации — скрещивания двух видов осетровых рыб, имевших различную характеристику в проявлении гипноза. Межвидовое скрещивание в некоторых случаях дает возможность в более отчетливой форме наблюдать наследственные черты нервной деятельности. В особенности этот прием полезен

Таблица 5

Длительность животного гипноза (в сек.) у двух видов осетровых рыб и реципрокных гибридов.
(В каждом измерении исследовалось по 10 рыб)

Вид рыб и направление скрещивания	Возраст рыб (в месяцах)	
	3	11
Осетр	8.2	112.0
Шип	50.4	327.0
♀ осетр × ♂ шип . . .	6.0	5.0
♀ шип × ♂ осетр . . .	82.8	360.0

в тех случаях, где применим или ограничен генетический (факториальный) анализ отдельных свойств нервной деятельности.

Исходными видами были курийские осетр (*Acipenser guldenstadti persicus* B.) и шип (*Acipenser nudi-ventris* Lov.). Скрещивание ставилось прямое и реципрокное.

Родительские формы и гибриды выращивались в одинаковых лабораторных условиях. Результаты определения длительности гипноза у этих форм приведены в табл. 5.

Рассмотрение этих данных позволяет прийти к следующим выводам. В длительности гипноза имеются достоверные различия между двумя видами. С возрастом длитель-

ность гипноза увеличивается, за исключением одного случая (у гибрида ♀ осетр × ♂ шип в возрасте 11 месяцев). Продолжительность гипноза у гибридов первого поколения, судя по данным в 3-месячном возрасте, наследуется по материнской линии. В том случае, где в скрещивании материнской формой является осетр (♀ осетр × ♂ шип) — гипноз кратковременный, практически он отсутствует. В реципрокном скрещивании (♀ шип × ♂ осетр) у гибрида проявляется длительный гипноз, характерный для материнской формы.

В силу особенностей биологии размножения рыб их молодь не приобретает «навыков» в порядке подражательных рефлексов материнскому организму. Поэтому можно предполагать, что длительность гипноза у данных гибридов передается по типу матро-клинной наследственности. Вопрос этот остается до конца не выясненным: наследуется ли длительность гипноза как особый тип реакции или его наследование определяется косвенным путем — через характеристику силы возбудительного процесса?

Выше мы приводили факты в пользу прямой зависимости продолжительности гипноза от силы возбудительного процесса. Надо отметить, что одна из гибридных комбинаций (♀ осетр × ♂ шип) проявляет гетерозис в темпе роста. Размеры гибридов этой комбинации в некоторые периоды роста почти в два раза превышают размеры их сверстников родительской формы и реципрокного гибрида. Естественно, что при большом темпе роста гетерозисной комбинации у рыб развивается высокая пищевая возбудимость. Она, возможно, и создает более сильный возбудительный процесс, которому соответствует кратковременный гипноз у молоди гибрида в 3 и 11 месяцев. Если данное объяснение правильно, то в установленном явлении мы имеем доказательство наследственного определения длительности гипноза через наследование темпа роста и уровня возбуждения безусловного пищевого центра. Подтверждением сказанному служат результаты сравнительного определения силы возбудительного процесса у всех четырех форм рыб. Одним из показателей силы возбудительного процесса служило количество положительных ответов рыбы при многократном повторении в опыте положительного ус-

ловного раздражителя. Оказалось, что рыбы гетерозисной комбинации проявляли положительную реакцию на условный пищевой раздражитель в течение 8 часов, в то время как другие — значительно меньше. Рыбы гетерозисной комбинации имели огромную силу возбуждательного процесса, возникшего с пищевого безусловного центра. Благодаря этому у гетерозисной формы нельзя было выработать дифференцировочное торможение, тогда как у трех других форм оно хорошо вырабатывалось и укреплялось. Это также может служить объяснением кратковременного гипноза у гетерозисной комбинации.

Таким образом, нам представляется, что наследование длительности гипноза осуществляется косвенно через наследственное изменение темпа роста или уровня возбуждения безусловного пищевого центра, следствием чего, возможно, является измененный темп роста. Из изложенных фактов можно видеть, что изучение реакции гипноза позволяет подойти к пониманию более сложных биологических явлений, а именно, некоторых сторон наследования нервной деятельности целого организма.

ЛИТЕРАТУРА

- Бирюков Д. А., Совещ. по вопр. эволюц. физиолог. нервн. деят., Тез. и рефер. докл. 1956; II научн. совещ. по пробл. эволюц. физиолог., Тез. докл., Л., 1958.
 Головачев Г. Д., Журн. выпш. нервн. деят., 9, в. 4, 1953.
 Горшелева Л. С., Арх. биол. наук, 42, в. 1-2, 1936.
 Данилевский В. Я., Уч. зап. Имп. Акад. наук, 35, 1879; Физиолог. сб., 1, Харьков, 1888; Гипнотизм. Харьков, 1915.
 Евгеньев Д. Н., Совещ. по эколог. физиолог., Тез. докл., М.—Л., 1953.
 Зелинский К., Тр. конф. молодых научн. работн. Инст. физиол. им. И. П. Павлова АН СССР, Л., 1958.
 Карманова И. Г., Совещ. по вопр. эволюц. физиолог. нервн. сист., Тез. и рефер. докл., Л., 1956; в сб.: Проблемы сравнительной физиологии и патологии нервной деятельности, Л., 1958.
 Крушинский Л. В., Бюлл. Московск. общ. испыт. природы, 14 (1), 1959.
 Лобашев М. Е. и В. Б. Савватеев, Тр. Инст. физиолог. им. И. П. Павлова АН СССР, 2, 1953.
 Павлов И. П., 1921. Полн. собр. соч., 3, кн. 1, М.—Л., 1951.
 Пономаренко В. В., ДАН СССР, 118, № 3, 1958; Изучение свойств высшей нервной деятельности у кур разных пород. Л., 1958б.
 Прессман А. П., Арх. биол. наук, 42, в. 1-2, 1936.
 Савватеев В. Б. Влияние измененного суточного ритма на проявление полевого рефлекса у кур в онтогенезе. Дисс. Л., 1953; Журн. выпш. нервн. деят., 9, в. 5, 1959.
 Симонов П. В., Журн. выпш. нервн. деят., 4, в. 4, 1954.
 Тонких А. В., Физиолог. журн. СССР, 24, № 1-2, 1938.
 Gilman T. T., F. L. Marcuse a. A. U. Moore, Journ. Comp. Physiol. Psychol., 43, 1950.
 Mangold. Hypnose und katalapsie bei Tieren. Jena, 1914.
 Ratner S. C., Psycholog. Rep., 4, 1958.
 Searle L. V., Genetic Psychol. Monographs, 39, 1949.
 Tryon R. C., Journ. comp. Psychology, 28, 1939.

Поступило 7 I 1960

INVESTIGATION OF CERTAIN ASPECTS OF ANIMAL HYPNOSIS

By M. E. Lobashev, V. B. Savvateev, R. Iu. Kasimov and V. V. Ponomarenko

From the laboratory of inferior animals physiology, Pavlov Institute of Physiology, Leningrad

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ИННЕРВАЦИОННЫХ СИСТЕМ В НЕРВНО-МЫШЕЧНОМ ПРИБОРЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ КРАБОВ

М. Я. Кунцова

Институт эволюционной физиологии им. И. М. Сеченова АН СССР, Ленинград

В двигательном приборе ракообразных, как известно, существуют две нервно-мышечные системы: одна приспособлена для выполнения медленных, тонических двигательных реакций, другая система обеспечивает быстрые, фазные сокращения мышц. Кроме обычной двигательной иннервации, мышцы десятиногих раков и крабов получают тормозную иннервацию (Harreveld a. Wiersma, 1936, 1939; Kuffler a. Katz, 1946; Alexandrowicz, 1951; Hoyle a. Wiersma, 1958 а и б, и др.). Наличие периферического торможения является одной из характерных особенностей нервно-мышечного прибора ракообразных. Однако механизм его продолжает оставаться неизвестным (Burgen a. Kuffler, 1957; Hoyle, 1958). Недостаточно изучена и природа функционального взаимодействия между тормозной и специфической двигательной иннервацией. Для нас этот вопрос представлял особый интерес в общем плане исследований по эволюции пусковой и адаптационно-трофической функций нервной системы в скелетной мышце.

Согласно представлениям Л. А. Орбели (1933, 1945), в ходе функциональной эволюции нервно-мышечных приборов происходит постепенное формирование пусковой функции нервной системы. Регулирующая функция сохраняется за другим нервным прибором — симпатическим нервом, и, следовательно, на любом этапе развития мышца обладает иннервацией, настраивающей и регулирующей ее функцию. Л. А. Орбели постоянно подчеркивал важность этого положения.

Основные закономерности эволюции нервно-мышечных функций, установленные Л. А. Орбели в ряду позвоночных животных, были подтверждены также сравнительно-физиологическими исследованиями на нервно-мышечном приборе насекомых (Воскресенская, 1950, 1959) и ракообразных (Воскресенская, Кунцова и Сви́дский, 1959). В двигательном приборе этих животных наряду с пусковыми моторными нервами найдены нервные волокна с регулирующей функцией, аналогичные симпатическим нервам позвоночных животных. У насекомых симпатический непарный нерв в крыловых мышцах оказывает, как правило, положительное адаптационно-трофическое влияние на нервно-мышечный прибор. У другой группы членистоногих — ракообразных так называемый «тормозной» нерв оказывает двойное действие на двигательную реакцию мышцы. У одних животных он затормаживает эту реакцию, у других — стимулирует ее.

Для того чтобы понять физиологический механизм различных проявлений адаптационно-трофического действия, было бы интересно изучить функцию «тормозного» нерва по отношению к мышечным волокнам с различными функциональными свойствами, а именно — к медленным и быстрым нервно-мышечным системам.

Каким путем шла эволюция адаптационно-трофического влияния в ходе изменения функциональных свойств мышц? По-видимому, для разных нервно-мышечных систем иннервационные взаимоотношения будут складываться по-разному.

В настоящее время есть данные (Hoyle a. Wiersma, 1958б), что в быстрых системах, таких, как закрыватель клешни *Cambarus* или закрыватель ходильных ног *Pachygrapsus*, нельзя получить полное механическое торможение при раздражении тормозного нерва.

Возможно, что характер влияния тормозного нервного прибора в мышцах с тонической и фазной деятельностью связан с функциональной

специализацией мышечных систем или представляет различные ступени развития иннервационных отношений в мышцах.

Разработке этих вопросов и посвящена данная работа.

МЕТОДИКА

Работа проводилась на Карадагской биологической станции в Крыму в июле—сентябре 1959 г. Объектами исследования служили 4 вида черноморских крабов: каменный *Eriphia spinifrons* Herbst, травяной *Carcinus maenas* L., мраморный *Pachygrapsus marmoratus* Fabr и краб-водолюб *Xantho hydrophilus* Herbst.

Опыты ставили на изолированной конечности с клешней.

Подвижную браншу клешни соединяли с пишущим рычагом миографа. Сокращения закрывателя клешни регистрировали на кимографе.

К обнаженным нервным стволам — толстому (двигательному) и тонкому (тормозному) с противоположных сторон и на разных участках по ходу нерва подводили тонкие платиновые электроды. Производили поочередное раздражение нервов прямоугольными импульсами от тиратронного генератора, частота импульсов которого могла варьировать от 10 до 330 в 1 сек.

Растворы адреналина и симпатолитина в определенных дозах и концентрациях, а также физиологический раствор (морская вода) в качестве контроля вводили в просверленное в панцире клешни отверстие. Температура во время опытов равнялась 22—26°.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При стимуляции моторного нерва с разной частотой и надпороговой интенсивностью ответные двигательные реакции мышцы-закрывателя клешни у разных видов крабов проявлялись по-разному (рис. 1, а—е).

Замедленные реакции тонического типа были характерны для *Eriphia spinifrons* (рис. 1, а). Смешанные тонические и тетанические сокращения мышцы-закрывателя наблюдались в основном у *Pachygrapsus marmoratus* (рис. 1, б) и *Carcinus maenas*. У крабов этих двух видов в зависимости от частоты стимуляции можно было получать либо медленные сокращения при редких (11—45 в 1 сек.) раздражениях нерва, либо быстрые, тетанические ответы при соответствующем учащении раздражения. Диапазон частот для медленных и быстрых ответов мог перемещаться. В одном из опытов первоначальный медленный ответ мышцы наблюдался при частоте 30 раздражений в 1 сек. При повторной стимуляции эта же мышца отвечала медленной реакцией уже на частоту 11 в 1 сек., а на частоту 30 в 1 сек. развивала тетаническое сокращение. Здесь мы столкнулись с типичным для нервно-мышечного аппарата ракообразным явлением облегчения.

У краба *Xantho hydrophilus* мышца-закрыватель как на редкие, так и на частые раздражения двигательного нерва отвечала быстрыми, ритмическими сокращениями (рис. 1, в). Следует отметить, что подобного рода ритмические ответы мышцы (вместо тетануса) характерны для различных видов раков и крабов. Однако механизм этих ответов неясен.

Как известно, при чрезмерно частом раздражении двигательного нерва мышца впадает в состояние пессимума. У разных видов крабов пессимальные частоты раздражения были различными. Так, у *Eriphia* с замедленным, тоническим типом двигательных реакций пессимум частоты обнаруживался при 80—130 раздражениях в 1 сек. У более подвижного *Xantho* с быстрым, тетаническим типом двигательных ответов пессимальные реакции проявлялись при более высоких частотах раздражения (свыше 330 в 1 сек.).

Пессимум частоты при тетанической реакции, как правило, сопровождается расслаблением мышцы (рис. 2): Для тонической реакции такое расслабление большей частью отсутствовало. Пессимальные явления проявлялись здесь в постепенных затягиваниях сокращений и в развитии труднообратимых мышечных контрактур.

Отсутствие пессимального расслабления мышцы при тонусе объясняется Е. К. Жуковым (1957) медленнообратимыми изменениями вязко-эластических свойств возбужденных тонических мышечных волокон, находящихся при сокращении в состоянии местного слитного возбуждения.

При раздражении нерва оптимальными частотами (около 45 в 1 сек.) следовых, труднообратимых контрактур получить не удавалось. При этом мышца развивала нормальное тоническое сокращение, которое могло длительно поддерживаться во время действия раздражителя.

Таким образом, на основании косвенных данных, полученных на 4 видах крабов, было показано различие функциональных свойств различных нервно-мышечных систем. Нервно-мышечный прибор краба *Eriphia* с замедленными двигательными реакциями обладал меньшей величиной функциональной подвижности, чем прибор со смешанной (*Carcinus* и *Pachygrapsus*) и быстрой (*Xantho hydrophilus*) формой реагирования.

На этих различных по функциональным свойствам нервно-мышечных системах изучалось влияние предшествующего раздражения «тормозного» нерва на характер двигательной реакции мышцы при раздражении ее моторного нерва. Это влияние у разных видов крабов сказывалось по-разному (рис. 3, а—в).

У *Eriphia* предшествующее раздражение «тормозного» нерва постоянно оказывало тормозное действие. При повторной предшествующей стимуляции нерва торможение

мышцы углублялось вплоть до полного прекращения механических ответов (рис. 3, а).

У крабов со смешанным типом двигательных реакций в зависимости от длительности и интенсивности раздражения «тормозного» нерва его действие на нервно-мышечный прибор могло быть либо тормозным (при длительной и интенсивной стимуляции), либо положительным адапта-

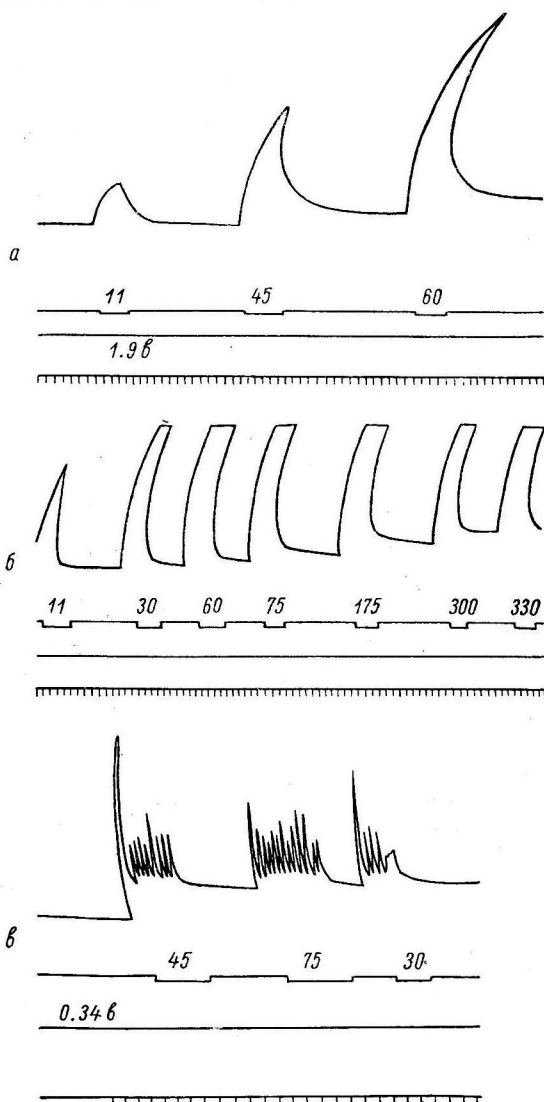


Рис. 1. Миограммы мышцы-закрывателя клешни краба при раздражении двигательного нерва.

а — *Eriphia spinifrons*; б — *Pachygrapsus marmoratus*; в — *Xantho hydrophilus*.

Сверху вниз: сокращение мышцы; отметка раздражения двигательного нерва; нулевая линия; отметка времени (2 сек.). Цифры — частота импульсов (в сек.) и напряжение (в в).

ционно-трофическим (при кратковременном и слабом раздражении).

Ритмическая активность мышцы *Pachygrapsus* после длительного

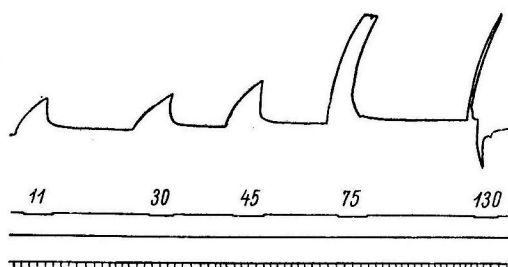


Рис. 2. Пессимум частоты раздражения тетаническим приборе мышцы-закрывателя.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

(20 сек.) раздражения «тормозного» нерва с частотой 45 в 1 сек. постепенно уменьшалась, зубцы на плато тетануса становились реже. После увеличения продолжительности стимуляции «тормозного» нерва до 40 сек. оптимальная ритмическая активность исчезала совсем и развивалось полное торможение мышцы-закрывателя (рис. 3, б).

У крабов с быстрыми ответами действие предшествующего раздражения «тормозного» нерва было в основном положительным адаптационно-трофическим (рис. 3, в). На рис. 3, в представлен опыт, в котором после раздражения тормозного нерва ритмическая активность мышцы-закрывателя *Xantho hydrophilus* увеличивалась, хотя в данном случае мы применяли чрезмерно частое раздражение (330 в 1 сек.).

Иногда по каким-либо причинам (возможно при неосторожных манипуляциях во время препаровки нервов) мышца-закрыватель была заторможена. В таких случаях положительное адаптационно-трофическое влияние «тормозного» нерва сказывалось в растормаживании мышцы и вовлечении ее в деятельность.

В предыдущей статье (Воскресенская, Кунцова и Сви́дeрский, 1959) нам удалось показать, что химическая природа влияний «тормозного» нерва в нервно-мышечных системах ракообразных близка к природе

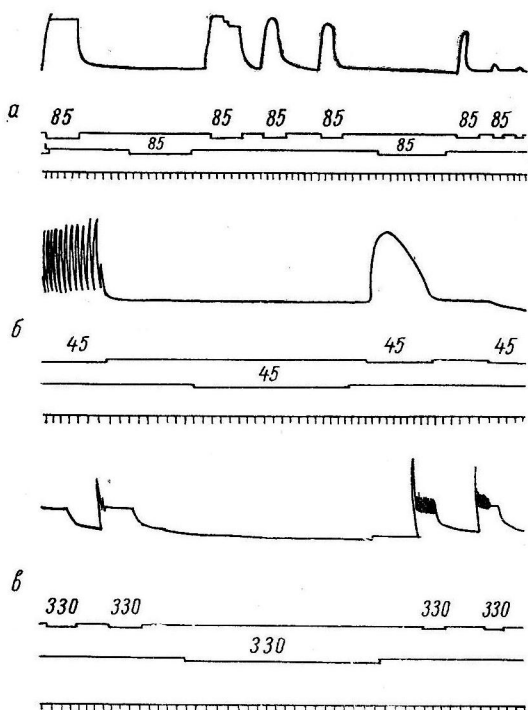


Рис. 3. Влияние стимуляции тормозного нерва на механические ответы мышцы-закрывателя от раздражения двигательного нерва.

а — развитие механического торможения мышцы *Etripha*; б — уменьшение и исчезновение оптимальной ритмической активности (*Pachygrapsus*); в — усиление ритмической активности (*Xantho*). Третья линия сверху — отметка раздражения для «тормозного» нерва.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

влияний симпатического нерва позвоночных и непарного нерва насекомых. При перфузии изолированной клешни речного рака (*Astacus Astacus* и *Astacus Leptodactylus*) физиологическим раствором введение симпатомиметического вещества адреналина в зависимости от дозы и концентрации

имитировало все эффекты действия «тормозного» нерва. Симпатолитин снимал это действие и возвращал функциональное состояние нервно-мышечной системы к исходному уровню.

Аналогичные данные были получены и в опытах на крабах. На рис. 4, а, б показано влияние адреналина в различных концентрациях на характер сокращения мышцы-закрывателя *Eriphia* и *Pachygrapsus*.

Введение адреналина в высоких концентрациях (от $1 \cdot 10^{-8}$ и выше) оказывало тормозящее влияние на двигательные реакции мышцы (рис. 4, а). У всех видов крабов это влияние было в основном одинаковым. Низкие концентрации адреналина ($1 \cdot 10^{-10}$ и ниже), имитируя положительное адаптационно-трофическое действие «тормозного» нерва, не одинаково влия-

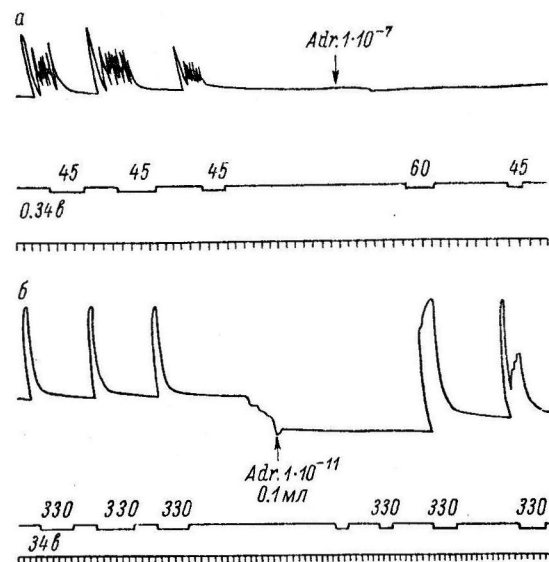


Рис. 4. Действие адреналина на мышцу-закрыватель.

а — тормозное действие у *Eriphia*; б — увеличение амплитуды сокращения мышцы (*Pachygrapsus*). Стрелки — момент введения адреналина.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

ли на мышцу у разных видов крабов. У *Eriphia* введение адреналина в низких концентрациях увеличивало способность мышцы развивать тоническое сокращение, т. е. оказывало положительное «тонотропное» действие.

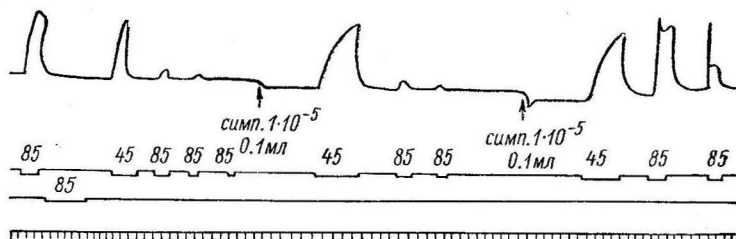


Рис. 5. Действие симпатолитина на мышцу-закрыватель (*Pachygrapsus*). Снятие тормозного влияния от действия «тормозного» нерва.

Стрелки — момент введения симпатолитина.
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 3.

Под «тонотропным» действием нервов Л. А. Орбели (1938) понимал их способность создавать благоприятные условия для выявления тонической деятельности мышцы. Этой способностью у позвоночных животных обладает симпатический нерв.

У крабов с ускоренным типом реакций низкие концентрации адре-

налина, как правило, повышали работоспособность мышцы, т. е. оказывали положительное адаптационно-трофическое действие.

На рис. 4, б видно, что введение адреналина в концентрации $1 \cdot 10^{-11}$ увеличивало амплитуду сокращения мышцы-закрывателя, что указывает на повышение уровня ее функционального состояния.

Торможение двигательной реакции мышцы, вызванное предшествующим раздражением «тормозного» нерва, могло сниматься симпатолитином. В опыте на *Pachygrapsus* (рис. 5) показано, что введение 0.1 мл раствора симпатолитина в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ постепенно восстанавливало двигательный ответ мышцы, заторможенный предшествующим раздражением «тормозного» нерва. На крабах, в противоположность ракам, действие симпатолитина было кратковременным.

Работоспособность заторможенной при препаровке мышцы также могла восстанавливаться симпатолитином. Блокируя систему «тормозного» нерва или отдельных его окончаний, симпатолитин снимал как тормозное, так и стимулирующее адаптационно-трофическое действие. При этом устранение симпатолитином положительного действия было выражено менее отчетливо, чем снятие тормозного.

Важно отметить, что симпатолитин снимал лишь то торможение, которое было вызвано предшествующей стимуляцией «тормозного» нерва. В отдельных опытах можно было наблюдать, что пессимальное торможение мышцы, развивающееся при чрезмерно частой стимуляции двигательного нерва, симпатолитином не снималось, а, напротив, углублялось до полного прекращения механических ответов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование двигательных ответов мышцы-закрывателя клешни разных видов черноморских крабов показало, что их нервно-мышечные приборы по ряду функциональных признаков существенно отличаются. Так, у *Eriphia* сокращения мышцы-закрывателя в основном медленные, тонические; у *Xantho* быстрые, тетанические и у *Pachygrapsus* и *Carcinus* — смешанные. По-видимому, это определяется разным соотношением медленных и быстрых нервно-мышечных систем в мышцах различных видов ракообразных. На эти индивидуальные особенности нервно-мышечных приборов ракообразных неоднократно указывали многие исследователи (Kuffler a. Katz, 1946; Hoyle a. Wierswa, 1958a, и др.).

На основании косвенных данных наших исследований можно сделать предположение, что нервно-мышечный прибор с замедленным типом двигательных реакций, как у *Eriphia*, обладает меньшей величиной функциональной подвижности, чем прибор с быстрой формой реагирования. Учитывая эти обстоятельства, мы подошли к изучению иннервационных взаимоотношений между специфическим «тормозным» и двигательным нервами.

Ранее, в работе на речных раках (Воскресенская, Кунцова и Свидацкий, 1959), было показано двоякое действие «тормозного» нерва на нервно-мышечный прибор закрывателя клешни. У рака *Astacus* это действие было в основном стимулирующим адаптационно-трофическим, а у *Leptodactylus* — тормозным. Характер влияний определялся также исходным функциональным состоянием препарата и характером действия раздражителя, его интенсивностью и длительностью.

Как и следовало ожидать, аналогичные взаимоотношения были обнаружены и у крабов. «Тормозной» нерв здесь также мог либо стимулировать двигательную реакцию мышцы, либо ее тормозить. На тоническом нервно-мышечном приборе действие «тормозного» нерва в подавляющем большинстве случаев было тормозным и в отдельных случаях положительным, тонотропным. Стимулирующее адаптационно-трофическое влия-

ние «тормозного» нерва чаще и яснее можно было наблюдать на препаратах с ускоренными, фазными реакциями.

Природа химических медиаторов у ракообразных до сих пор окончательно не выяснена. Есть предположение (Fatt, 1957; McLennan, 1957; Robbins, 1959), что у некоторых ракообразных существует особое тормозящее вещество, которым является γ -аминомасляная кислота. Однако трудно представить себе, чтобы эта кислота полностью имитировала тормозное действие (Hoyle a. Wiersma, 19586).

При изучении химической природы влияний «тормозного» нерва нам удалось показать, что у крабов так же, как и у раков, характер этих влияний близок к характеру влияний симпатического нерва позвоночных и непарного нерва насекомых.

Симпатомиметическое вещество — адреналин — могло имитировать действие «тормозного» нерва. Симпатолитин снимал его действие. Влияние симпатолитина на пессимальное торможение специально нами не изучалось, но отдельные наблюдения свидетельствуют, что пессимальное торможение симпатолитином не снимается. Механизм избирательного действия симпатолитина становится более понятным, если предположить, что двигательный нерв ракообразных по своей природе является холинергическим образованием.

ВЫВОДЫ

1. При раздражении двигательного нерва ответные реакции мышцы закрывателя клешни у разных видов крабов различны: у *Eriphia spinifrons* преобладают медленные, тонические ответы, у *Pachygrapsus marmoratus* и *Scarcinus maeuas* — смешанные и у *Xantho hydrophilus* — быстрые.

2. «Тормозной» нерв оказывает двоякое действие на нервно-мышечный прибор закрывателя клешни: у подвижных видов крабов с ускоренными двигательными реакциями это действие было стимулирующим адаптационно-трофическим, у менее подвижных видов с замедленными реакциями — тормозным.

3. Введение в клешню краба раствора адреналина в концентрации $1 \cdot 10^{-8}$ и выше имитировало тормозящее действие «тормозного» нерва, а в концентрации $1 \cdot 10^{-10}$ и ниже — положительное адаптационно-трофическое.

4. У крабов с ускоренными двигательными реакциями низкие концентрации адреналина повышали работоспособность мышцы, т. е. оказывали положительное адаптационно-трофическое действие. У крабов с замедленными реакциями это действие выражалось в «тонотропном» эффекте, т. е. в увеличении способности мышцы развивать тоническое сокращение.

5. Симпатолитин в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$, вводимый под панцырь клешни, снимал как тормозное, так и стимулирующее действие «тормозного» нерва.

ЛИТЕРАТУРА

- Воскресенская А. К., Физиолог. журн. СССР, 36, № 2, 176, 1950; Функциональные свойства нервно-мышечного прибора насекомых. М.—Л., 1959.
 Воскресенская А. К., М. Я. Кунцова и В. Л. Свидерский, Физиолог. журн. СССР, 45, № 7, 830, 1959.
 Жуков Е. К., Физиолог. журн. СССР, 43, № 11, 1112, 1957.
 Орбели Л. А., Природа, № 3—4, 77, 1933; Лекции по физиологии нервной системы, изд. 3. Медгиз, 1938; Тр. Физиолог. инст. им. И. П. Павлова АН СССР, 1, 1, 1945.
 Alexandrowicz J. S., Quart. Journ. Micro. Sci., 92, 163, 1951.
 Burgen A. S. V. a. S. W. Skuffler, Nature, 180, № 4600, 1490, 1957.
 Fatt P., Nature, 180, 628, 1957.
 Harreveld A. a. C. A. G. Wiersma, Journ. Physiol., 88, 78, 1936; Journ. Exper. Biol. a. med., 16, 121, 1939.
 Hoyle G., Nature, 181, 1134, 1958.

- Hoyle G. a. C. A. G. Wiersma, Journ. Physiol., 143, 403, 1958a; 143, 426, 1958b;
Kufner S. W. a. B. Katz, Journ. Neurophysiol., 9, 337, 1946.
McLennan H., Journ. Physiol., 139, 79, 1957.
Robbins J., Journ. Physiol., 148, 39, 1959.

Поступило 3 I 1960

PECULIARITIES OF INTERACTION OF THE INNERVATION SYSTEMS
IN THE NEUROMUSCULAR APPARATUS OF CERTAIN SPECIES
OF THE BLACK SEA CRABS

By *M. Ya. Kuntsova*

From the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

О СПИНАЛЬНЫХ ПУТЯХ КОРТИКАЛЬНОЙ ПРОЕКЦИИ ПРОПРИОЦЕПТИВНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ

Л. С. Гамбарян

Кафедра нормальной физиологии 1-го медицинского института имени И. М. Сеченова,
Москва

На современном этапе развития нейрофизиологии одним из основных способов исследования кортикальных проекций сенсорных систем и их путей в спинном и головном мозге является метод вызванных потенциалов (evoked potentials), основанный на изучении биоэлектрических реакций коры и других отделов мозга, возникающих в ответ на раздражение периферических афферентных приборов.

Используя этот метод в сочетании с острыми перерезками различных восходящих путей спинного мозга, Гарднер и Хаддэд (Gardner a. Haddad, 1953) показали, что полный перерыв путей задних столбов у кошек не препятствует поступлению афферентных импульсов от мышц в соответствующие проекционные области коры. Более того, было показано, что импульсы от раздражаемых мышечных и кожных нервов могут достигать I и II корковых соматических зон обоих полушарий даже в том случае, когда перерезаны все отделы спинного мозга, кроме одного вентролатерального.

Аналогичные результаты в опытах на кошках и обезьянах были получены и для афферентных проекций к среднему мозгу (Morin, 1953), к сенсорной и моторной коре головного мозга (Gardner a. Morin, 1953) и к передней доле мозжечка (Morin a. Gardner, 1953; Morin a. Haddad, 1953; Haddad, 1953).

В противоположность этим данным в исследовании Руча, Паттона и Амасяна (Ruch, Patton a. Amassian, 1952) перерезка задних столбов спинного мозга приводила к выпадению кортикального ответа, вызываемого стимуляцией глубоких или поверхностных нервов.

В специальных опытах, проведенных в условиях острых и хронических повреждений интраспинальных путей у обезьян, Гарднер и Морин (Gardner a. Morin, 1957) подтвердили ранее полученные ими данные и пришли к заключению, что в спинном мозге имеется больше чем один проводящий путь для большинства сенсорных модальностей. Факты, свидетельствующие об этом, были получены также при изучении спинальных путей сенсорных проекций мозжечка (Morin, Lindner a. Catalano, 1957).

В работе норвежских исследователей Бродала и Каада (Brodal a. Kaada, 1953) были представлены электрофизиологические доказательства, подтверждающие наличие в пирамидных трактах путей афферентной экстеро- и проприоцептивной сигнализации, ранее установленных гистологически (Brodal a. Walberg, 1952).

Паттон и Амасян (Patton a. Amassian, 1955), а годом позже Ландау (Landau, 1956), не подтвердив данных норвежских ученых, пришли к заключению, что зарегистрированные Бродалом и Каада сенсорные ответы в пирамидных трактах были связаны с распространением сюда импульсов из прилегающих афферентных систем. Однако в недавно опубликованном исследовании Тоуве и Джаббора (Towe a. Jabbur, 1959) показано, что при антидромном раздражении небольшого пучка волокон пирамидного тракта (отсеченного каудально и приподнятого на электроды) возникают специфические кортикальные ответы (волна «а»).

Таким образом, несмотря на существующие противоречия, большинство электрофизиологических данных говорит в пользу того, что задние столбы спинного мозга не являются единственными путями проведения кожной и проприоцептивной сигнализации.

В наших морфо-физиологических исследованиях (Гамбарян, 1953, 1956, 1957а, 1958; Гамбарян и Григорян, 1957), проведенных методом условных рефлексов в сочетании с различными повреждениями спинного и головного мозга, были получены данные, позволившие прийти к заключению, что в спинном мозге не существует узкой локализации проводящих систем и что для каждой афферентной системы существуют как «ядерные», так и «рассеянные» интраспинальные пути.

Как известно, в большинстве опытов с компенсацией разрушений спинного мозга производится перерезка тех или иных его проводящих путей. В свете приведенных выше фактов о неспециализированном характере проведения по спинному мозгу ряда чувствительных импульсов возникает естественный вопрос о новом подходе к самим механизмам компенсации этих нарушений.

В целях дальнейшей разработки этого нового представления мы и предприняли в лаборатории П. К. Анохина настоящее исследование степени специализации проводящих путей спинного мозга для проприоцептивной сигнализации при помощи метода вызванных потенциалов.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на 15 собаках различного возраста. Общая процедура экспериментов сводилась к следующему. У животного, находящегося под нембуталовым наркозом (40 мг/кг), вскрывалась область сигмовидной извилины одного или обоих полушарий, затем производилась ламинэктомия в нижних грудных сегментах и на протяжении 3—3.5 см отслаивалась ткань задних столбов. Операция вылушивания задних столбов производилась по методике, описанной нами ранее (Гамбарян, 1957б), с той только разницей, что в настоящей работе принимались все меры, чтобы не травмировать отделяемую часть спинномозговой ткани. Отсепарованная и отрезанная в каудальном конце ткань приподнималась на подвесные серебряные электроды (рис. 1, а). Путем электрораздражения задних столбов, изолированных таким образом, в коре головного мозга отыскивался фокус максимального биоэлектрического ответа. Затем выше участка раздражения в грудных или шейных сегментах производилась перерезка задних столбов (рис. 1, б) и изучалось влияние этой операции на вызванные потенциалы.

У некоторых животных вызванные кортикальные ответы изучались и при раздражении мышечных и смешанных нервов задних конечностей (п. ischiadicus, п. tibialis, п. peroneus communis, rami musculares). Нервы, намеченные к раздражению, отделялись от окружающих тканей, перерезались в дистальном отделе и помещались в погруженные электроды. Для предохранения от высыхания задние столбы и нервы, подвергающиеся электростимуляции, заливались нейтральным минеральным маслом, подогретым до температуры тела. Электрораздражение производилось одиночными импульсами тока прямоугольной формы, получаемыми от электронного стимулятора.

Биоэлектрические ответы коры регистрировались при наложении раздражающего тока порядка 1.5—2.5 в и длительности действия 1 мсек. Отведение вызванных потенциалов производилось с поверхности коры монополярным способом. При этом активный электрод представлял собой ватный фитилек, укрепленный на хлорированной серебряной проволоке и смоченный физиологическим раствором. Нейтральный электрод вкалывался в кость по средней линии черепной коробки у ее рострального полюса (область фронтального синуса). При регистрации вызванных потенциалов применялась ждущая разветвка катодного луча осциллографа ЭНО-1, синхронизированная с электронным стимулятором. Как до, так и после спинальной операции производилась фотодokumentация вызванных потенциалов.

Для установления статистической достоверности полученных результатов в каждом опыте на одном кадре фотопленки производилась съемка (накладывание один на другой) 10—12 последовательных биоэлектрических ответов.

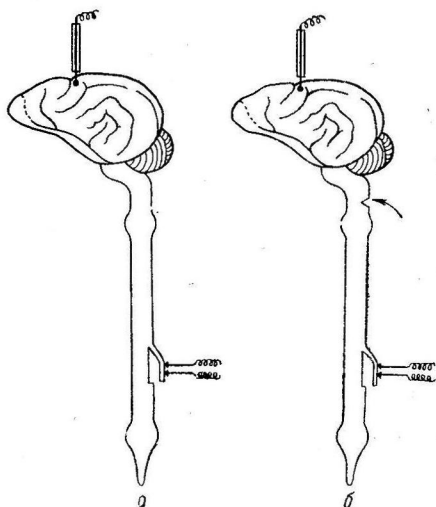


Рис. 1. Схема раздражения задних столбов и регистрации вызванных потенциалов до (а) и после (б) спинальной операции (указано стрелкой).

В процессе экспериментирования глубина наркоза поддерживалась дополнительными внутривенными введениями небольших доз нембутала.

Для идентификации полученных результатов область повреждения спинного мозга каждой собаки подвергалась гистологическому контролю.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во всех наших опытах раздражение задних столбов спинного мозга одиночными импульсами тока прямоугольной формы приводило к появлению в коре головного мозга вызванного или первичного ответа в виде положительного колебания потенциала (с латентным периодом 7—

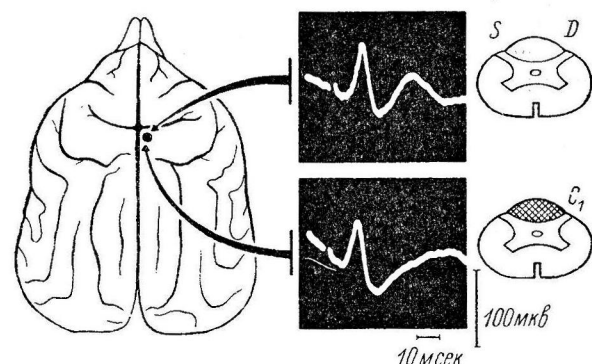


Рис. 2. Биоэлектрические потенциалы коры головного мозга, вызванные раздражением задних столбов спинного мозга в области $Th_6—Th_9$. Собака № 2.

На схеме слева показан фокус максимального биоэлектрического ответа коры. Схемы, справа, показывают, что первичные корковые ответы были зарегистрированы до перерезки задних столбов (верхняя кривая) и после нее (нижняя кривая). S и D обозначают левую и правую сторону. C_1 — область первого шейного сегмента. Заштрихованная часть указывает на степень оперативного повреждения поперечника спинного мозга. Как на этом, так и на всех остальных рисунках отклонение кривой фотозаписи вверх соответствует положительному колебанию потенциала.

вом, так и в правом полушариях. Амплитуда первичного ответа, его продолжительность и конфигурация зависели от силы и продолжительности раздражения. На характер вызванного потенциала оказывали влияние и глубина наркоза (Ройтбак, 1955), и состояние раздражаемой спинномозговой ткани (травмирование при препаровке, нарушение кровоснабжения и т. д.).

Подготовив «препарат» и зарегистрировав вызванные потенциалы, мы производили перерезку задних столбов спинного мозга. При этом у одних животных операция производилась в области верхних шейных сегментов, у других — верхних грудных.

Опыты показали, что, несмотря на острую перерезку задних столбов, в ответ на электростимуляцию уже через 2—5 мин. после операции в коре головного мозга появлялись характерные первичные ответы. Для иллюстрации сказанного на рис. 2 приведен один из таких опытов. Как видно на рис. 2, после перерезки задних столбов в области первого шейного позвонка (C_1) в ответ на одиночное электрораздражение этих же столбов в нижних сегментах ($Th_6—Th_9$) спинного мозга в фокусе максимального ответа появлялась биоэлектрическая реакция, мало отличавшаяся от таковой, зарегистрированной до операции.

Такие же результаты были получены и в том случае, когда область раздражения задних столбов находилась ниже области их перерезки на 5—6 сегментов спинного мозга.

В связи с тем, что острые повреждения спинного мозга обычно приводят к изменению кровоснабжения нервной ткани, а это в определенной

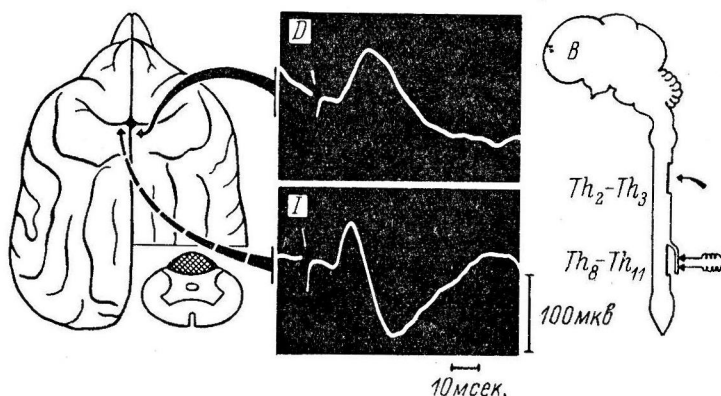


Рис. 3. Биоэлектрический ответ коры, полученный при раздражении задних столбов спинного мозга в области Th_8-Th_{11} (D), и биоэлектрический ответ при раздражении седалищного нерва правой конечности (I). Собака 10.

На схеме B стрелкой указана область хронического повреждения задних столбов (Th_2-Th_3).

мере служит помехой в получении вызванных потенциалов (Gardner a. Morin, 1957), у двух наших собак мы производили перерезку задних

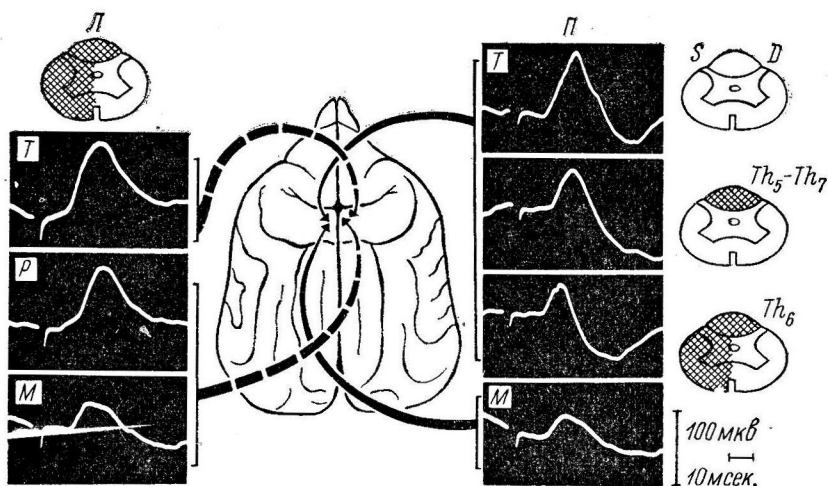


Рис. 4. Биоэлектрические потенциалы, вызванные в задних отделах сигмовидных извилин при раздражении нервов правой (П) и левой (Л) задних конечностей. Щенок № 14, возраст — 6 месяцев, вес 7.5 кг.

T — n. tibialis; M — rami musculares; P — n. peroneus communis. На поперечных срезах спинного мозга заштрихованы области перерезок, после которых регистрировались вызванные потенциалы. Стрелки указывают на области отведения корковых потенциалов.

Остальные обозначения те же, что и на рис. 2.

столбов за 15—20 дней до решающего эксперимента. При этом у одного животного задние столбы были перерезаны в первом шейном сегменте (C_1), у другого — удалены в области второго и третьего грудных сегментов (Th_2-Th_3). Результаты исследования и в этом случае показали,

что хроническое повреждение пучков Голля и Бурдаха не препятствует проявлению вызванных потенциалов в соответствующих проекционных зонах коры (рис. 3, D). Более того, четкий кортикальный ответ был зарегистрирован при раздражении седалищного нерва правой конечности (рис. 3, I).

Далее нас интересовал вопрос, как изменится кортикальный ответ, если у животного полностью удалить мозжечок, а затем произвести перерезку задних столбов. Опыт показал, что и в этом случае электростимуляция задних канатиков ниже спинальной операции приводит к появлению в коре головного мозга четкого первичного ответа.

Приведенные данные с полной убедительностью говорили о том, что нервные импульсы, возникающие в спинальных афферентных системах при раздражении задних столбов и седалищного нерва, могли достигать коры головного мозга не только через пучки Голля и Бурдаха, но и по другим путям спинного мозга.

Об этом же свидетельствовали и результаты другой серии наших опытов. Производя перерезку не только задних столбов, но и других отделов спинного мозга, мы могли убедиться, что при сохранении одного вентролатерального отдела или одной передней половины спинного мозга в ответ на раздражение мышечных и смешанных (кожно-мышечных) нервов импульсы могли достигать коры головного мозга. Так, в опыте, представленном на рис. 4, вызванные потенциалы, возникающие на раздражение п. tibialis правой ноги, регистрировались в коре головного мозга не только после удаления задних столбов в сегментах Th₅ — Th₇,

но и после левосторонней гемисекции в области шестого грудного сегмента (Th₆). Более того, после обеих спинальных операций вызванные потенциалы были зарегистрированы в коре и при раздражении мышечных нервов правой и левой задних конечностей (рис. 4, M). Иными словами, оставшаяся часть вентролатерального отдела спинного мозга оказывалась достаточной, чтобы импульсы от раздражаемых кожно-мышечных и мышечных нервов обеих конечностей достигали коры головного мозга.

Кортикальные ответы, вызванные раздражением седалищного нерва, не исчезали также и при поэтапной перерезке задней половины спинного мозга (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В опытах на собаках методом вызванных потенциалов в сочетании с острыми и хроническими перерезками спинальных трактов изучались пути проприоцептивной сигнализации.

Было установлено, что перерезка пучков Голля и Бурдаха в шейных или в верхних грудных сегментах не препятствует проявлению вызванных потенциалов в коре при раздражении дорсальных канатиков нижних

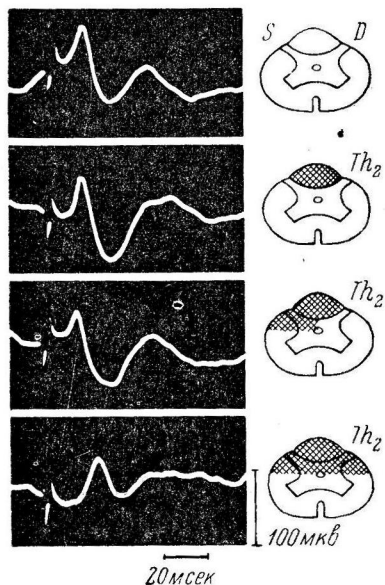


Рис. 5. Биоэлектрические потенциалы, отводимые от поверхности задней сигмовидной извилины левого полушария при раздражении седалищного нерва контралатеральной (правой) стороны. Щенок № 15, возраст 6 месяцев, вес 7 кг.

Обозначения те же, что и на рис. 2.

грудных сегментов. Импульсы от раздражаемых кожно-мышечных и мышечных нервов задней конечности достигали коры и в том случае, когда оставался интактным один лишь вентролатеральный отдел спинного мозга.

Наши данные в сочетании с результатами опытов других исследователей служат веским основанием высказанному нами еще в 1952 г. представлению о существовании в спинном мозгу помимо задних столбов и других (дополнительных, «резервных») путей проприоцептивной сигнализации (Гамбарян, 1953, 1959).

В целом как наши данные, так и данные приведенных авторов ставят вопрос о необходимости пересмотра старых представлений классической анатомии об узкой локализации и специализации функций проводящих систем спинного мозга, на что П. К. Анохин указывал еще в 1935 г. в связи с разработкой проблемы центра и периферии в физиологии нервной деятельности (Анохин, 1935).

ЛИТЕРАТУРА

- Анохин П. К. В сб.: Проблема центра и периферии в физиологии нервной деятельности, 9. Горьк. изд., 1935.
- Гамбарян Л. С. Условные рефлексы у собак после высокой перерезки задних столбов спинного мозга. Ереван, 1953; К вопросу о локализации функций в спинном мозгу. Ереван, 1956; *Physiologia Bohemoslovenica*, 6, 303, 1957a; Физиологический журнал СССР, 43, № 4, 371, 1957b; Арх. патол., № 6, 37, 1958; О функциональной и анатомической структуре условного двигательного рефлекса. Ереван, 1959.
- Гамбарян Л. С. и Г. Е. Григорян, ДАН СССР, 117, № 3, 535, 1957.
- Ройтбак А. И. Биоэлектрические явления в коре больших полушарий. Тбилиси, 1955.
- Brodal A. a. B. R. Kaada, *Journ. Neurophysiol.*, 16, 567, 1953.
- Brodal A. a. F. Walberg, *Arch. Neurol. Psychiat.*, 68, № 6, 755, Chicago, 1952.
- Gardner E. a. B. Haddad, *Am. Journ. Physiol.*, 172, № 2, 475, 1953.
- Cardner E. a. F. Morin, *Am. Journ. Physiol.*, 174, № 1, 149, 1953; 189, № 1, 152, 1957.
- Haddad B., *Am. Journ. Physiol.*, 172, № 2, 511, 1953.
- Landau W. M., *Science* 123, № 3201, 895, 1956.
- Mickle W. A. a. H. W. A. des, *Am. Journ. Physiol.*, 170, № 3, 682, 1952.
- Morin F., *Am. Journ. Physiol.*, 172, № 2, 483, 1953.
- Morin F. a. E. Gardner, *Am. Journ. Physiol.*, 174, № 1, 155, 1953.
- Morin F. a. B. E. Haddad, *Am. Journ. Physiol.*, 172, № 2, 497, 1953.
- Morin E., D. Lindner a. J. Catalano, *Am. Journ. Physiol.*, 186, № 2, 257, 1957.
- Patton H. D. a. V. E. Amassian, *Am. Journ. Physiol.*, 183, № 3, 650, 1955.
- Ruch T. C., H. D. Patton a. V. E. Amassian, *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.*, 30, 403, 1952.
- Towe A. L. a. S. J. Jabbur, *Science*, 129, № 3364, 1676, 1959.

Поступило 21 XII 1959

ON THE SPINAL PATHS OF CORTICAL PROJECTION OF THE PROPRIOCEPTIVE SIGNALLING

By L. S. Gambarian

From the Chair of normal physiology, Sechenov 1-st Medical Institute

The paths of proprioceptive signalling were studied in experiments on dogs by a method of evoked potentials together with acute and chronic dissections of the spinal cord dorsal funiculi.

It was established that dissection of the Gall and Burdach bundles in the cervical and thoracic segments does not interfere with the appearance

of the evoked potentials in the upper part of the posterior sigmoid convolution of the brain (field I of general sensitivity). When stimulating the muscle nerves of the hind limbs impulses reach the cortex even when the ventrolateral area of the cord alone is left intact.

Data of the experiments confirm the author's idea of the existence, apart from the posterior columns, of other additional paths of proprioceptive signalling passing inside the lateral and ventral funiculi of the spinal cord.

К ВОПРОСУ О ЛОКАЛИЗАЦИИ И ВОЗМОЖНОМ МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ АМИНАЗИНА НА НИСХОДЯЩУЮ РЕТИКУЛЯРНУЮ ФОРМАЦИЮ СТВОЛА МОЗГА

М. В. Сербиненко

Кафедра нормальной физиологии Медицинского института им. И. М. Сеченова, Москва

Внутривенная инъекция небольших доз аминазина (0.1—1 мг на 1 кг веса тела) вызывает длительное торможение активности люмбальных центров спинного мозга децеребрированного животного, вследствие чего антагонистические рефлексy полусухожильных мышц бедра, вызываемые раздражением седалищных нервов, исчезают (Сербиненко, 1958). Степень этого торможения у децеребрированных кошек зависела от количества введенного препарата и варьировала от небольшого снижения амплитуды рефлекторных сокращений до полного торможения взаимодействующих центров. Во многих случаях была отмечена способность аминазина избирательно углублять реципрокное торможение, не оказывая заметного влияния на развитие положительных компонентов антагонистических рефлексов. Действие аминазина вызывало удлинение латентных периодов рефлекса на 2—3 сек. В различных вариантах опытов было также показано, что тормозное действие аминазина на спинномозговые центры развивается в области ствола мозга, тогда как непосредственно на рефлекторную деятельность изолированного спинного мозга аминазин не оказывает влияния (см. также Preston, 1956).

Как доказано большим количеством исследований, субстратом, чувствительным к действию аминазина и его аналогов, является ретикулярная формация ствола мозга.

В последние годы становится все более ясным, что нельзя говорить о ретикулярной формации, как об однородном образовании в химическом и морфо-физиологическом отношениях (Brodal, 1957; Нарикашвили, 1958, и др.).

Помимо адренергического компонента ретикулярной формации (Dell, Bonvallet a. Hugelin, 1956; Rothballer, 1956; Анохин, 1956, 1957), в ней обнаружены также и холинергические образования (Bradley a. Elkes, 1957).

Такая химическая гетерогенность без сомнения свидетельствует о функциональной дифференцированности ретикулярного субстрата. На очереди стоит проблема изучения специфического участия ретикулярной формации в различных функциональных системах организма. Поэтому в дальнейшем наблюдении нисходящих влияний ретикулярной формации на двигательные рефлексy спинного мозга мы поставили целью выяснить, какую роль в торможении рефлекторной активности спинномозговых центров при действии аминазина играют функциональные связи ретикулярной субстанции с различными другими центрами ствола мозга.

При решении этого вопроса был использован метод хирургического удаления нервных образований и последующего исследования функции оставшихся частей мозга.

МЕТОДИКА

Опыты проводили на кошках. Под эфирным наркозом производили децеребрацию на уровне передней границы четверохолмия.

На задних конечностях отпрепарировали полусухожильную мышцу бедра и оба седалищных нерва. После перерезки п. п. *ischiadici* центральные отрезки их помещали в погружные электроды. Животное искусственно обогревали. По истечении нескольких часов, когда проходили явления шока и наркоза, приступали к раздражению нервов индукционным током. Применялась миографическая регистрация. Аминазин вводили внутривенно (10%-й раствор).

Ответная реакция полусухожильной мышцы бедра состояла из двух положительных фаз ипсилатерального рефлекса и отрицательной фазы, связанной с развитием реципрокного торможения в центрах данной мышцы под влиянием раздражения контралатерального нерва.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

У децеребрированных кошек после удаления мозжечка рефлекторная деятельность спинномозговых центров претерпевает существенные изменения. После децеребелляции возникает неустойчивость рефлекторного тетануса и непостоянство реципрокного торможения (Зимкин, 1946).

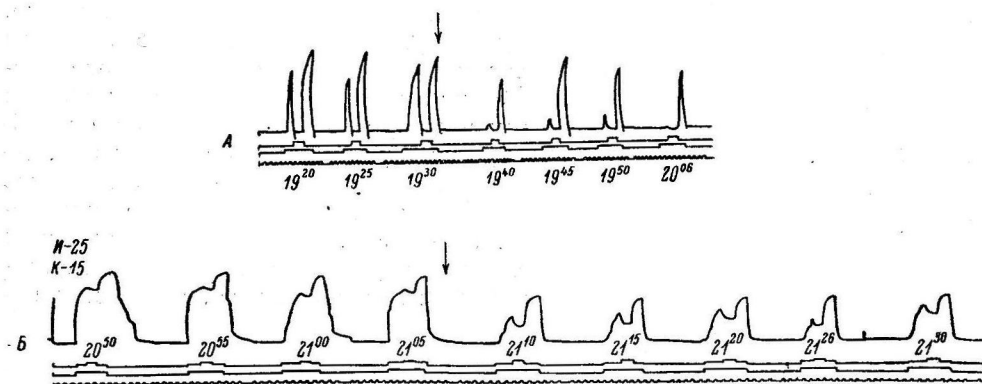


Рис. 1. Действие пороговой дозы аминазина (0.1 мг на 1 кг) на антагонистические рефлексы полусухожильной мышцы бедра у децеребрированной кошки (А) и повышение порога тормозного действия аминазина (до 1 мг на 1 кг) у безмозжечковых децеребрированных кошек (В).

Сверху вниз: миограмма полусухожильной мышцы бедра; отметки раздражения седалищных нервов; отметка времени (в сек.). И и К — сила раздражения ипсилатерального и контралатерального нервов. Цифры над отметкой раздражения — время (в час. и мин.). Стрелка — момент введения аминазина.

По-видимому, эти изменения связаны с утратой адаптационно-трофических влияний мозжечка, описанных в школе Л. А. Орбели.

Несмотря на то, что такие колебания рефлекторных реакций затрудняют анализ действия аминазина на активность двигательных центров спинного мозга, было очевидным, что после удаления мозжечка порог тормозного действия аминазина повышается. Напомним, что у децеребрированных кошек пороговой дозой аминазина, вызывающей изменения в антагонистических рефлексах, служит 0.1 мг препарата на 1 кг веса тела.

На рис. 1, А показаны нарушения соотношений фаз антагонистических рефлексов *m. semitendinosus* после внутривенного введения ами-

назина из указанного расчета. Они заключаются в резком угнетении 1-й положительной фазы и некотором углублении фазы реципрокного торможения. Введение же аминазина в дозе 0.5—1 мг на 1 кг веса немедленно вызвало у децеребрированных животных полное торможение всех рефлекторных реакций мотонейронов.

Но у децеребрированных животных после децеребелляции доза аминазина 1 мг на 1 кг вызывает нерезко выраженное ослабление всех компонентов антагонистических рефлексов (рис. 1, Б). Дозы аминазина ниже 1 мг на 1 кг оказываются неэффективными. Таким образом, после удаления мозжечка порог тормозного действия аминазина возрастает в 10 раз, но все же подавление спинномозговых рефлексов проявляется отчетливо.

В дальнейших исследованиях мы попытались локализовать те отделы ствола мозга, через которые осуществляется тормозное действие аминазина в нисходящем направлении. Для этого на децеребрированных безмозжечковых кошках мы в некоторых опытах произвели ряд полойных перерезок ствола мозга, отстоящих одна от другой на расстоянии 2—3 мм.

На рис. 2 приведена фотография дна 4-го желудочка кошки с нанесенными на него линиями производившихся перерезок.

Начав с разреза, проходящего через передний угол ромбовидной ямки и передний край варолиева моста, мы в каждом последующем опыте перерезали ствол все более каудально и находили при этом пороговую дозу аминазина, вызывающую торможение антагонистических рефлексов. Во всех опытах этой серии рефлекторная деятельность антагонистических центров спинного мозга оказывалась дискоординированной.

Реципрокное торможение вызвать не удавалось. Амплитуда сокращения мышц была непостоянной. Кроме того, вмешательство в области дыхательного центра вызвало генерализованные тонические судороги. На рис. 3 разрез ствола мозга произведен через передний угол ромбовидной ямки и передний край варолиева моста (линия А на рис. 9). В этом опыте аминазин в дозе 1 мг на 1 кг веса вызвал подавление рефлексов. Начиная же с уровня линии Д, проходящей через нижнюю треть варолиева моста, обнаружилась тенденция к возрастанию порога тормозного действия аминазина. При этом наблюдалась диссоциация в действии аминазина на рефлекторную активность сегментарных центров и генерализован-

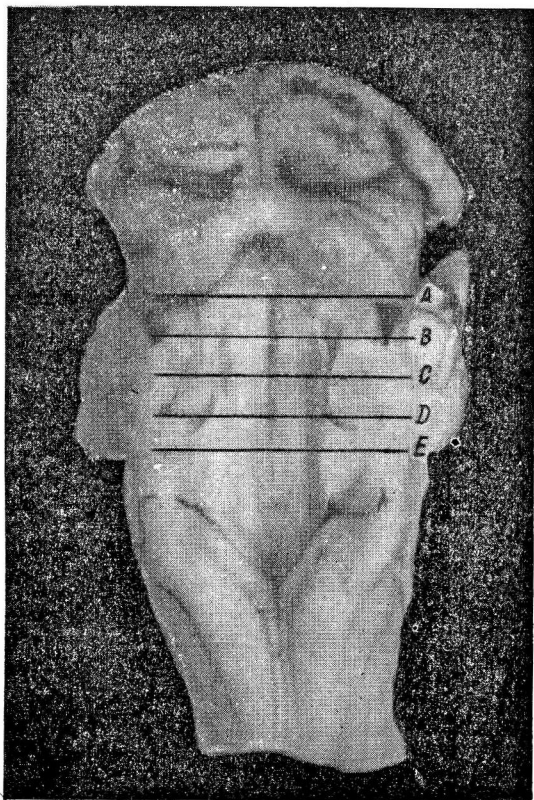


Рис. 2. Снимок ствола мозга кошки. Мозжечек удален.

Поперечные линии указывают уровни производившихся перерезок.

Остальные объяснения в тексте.

ную судорожную активность; а именно: аминазин в дозе 1—2 мг на 1 кг веса устранял судороги, не оказывая влияния на физические рефлексы (рис. 4, А).

При перерезке на уровне *E* (рис. 4, Б) тормозное действие аминазина на спинномозговые рефлексы оказалось полностью утраченным, несмотря на повышение его дозы до 4.5 мг на 1 кг веса тела.

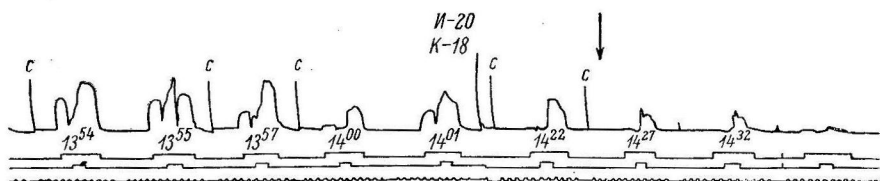


Рис. 3. Нарушение реципрокных взаимодействий антагонистических рефлексов у бульбарной кошки. Ствол мозга перерезан на уровне линии рис. 2, А.

Аминазин введен из расчета 1 мг на 1 кг. С — судороги.
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Таким образом, чувствительность нервных клеток к нейроплегическому веществу — аминазину быстро понижается в направлении от ростральных отделов ромбовидного мозга к каудальным. Перерезка ствола

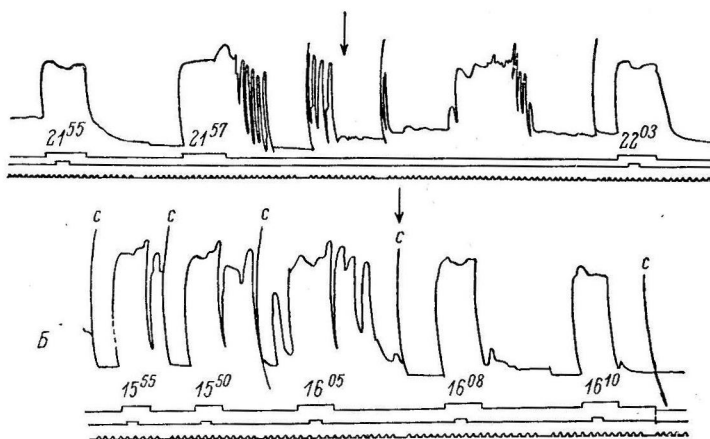


Рис. 4. Отсутствие тормозного действия аминазина на антагонистические рефлексы полусухожильной мышцы бедра у кошек с перерезками ствола мозга на уровне нижней трети варолиева моста (А по линии Д, рис. 2) и на уровне передней границы продолговатого мозга (Б по линии Е, рис. 2).

А — аминазин введен из расчета 1 мг на 1 кг, Б — 4.5 мг на 1 кг.
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

мозга на уровне передней границы продолговатого мозга влечет за собой устранение тормозной способности аминазина даже для дозы 4 мг на 1 кг веса. По сравнению с результатами применения аминазина на децеребрированных кошках это означает повышение порога чувствительности к этому препарату более чем в 40 раз.

Такое резкое повышение порога тормозного действия аминазина по сравнению с его действенными дозами на децеребрированных животных фактически означает, что в отсутствие среднего мозга и мозжечка чувствительность к аминазину продолговатого мозга и спинного мозга утрачивается.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При анализе полученных результатов необходимо хотя бы кратко остановиться на рассмотрении центральных образований, контролирующей деятельность спинномозговых нейронов. У децеребрированного животного после отделения переднего мозга и пирамидных нейронов регуляция двигательных функций осуществляется в значительной мере за счет нисходящей ретикулярной формации ствола мозга. При этом облегчающие влияния на спинномозговые рефлексy возникают на всем протяжении ретикулярной формации покрывки среднего мозга и варолиева моста (Rhines a. Magoun, 1946). Деятельность этой системы тесно связана с активностью красных и вестибулярных ядер (Gernandt a. Thulin, 1952; Crosby, 1956), которые вместе с ретикулярной формацией образуют единую функциональную систему. В то же время тормозные отделы нисходящей ретикулярной формации, расположенные в центральной части продолговатого мозга (Magoun a. Rhines, 1946), получают афферентные импульсы от различных подавляющих зон коры больших полушарий и от мозжечка.

Мозжечок оказывает сложное облегчающее и тормозящее влияние на бульбарную ретикулярную формацию. Кора передней доли мозжечка является источником возникновения тормозных импульсов, которые после переключения в фасцигальных ядрах поступают в бульбарную ретикулярную формацию (Snider, Magoun a. McCulloch, 1947). Другая часть тормозных импульсов, возникающих при раздражении коры мозжечка, воздействует на тормозные нейроны медиальной части бульбарной ретикулярной формации через ядра покрывки среднего мозга (Snider, McCulloch a. Magoun, 1949). Кроме того, стимуляция каудальных отделов nucl. fastigii оказывает через ретикулярную формацию перекрестное облегчающее влияние на антигравитационные экстензорные мышцы (Moruzzi a. Pompeiano, 1956).

Несмотря на то, что активность тормозящей ретикулярной формации продолговатого мозга может проявляться при ее непосредственном раздражении, функции ретикулярного образования зависят от поступления к нему импульсов от других тормозных и облегчающих зон головного мозга. У децеребрированного животного деятельность нисходящей тормозной и облегчающей бульбарной ретикулярной формации находится под контролем ростральных отделов ретикулярной формации среднего мозга и ядер мозжечка.

Особенно большая роль в этом контроле принадлежит адренергическому субстрату ретикулярной формации, расположенному в покрывке среднего мозга и варолиева моста (Rothballer, 1956).

Адренергический субстрат ретикулярной формации включается в формирование реакций, протекающих с преимущественным участием симпатно-адреналовой системы (Анохин, 1957; Гавличек, 1958, и др.). Очевидно, что при воздействии на животное различных вредоносных и болевых факторов, требующих мобилизации организма к защите, деятельность адренергического субстрата может проявляться в избирательном возбуждении облегчающих отделов ретикулярной формации ствола мозга и в подавлении тормозящих.

Электрическое раздражение седалищных нервов, применявшееся в наших опытах, является, конечно, ноцицептивным раздражением. Вместе с тем установлено блокирующее действие аминазина на эффекты ноцицептивных раздражений (Агафонов, 1956), которое развивается на адренергическом субстрате ретикулярной формации. Однако только блокированием адренергического субстрата трудно объяснить факты несомненно активного тормозного процесса, развивающегося после инъек-

ции аминазина. Об этом говорят опыты с восстановлением заторможенных аминазином рефлексов после перерезки спинного мозга (Сербиненко, 1958).

По-видимому, у децеребрированных животных блокирующее действие аминазина на адренергический субстрат приводит к высвобождению тормозных отделов бульбарной ретикулярной формации, в результате чего спинальные рефлексы затормаживаются. Как показали проведенные опыты, порог тормозного действия аминазина значительно повышается после экстирпации мозжечка. На основании литературных данных, можно думать, что децеребелляция устраняет тормозные влияния мозжечка на нейроны бульбарной ретикулярной формации, поэтому у безмозжечковых животных для проявления тормозного действия аминазина требуется большее его количество.

Поскольку у децеребрированных препаратов тормозное влияние аминазина хорошо выражено, а после перерезки ствола мозга на уровне передней границы продолговатого мозга (линия *E* на рис. 2) оно полностью утрачивается, следует полагать, что «аминазиностойчивые» структуры включают в себя ретикулярную формацию покрывки среднего мозга и варолиева моста.

ВЫВОДЫ

1. Тормозное действие аминазина на двигательные рефлексы децеребрированного животного может иметь двойственный механизм: а) аминазин блокирует активность ретикулярной формации среднего мозга и варолиева моста, вследствие чего высвобождаются тормозные отделы ствола мозга; б) малые дозы аминазина способны оказывать прямое стимулирующее влияние на тормозные отделы ретикулярной формации продолговатого мозга и мозжечка.

2. У децеребрированного животного деятельность спинномозговых центров определяется сложной функциональной корреляцией в пределах различных образований ствола мозга.

ЛИТЕРАТУРА

- Агафонов В. Г., Журн. невропатол. и психиатр. им. С. С. Корсакова, в. 2, 94, 1956.
- Анохин П. К. В кн.: Доклады на XX международном конгрессе физиологов в Брюсселе, 151, М., 1956; Физиол. журн. СССР, 43, № 11, 1072, 1957; Внутреннее торможение как проблема физиологии. М., Медгиз, 1958.
- Гавричек В. А., Физиол. журн. СССР, 44, № 4, 305, 1958.
- Зимкин Н. В. Физиол. журн. СССР, 32, № 1, 175, 1946.
- Лебедев В. П. Новые данные по фармакологии ретикулярной формации и синаптической передачи, 87.
- Нарикашвили С. П., Тр. Инст. физиологии АН Груз. ССР, 11, 269, 1958.
- Сербиненко М. В., Физиол. журн. СССР, 44, № 4, 281, 1958.
- Bradley P. B. a. l. Elkes, Brain, 80, 77, 1957.
- Bonvallet M., P. Delle et A. Hugelin, Journ. Physiol. (Paris), 46, 262, 1954.
- Brodal A. The Reticular Formation of the Brain Stem. Edinburgh, 1957.
- Crosby E., Progress in neurobiology, 12, 217, 1956.
- Dell P., M. Bonvallet et A. Hugelin, Encephale, 45, 1119, 1956.
- Gernandt B. E. a. C. A. Thulin, Am. Journ. Physiol., 171, 121, 1952.
- Magoun H. W. a. R. Rhines, Journ. Neurophysiol., 9, 165, 1946.
- Mollica A., G. Moruzzi et R. Naquet, Journ. Physiol. (Paris), 45, 193, 1953.
- Moruzzi G. a. O. Pompeiano. Experientia, Basel, 12, № 1, 38, 1956.
- Preston I. B., Journ. pharmacol. a. exper. Therap., 118, 110, 1956.
- Rhines R. a. H. W. Magoun, Journ. Neurophysiol., 9, 219, 1946.
- Rothballer A. B., EEG a. Clin. Neurophysiol., 8, № 4, 603, 1956.
- Snider R. S., H. W. Magoun a. W. S. McCulloch, Fed. Proc., 6, 207, 1947.
- Snider R. S., W. S. McCulloch a. H. W. Magoun, Journ. Neurophysiol., 12, 325, 1949.
- Thulin C. A., Acta physiol. Scand., 28, Suppl. 103, 161, 1953.

ON THE PROBLEM OF LOCALIZATION AND POSSIBLE MECHANISM OF THE AMINAZINE EFFECT UPON THE DESCENDING RETICULAR FORMATION OF THE BRAIN STEM

By *M. V. Serbinenko*

From the Chair of normal physiology, Sechenov 1-st Medical Institute, Moscow

In acute experiments the effect of a neuroplegic substance, aminazine, was studied on the antagonistic reflexes of the femoral m. semitendinosus in cats with various transections of the brain stem. A conclusion is drawn that inhibition of the spinal reflexes under the action of aminazine is effected with the aid of the reticular formation of the midbrain and pons. The possible mechanism of the aminazine effect on the descending reticular formation is discussed.

ОБЛЕГЧЕНИЕ И УГНЕТЕНИЕ НЕРВНО-МЫШЕЧНОЙ ПЕРЕДАЧИ В ХОДЕ РИТМИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ ПРИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОМ ОТВЕДЕНИИ

А. И. Шаповалов

Кафедра фармакологии 1-го Медицинского института, Ленинград

Согласно многочисленным данным, состояние активности, вызванное тетаническим раздражением пресинаптических нервных путей, способно вызывать в последствии глубокие изменения процессов передачи возбуждения в центральных и периферических синапсах. Поэтому изучение процессов, происходящих в синаптической области в ходе ритмического возбуждения, может дать важные сведения относительно механизма передачи импульсов в синаптических структурах. Наиболее подходящим методом для этих целей является внутриклеточное отведение потенциалов, дающее возможность исследовать процессы, происходящие непосредственно в синаптических образованиях.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на нервно-мышечном препарате портняжной мышцы травяной лягушки. Мышца прикреплялась к пробковой пластинке, помещенной в камере с раствором Рингера [состав (в ммоль): NaCl — 115, KCl — 2, CaCl_2 — 1.8, NaHCO_3 — 3]. В части опытов количество ионов кальция было уменьшено на 50% или увеличено в 2—3 раза по сравнению с нормой. Двигательный нерв располагался на биполярных серебряных раздражающих электродах. Стимуляция производилась с помощью электронного генератора прямоугольных импульсов. В ходе опыта полярность раздражающих электродов могла произвольно меняться, что исключало развитие поляризационных процессов в области соприкосновения электродов с нервом.

Внутриклеточное отведение потенциалов мышечного волокна осуществлялось с помощью стеклянных капиллярных микроэлектродов (Ling, Gerard, 1949). Микропипетки заполнялись 3М раствором KCl . Их сопротивление составляло 3—15 Мом, диаметр кончика менее 1 мк. Микроэлектрод присоединялся с помощью гибкого сочленения к сетке катодного повторителя (Голов и Костюк, 1956). Индифферентный неполяризуемый электрод, соприкасающийся с раствором, окружающим мышцу, соединялся через низкоомный калибратор с землей. Катодный повторитель был укреплен на микроманипуляторе ММ-1, с помощью которого под контролем бинокулярной лупы МБС2 производилось вертикальное погружение микроэлектрода в клетку. Катодный повторитель соединялся с усилителем постоянного тока, высокоомный выход которого подключался к пластинам электронно-лучевой трубки катодного осциллографа. Отводимые потенциалы регистрировались с помощью фотоаппарата Зенит-С при однократной развертке луча. С целью получения возможности непрерывной регистрации процессов, происходящих при длительной стимуляции, конечный каскад усилителя постоянного тока через низкоомный выход присоединялся к вибратору электромагнитного осциллографа МПО₂. Схема высокоомного (I) и низкоомного (II) выходов оконечного каскада усилителя постоянного тока представлена на рис. 1. Запись внутриклеточных мышечных потенциалов с помощью шлейфа № 5 показала, что по всем своим основным параметрам — форме, продолжительности и амплитуде — потенциалы, регистрируемые вибратором, совпадают с потенциалами, наблюдаемыми в электронно-лучевой трубке

(пример потенциала действия мышечного волокна, отводимого из области концевой пластинки и записанного шлейфом, представлен на рис. 1, Б): регистрация производилась шлейфным осциллографом, а катодный осциллограф служил для визуального наблюдения.

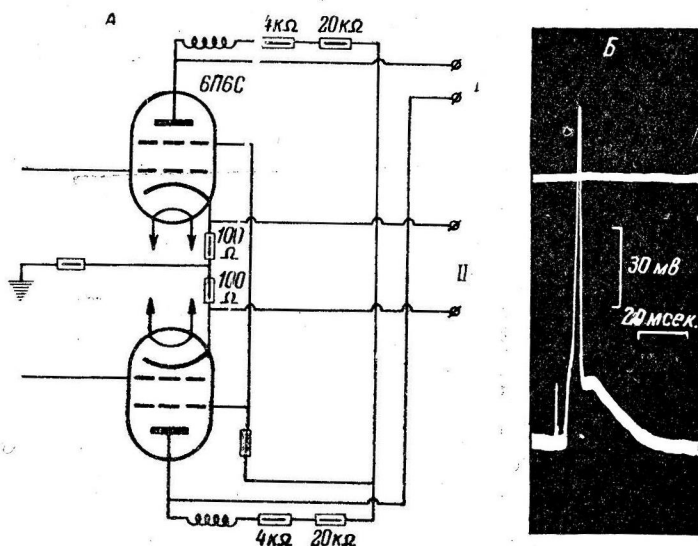


Рис. 1. Схема оконечного каскада усилителя постоянного тока для внутриклеточного отведения потенциалов (А) с высокоомным (I) и низкоомным (II) выходами и потенциал действия мышечного волокна, записанный с помощью электромагнитного осциллографа (Б).

Горизонтальная черта показывает величину потенциала покоя.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Регистрация потенциалов действия мышцы в ходе ритмического раздражения представляет значительные трудности, так как в результате сокращения мышцы очень часто происходит поломка кончика микроэлектрода. Поэтому наиболее успешные условия отведения создавались тогда, когда сокращения мышцы были ослаблены частичной кураризацией или нарушением нормального ионного состава окружающего мышцу раствора. Тем не менее при тщательной фиксации мышцы в некоторых волокнах можно было в течение длительного времени отводить как потенциалы действия, так и локальные потенциалы. Типичная форма потенциала действия, отводимого из области концевой пластинки, представлена на рис. 1, Б. Его амплитуда составляет в среднем 115 мв, с превышением над потенциалом покоя мембраны на 20—25 мв. Длительность пика обычно не превышала 4,5—2 мсек. Нисходящая часть потенциала действия часто переходила в медленное отрицательное отклонение, следовой отрицательный потенциал, амплитуда которого составляла в среднем $\frac{1}{8}$ часть амплитуды пика. В случае отведения пикового потенциала из области концевой пластинки на восходящей части отчетливо виден изгиб (рис. 1, Б), соответствующий переходу локального потенциала концевой пластинки в распространяющийся пиковый разряд. В соответствии с литературными данными (Nastuk, 1953), генерация пикового потенциала происходит обычно при достижении потенциалом концевой пластинки критического уровня 30—40 мв. На восходящей части пиковых потенциалов, отводимых из безнервной части волокна, признаков перехода локального процесса в распространяющийся разряд не обнаруживалось. Потенциалы концевой пластинки

могли легко регистрироваться отдельно от пиковых потенциалов при частичном угнетении нервно-мышечной передачи.

Даже в условиях нормального ионного состава и отсутствия веществ угнетающих нервно-мышечную передачу, потенциалы концевой пластинки некоторых волокон не достигали критического уровня, необходимого для генерации пика. Число таких волокон увеличивалось при уменьшении кальция в растворе или добавлении курареподобных препаратов. Чаще всего наличие только локальных потенциалов концевой пластинки, не

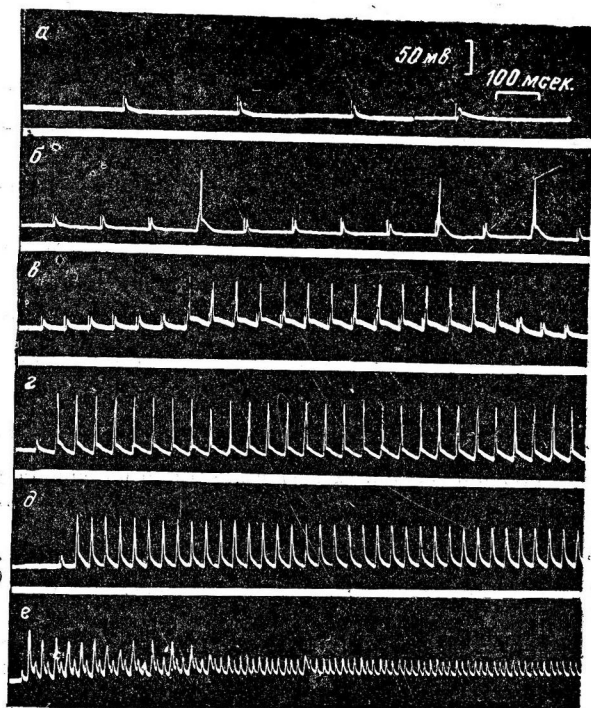


Рис. 2. Потенциалы мышечного волокна при разных ритмах раздражения двигательного нерва.

Отведение из области концевой пластинки.
Объяснение в тексте.

переходящих в пик, наблюдалось в ответ на одиночные или редкие раздражения с частотой не более 5 в 1 сек. (рис. 2, а) по мере увеличения частоты стимуляции локальные потенциалы увеличивались и на некоторых из последовательных пстencilов концевой пластинки возникали распространяющиеся разряды (рис. 2, б). Дальнейшее увеличение частоты раздражения сопровождалось прогрессивным облегчением нервно-мышечной передачи, проявляющемся в том, что все большее число потенциалов концевой пластинки сопровождалось пиками (рис. 2, в). При достижении известной частоты раздражения (рис. 2, г и д) практически все нервные импульсы вызвали распространяющиеся ответы мышечного волокна. Однако такое облегчение нервно-мышечной передачи не происходило бесконечно, и дальнейшее увеличение частоты стимуляции двигательного нерва приводило к тому, что вскоре после начала раздражения наступали трансформация ритма и исчезновение пиковых разрядов (рис. 2, е). Оставались только потенциалы концевой пластинки, которые могли регистрироваться в данном соединении в течение длительного времени.

Эти наблюдения, полученные в результате отведения электрических ответов из одной и той же точки клетки, показывают, что в процессе ритмического раздражения в нервно-мышечном соединении развиваются процессы облегчения и угнетения нервно-мышечной передачи. Превалирование одного из этих процессов зависит от частоты стимуляции и индивидуальных особенностей синапса, так как в разных концевых пластинках критические величины частоты раздражения, необходимой для развития облегчения или угнетения, колеблются в довольно широких пределах. Имеются волокна, в которых облегчение развивается только при частоте

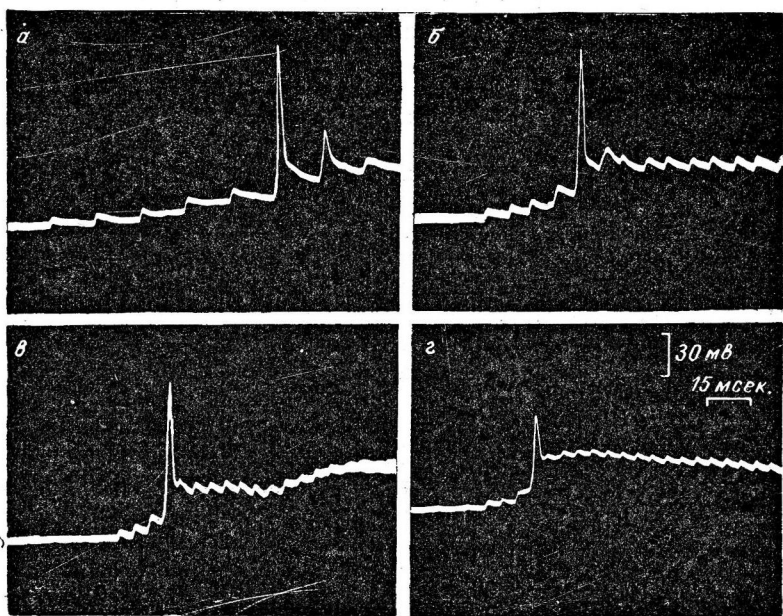


Рис. 3. Потенциалы концевой пластинки при разной частоте стимуляции в условиях недостатка кальция.

30—35 в 1 сек. В других волокнах такой ритм стимуляции приводит к угнетению нервно-мышечной передачи.

Особенно отчетливо изменения нервно-мышечной передачи в ходе ритмической активности наблюдаются в условиях частичного удаления из раствора ионов кальция. Почти все волокна мышцы, погруженной в такой модифицированный раствор Рингера, не способны генерировать пики на одиночные или редкие раздражения. Ритмическая стимуляция сопровождается развитием облегчения, которое развивается тем быстрее, чем выше частота тетанизации (рис. 3). Однако очень часто сразу же после облегчения, проявляющегося в генерации пика, развивается угнетение нервно-мышечной передачи.

В некоторых волокнах пиковые разряды генерируются в самом начале раздражения при использовании как ритмических, так и одиночных стимулов. Поэтому увеличение частоты раздражающего ритма сопровождается в них развитием угнетения нервно-мышечной передачи без признаков предварительного облегчения.

Пример такого угнетения, развивающегося по типу пессимального торможения Введенского, показан на рис. 4, а. В этом случае в ответ на первый стимул на потенциале концевой пластинки возникает распространяющийся пик. Уже второй и последующие стимулы вызывают только

потенциалы концевой пластинки, которые не способны вызвать в соседней с концевой пластинкой мембране мышечных волокон пиковый потенциал. Раздвоение локальных потенциалов, наблюдаемое в этом примере, свидетельствует о неодновременном охвате возбуждением соседних участков мышечного волокна. Поэтому можно рассматривать второй зубец раздвоенного локального потенциала как выражение локального ответа, возникающего в прилегающем к концевой пластинке электрически возбудимом участке мышечного волокна.

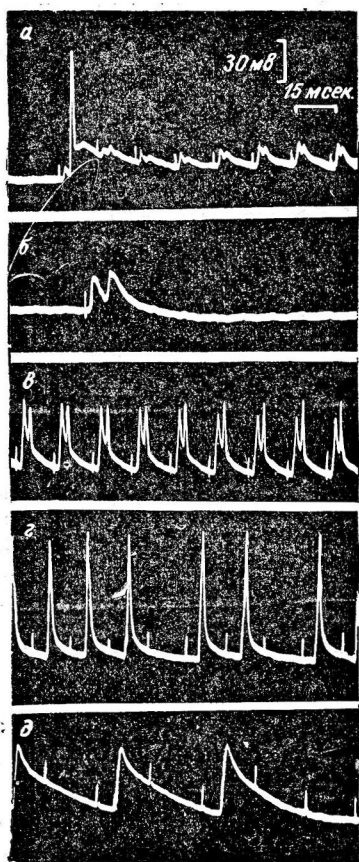


Рис. 4. Потенциалы мышечного волокна при разных ритмах раздражения двигательного нерва.

Отведение из области концевой пластинки (а, б, д) и из безнервной части волокна (в и г); д — содержание ионов кальция увеличено в 3 раза.

производились синхронно с раздражением, не изменяясь по амплитуде в течение длительного времени (нескольких секунд), можно предполагать, что местом синаптического блока в этих случаях является область контакта мембраны концевой пластинки с окружающей электровозбудимой мембраной мышечного волокна. Угнетение генерации пиков может наступить или вследствие того, что потенциалы концевой пластинки уменьшаются ниже критического уровня, необходимого для возникновения потенциала действия, и способны вызывать только локальные электротонические потенциалы, или в результате развития в окружающей концевую пластинку мембране падения возбудимости. Последнее обстоятель-

Отдельно пример такого локального потенциала, генерируемого потенциалом концевой пластинки, представлен на рис. 4, б. Следует отметить, что такое раздвоение иногда наблюдалось и в случае пиковых потенциалов при длительном тетаническом раздражении (рис. 4, в). Можно думать, что и здесь раздвоение потенциалов обусловлено неодновременным охватом возбуждения разных участков мышечного волокна. Раздвоение пиковых потенциалов наблюдалось гораздо реже, чем раздвоение локальных ответов в области концевой пластинки. Это обстоятельство легко объяснимо, так как несомненно между химически чувствительной мембраной концевой пластинки и электровозбудимой мембраной остальной части клетки существуют значительные функциональные и даже структурные различия. Электровозбудимая мембрана волокна, генерирующая и проводящая пиковый разряд, более однородна, и изменения, наступающие в результате длительного тетанического раздражения, значительно труднее обнаружить.

В большинстве случаев угнетение нервно-мышечной передачи, наблюдаемое в ходе ритмической стимуляции при отведении из безнервных участков клетки, проявлялось в выпадении отдельных пиков (рис. 4, г), трансформации раздражающего ритма и, наконец, в полном прекращении генерации пиковых потенциалов.

Ввиду того, что угнетение распространяющихся ответов клетки происходило обычно при таких частотах раздражения двигательного нерва (50—100 в 1 сек.), при которых потенциалы концевой пластинки вос-

ство может быть обусловлено рефрактерностью, составляемой предыдущими пиковыми разрядами. В самой концевой пластинке рефрактерность не развивается, так как мембрана этого участка мышечного волокна способна давать только локальные градуированные ответы (Fatt, Katz, 1951). Поэтому наблюдаемое в некоторых случаях полное выпадение части потенциалов концевой пластинки по типу «все или ничего» во время ритмического раздражения может быть объяснено только пресинаптическим блоком, развивающимся в терминальных двигательных нервных окончаниях.

Трансформация раздражающего ритма потенциалами концевой пластинки особенно часто наблюдалась после добавления в раствор Рингера избыточного количества ионов кальция (рис. 4, *б*). Ионы кальция увеличивают выделение ацетилхолина в ответ на нервный импульс (Castillo, Stark, 1952; Castillo, Katz, 1956). Поэтому амплитуда потенциалов концевой пластинки при увеличении ионов кальция в 2—3 раза по сравнению с нормой резко увеличивалась. Вместе с тем процесс трансформации потенциалов концевой пластинки наступал чаще, быстрее и при более низких частотах, чем в норме. Следовательно, можно считать, что угнетение нервно-мышечной передачи, наблюдаемое в этих условиях, в первую очередь объясняется пресинаптическим блоком. Вместе с тем важно отметить, что, хотя амплитуда потенциалов концевой пластинки была в два и более раз увеличена по сравнению с нормой, генерация пиков была часто угнетена. Следовательно, вторым существенным моментом, обуславливающим нервно-мышечный блок при избытке кальция, является нарушение перехода возбуждения из концевой пластинки на соседнюю мембрану. Причиной этого может быть повышение электрического порога мембраны, описанное в литературе (Frankenhaeuser, Meves, 1958), при воздействии ионов кальция.

Угнетение нервно-мышечной передачи курареподобными веществами как конкурентного (тубокурарин и диплацин), так и деполяризующего типа действия (дителин и декаметоний) проявлялось в первую очередь в уменьшении величины потенциалов концевой пластинки (рис. 5, *а* и *б*). Поэтому ускорение развития пессимальной реакции под влиянием этих веществ при регистрации пиковых потенциалов можно объяснить в первую очередь тем, что потенциалы концевой пластинки уменьшены ниже критического уровня. Процессы трансформации ритма потенциалов концевой пластинки под действием курареподобных веществ в применяемых нами концентрациях (вызывающих неполную кураризацию) мы не наблюдали. Следовательно, при кураризации особенно затруднена передача возбуждения в области контакта химически чувствительной и электровозбудимой

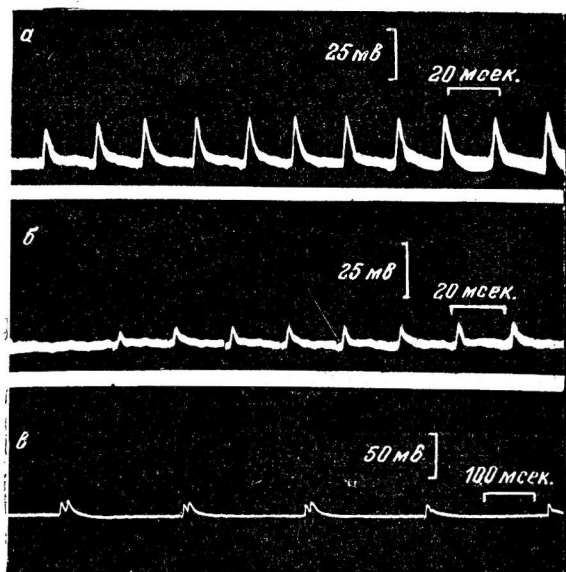


Рис. 5. Потенциалы концевой пластинки.

а — до, *б* и *в* — после прибавления диплацина в концентрации $7 \cdot 10^{-4}$.

части мембраны. При этом существенное значение может иметь не только уменьшение амплитуды потенциалов концевой пластинки, но и нарушение генерации процесса возбуждения в прилегающей к концевой пластинке мембране. На рис. 5, в видно, что в ходе ритмической стимуляции двигательного нерва потенциалы концевой пластинки кураризированной мышцы вначале вызывают локальные ответы, которые затем исчезают, хотя амплитуда потенциалов концевой пластинки почти не изменяется.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные показывают, что в зависимости от частоты ритмической стимуляции, содержания ионов кальция и действия курарепоподобных веществ в мио-невральном соединении развивается облегчение или угнетение нервно-мышечной передачи. Эти процессы возникают в результате одной и той же причины — предшествующей активности, тесно связаны между собой и могут быстро сменять друг друга. Трансформация раздражающего ритма, рассматриваемая обычно как выражение пессимального торможения Введенского, не обязательно является показателем развития угнетения синаптической передачи.

Данные, полученные нами с помощью внутриклеточного отведения из одной и той же точки мышечного волокна при различной частоте раздражения (рис. 2), показывают, что трансформация ритма может быть следствием недостаточно полного развития облегчения при редкой частоте раздражения и результатом пессимального угнетения при высокой частоте раздражения. Следовательно, трансформация раздражающего ритма может возникнуть не только в отсутствие всякого угнетения, но, наоборот, как результат облегчения.

Механизм постактивационного облегчения изучен в настоящее время довольно подробно. Наиболее вероятной причиной его возникновения является увеличение возбуждающего действия пресинаптических нервных окончаний вследствие увеличения освобождения медиатора. Вероятно, по этой причине облегчение наиболее ярко было выражено на препаратах с неполным угнетением нервно-мышечной передачи вследствие недостатка ионов кальция.

Рассмотрение полученных результатов показывает, что угнетение передачи возбуждения через мио-невральное соединение в ходе прохождения ритмических импульсов может развиваться в следующих звеньях синапса: 1) в пресинаптических двигательных нервных окончаниях, 2) в концевой пластинке и 3) в месте контакта концевой пластинки с электровозбудимой частью мембраны.

Возможность пресинаптического нервно-мышечного блока в настоящее время показана с помощью внутриклеточного отведения П. Г. Костюком (1959) и Крнжевич и Миледи (Krnjevic, Miledi, 1958). Избыток ионов кальция увеличивает вероятность наступления пресинаптического угнетения, видимо в результате повышения порога возбудимости мембраны нервных волокон к раздражающему действию электрического тока. Курарепоподобные вещества, уменьшая чувствительность концевой пластинки к медиатору, снижают амплитуду потенциалов концевой пластинки до величины ниже критической для генерации пика. Это обстоятельство или повышение порога электровозбудимой мембраны в результате развития рефрактерности или под действием химических веществ (например, ионов кальция) способствует наступлению блока в области контакта мембраны концевой пластинки с соседней частью волокна.

ВЫВОДЫ

1. В опытах на нервно-мышечном препарате лягушки с помощью внутриклеточных электродов изучалось облегчение и угнетение нервно-мышечной передачи в ходе ритмического раздражения двигательного нерва и установлено, что облегчение нервно-мышечной передачи при тетаническом раздражении имеет пресинаптическую природу.

2. Угнетение нервно-мышечной передачи при высоких ритмах раздражения и под влиянием курареподобных веществ и ионов кальция развивается: а) в пресинаптических нервных окончаниях, б) в области концевой пластинки, в) в области контакта мембраны концевой пластинки с соседней поверхностью клетки.

3. Трансформация ритма раздражения, рассматриваемая обычно как результат пессимального торможения синаптической передачи, может наступить не только при развитии угнетения, но также и как результат облегчения нервно-мышечной передачи.

ЛИТЕРАТУРА

- Голов Д. А., П. Г. Костюк, Физиолог. журн. СССР, 42, № 1, 114, 1956.
Костюк П. Г., Биофизика, 4, № 2, 134, 1959.
Castillo J., L. Stark, Journ. Physiol., 116, 507, 1952.
Castillo J., B. Katz, Progr. in Biophys., 6, 121, 1956.
Fatt P., B. Katz, Journ. Physiol., 115, 320, 1951.
Frankenhaeuser B., H. Meves, Journ. Physiol., 142, 360, 1958.
Krnjevic K., R. Miledi, Journ. Physiol., 140, 440, 1958.
Ling G., R. W. Gerard, Journ. Cell. Comp. Physiol., 34, 397, 1949.
Nastuk W. L., Journ. Cell. Comp. Physiol., 42, 249, 1953.

Поступило 25 VI 1959

FACILITATION AND DEPRESSION OF THE NEUROMUSCULAR
TRANSMISSION DURING RHYTHMICAL STIMULATION
IN THE PROCESS OF INTRACELLULAR RECORDING

By A. I. Shapovalov

From the pharmacology Chair of Pavlov Medical Institute, Leningrad

Facilitation and depression of neuromuscular transmission during rhythmical stimulation of the motor nerve was studied in experiments performed on a nerve-muscle preparation of a frog's *m. sartorius* with the aid of intracellular glass electrodes. The results obtained show that the depression of neuromuscular transmission may develop at high stimulation rhythms and under the influence of curare-like agents: a) in the presynaptic nerve endings, b) in the area of the end-plate, c) in the locality of contact between the end-plate and the adjacent cell surface. Facilitation of the neuromuscular transmission at tetanic stimulation is of presynaptic nature.

АТОНИЯ (ПАССИВНАЯ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЯ)
ЗРИТЕЛЬНЫХ ЦЕНТРОВ ЛЯГУШКИ

Г. С. Ковальский

Кафедра физиологии Медицинского института, Хабаровск

В течение ряда лет на кафедре физиологии Хабаровского медицинского института проводится изучение функционального состояния денервированных структур в ранние сроки после перерезки или функциональной блокады соответствующих нервных путей. В результате этих исследований было показано, что вслед за денервацией в нервных центрах развивается состояние атонии (пассивной гиперполяризации). Так, Г. Н. Сорохтиным (1949), Г. Н. Сорохтиным и Ю. Б. Темпером (1959) было обнаружено развитие пассивной гиперполяризации центров спинного мозга после хордотомии. Г. С. Ковальский (1959) выявил пассивную гиперполяризацию в симпатическом узле при перерезке преганглионарных волокон и в скелетной мышце после перерезки или функциональной блокады нерва. Также было показано, что двусторонняя перерезка блуждающих нервов у лягушек вызывает атонию (пассивную гиперполяризацию) дыхательного центра (Минут-Сорохтина, Сорохтин и Темпер). Развитие этого состояния связано с перерезкой чувствительных нервных волокон, входящих в ствол блуждающего нерва, и является, таким образом, следствием частичной деафферентации дыхательного центра. В этой связи представляло интерес изучить изменения поляризации других центров нервной системы в ранние сроки после перерезки соответствующих афферентных нервов. В качестве объекта исследования мы избрали зрительный анализатор лягушки.

Из литературных данных известно, что мозговые концы зрительного анализатора лягушки расположены в зрительных долях (*lobi optici*) и в полушариях мозга. Так, В. М. Бехтерев (1884) показал, что при разрушении обеих зрительных долей наступает полная слепота лягушек. На наличие представительства зрительного анализатора в зрительной крышке амфибий указывают и гистологические исследования Херрика (Herrik, 1925) и Ц. М. Киро (1948). Подробное изучение электрической активности зрительных центров лягушки было проведено Т. М. Загорулько (1957, 1958), которая исследовала импульсацию зрительных долей и полушарий при световом раздражении глаза. В опытах этого автора электрический ответ был максимально выражен в передней дорзомедиальной области зрительных крышек и в полушариях мозга. Бюзе (Buser, 1955) было доказано наличие локального представительства сетчатки в зрительных долях у лягушек. Гейз (Gaze, 1958) считает, что обнажаемая при удалении черепа поверхность зрительных долей по преимуществу отражает воздействия на сетчатку из верхней половины поля зрения, а представительство нижней половины поля зрения заходит на загибающуюся вниз поверхность зрительных долей. Известно, что перекрест зрительных нервов у лягушек является полным. Связь между зрительными центрами обеих половин мозга осуществляется через небольшой участок промежуточного мозга (Загорулько, 1957).

Исходя из изложенных данных, мы провели серию опытов, направленных на изучение влияния перерезки зрительных нервов на поляризацию зрительных центров лягушки.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на зимних и осенних китайских лягушках (*Rana chensinensis*) весом 25—30 г. У прочно фиксированной лягушки отпрепаровывали область полушарий и зрительных долей. Со стороны полости рта обнажали перекрест зрительных нервов. Под перекрест с большой осторожностью подводили тонкий волос, концы которого привязывали к длинной нитке. Веки удаляли. Дифферентный неполяризующийся электрод ($Zn+ZnSO_4$ — глина) устанавливали в передней дорзомедиальной области покрышек среднего мозга или на заднемедиальных отделах полушарий. Конеч фитилька этого электрода покрывал одноименные области покрышек или полушарий мозга. Индифферентный электрод помещали на денервированной и гуморально изолированной икроножной мышце. Замерение электростатических потенциалов проводили зеркальным гальванометром по методике, описанной Г. Н. Сорохтиным и Ю. Б. Темпером (1959). В опыт брали лягушек, зрительный анализатор которых после препаровки находился в хорошем функциональном состоянии, о чем свидетельствовали изменения поляризации зрительных центров при освещении и затемнении глаз. Перерезку перекреста зрительных нервов проводили выдергиванием упомянутой нитки, конец которой был выведен наружу влажной камеры. В части опытов денервацию делали на свету, а в других опытах — при затемнении глаз животного.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего было проведено 50 опытов, из них 10 контрольных. Результаты, полученные в предварительных пробах с освещением и затемнением глаз лягушки, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние освещения и затемнения глаз лягушки на поляризацию зрительных центров (зрительных долей и полушарий)

Реакция	Сдвиг потенциал в сторону		Без изменений	Всего случаев
	гиперполя- ризации	деполяри- зации		
На освещение глаз . .	44	1	7	52
На затемнение глаз . .	1	53	4	58
Всего случаев . . .	45	54	11	110

Из данных табл. 1 видно, что освещение глаз лягушки вызывает сдвиг потенциала зрительных центров к гиперполяризации. Затемнение глаз ведет к прямо противоположному сдвигу — к деполяризации этих центров. Статистическая обработка данных, приведенных в табл. 1, показывает достоверность обнаруженной реакции зрительных центров в ответ на освещение и затемнение глаз лягушки.

Требовалось, однако, доказать, что эти изменения поляризации зрительных центров зависят только от изменения степени освещенности глаз, а не от каких-либо других причин. С этой целью мы провели 10 контрольных опытов, в которых изучалось влияние освещения и затемнения глаз лягушки на поляризацию зрительных центров при открытых глазах, после плотного сшивания век и после перерезки перекреста зрительных нервов. Эти опыты показали, что реакция зрительных центров на изме-

нение освещенности глаз имела место только при открытых глазах. При плотном закрытии глазной щели и после перерезки зрительных нервов освещение и затемнение глаз не оказывает влияния на поляризацию зрительных центров.

Изменения поляризации зрительных центров лягушки при их денервации показаны в табл. 2.

Таблица 2

Влияние перерезки перекреста зрительных нервов на поляризацию зрительных центров лягушки

Область мозга	Сдвиг потенциала в сторону		Без изменений	Всего случаев
	гиперполяризации	деполяризации		
Зрительные доли . . .	16	—	4	20
Задние отделы полушарий	18	1	1	20
Всего случаев . .	34	1	5	40

Из данных табл. 2 видно, что в преобладающем большинстве опытов после перерезки перекрестка зрительных нервов наступала гиперполяризация зрительных центров лягушки. Нарастание поляризации в большей части опытов происходило стремительно, и уже в первые минуты после денервации потенциал достигал максимального уровня.

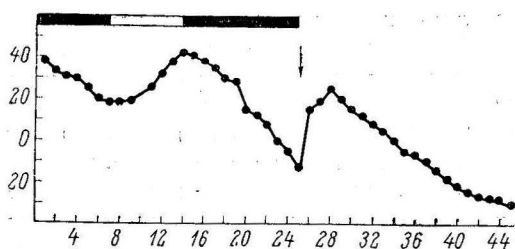


Рис. 1. Влияние освещения и затемнения глаз лягушки, а также перерезки перекреста зрительных нервов на поляризацию задних отделов полушарий.

По оси абсцисс — время¹ (в мин.); по оси ординат — деления шкалы гальванометра. Сдвиг кривой вверх — гиперполяризация; сдвиг вниз — деполяризация. Светлая полоса — время освещения, черная — время затемнения глаз лягушки. Стрелка — момент денервации.

лась на фоне освещения глаз, а в других опытах — на фоне затемнения глаз животного. Затемнение глаз вызывало медленный сдвиг к деполяризации, и на этом фоне нарастание поляризации вслед за перерезкой нервов было особенно наглядным. Величина гиперполяризации варьировала от 0.2 до 6.7 мв, в среднем 1.1 мв. Фаза гиперполяризации продолжалась от 3 мин. до 2 часов, составляя в среднем 23 мин.

Дав такую общую характеристику опытов с гиперполяризацией после денервации, приводим для иллюстрации кривые опытов № 16 и 20. На рис. 1 изображены результаты опыта, в котором изучалось влияние перерезки перекреста зрительных нервов на поляризацию полушарий. Видны отчетливые реакции зрительных центров на освещение и затемне-

ние. Лишь в некоторых опытах нарастание поляризации было медленным. В ряде опытов на кривых электростатического потенциала в фазе гиперполяризации наблюдалось своеобразное «плато»: вслед за нарастанием потенциала до наибольшей величины потенциал мозга продолжал удерживаться на сравнительно постоянных цифрах в течение некоторого времени. Падение потенциала до исходного уровня происходило сравнительно медленно. Как уже говорилось, в части опытов денервация производи-

ние глаз: гиперполяризация на свету и деполяризация в темноте. На фоне падения потенциала в темноте хорошо выявился прямо противоположный сдвиг к гиперполяризации вслед за денервацией. Быстрое нарастание потенциала в течение 1-й мин. в дальнейшем несколько замедлилось и сменилось постепенным падением потенциала до исходного уровня и ниже. Фаза гиперполяризации продолжалась 12 мин.

В опыте, представленном на рис. 2, функциональное состояние зрительных долей было хорошим, о чем свидетельствует отчетливая реакция на затемнение глаз в виде довольно быстрого падения уровня поляризации. Перерезка перекреста зрительных нервов была проведена на фоне уже несколько стабилизировавшегося потенциала. Быстрое нарастание поляризации в течение 1-й мин. сменилось некоторым снижением ее. Однако затем потенциал вновь стал повышаться. На 10-й мин. началось быстрое падение его. Вследствие этого кривая имеет вид «двугорбой». Фаза гиперполяризации продолжалась 11 мин.

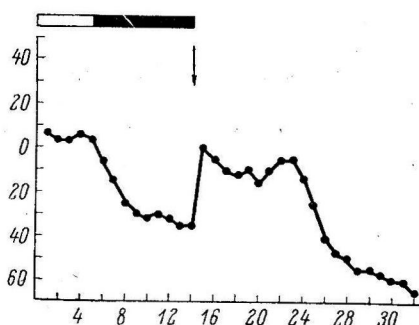


Рис. 2. Влияние освещения и затемнения глаз лягушки, а также перерезки перекреста зрительных нервов на поляризацию зрительных долей

Обозначения те же, что и на рис. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изложенный экспериментальный материал представляет интерес как в отношении результатов, полученных в пробах с освещением и затемнением глаз лягушки, так и результатов перерезки зрительных нервов. На освещение глаз потенциал зрительных центров отчетливо сдвигался к гиперполяризации, а при затемнении глаз степень поляризации уменьшалась. Отсутствие этой реакции при плотном закрытии глазной щели и после перерезки перекреста зрительных нервов дает основание считать, что между освещением и затемнением глаз и наблюдаемыми изменениями поляризации зрительных центров имеется прямая связь, которую следует рассматривать как электрофизиологическое проявление изменения функционального состояния мозговых концов зрительного анализатора в процессе его адаптации к свету и темноте. Эти данные представляют, на наш взгляд, определенный интерес, так как до сих пор нет единого мнения о том, в каких отделах зрительного анализатора происходит процесс адаптации. Наши данные указывают на участие мозговых центров зрительного анализатора в процессе адаптации. Они совпадают с результатами исследований Гейза (Gage, 1958), изучавшего биотоки зрительных долей лягушки при раздражении глаза короткими вспышками неоновой микролампочки. В опытах этого автора для получения одинакового ответа зрительных долей в случае глаза, адаптированного к свету, приходилось применять более сильное раздражение сетчатки, чем для темноадаптированного глаза. Следовательно, возбудимость зрительных долей на свету понижалась. Г. Н. Болдырева и О. М. Гриндель (1959), изучая электрическую активность различных отделов зрительного анализатора лягушки, отметили, что под влиянием световых раздражений лабильность клеточных структур мозговых центров последнего повышается. Об этом свидетельствует удвоение ритма ответов, а также появление в зрительных долях ритмики (6 в 1 сек.), которая до раздражения светом не имела места. Понижение возбудимости и повышение лабильности зрительных центров при световом

раздражении глаза вполне соответствуют наблюдавшемуся нами сдвигу электростатического потенциала зрительных долей в сторону гиперполяризации.

Я. М. Прессман (1947) на основе своих опытов пришел к выводу, что функциональная подвижность зрительного прибора во время адаптации к темноте понижается. Т. М. Загоруйко (1958), проводя электрофизиологическое изучение деятельности зрительного анализатора лягушки, также обнаружила, что по мере углубления темновой адаптации лабильность зрительного анализатора уменьшается. Это в свою очередь соответствует сдвигу потенциала зрительных центров в сторону деполяризации, наблюдавшемуся в наших опытах при затемнении глаз. Можно считать, что пробы на свет и темноту являются хорошим тестом для суждения о функциональном состоянии зрительного анализатора.

Перерезка перекреста зрительных нервов в большей части опытов вызвала одно и то же изменение поляризации мозговых концов зрительного анализатора лягушки — сдвиг к гиперполяризации. Такая электрофизиологическая реакция зрительных центров наблюдалась нами как в случаях денервации на свету, так и при перерезке нервов на фоне затемнения глаз. Естественно считать, что деафферентация зрительных центров лягушки, проводимая на фоне освещения глаз, лишала эти центры притока афферентных нервных импульсов, бегущих по зрительному нерву в ответ на раздражение светом нервозпитателя сетчатки. В то же время перерезка зрительных нервов в темноте прекращала поступление к зрительным центрам нервных импульсов, которые, спонтанно возникая в сетчатке глаза, поступают к зрительным центрам и особенно усиливаются в темноте (Гранит, 1957).

Следовательно, гиперполяризация зрительных центров при перерезке зрительных нервов даже в условиях темноты наступает пассивно как результат выпадения (дефицита) той афферентной импульсации, которая в обычных условиях притекает к зрительным центрам. Она имеет тот же генез, что и спинальный шок, атония симпатического узла и дыхательного центра: острое отключение притока обычных для этих центров нервных импульсов. Поэтому мы считаем, что в ранние сроки после перерезки зрительных нервов в мозговых концах зрительного анализатора лягушки может развиваться состояние атонии (пассивной гиперполяризации) нервного центра, по концепции Г. Н. Сорохтина. Таким образом, атония нервного центра может возникать не только в моторных, но и в сенсорных центрах нервной системы на ранних этапах после их денервации.

ВЫВОДЫ

1. Перерезка перекреста зрительных нервов в большей части опытов (34 из 40) вызывает гиперполяризацию зрительных центров лягушки, расположенных в зрительных долях и полушариях.

2. Гиперполяризация зрительных центров наступает пассивно, как результат острого выпадения притока афферентных нервных импульсов, постоянно поступающих в эти центры как на свету, так и в темноте.

3. Таким образом, и в сенсорных нервных центрах после денервации развивается состояние атонии (пассивной гиперполяризации) нервного центра, отмеченное ранее в отношении моторных центров.

ЛИТЕРАТУРА

(Бехтерев В. М.) Bechterew W., Arch. ges. Physiol., 33, 413, 1884.
Болдырева Г. Н. и О. М. Гриндель, Физиолог. журн. СССР, 45, № 9, 1037, 1959.

Гранит Р. Электрофизиологическое исследование рецепции. М., 1957.

- Загорулько Т. М., Физиолог. журн. СССР, 43, № 12, 1156, 1957; 44, № 10, 928, 1958.
- Киро Ц. М. В сб.: Памяти акад. А. А. Заварзина, 54. Изд. АН СССР, Л., 1948.
- Ковальский Г. С., Тр. Хабаровск. мед. инст. 18, 85, 1959.
- Прессман Я. М., Бюлл. exper. биолог. и мед. 24, в. 4, № 10, 277, 1947.
- Сорохтин Г. Н. В кн.: Проблемы советской физиологии, биохимии, фармакологии, 406, М., 1949.
- Сорохтин Г. Н. и Ю. Б. Темпер, Бюлл. exper. биолог. и мед., 47, № 2, 27, 1959.
- Buser P. Analyse des Réponses Electriques du Lobe Optique a la Stimulation de la Voie Visuelle chez quelques Vertébrés Inférieurs. Paris, Masson, 1955.
- Gaze R. M., Quart. Journ. Exp. Physiol., 43, 2, 209, 1958.
- Herrik C., Journ. Comp. Neurol., 39, 433, 1925.

ОСТУПИЛО 22 XI 1959.

THE ATONY (PASSIVE HYPERPOLARIZATION) OF THE FROG VISUAL CENTRES

By G. S. Kovalskii

From the Physiology Chair of Medical Institute, Khabarovsk

The influence was studied of the illumination and darkening of the frog's eyes and of a subsequent transection of the optical nerve crossing upon polarization of the optic lobes and the posterior parts of the brain hemispheres. A different unpolarizing electrode ($Zn + ZnSO_4 + \text{clay}$) was placed in the anterior dorsomedian area of the tegmentum optici or in the dorsomedian area of the hemispheres; an indifferent electrode — on the denervated and humorally isolated m. gastrocnemius. Illumination of the frog's eyes elicited hyperpolarization in 44 experiments out of 52, darkening of the eyes brought about depolarization in 53 experiments out of 58. The denervation called forth hyperpolarization of the visual centres lasting from 3 to 120 minutes in 34 experiments out of 40. It is assumed that in case of denervation hyperpolarization of visual centres occurs passively and results from the absence of the usual afferent impulsation. This would confirm prof. G. N. Sorokhtin concept on the development of the nerve centre atony following deafferentation.

ВРЕМЕННЫЕ СВЯЗИ И НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИХ ЭВОЛЮЦИИ

Н. Ю. Беленков

Кафедра нормальной физиологии Медицинского института им. С. М. Кирова,
Горький

Открытие И. П. Павловым условных рефлексов положило начало учению о временных нервных связях, которые возникают в течение жизни и проявляются только при определенных условиях. Так как все условные рефлексы осуществляются в результате установления временных связей между отдельными элементами ц. н. с., большое значение приобретает изучение их свойств, условий образования, локализации и т. д. Эволюционный подход, очевидно, должен быть наиболее плодотворным в познании физиологических основ временных связей. Как всякое биологическое явление, так и условнорефлекторная деятельность никогда не станет до конца понятой без знаний ее зачатков и развития их в процессе филогенеза.

До настоящего времени существует представление о том, что условные рефлексы у высших животных осуществляются при обязательном участии коры больших полушарий.

При рассмотрении вопроса о происхождении условных рефлексов естественно стремление увидеть их прообразы в деятельности филогенетически более древних и более просто организованных нервных структур. Если «вся нервная деятельность, как бы она сложна ни была, несет в себе все те основные элементы, которые характеризуют простую деятельность»,¹ если «кора больших полушарий при образовании условных рефлексов творит в наиболее совершенной форме те механизмы, которые в простейшем виде представлены уже в низших отделах центральной нервной системы»,² то мы имеем серьезные основания эти прообразы высших форм временных связей искать в деятельности подкорковых образований, мозгового ствола и даже спинного мозга.

Действительно, если обратиться к уже давно известным функциям спинного мозга, легко отметить, что не все его рефлекторные действия однообразны и постоянны. Определенные отношения между спинномозговыми центрами могут складываться и в индивидуальной жизни животного. В качестве простейшего примера изменчивости спинномозговых рефлексов может быть приведен так называемый банунг рефлекс или явление прототерения. И. П. Павлов, обсуждая вопрос о замыкательной функции мозга как основе условных рефлексов писал: «Физиолог же тем более не должен иметь ничего против этого, что уже много десятков лет назад в физиологии нервной системы приобрело право гражданства немецкое слово „bahnung“, т. е. понятие о прототерении пути, образовании новых связей».³ Доминанта, по А. А. Ухтомскому, и суммационный рефлекс, по И. П. Павлову, — явления идентичные или очень близкие явлению прототерения. Они также могут рассматриваться как элементарнейшие временные связи. Как известно и доминанта, и суммационный рефлекс обнаруживаются в деятельности одного лишь спинного мозга.

Исследования последнего времени показывают, что установление простейших временных связей в спинном мозгу можно получить путем применения сочетаний двух раздражений в такой форме, в какой это делается при образовании обычных условных рефлексов. И. В. Данилов (1953), работая со спинальными лягушками, сочетал действие слабого электрического раздражения кожи спины или бедра с электрическим раздражением жерки одной из задних лапок, которое вызывало ее сгибание. Оказалось, что

¹ Л. А. Орбели. Вопросы высшей нервной деятельности Изд. АН СССР, 1949, стр. 653.

² П. С. Купалов, Физиолог. журн. СССР, 35, 582, 1949.

³ И. П. Павлов, Лекции о работе больших полушарий головного мозга, 1937, стр. 39.

через 2—15 таких сочетаний один лишь слабый раздражитель, ранее не дававший эффекта, теперь приводил заднюю лапку к сгибанию. Этот рефлекс был скоропроходящим и неустойчивым, однако важно то, что он мог быть выработан. Францискет (Francisket, 1951) наблюдал временные связи у спинальных лягушек в условиях хронического эксперимента. В интервалах между отдельными сериями сочетаний лягушки обезбживались путем охлаждения с целью улучшения аккумуляции эффектов от предыдущих серий раздражений. Сочетая механическое раздражение боков лягушек с раздражением передних лапок, вызывавших хватательные движения, через 10—14 дней, после 200—300 сочетаний, автору удавалось отмечать хватательные движения только при раздражении боков животных.

Сходные данные были получены Шурраджером и Куллером (Shurrager a. Culler, 1940, 1947) в опытах на собаках с разобленным спинным мозгом. Подвергнувшись критике за необоснованное толкование наблюдаемых явлений как типичных условных рефлексов (Kellogg, 1947; Данилов, 1952; Асратян, 1953; Шамарина и Несмеянова, 1953), Дикман и Шурраджер (Dykman a. Shurrager, 1956) повторили свои эксперименты с некоторыми методическими модификациями на хронических спинальных котятках. Используя в качестве условного раздражения тактильное раздражение кожи, а в качестве безусловного — удар электрического тока в лапу, им удалось образовать двигательные явления, выражающиеся в сгибании конечности при действии одного лишь тактильного раздражения. Хотя авторы утверждают, что здесь имеются элементы «научения», так как скорость образования «спинального условного рефлекса» в данной серии сочетаний зависит от того, сколько раз этот рефлекс устанавливался в предыдущих сериях сочетаний, и угасание его происходит скорее, если оно проводилось уже несколько раз раньше, согласиться с тем, что здесь встречается типичный условный рефлекс не представляется возможным. Эти факты, также как и данные Францискета (Francisket, 1951) и И. В. Данилова (1952, 1953), показывают возможность выработки определенных временных связей даже в пределах спинного мозга. Однако это лишь суммационные рефлексы, которые, как указывал еще И. П. Павлов, представляют собой скоропроходящие явления, в то время как условный рефлекс есть постоянно укрепляющееся и хроническое явление. Следует считать, таким образом, что одно из качественных отличий временных связей низших уровней ц. н. с. от временных связей высших уровней заключается в чрезвычайно устойчивости и постоянстве последних.

С этой точки зрения едва ли можно считать, что во всех сравнительно-физиологических исследованиях, когда применялись сочетания двух раздражений, одно из которых вызывало тот или иной эффект с самого начала, а второе этот эффект начинало вызывать позднее, имело место образование истинных условных рефлексов. В опытах, проведенных Е. М. Крепсом (1925), М. Я. Лобашевым и А. Г. Ивановой (1947), А. А. Зубковым и Г. Г. Поликарповым (1951), Г. Федоровой (1957) и другими на беспозвоночных животных, обнаруживалось, что если у этих животных и можно образовать определенные временные связи, то они всегда кратковременны и удерживаются всего лишь в пределах нескольких часов. Сходные факты получены и в опытах с некоторыми рыбами. По данным лаборатории Д. А. Бирюкова (Бару, 1955; Ведяев, 1956; Фанарджян, 1958), у круглоротых, ганоидных и поперечных рыб временные связи вырабатываются в течение одного дня, но они весьма не стойки и на следующий день исчезают. Недолговечность выработанных временных связей у костистых рыб отмечал Ю. П. Фролов (1926, 1938). Кажется справедливым считать, что во всех этих случаях авторы имели дело с суммационными рефлексами, отличающимися от условных своим кратковременным существованием и большой неустойчивостью. Нестойкость и нерегулярность проявления временных связей у низших животных, также как и в деятельности низших отделов ц. н. с. высших животных, конечно, не может приравниваться к часто встречающимся случаям нерегулярности проявления условных рефлексов у высших животных и человека.

В связи со сказанным для характеристики различных временных связей у одних и тех же животных, а также и у различных представителей животного мира, кажется, было бы целесообразно специально исследовать период сохранения временных связей, т. е. их прочность и долговечность. Если скорость образования временных связей не может являться надежным критерием для их оценки (Воронин, 1957), то, вполне вероятно, признак прочности и постоянства выработанных реакций даст более определенные результаты.

В современной литературе можно найти большое количество работ об условнорефлекторной деятельности беспозвоночных животных (пчелы, мухи и т. д.) и низших позвоночных (рыбы, амфибии). Во многих случаях описываемая индивидуально приобретенная деятельность этих животных имеет определенное сходство с условными рефлексами высших животных. Тем не менее «высшая нервная деятельность» этих животных по своей сложности и совершенству не сравнима с тем, что мы наблюдаем у высших животных. Хотя эти качественные особенности и очевидны, научного выражения им в настоящее время мы дать почти не можем. Исследования только начинаются (Лобашов и Иванова, 1947; Воронин, 1957; Бирюков, 1958).

Если временная связь понятие широкое, охватывающее несколько форм ее проявления, то было бы весьма важно выработать определенную классификацию временных

связей.¹ В первую очередь, конечно, важно определить условнорефлекторную временную связь. Условным рефлексом (условнорефлекторной временной связью) следовало бы считать только рефлекс, который бы: 1) был сохраненным в течение длительного времени, 2) угасал с последующим восстановлением, 3) мог быть отдифференцирован от действия других раздражителей и 4) представлял собою целостную биологическую реакцию. Разумеется, и в этих рамках временные связи (условные рефлексы) должны отличаться своими количественными и качественными характеристиками в весьма широком диапазоне.

От простейшей временной связи и суммационного рефлекса перейдем к рассмотрению более сложных временных связей, которые уже дают проявление типичных, но весьма элементарных условных рефлексов, соответствующих всем вышеуказанным признакам. К таким рефлексам относятся рефлексы, вырабатывающиеся у декортицированных животных. Факт образования условных рефлексов у животных, лишенных коры больших полушарий (неокортекса), едва ли в настоящее время может вызывать сомнения. В пользу этого в первую очередь говорят результаты, полученные на млекопитающих животных в экспериментах С. С. Полтырева и Г. П. Зеленого (1930), Куллера и Меттлера (Culler a. Mettler, 1934), Г. П. Зеленого и Б. И. Кадыкова (1938), Бромилей (Bromiley, 1948), Загера (Sager a. o., 1956) — на собаках, Тен-Кате (Ten-Cate, 1934), М. А. Панкратова (1938), Н. Ю. Беленкова (1950а, б) — на кошках.

Исследования, проведенные нами на кошках, у которых, как показало гистологическое изучение мозга, неокортекс фактически был полностью удален, показали, что вырабатываемые у них условные рефлексы, несомненно, имели определенное сходство с таковыми у нормальных животных и вместе с тем значительно от них отличались. То, что мы имели дело действительно с условными рефлексам, показывает возможность их угашения, образования устойчивых, хотя и грубых дифференцировок, большое постоянство в проявлении, долговечность (перерыв в работе на несколько месяцев не приводил к исчезновению выработанных рефлексов) и, наконец, то, что это были, хотя и несовершенные, но все же целенаправленные биологические реакции. К отличительным особенностям этих рефлексов относятся: во-первых, то, что образуются они у декортицированных кошек значительно медленнее, чем у нормальных; во-вторых, внутреннее торможение вырабатывается с большим трудом и, в-третьих, то, что внешнее проявление рефлексов всегда более или менее обобщено или генерализовано.

Фактов образования различных условных рефлексов у декортицированных животных в нашей лаборатории накопилось достаточно большое количество. Н. Ю. Беленков, Г. Поторейко и Р. Старцева (1956) показали возможность образования у декортицированных кошек дыхательных рефлексов, а В. А. Сосенков (1959а, б) помимо дыхательных рефлексов вырабатывал у таких животных разнообразные рефлексы на сердечную деятельность. В. Д. Чиркову (1958) удалось у декортицированных кошек наблюдать условнорефлекторное наступление сонного состояния.

Таким образом, опыты с декортицированными животными показывают, что условнорефлекторные временные связи образуются и вне коры больших полушарий, в ближайших к ней подкорковых нервных структурах. Эти условные рефлексы, хотя в своей основе и несут, очевидно, суммационные явления, однако это уже не те элементарные, скоропроходящие суммационные рефлексы, наблюдаемые в деятельности спинного мозга и нервной системе низших животных.

Н. А. Рожанский (1957) на основании работ своей лаборатории пришел к заключению, что по месту замыкания условнорефлекторных дуг условные рефлексы могут быть подразделены на три типа: 1) замыкание между двумя подкорковыми центрами, 2) замыкание между корой и соответствующим подкорковым центром и 3) замыкание между двумя корковыми центрами. Существование этих различных путей замыкания условнорефлекторных временных связей все более и более подтверждается новыми экспериментальными исследованиями. Если на многочисленных фактах, доказывающих существование коркового замыкания условнорефлекторных дуг, мы можем не останавливаться, то для обоснования первых двух вариантов замыкания требуется привести некоторые данные.

Условнорефлекторные временные связи между корой полушарий и подкоркой выявляются в установлении зависимости условного рефлекса от воздействия на подкорковый безусловный механизм (Рожанский, 1941, 1957), а также значительным количеством исследований с трансверсальными подрезками коры полушарий. Опыты Э. А. Асратяна (1953) с сотрудниками показали, что после разобщения сенсо-моторной, зрительной и слуховой зон возможна выработка различных условных рефлексов на звуковую, тактильный и световой раздражители, а эксперименты Э. С. Толмасской (1949), Н. Н. Дзидзишвили и М. А. Нуцубидзе (1955), Б. Н. Косовского (1956), О. С. Адрианова (1959) установили, что с разобщением отдельных зон коры полушарий, а также и подлежащего белого вещества условные рефлексы не только заново вырабатываются, но и сохраняются, если они были образованы до операции. Наконец, опыты И. С. Розенталя (1941), Э. А. Асратяна (1934), В. М. Касьянова (1955), Л. С. Гамбаряна (1959), и др., в которых удаление моторных зон коры больших полушарий не препят-

¹ Этот вопрос уже неоднократно поднимался Д. А. Бирюковым (1948, 1955, 1958).

ствовало проявлению двигательных условных рефлексов, также свидетельствуют о существовании условного замыкания по типу кора—подкорка.

На возможность замыкания условнорефлекторных дуг между подкорковыми центрами указывают цитированные выше работы об образовании условных рефлексов у животных, лишенных коры больших полушарий. Однако следует заметить, что, хотя эти эксперименты и демонстрируют подкорковые временные связи, они еще не позволяют делать вывод о том, что и у нормальных животных какое-либо замыкание происходит на уровне подкорковых нервных образований. Можно рассматривать эти явления как некую компенсацию функций утраченной коры больших полушарий.

С целью выяснения этого вопроса В. А. Сосенков (1959б) в нашей лаборатории специально исследовал, остаются ли выработанные ранее временные связи у кошек после удаления у них коры больших полушарий (неокортекса). В результате проведенных экспериментов (на 4 животных) оказалось, что после экстирпации коры сохранились ранее выработанные рефлексы как на сердце, так и на дыхательный аппарат. Сохранились также и некоторые двигательные компоненты этих ранее выработанных рефлексов. Данный факт обнаруживался при первом же применении условного раздражения после перерыва в работе, связанного с экстирпацией коры, и свидетельствовал, таким образом, о том, что определенные временные связи в подкорковых образованиях устанавливались еще тогда, когда животное было нормальным.

Следовательно, можно считать, что в сложной нервной деятельности мы встречаемся не с каким-либо одним типом временной связи (кора—кора, кора—подкорка или подкорка—подкорка), а одновременно с несколькими путями замыкания временных связей.

В пользу такого представления указывают и эксперименты, проведенные в нашей лаборатории с моделированием различных временных связей в головном мозгу путем раздражения его структур электрическим током. После того, когда М. Ю. Ульянов (1959) в условиях острого опыта на кошках показал возможность образования временных связей при сочетании раздражений двух корковых пунктов, одно из которых, наносимое на слуховую область, являлось условным, а другое, наносимое на моторную область и вызывавшее сгибание контралатеральной задней конечности, служило безусловным, мы (Беленков и Ульянов, 1959) приступили к анализу этой примитивной временной связи. При этом выяснилось, что если такая временная связь была образована, то разобщение корковых пунктов условного и безусловного раздражения путем трансверсальной подрезки не вызывает прекращения проявления выработанной временной связи. Дальнейшая экстирпация коры также не исключает проявления этой двигательной реакции, и лишь последующее разрушение хвостатого тела (как известно, имеющего эффекторные двигательные центры) ведет к исчезновению временной связи. С другой стороны, если образовывалась такая же временная связь, а затем разрушалось хвостатое тело, то временная связь не исчезала, но она исчезала тогда, когда вслед за этим разобщались корковые пункты раздражения. Данные опыты показывают, что даже в таких упрощенных экспериментальных условиях временная связь имеет довольно сложную функциональную структуру и охватывает как корковые, так и подкорковые нервные образования.

Следует считать, что представление об условнорефлекторной временной связи, как относительно простой функциональной связи между двумя корковыми областями, не соответствует действительности. На основании имеющихся фактов можно полагать, что при образовании условных рефлексов происходит возникновение многих нервных связей на различных уровнях головного мозга, которые в совокупности и дают возможность проявления совершенной и целостной условнорефлекторной реакции. Условнорефлекторная временная связь многоканальна и охватывает афферентные и эфферентные образования различных уровней головного мозга.

Такая точка зрения в определенной степени поддерживается рядом работ Гасто, П. К. Анохина и др. На основании полученных данных Гасто (Gastout, 1958) дает схему условнорефлекторной временной связи, согласно которой первое и основное замыкание происходит в ретикулярной формации. В коре полушарий также происходит замыкание, но это явление, согласно автору, лишь вторичное, дающее соматическое проявление образовавшейся временной связи. Факты, на которые ссылается Гасто, заслуживают внимания, однако на их основании еще нельзя считать доказанной главенствующую роль подкорковых образований в условнорефлекторной деятельности животных.

Опираясь на некоторые факты, полученные ранее, П. К. Анохин (1958) полагает, что условнорефлекторные проявления в подкорковых образованиях, наоборот, вторичны и обусловлены деятельностью коры больших полушарий. Однако и это предположение не может быть принято вследствие того, что условные рефлексы, о чем мы говорили выше, могут вырабатываться заново у животных после удаления у них коры полушарий.

Так или иначе, данные о многоэтажности условнорефлекторной временной связи приходится принимать во внимание и трактовать некоторые, в том числе и сравнительно-физиологические данные с этой позиции. Определенной сложности структура временных связей вероятна и у некоторых животных, не обладающих корой полушарий. Факты, полученные в опытах на рыбах (Карамян, 1956), черепахах (Асратян и Алекса-

нян, 1933), птицах (Петелина, 1958) и др., показывают, что при удалении полушарий мозга у этих животных возможность образования временных связей не исчезает. Следовательно, у них не только высший отдел ц. н. с. является органом, где происходит замыкание временных связей, но и другие мозговые структуры принимают в этом участие.

Эволюционный принцип в рассмотрении функций нервной системы позволил создать представление о перемещении функций мозга в филогенезе в восходящем направлении. В последнее время в серии исследований на различных представителях животного мира А. И. Карамян (1956, 1959) экспериментально подтвердил и расширил эти представления. Рассматриваемые в нашей статье вопросы не противоречат таким понятиям, однако они позволяют развить мысль, что хотя функции замыкания условнорефлекторных связей и переходят по мере эволюции в новые, высшие отделы ц. н. с., но совсем они не исчезают в филогенетически старых образованиях и не являются при этом лишь рудиментом переместившейся функции. Можно полагать, что эти временные связи в перестроившихся подкорковых образованиях играют немалую роль при осуществлении тех сложных условнорефлекторных приспособительных реакций, которые присущи каждому высокоорганизованному животному.

Как всякое движение науки расширяет и дополняет наши старые представления, так и все развивающиеся исследования по физиологии ц. н. с. и в. н. д. заставляют уже несколько по-иному смотреть на процессы, лежащие в основе образования временных связей. Для познания механизмов условнорефлекторной деятельности важны исследования и на высших представителях животного мира, и на представителях низших классов. Только в такой совокупности изучения вопроса мы сможем еще больше приблизиться к пониманию процессов, совершающихся в мозге при осуществлении одного из важнейших жизненных явлений — образовании временных связей.

ЛИТЕРАТУРА

- Адрианов О. С., IX съезд Всесоюз. общ. физиолог., Тез. докл., 1, 14, М., 1959.
 Авохин П. К. Электроэнцефалографический анализ условного рефлекса. Медгиз, 1958.
 Асратян Э. А., Физиолог. журн. СССР, 17, 6, 1216, 1934; Физиология центральной нервной системы. М., 1953.
 Асратян Э. А. и А. М. Алексанян, Физиолог. журн. СССР, 16, 6, 887, 1933.
 Бару А. В. В сб.: Вопросы сравнительной физиологии и патологии нервной деятельности, 92, 102. Медгиз, 1955.
 Беленков Н. Ю., Бюлл. экспер. биолог. и мед., № 2, 100, 1950а; № 3, 182, 1950б.
 Беленков Н. Ю., Г. Поторейко и Р. Старцева, Бюлл. экспер. биолог. и мед., № 2, 17, 1956.
 Беленков Н. Ю. и М. Ю. Ульянов, Научн. конф., посв. 110-летию со дня рожд. И. П. Павлова, Тез. докл., 25, Рязань, 1959.
 Бирюков Д. А., Тр. Воронежск. мед. инст., 14, 27, 1948; в сб.: Вопросы сравнительной физиологии и патологии высшей нервной деятельности, 5. Медгиз, 1955; в сб.: Проблемы сравнительной физиологии нервной деятельности, 5. Изд. ИЭМ АМН СССР, 1958.
 Ведяев Ф. П., Журн. высш. нервн. деят., 6, в. 4, 604, 1956.
 Воронин Л. Г. Сравнительная физиология высшей нервной деятельности. Изд. МГУ, 1957.
 Гамбарян Л. С. О функциональной и анатомической структуре условного двигательного рефлекса. Ереван, 1959.
 Данилов И. В., Физиолог. журн. СССР, 38, № 3, 368, 1952; Бюлл. экспер. биолог. и мед., 35, № 5, 8, 1953.
 Дзидзишвили Н. Н. и М. А. Нуцубидзе, IX Всес. съезд. физиолог., Тез. докл., 213, М., 1955.
 Зеленый Г. П. и Б. И. Кадыков, Экспер. мед. (укр.), № 3, 31, 1938.
 Зубков А. А. и Г. Г. Поликарпов, Усп. совр. биолог., 32, 301, 1951.
 Карамян А. И. Эволюция функций мозжечка и больших полушарий головного мозга. Медгиз, 1956; IX съезд Всес. общ. физиолог., Тез. докл., 3, 88, 1959.
 Касьянов В. М., Уч. зап. Моск. пед. инст., 84, в. 2, 3, 1955.
 Кловоский Б. Н., Тез. докл. научн. конф. АМН СССР, посвящ. пробл. физиолог. и патолог. нервн. системы, 45, М., 1956.
 Крепс Е. М., Архив биолог. наук, 25, в. 1—3, 223, 1925.
 Лобашев М. Я. и А. Г. Иванова, ДАН СССР, 58, 127, 1947.
 Панкратов М. А., Изв. Инст. им. П. Ф. Лесгафта, 21, 251, 1938.
 Петелина В. В. В сб.: Проблемы сравнительной физиологии высшей нервной деятельности, 245. Изд. ИЭМ АМН СССР, 1958.
 (Полтырев С. С. и Г. П. Зеленый) Poltyreff S. S. и G. P. Seleny, Zs. Biologie, 9, 157, 1936.

- Рожанский Н. А., Арх. биол. наук, 61, 104, 1941; Очерки по физиологии нервной системы. Медгиз, 1957.
- Розенталь И. С., Арх. биол. наук, 61, в. 3, 88, 1941.
- Сосенков В. А., Бюлл. exper. биол. и мед., 48, № 12, 8, 1959а; II научн. совещ. по пробл. эволюц. физиолог., Тез. докл., 161, Л., 1959б.
- Толмасская Э. С. В сб.: Проблемы высшей нервной деятельности, 306. М., 1949.
- Ульянов М. Ю., II научн. совещ. по пробл. эволюц. физиолог., Тез. докл., 169, Л., 1959.
- Федорова Г. Цит. по: Воронин Л. Г., 1957.
- Фанарджян В. В. В сб.: Проблемы сравнительной физиологии высшей нервной деятельности, 95. Изд. ИЭМ АМН СССР, 1958.
- Фролов Ю. П., Русск. физиолог. журн., 9, 113, 1926; Усп. совр. биол., 8, 236, 1938.
- Чирков В. Д., Уч. зап. Горьковск. мед. инст., в. 5, 94, 1958.
- Шамарина Н. М. и Т. Н. Несмеянова, Физиолог. журн. СССР, 39, № 6, 601, 1953.
- Bromiley K. Цит. по: Harlow H., Am. Rev. Physiology, 11, 269, 1948.
- Culler E. a. F. Mettler, Journ. Comp. Physiol., 18, 201, 1934.
- Dykman R. a. Ph. Shurrager., Journ. Comp. Physiol., 49, 27, 1956.
- Francisket U., Zs. vergl. Physiol., 33, 142, 1951.
- Gastaut H. Neurological basis of Behaviour, 255. The Ciba Foundation, 1958.
- Kellogg W., Journ. exp. Psychol., 37, 263, 1947.
- Sager O., G. Wendt, M. Moisanu, V. Cirnu (1956). Цит. по: Gastaut H., 1958.
- Shurrager Ph. a. E. Culler, Journ. exp. Psychol., 22, 1933, 1940; 37, 261, 1947.
- Ten-Cate I. Arch. neerl. de physiol., 19, 218, 1934.

Поступило 17 III 1959

THE TEMPORARY CONNECTIONS AND CERTAIN PROBLEMS OF THEIR EVOLUTION

By N. Yu. Belenkov

From the Chair of normal physiology Kirov Medical Institute, Gorkii

ОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ СЕКРЕТОРНОЙ И МОТОРНОЙ
ДЕЯТЕЛЬНОСТЬЮ МАЛОЙ И БОЛЬШОЙ КРИВИЗНЫ ЖЕЛУДКА*Е. М. Матросова, А. В. Соловьев и О. В. Солодкина*Лаборатория физиологии пищеварения Института физиологии им. И. П. Павлова,
Ленинград

Секреторная и двигательная работа органов желудочно-кишечного тракта представляет два важнейших элемента пищеварительного процесса, необходимость совместного изучения которых неоднократно подчеркивалась физиологами и врачами (Павлов, Разенков, Бабкин, Лурия и др.). Разделение секреторной и моторной деятельности при их исследовании первоначально являлось искусственным аналитическим приемом, облегчавшим познание сложных механизмов регуляции этих функций. Однако, как писал И. П. Разенков (1948), именно это обстоятельство привело в конце концов к представлению о независимости отдельных сторон пищеварения. Первые, не всегда успешные попытки установить наличие взаимосвязи секреторной и двигательной работы желудка были сделаны в клинике. Физиологические исследования на эту тему менее многочисленны. Все они отмечают возникновение во время секреции так называемых кислотных движений, т. е. небольших по амплитуде ритмичных волн с закругленными верхушками, которые наблюдаются как при наличии пищи в желудке (Эдельман, 1906; Rogers a. Hardt, 1915; Гольштейн, 1927; Hellebrandt a. Dimmitt, 1934; Дзидзигури и Пелещук, 1957; Музыкантов, 1958, и др.), так и в том случае, если секреция вызывалась другими причинами: мнимое кормление, периодическая секреция желудочного сока и т. д. (Нехорошев, 1925; Синельников и Гредич, 1928; Дзидзигури и Пелещук, 1957). В других исследованиях вопросы отношений секреции и моторики затрагивались попутно. В частности, неоднократно указывалось, что отделение желудочного сока не всегда препятствует протеканию голодной периодической деятельности (Аничков, 1924; Крапинов и Крапинова, 1932; Лебедев, 1957; Музыкантов, 1958).

МЕТОДИКА

В данном сообщении изложены результаты одновременного изучения секреторной и двигательной деятельности желудка у 14 сложнооперированных собак. Все животные имели два изолированных желудочка на малой и большой кривизне желудка (по Соловьеву, 1959) и фистулы большого желудка. Желудочки являлись удобным объектом исследований и сопоставлений, так как характер их секреции был различным (см. таблицу). Пищевыми раздражителями служили хлеб (250 г), мясо (100 или 250 г) и молоко (600 мл).

При первых наблюдениях обе функции — секреция и моторика — регистрировались раздельно и лишь затем результаты сопоставлялись. В последующих опытах производилась одновременная регистрация. Особенности записи движений изолированных желудочков, а также приспособление для одновременной регистрации моторики и секреции были описаны ранее (Матросова и Солодкина, 1959). В желудочном соке

Секреция желудочного сока в изолированных желудочках из малой (м) и большой (б) кривизны желудка у собаки Дина

Пищевой раздражитель и дата опыта		Количество сока (в мл) А и кислотность (свободная/ общая в титрационных единицах) Б за									
		1-й час		2-й час		3-й час		4-й час		5-й час	
		А	Б	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б
Хлеб (250 г)	{ б	10.4	96/122	1.7	95/120	2.5	40/82	1.2	10/60	1.8	8/56
17 V 1955		0.8	Слизь 0/20	0.2	Слизь 0/20	0.1	Слизь 0/20	0.7	Слизь 0/20	0.6	Слизь 0/20
Мясо (250 г)	{ м	11.3	100/130	8.5	108/135	7.5	95/130	5.5	93/125	4.8	92/102
28 V 1955	{ б	3.5	21/65	4.2	44/88	3.0	65/102	2.2	65/102	2.5	44/81
Молоко (600 мл)	{ м	2.7	15/75	5.0	83/118	2.5	50/97	2.9	43/88	3.1	45/80
13 V 1955	{ б	1.8	20/65	4.6	78/110	1.7	60/102	2.9	45/88	3.3	77/102

определялось содержание свободной и связанной соляной кислоты. Оценивались два показателя моторики желудочков: величина тонуса (как правило, относительная — по ее изменению в одном и том же опыте) и характер сокращений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через 16—20 часов после приема пищи при нейтральной реакции слизи в изолированных желудочках у животных наблюдалась правильная периодическая деятельность, примерно совпадающая с таковой в большом желудке. Особенности голодных сокращений желудочков заключались в некоторой их инертности, выражавшейся в затягивании периода сокращений на более длительный срок, чем в большом желудке. На большой кривизне, вместо типичных волнообразных движений, иногда наблюдалось повышение тонуса и увеличение амплитуды ритмических сокращений. На малой кривизне обычные волны имели на своей верхушке, нисходящей и восходящей частях более мелкие зубцы. В интервалах между сильными сокращениями стенки желудочка расслаблялись, но и в этот момент прослеживались слабые ритмические сокращения. Во время относительного покоя в изолированных желудочках, как и в большом желудке, в ряде случаев регистрировались только так называемые пассивные движения, зависящие от дыхательных и других движений животного, иногда наблюдалась слабая ритмическая деятельность периода покоя. При дополнительном введении в регистрирующие баллончики некоторого количества воздуха амплитуда ритмических сокращений усиливалась, особенно на малой кривизне. Чувствительность к механическому раздражителю возрастала, если реакция в желудочках и большом желудке была кислой в результате условнорефлекторных влияний или при наличии пищи в желудке (даже если она удалялась путем промывания). Кормление животных производилось либо в период покоя, либо при наличии кислой реакции в желудке на фоне умеренных сокращений желудочков. Как выяснилось, исходный фон существенно не влиял на результаты. Ниже излагаются обобщенные данные.

Н а ч а л ь н ы е д в и г а т е л ь н ы е р е а к ц и и ж е л у д о ч к о в. Первой реакцией желудочков после кормления, по нашим наблюдениям, являлось резкое кратковременное понижение тонуса, иногда почти до нуля по уровню жидкости в манометре (рис. 1). Аналогичные явления имели место при поддразнивании животных видом и запахом пищи, а также при мнимом кормлении (рис. 1, б) и отсутствовали при

вкладывании пищи непосредственно в желудок (рис. 2). Понижение тонуса было тем более отчетливым, чем выше был исходный тонус.

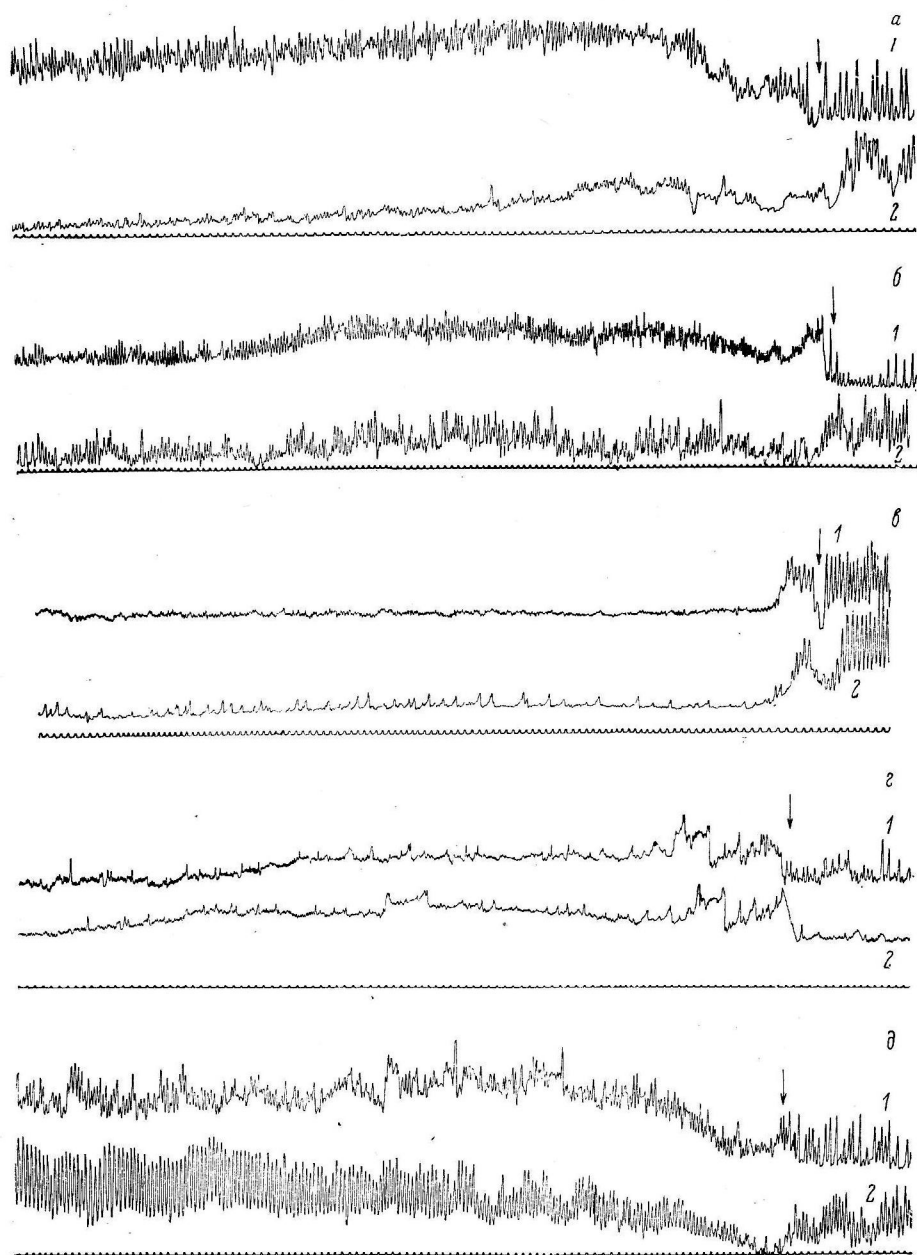


Рис. 1. Сокращения изолированных желудочков на малой (1) и большой (2) кривизнах желудка в 1-й час после кормления у собаки Дина (кроме г).

а — кормление хлебом, б — мясом, в — молоком, г — молоком (собака Ран), д — после мнимого кормления мясом. Стрелка — момент кормления. Кривые читать справа налево. Отметка времени (30 сек.).

Расслабление желудка при данных обстоятельствах наблюдалось рядом других авторов. В лекциях И. П. Павлова (1911/1912, 1912/1913) есть указание, что при раздражении животных видом или запахом пищи или при соприкосновении ее с полостью рта желудок расширяется.

Расслабление нормально сокращенного желудка в момент, когда пища пробуетя или заглатывается, наблюдали Кеннон и Либ (Cannon a. Lieb, 1911—1912). И. С. Рубинов (1940, 1941), раздельно регистрировавший у гастрозофаготомированных собак движения желудка во время жевания и при глотании, сообщал, что лишь глотание вызывает расслабление, тогда как жевание рефлекторно усиливает сокращения и повышает тонус. У животных с интактным пищеводом торможение движений желудка является первой реакцией, затем наступает повышение тонуса.

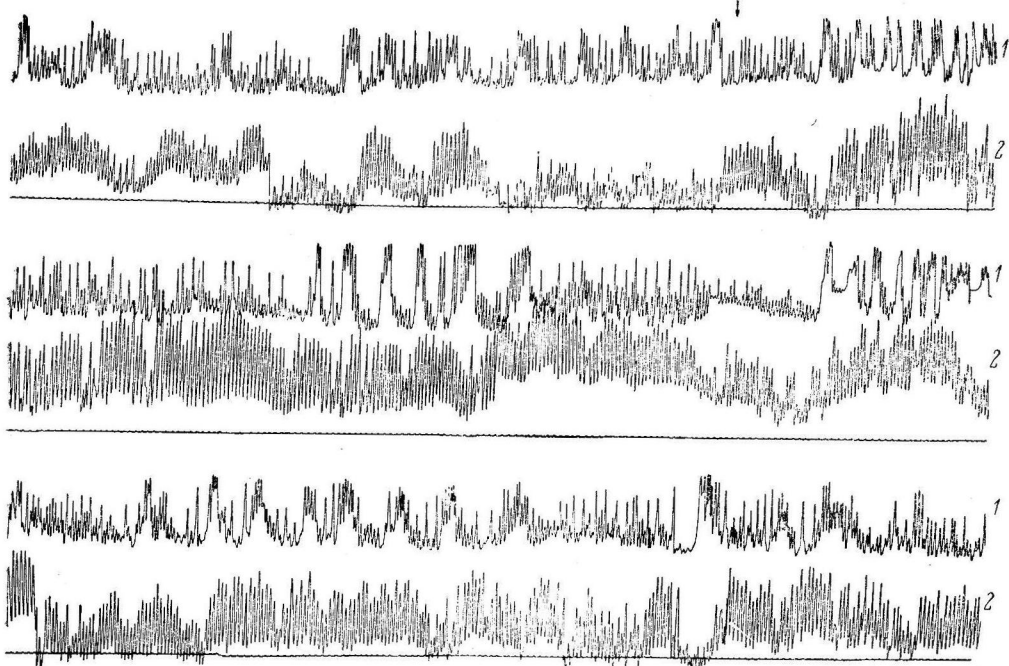


Рис. 2. Сокращения изолированных желудочков на малой и большой кривизне у собаки Дина после вкладывания в желудок через фистулу 250 г мяса.

Обозначения те же, что и на рис. 1.
(Киммограммы являются продолжением одна другой).

Далее нами было показано, что за кратковременным снижением тонуса следовало столь же кратковременное его повышение, наиболее заметное на малой кривизне (рис. 1). Установлено, что такой подъем связан с механическим раздражением желудка, особенно если последнее было внезапным и достаточно сильным, например при съедании 250 г мяса за 5—10 сек., при вливании в большой желудок 600 мл воды и т. д.

Подобные изменения тонуса наблюдались и другими исследователями. Так, А. Г. Тетельбаум (1926) отмечал при введении в желудок резинового баллона резкое увеличение внутрижелудочного давления, которое через 3—5 мин. понижалось до первоначального уровня. Кратковременное увеличение амплитуды сокращений, сочетавшееся с повышением тонуса, непосредственно после раздувания баллончика в гейденгайновском желудочке описал Берковиц (Bercovitz, 1925).

Начальные реакции желудков — снижение тонуса и его последующее повышение — были одинаковыми после кормления различными сортами пищи и заканчивались до появления желудочного сока.

Длительное изменение тонуса желудка. Ход секреции и параллельные ему изменения моторики были прослежены на

протяжении всего пищеварительного периода. После начальных реакций желудка возникала отчетливо выраженная волна повышения тонуса. В отличие от описанного выше эта вторая волна была более продолжительной (1—1.5 часа). Она повышалась постепенно и достигала максимума через 15 мин. после кормления (рис. 1).

При объяснении происхождения этого повышения тонуса мы исходили из двух фактов. Во-первых, оно наблюдалось после кормления хлебом и мясом (твердыми веществами) и не наблюдалось после еды молока. Во-вторых, повышение тонуса на малой кривизне было более выраженным, чем на большой.

Для суждения о значении механических свойств пищи были произведены опыты с мнимым кормлением (рис. 1, *д*). Поскольку операция гастроэзофаготомии не производилась, мнимое кормление осуществлялось путем скамливания собаке 50 г мяса при открытой фистуле большого желудка, через которую оно немедленно и без всякого насилия извлекалось. При такой постановке опыта механический фактор, хотя и не был исключен совершенно, но сводился к минимуму, так как извлечение мяса происходило до того момента, когда начинался подъем тонуса. Наоборот, повышения тонуса не наблюдалось после вкладывания того же количества мяса, что и при кормлении, в желудок через фистулу (рис. 2).

Однако, как показали дальнейшие наблюдения, роль механического фактора нельзя полностью игнорировать. Об этом свидетельствуют опыты с кормлением различным количеством пищи, и в особенности опыты с одним и тем же количеством, но с различной степенью раздувания регистрирующих баллончиков в изолированных желудочках. Чем больше они были раздуты, тем значительнее было механическое раздражение желудочков и тем отчетливее на гастрограммах выявлялась описанная выше волна повышения тонуса.

Тем не менее из опытов с вкладыванием пищи в желудок через фистулу видно, что усиление тонуса связано с определенным и необходимым условием — актом еды. По данным И. А. Булыгина (1938), тонус желудка усиливался даже после применения условных положительных пищевых раздражителей. Из этого следует, что повышение тонуса после еды является выражением сложнорефлекторной фазы пищеварения. Действительно, при прочих равных условиях тонус был выше в случае более обильной секреции в первой фазе. Примером могут служить различия в величинах тонуса и секреции в желудочках из малой и большой кривизны, а также различия после кормления мясом или хлебом и молоком, при еде которого выделялась только слюна или сок слабо кислой реакции (ср. рис. 1, *е* и таблицу). Лишь у одной из собак вследствие высокой пищевой возбудимости наблюдалась сложнорефлекторная секреция и на молоко (5.4 мл на малой кривизне и 5.0 на большой за 1-й час), соответственно у нее было выявлено и повышение тонуса (рис. 1, *з*), чем еще раз демонстрируется второстепенная роль механических свойств пищи в происхождении этой двигательной реакции желудка.

Приведенные факты показывают одну из форм связи секреторной и двигательной деятельности желудка во время пищеварения. Секреторным нервом первой фазы, как впервые показали И. П. Павлов и Е. О. Шумова-Симановская (1889), является блуждающий нерв. Он же регулирует тонус желудка. По многочисленным экспериментальным и клиническим наблюдениям после перерезки блуждающих нервов наступает резкая атония желудочной мускулатуры, замедление эвакуации и т. д. Раздражение блуждающих нервов вызывает повышение тонуса, вплоть до спазма, усиливает перистальтику, то же наблюдается и после введения холинергических веществ (в данной работе для этой цели использовался карбохалин).

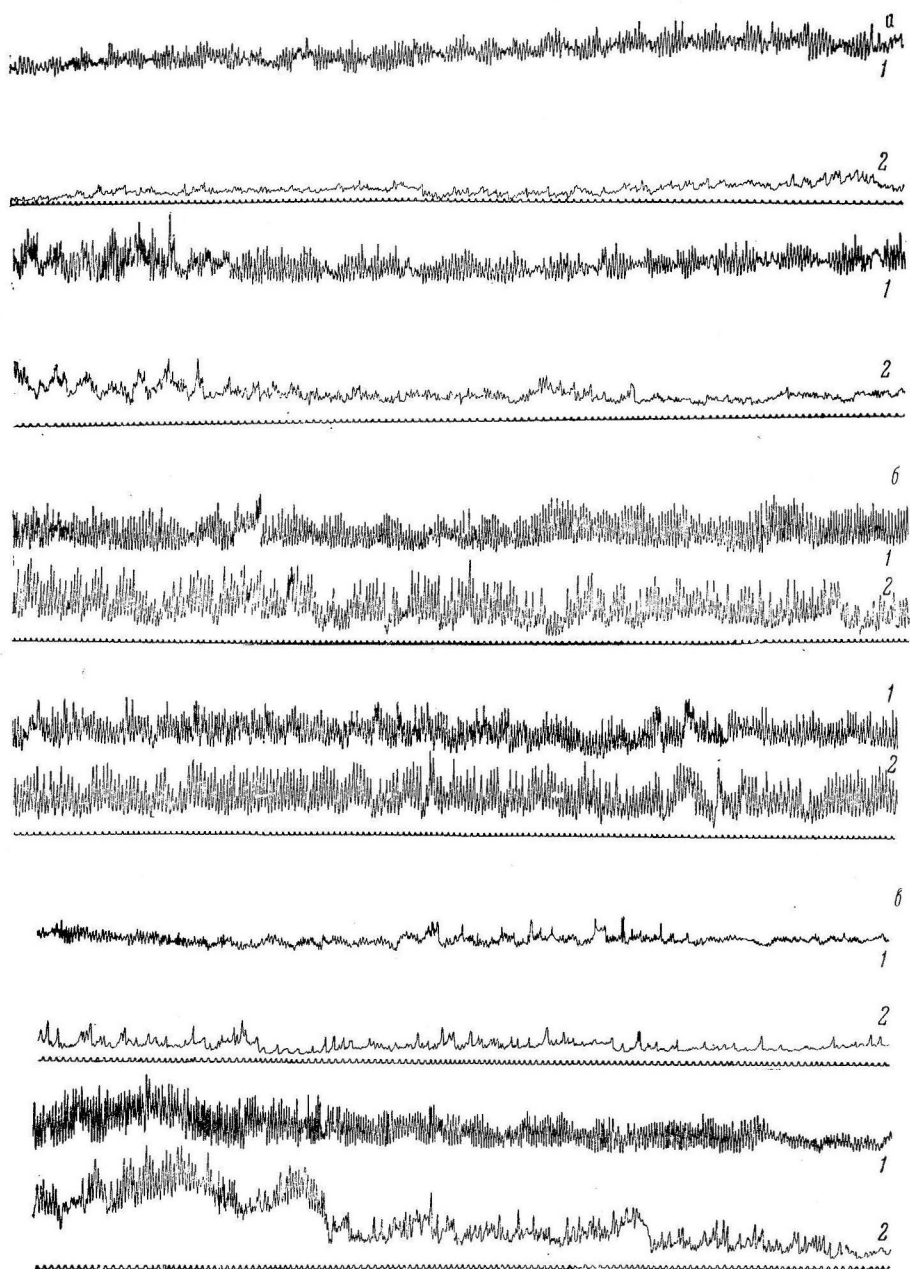


Рис. 3. Сокращения изолированных желудочков на малой и большой кривизне у собаки Дина через 2—4 часа после кормления.

а — кормление хлебом, б — мясом и е — молоком.
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

В нашем распоряжении имеются доказательства, что повышение тонуса желудка после еды также регулируется блуждающим нервом. Введение атропина его закономерно устраняло. Тот же вывод следует из сравнения гастрограмм двух желудочков с неодинаковой парасимпатической иннервацией. Как уже отмечалось, наибольшее повышение тонуса наблюдалось на малой кривизне, где во время операции были сохранены ветви блуждающих нервов. Все сказанное дает основание сделать заключение, что по блуждающему нерву передаются импульсы, одновременно вызывающие секрецию и изменения тонуса желудка в сложнорефлекторной фазе.

Кислотные движения. Наконец, в наших опытах были выявлены определенные отношения между перистальтикой желудочков (во всех случаях в форме кислотных движений) и величиной их секреции на протяжении всего периода пищеварения в желудке (таблица и рис. 3). Сравнивались секреция и перистальтика желудочков из малой и большой кривизны, а также секреция и перистальтика одного и того же желудочка но при различных сортах пищи.

Максимум секреции на малой кривизне наблюдался в 1-й час после еды мяса и хлеба, на молоко в 1-й час секреция была значительно ниже. В это время на большой кривизне количество сока на мясо и молоко было меньше, а после еды хлеба отделялась слизь нейтральной реакции. В соответствии с этим наибольшая двигательная активность желудочка из малой кривизны наблюдалась в 1-й час после кормления мясом и хлебом; на большой кривизне интенсивность движений после кормления мясом и в особенности хлебом была меньше, чем на малой. После еды молока на большой кривизне, как и на малой, регистрировались только дыхательные движения или очень слабая перистальтика.

В последующие часы (вторая фаза пищеварения) характер секреции желудочков из малой и большой кривизны изменялся: наибольшее количество сока теперь отделялось на мясо и молоко, причем секреция на молоко на большой кривизне была такой же, а иногда выше, чем на малой. На малой кривизне секреция после еды хлеба значительно уменьшилась, на большой кривизне выделялась только слизь. Изменилась также и перистальтика желудочков: сокращения высокой амплитуды имели место на малой и большой кривизне после еды мяса и молока, тогда как после кормления хлебом двигательная активность желудочка из малой кривизны уменьшилась, а на большой кривизне записывались только дыхательные движения.

Конец периода пищеварения в желудке характеризовался повышением тонуса на малой и большой кривизне и завершался периодом голодных сокращений.

Механизм взаимосвязи секреторной и перистальтической деятельности желудка был подвергнут специальному изучению (Матросова, 1957). В противоположность мнению И. А. Эдельмана (1906), считавшего, что возникновение кислотных движений связано с попаданием кислоты желудочного сока на слизистую желудка, было высказано предположение, что в этом случае, как и в разобранным ранее (относительно повышения тонуса), имеет значение общность нервно-гуморальных механизмов, регулирующих секреторную и двигательную деятельность желудка. Секреторные клетки желудка и гладкая мышца возбуждаются к деятельности одновременно и одними и теми же раздражителями. Параллельно с механизмами, возбуждающими моторику и секрецию, действуют механизмы их задерживающие. Если до еды амплитуда сокращений была высокой, то после еды она уменьшилась. Благодаря этому сокращения во время пищеварения, по крайней мере в течение некоторого периода, не достигают большой величины, а эвакуация происходит более равно-

мерно. Фактором, несомненно участвующим в формировании кислотных движений, является механическое раздражение, чувствительность к которому во время периода секреции повышается.

ВЫВОДЫ

1. Начальной реакцией желудка после кормления животных является кратковременное снижение тонуса с последующим кратковременным его повышением.

2. Вслед за начальными реакциями отмечается более продолжительное повышение тонуса желудка вследствие возбуждения блуждающих нервов в сложнорефлекторной фазе.

3. Между величиной перистальтики и секрецией желудочного сока существует зависимость, обусловленная общностью нервно-гуморальных факторов, регулирующих моторику и секрецию.

ЛИТЕРАТУРА

- Аничков С. В., Русск. физиолог. журн., 7, в. 1, 304, 1924.
Булыгин И. А. Кора головного мозга и двигательная функция желудочно-кишечного тракта. Дисс. Л., 1938.
Гольштейн Д. Х., Терапевт. арх., 5, в. 6, 165, 1927.
Дзидзигури Т. Д. и А. П. Пелешук, Физиолог. журн., 3, № 4, 22, 1957.
Кратинов А. Г. и П. Н. Кратинова, Физиолог. журн. СССР, 14, в. 6, 492, 1932.
Лебедев Н. Н., Научн. совещ. по пробл. физиолог. и патолог. пищеварения, Тез. докл., 128, Тарту, 1957.
Матросова Е. М., Научн. совещ. по пробл. физиолог. и патолог. пищеварения, Тез. докл., 160, Тарту, 1957.
Матросова Е. М. и О. В. Солодкина, Тр. Инстит. физиолог. им. И. П. Павлова, 8, 281, М.—Л., 1959.
Музыкантов В. А., Научн. совещ. по физиолог. и патолог. пищеварения, посвящ. 70-летию со дня рождения И. П. Разенкова, Тез. докл., 35, М., 1958.
Нехорошев Н. П., Русск. физиолог. журн., 8, в. 3, 59, 1925.
Павлов И. П. (1911/1912, 1912/1913), Полн. собр. соч., 5, Изд. АН СССР, М.—Л., 1952.
Павлов И. П. и Е. О. Шумова-Симановская (1889), Полн. собр. соч., 2, кн. 1, 175, Изд. АН СССР, М.—Л., 1951.
Разенков И. П. Новые данные по физиологии и патологии пищеварения. Изд. АМН СССР, М., 1948.
Рубинов И. С., Бюлл. экспер. биолог. и мед., 10, в. 5, 356, 1940; 11, в. 6, 547, 1941.
Синельников Е. И. и М. Е. Гредич, Тр. III Всес. съезда физиолог., 284, 1928.
Соловьев А. В. Новые данные о секреторной функции желудка и поджелудочной железы. Изд. АН СССР, М.—Л., 1959.
Тетельбаум А. Г., Тр. VIII Всес. съезда терапевтов, 246, Л., 1926.
Эдельман И. А. Движения желудка и переход содержимого из желудка в кишки. Дисс. СПб., 1906.
Bersovitz Z., Am. Journ. Physiol., 72, № 1, 109, 1925.
Cannon W. R. a. C. W. Lieb, Am. Journ. Physiol., 24, № 2, 265, 1911—1912.
Hellebrandt F. A. a. L. L. Dimmitt, Am. Journ. Physiol., 107, 364, 1934.
Rogers F. F. a. L. L. J. Hardt, Am. Journ. Physiol., 38, № 2, 274, 1915.

Поступило 28 VIII 1959

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE SECRETORY AND THE MOTOR ACTIVITY OF THE GREATER AND LESSER CURVATURE OF THE STOMACH

By *E. M. Matrosova, A. V. Solov'ev and O. V. Solodkina*

From the laboratory of the digestion physiology, Pavlov Institute of Physiology, Leningrad

The investigation was performed on 14 dogs with two isolated stomach pouches by Solov'ev method, ormed from the greater and lesser curvatures of the stomach, and with the stomach fistulae. A simultaneous recording of the secretory and the motor activity of pouches was made after the dogs had been fed with bread, meat and milk, after sham feeding and introduction of meat into the stomach through the fistula.

Immediately after feeding a brief decrease of tonicity was found to take place with a subsequent brief increase of the same. Following these initial responses a more prolonged increase of tonicity was observed which was caused by excitation of the n. n. vagi in the complex reflectory phase. A dependence exists between the values of the digestive peristaltics and the secretion of the stomach juice evidently originating from the common neuro-humoral factors regulating both — motorics and secretion of the stomach.

О СЕКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ КИШЕЧНИКА

А. Н. Тамбовцев

Кафедра физиологии Ветеринарного института, Омск

Со времени И. П. Павлова деятельность желудочно-кишечного тракта известна нам как деятельность единой функциональной системы, подчиненная нервной регуляции. В работах лабораторий К. М. Быкова, И. П. Разенкова и других учеников И. П. Павлова было показано, что деятельность отдельных частей пищеварительной системы строго согласована и находится во взаимной связи. Однако в отношении кишечника многие исследователи отрицали нервные влияния на секрецию кишечных желез и признавали только влияние местного раздражителя, не обнаруживая каких-либо изменений деятельности кишечных желез в зависимости от рода пищи. Так, например, Н. П. Шеповальников (1899) пришел к выводу, что отделение кишечного сока зависит от местного раздражения и не увеличивается при приеме корма.

С другой стороны, В. В. Савич и сотрудники (1937) в свое время высказали положение о центральной регуляции кишечной секреции, но ими был использован лишь фармакологический анализ без постановки чисто физиологических опытов. Н. П. Говоров, А. Ф. Сенюшкин и В. Н. Жуленко (1951) показали, что кормление животных изменяет секрецию в сторону увеличения отделения сока в изолированной петле кишечника через 7—10 мин.

Однако Л. С. Фомина (1957), наоборот, считает, что прием пищи вызывает снижение количества кишечного сока и ферментов в изолированном отрезке кишечника. Автору не удалось выявить каких-либо особенностей действия на кишечную секрецию различных пищевых веществ.

Г. Б. Гринберг и А. И. Золотаревская (1931), С. В. Андреев и С. И. Георгиевский (1934) также отрицают какую-либо специфическую приспособляемость ферментов кишечного сока к роду пищи. Недостаточность наших знаний по физиологии кишечника можно объяснить тем, что при изучении его функций большинство исследователей использовало изолированный отрезок кишечника по Тири—Велла, лишенный непосредственной связи с кишечником и не отражающий в полной мере его состояние. Н. П. Шеповальников, используя более совершенную методику, не учитывал исходного состояния возбудимости кишечных желез и применял несовершенный кишечный дренаж.

В своих исследованиях мы поставили задачу изучить влияние акта кормления, а также разных сортов пищи на количество и качество отделяемого кишечного сока собак.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на собаках, имевших изолированные отрезки кишечника в модификации автора (Тамбовцев, 1958). Такие изолированные отрезки кишечника, в отличие от изолированного отрезка по Тири—Велла, имеют непосредственную связь с кишечником и, как показали прежние сравнительные опыты, полнее отражают его состояние. Были изолированы различные отделы кишечника.

На 6 собаках проведено около 200 исследований.

Для собирания сока из изолированного отрезка кишечника был применен четырехканальный дренаж. Это — две половинки разрезанной вдоль резиновой трубки, соединенные своими спинками с помощью проволочных скрепок. Чтобы не травмировать слизистую кишку на конце дренажа надевался резиновый колпачок. Применение такого дренажа имеет решающее значение при изучении закономерностей отделения кишечного сока. Использование обычных трубчатых дренажей вследствие плотного

облегания дренажа слизистой и закупорки дренажных отверстий слизью затрудняет выведение сока из полости кишки наружу. При применении пищевых раздражителей, как правило, учитывалось исходное состояние возбудимости кишечных желез.

Протеолитическая активность сока определялась путем учета аминокислот, образовавшихся в результате гидролитического действия 1 мл сока на пептон, и выражалась в мг аминного азота. Аминокислоты определялись методом формольного титрования по Зеренсену. Амилитическая активность исследовалась методом разведения кишечного сока, определением его действия на крахмал по реакции Троммера и выражалась степенью разведения 1 мл кишечного сока, дающего четко положительную реакцию.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты с применением резиновых дренажей, вводимых в полость кишки для сбора сока, показали, что дренаж как механический раздражитель несколько извращает картину «спонтанной» секреции кишечного сока. Поэтому при изучении периодической «голодной» секреции кишечного сока сок собирался без дренажей путем подвешивания воронки.

На 2 собаках натощак было установлено, что периодическое усиление кишечной секреции из начального участка тощего отдела кишечника повторяется через 50—60 мин. и продолжается 15—30 мин. Причем оказалось, что в опытах без применения дренажей увеличение отделения сока наблюдалось в течение первых 1½ часов опыта. При применении же дренажей подобное увеличение сокоотделения продолжалось в течение 2—3 часов. У подвздошной и толстой кишок в последнем случае увеличение отделения сока происходило в течение 4—5 часов. Это обстоятельство всегда учитывалось нами при установлении соответствующего фона секреции для последующей дачи животному того или иного вида корма.

При изучении влияния акта кормления на количество и качество кишечного сока мы столкнулись с определенной трудностью. В опытах без применения дренажей акт кормления, как правило, увеличивал отделение кишечного сока в первый час после кормления. Однако в последующие часы какой-либо закономерности в отделении сока установить не удалось. Количество отделяющегося сока уменьшалось, но зато показательными в этих опытах были изменения ферментативной активности кишечного сока.

Наоборот, в опытах с применением дренажа четко выступала определенная закономерность количественной стороны отделения кишечного сока, но невозможно было установить действительную картину ферментативной активности сока. В этом случае, очевидно, играло роль большое количество сока, отделяющегося на дренаж. Как известно, существует обратная зависимость между количеством отделяющегося сока и количеством ферментов.

В связи с этим мы вынуждены были вести параллельные опыты: «бездренажные» — для определения ферментативной активности сока и опыты с использованием дренажа для изучения количественной стороны отделения сока. Для определения ферментов кишечный сок брался во всех случаях без слизи. Сама слизь обладает высокой ферментативной активностью. Как показали опыты, в момент кормления и в последующие 30 мин. сокоотделение увеличивалось. Увеличение отделяющегося сока в последующие 4 часа было обусловлено прохождением кишечного химуса. В некоторых опытах высокий уровень сокоотделения отмечался и в течение 5—6-го часа. Начиная с 6—7-го и до 9—10-го часа наблюдалось постепенное снижение уровня кишечной секреции.

На собаке с фистулой подвздошного отдела кишечника проводилось изучение сроков эвакуации химуса. Было выяснено, что первые порции кишечного содержимого появлялись в подвздошной кишке спустя 30—60 мин. после кормления животного смешанной пищей (суп+хлеб), а последние порции исчезали из кишки к 9-у часу. Основная масса химуса

проходила через тонкий кишечник в течение 2—5 часов. Наибольшая ферментативная активность кишечного сока в изолированном отрезке кишечника наблюдалась в течение 3—4-го часа после кормления.

Кормление различными пищевыми веществами: хлебом (200 г), молоком (600 мл) и конским мясом (200 г) по-разному изменяло количество и качество отделяющегося кишечного сока. Дача корма животным во всех опытах проводилась только после снижения уровня секреции сока на введенный в полость кишки дренаж.

Таблица 1
Отделение кишечного сока собак

№ п/п	Животное	Дата опыта (1958 г.)	Пищевые вещества	Количество отделяемого кишечного сока (в мл) по часам												
				до кор- мления	после кормления											
					3-	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Щенок	18 II	Дача 200 г хлеба	5.0	2.4	3.2	6.0	3.1	5.1	6.0	4.3	—	—	—	—	—
2		22 II		—	3.5	2.3	3.1	1.8	3.4	2.0	—	—	—	—	—	—
3		27 II		—	5.5	1.2	4.5	2.2	2.5	4.5	3.5	2.1	—	—	—	—
4		19 VI		9	3.9	1.8	3.1	2.3	1.8	3.2	4.7	2.8	—	—	—	—
5		26 VI		—	5.6	3.2	6.0	3.5	6.2	3.9	2.5	2.9	1.9	2.3	1.8	—
6		7 VI		—	4.1	1.8	5.8	3.7	4.5	6.1	4.3	—	—	—	—	—
7	Рыжик	10 VI		—	0.6	0.7	1.7	1.0	2.0	2.4	3.0	2.5	—	—	—	
8		19 VI		4.1	2.9	2.3	6.1	4.0	5.0	6.5	5.0	3.0	3.5	2.9	—	
9		30 VI		—	3.6	0.7	1.1	2.3	6.7	4.7	3.6	2.8	2.0	—	—	
10	Щенок	1 VII	Дача 600 мл молока	—	7.0	2.0	3.0	2.5	4.2	3.8	2.5	—	—	—	—	
11		3 VII		4.3	4.2	2.1	2.4	3.8	2.9	5.4	4.3	—	—	—	—	
12		29 VI		—	3.4	0.9	2.5	1.8	3.2	3.8	3.5	—	—	—	—	
13	Рыжик	1 VII		—	4.0	1.6	2.5	1.8	3.2	3.8	3.5	—	—	—	—	
14		3 VII		—	4.8	1.2	2.0	2.6	3.2	6.0	4.4	3.0	—	—	—	
15		5 VII		—	3.8	2.8	2.2	2.5	4.8	4.1	3.0	—	—	—	—	
16		11 IV		—	7.5	5.5	7.2	8.2	7.1	—	—	—	—	—	—	
17		14 IV		2.9	5.5	2.4	7.3	5.8	7.6	7.0	5.0	5.4	4.9	2.2	—	
18	Щенок	15 V	Дача 200 г мяса	5.1	2.5	1.8	6.0	5.8	3.8	4.1	2.9	1.9	—	—	—	
19		7 VII		—	3.5	5.0	7.6	6.8	8.5	6.5	4.5	—	—	—	—	
20		10 VII		—	2.4	3.2	6.8	5.2	6.1	5.5	2.2	2.6	1.7	—	—	
21		7 VII		—	4.2	1.3	4.8	4.5	4.6	5.0	4.0	4.3	2.4	—	—	
22	Рыжик	9 VIII		—	4.2	2.2	8.0	7.8	6.0	6.5	7.5	5.0	—	—	—	
23		11 VIII		—	4.0	1.8	4.8	4.7	5.0	5.8	5.9	5.3	4.1	—	—	
24		13 VIII		—	5.0	2.3	4.7	4.3	6.5	4.3	5.6	5.0	4.1	—	—	

Кормление хлебом (табл. 1) вызывало резкое увеличение отделяющегося сока в 1-й час с последующим снижением во 2-й час. Затем наступило вторичное увеличение сокоотделения. Последующее отделение сока на хлеб, видимо, во многом зависит от срока эвакуации содержимого из желудка и скорости прохождения его по кишечнику. В одних опытах (табл. 1, №№ 2, 5) усиление секреции наступало к 3—4, в других (табл. 1, №№ 1, 3, 4, 6) к 4-у часу, после чего наблюдалось снижение уровня секреции. Общая продолжительность сокоотделения на хлеб составляла 8—10 часов.

На молоко происходило постепенное увеличение сокоотделения, которое достигало максимума к 3—4-у часу после кормления. В некоторых опытах в 1-й час после кормления секреция была выражена больше, чем во 2-й час. Это, видимо, объясняется сильным рефлексорным влиянием

со стороны ротовой полости. В дальнейшем максимальное отделение кишечного сока на молоко чаще приходилось на 4-й час. К 7-у часу уровень секреции снижался. На мясо, в отличие от хлеба и молока, высокий уровень секреции наблюдался в течение 4 часов опыта. С 5-го часа количество отделяющегося сока начинало уменьшаться, достигая минимума к 8-у часу. Таким образом, из приведенных результатов следует, что на каждый вид корма отделение кишечного сока имеет вполне определенный характер (см. рисунок).

Подразнивание мясом, хлебом и молоком вызывало такие же изменения в отделении сока, как и скармливание их. Так, подразнивание мясом вызывает увеличение отделения сока в 1-й и 2-й час, хлебом только в 1-й час и молоком постепенное увеличение количества сока к 3-у часу (см. рисунок).

При кормлении мясом, хлебом и молоком соответствующим образом изменяется и ферментативная активность кишечного сока. В опытах на собаке Белый с изолированным отрезком начальной части тощей кишки сок собирался без применения дренажей в течение 2 часов до кормления и 3—4 часов после кормления (табл. 2). Определялась ферментативная активность кишечного сока. Средние цифры, характеризующие изменения

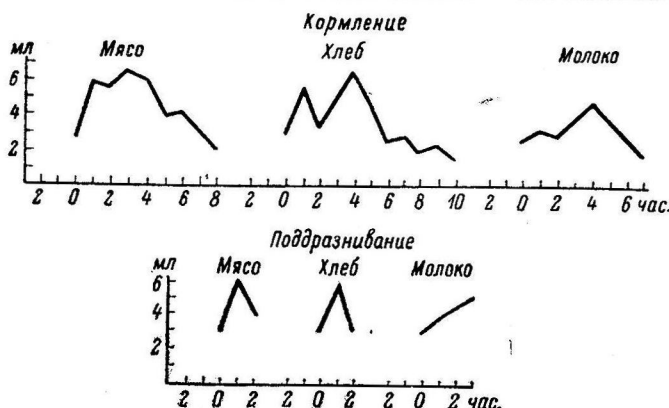
Таблица 2

Изменения амилалитической и пептической активности кишечного сока собак

Животное	Дата опыта	Пищевые вещества	До кормления				После кормления			
			активность							
			амило-литиче-ская	пепти-ческая	амило-литиче-ская	пепти-ческая	амило-литиче-ская	пепти-ческая	амило-литиче-ская	пепти-ческая
Белый	20 VI 1958	Дача 200 г хлеба	3	0.84	4.5	2.1				
	23 VI 1958		3	0.98	4.5	2.8				
	26 VI 1958		4.5	1.26	4.5	2.24				
	28 VI 1958		3	1.26	6.7	2.38				
	2 VII 1958	Дача 600 мл молока	3	1.26	4.5	2.24				
	4 VII 1958		3	0.98	3	1.96				
	8 VII 1958		3	0.84	4.5	1.4				
	10 VI 1958		3	0.84	3	1.48				
	12 VI 1958	Дача 200 г мяса	4.5	0.98	6.7	2.1				
	15 VI 1958		4.5	0.84	6.7	1.68				
	19 VI 1958		6.7	0.26	10	2.66				
	23 VI 1958		6.7	1.26	15	2.1				
	8 XII 1958	Дача 200 г хлеба	—	—	4.5	0.7				
	10 XII 1958		—	—	4.5	0.84				
	17 XII 1958		—	—	3	0.84				
	19 XII 1958		—	—	4.5	0.98				
Пальма	20 XII 1958	Дача 200 г хлеба	—	—	4.5	0.84				
	3 II 1959		—	0.7	—	0.98				
	6 II 1959	Дача 600 мл молока	—	0.84	—	1.26				
	10 II 1959		—	0.7	—	1.12				
	23 XII 1958		—	—	4.5	0.84				
	26 XII 1958		—	—	3	0.42				
	29 XII 1958	Дача 200 г мяса	—	—	4.5	0.42				
	2 I 1959		—	—	3	0.56				
	5 I 1959		—	—	4.5	0.42				
	8 I 1959		—	—	6.7	0.42				
	10 I 1959	Дача 200 г мяса	—	—	6.7	0.84				
	14 I 1959		—	—	10	0.56				
	19 I 1959		—	—	6.7	0.56				
	23 I 1959		—	—	6.7	0.7				

пептической активности сока, следующие: до кормления пептическая активность составляла 1.08; после кормления животного хлебом равнялась 2.63, разница 1.55 мг; на молоко — до кормления 0.98, после выпаживания молока 1.77, разница 0.79 мг; на мясо соответственно 1.08, 2.13, 1.5 мг. Следовательно, прием корма усиливает пептическую активность сока и притом в неодинаковой степени на различные пищевые раздражители. При скармливании хлеба пептическая активность сока выше, чем на мясо, а на мясо выше, чем на молоко.

Точно так же прием пищи усиливает и амилалитическую активность сока. Более высокая амилалитическая активность сока была на мясо, значительно слабее — на хлеб и очень слабая — на молоко. Интересно,



Типичные кривые отделения кишечного сока собак на мясо, хлеб, молоко.

что при ежедневной даче собаке мяса наблюдалось общее увеличение амилалитической активности сока.

Собаке Пальма (табл. 2), имевшей изолированный отрезок подвздошной кишки, после постановки в станок давался корм и на протяжении 5—6 часов собирался сок без дренажей. В этих опытах отмечалось изменение ферментативной активности сока подвздошной кишки в соответствии с видом корма. В среднем при кормлении хлебом пептическая активность равнялась 0.84, молоком 0.52 и мясом 0.6 мг. Амилалитическая активность сока на мясо была выше, чем на хлеб и молоко. Общая пептическая активность сока подвздошной кишки была несколько ниже, чем пептическая активность начального участка тощей кишки.

Был поставлен ряд опытов по изучению особенностей отделения сока подвздошной и толстой кишок на те же пищевые раздражители. Были подтверждены общие закономерности отделения кишечного сока на мясо, хлеб и молоко. Для подвздошной кишки характерен, например, более продолжительный второй период повышенного отделения сока, связанный, видимо, с временем прохождения кишечного содержимого. Кроме того, подвздошный и толстый отделы кишечника оказались более чувствительными к дренажу, как механическому раздражителю, который вызывал усиленное отделение сока в течение 4—5 часов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование изолированного отрезка кишечника в модификации автора и четырехканального дренажа, с учетом исходного состояния возбудимости кишечных желез, позволило получить новые данные по секреторной функции кишечника.

Прием пищи усиливает секрецию кишечных желез и ферментативную активность кишечного сока. Количество и качество кишечного сока соответствует виду корма. Следовательно, характер отделения кишечного сока в принципе сходен с отделением желудочного сока на те же раздражители.

В кишечной секреции отмечается особенность в виде вторичного усиления сокоотделения, связанного со специфическим влиянием кишечного содержимого, поступающего из желудка в кишечник.

При кормлении мясом усиленное отделение кишечного сока отмечается в первые 2 и последующие 3-й и 4-й часы после кормления. На хлеб увеличение сокоотделения наблюдается в 1-й час после кормления и вторичное усиление — к 3-у или 4-у часу. Молоко вызывает постепенное увеличение сокоотделения, которое достигает наивысшего уровня к 4-у часу.

Подразнивание животного мясом, хлебом и молоком вызывает такие же изменения в характере отделения кишечного сока, как и скармливание их.

Пептическая активность сока при кормлении хлебом более высокая, чем при кормлении мясом. На молоко она еще ниже, чем на мясо. Амилолитическая активность кишечного сока более выражена на мясо, менее на хлеб и очень слабо выражена на молоко.

Кишечным железам присуща, по-видимому, специфическая ферментативная приспособляемость к роду пищи. Можно предполагать, что секреция кишечных желез подчинена общим закономерностям регуляции секреторной деятельности пищеварительных желез.

ЛИТЕРАТУРА

- Андреев С. В. и С. И. Георгиевский, Физиолог. журн. СССР, 17, в. 4, 810, 1934.
 Говоров Н. П., А. Ф. Сеньюшкин, В. Н. Жуленко, Физиолог. журн. СССР, 37, № 6, 736, 1951.
 Гринберг Г. Б. и А. И. Золотаревская, Русск. физиолог. журн., 14, в. 2-3, 310, 1931.
 Савич В. В., М. М. Горбунова-Николаева, Н. П. Говоров, Л. Г. Меркулов, Сб. докл. VI Всес. съезда физиолог., биохим. и фармаколог., 627, 1937.
 Тамбовцев А. Н., Физиолог. журн. СССР, 44, № 3, 231, 1958.
 Фомина Л. С., Физиолог. журн. СССР, 43, № 9, 879, 1957.
 Шеповальников Н. П. (1899). Физиология кишечного сока. М., 1953.

Поступило 15 IV 1959

ON THE SECRETORY FUNCTION OF THE INTESTINE

By A. N. *Tambovtsev*

From the physiology Chair of the Veterinary Institute, Omsk

Feeding increases the secretion of the intestinal glands. The quantity and quality of the intestinal juice corresponds to the kind of food. The character of the intestinal juice secretion over meat, bread and milk is in principle similar to the character of the stomach juice secretion over the same food ingredients.

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ СЕРДЕЧНЫХ И ДЫХАТЕЛЬНЫХ РЕФЛЕКСОВ У КРЫС В ОНТОГЕНЕЗЕ

Т. П. Шляфер

Отдел сравнительной физиологии и патологии Института экспериментальной медицины
АМН СССР, Ленинград

За последнее время возрос интерес к изучению вегетативных компонентов условных и ориентировочных рефлексов (Анохин, 1949, 1958; Gantt a. Trancott, 1949; Рогов, 1951; Бирюков, 1952; Цуге и Шима, 1959, и др.). Эта проблема изучается многими исследователями в возрастном аспекте (Гарцштейн, 1934; Баланов и Кургановский, 1954 — на детях; Стельмах, 1953; Худорожева, 1954; Волохов, 1958; Новикова, 1959 — на животных). Несмотря на значительное количество работ, взаимодействие сердечно-сосудистого и дыхательного центров, тонус блуждающих нервов и ряд других вопросов, относящихся к механизму вегетативных рефлексов в онтогенезе остаются еще невыясненными. Задача настоящей работы состоит в изучении сердечных и дыхательных рефлексов у крыс в онтогенезе.

МЕТОДИКА

Опыты проведены на 102 крысятах (в возрасте от одного до 35 дней) и 4 крысах (трехмесячного возраста). Для характеристики вегетативных рефлексов использовались раздражения слухового (электрометроном — М₁₈₀ 60—80 дБ, тоны звукогенератора — 1000—2000 гц 75 до 85 дБ), обонятельного (запах спирта, аммиака) и тактильного (укол, прикосновение) анализаторов. Кроме того, применялись фармакологические вещества: атропин, ареколин и аминазин, которые вводились животным подкожно. Дыхание регистрировалось при помощи пьезоэлемента. Для отведения биотоков сердца использовались смоченные в физиологическом растворе ватные фитильки, которые фиксировались на правой передней и левой задней конечностях. Сердечный ритм определялся по электрокардиограмме, которая записывалась во 2-м отведении. Регистрация всех этих показателей проводилась на четырехканальной чернильнопишущей установке.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У всех крыс в раннем постнатальном периоде отмечалось периодическое дыхание. У одних животных на фоне равномерного дыхания наблюдалось периодическое учащение дыхательных движений (рис. 1), а у других, наоборот, — задержка дыхательных движений. У некоторых крысят в первые дни после рождения отмечали сердечную аритмию; у взрослых крыс сердечная аритмия и периодический тип дыхания не наблюдались.

В возрасте 2—3 месяцев у этих животных довольно часто в течение опыта наблюдали резкие колебания частоты дыхательных движений. С изменением дыхания изменялся и ритм сердечных сокращений, причем эти сдвиги протекали не всегда параллельно (рис. 2). В раннем постнатальном периоде у крысят довольно часто задержка дыхательных движений даже на 7—8-й сек. не сопровождалась какими-либо изменениями частоты

сердцебиений. Необходимо отметить большую степень реактивности дыхания по сравнению с сердечной деятельностью. У крысят после рождения частота дыхательных движений в среднем составляла 75 дыханий в 1 мин., а частота сердечных сокращений — 212 ударов в 1 мин.

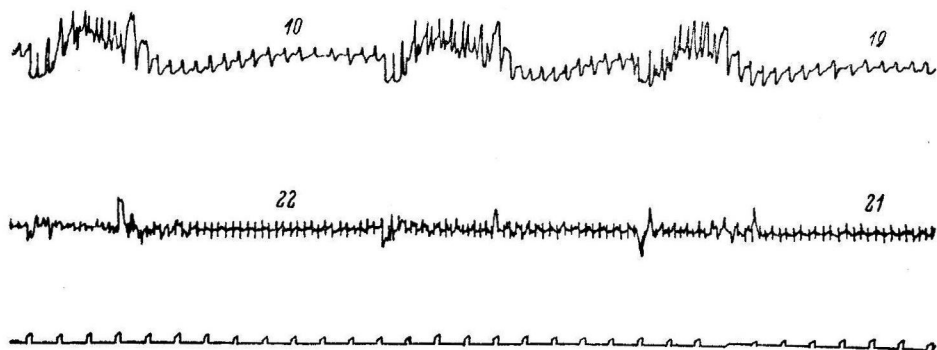


Рис. 1. Периодический тип дыхания у 4-дневной крысы.

Сверху вниз: пневмограмма; ЭКГ; отметка времени (в сек.). Цифры на всех рисунках — ритм дыхания и пульса.

В возрасте 3 месяцев частота сердцебиений (390 в 1 мин.) и дыхательных движений (120 в 1 мин.) у крыс меньше, чем у 7—19-дневных крысят, но больше, чем у 4-дневных.

На рис. 3 приведены графики становления дыхательного и сердечного ритмов.

Сердечные и дыхательные рефлексy на звуковой раздражитель у крысят проявлялись с 4-дневного возраста. В возрасте 4—5 дней в ответ

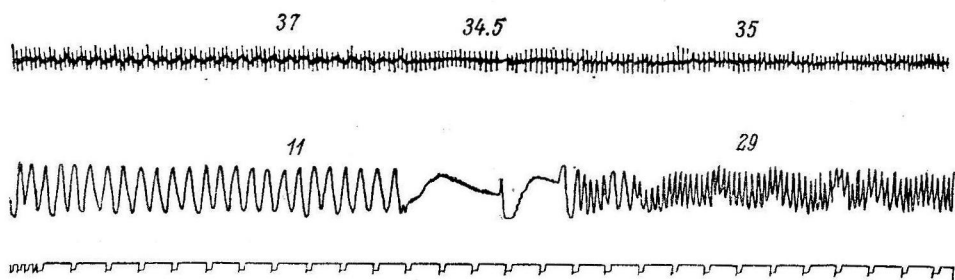


Рис. 2. Частота сердечных сокращений и дыхательных движений у 3-месячной крысы.
[Сверху вниз: ЭКГ; пневмограмма; отметка времени (в сек.).]

на звук возникало учащение дыхательных движений, а в возрасте 8—14 дней — преимущественно урежение. Это, по-видимому, объясняется изменением общего уровня частоты дыхательных движений (рис. 3). У взрослых крыс была отчетливо выражена ориентировочная реакция на сильный звуковой раздражитель (тон 2000 гц 80 дб) в виде «замирания» или движения, учащения дыхания и пульса. На тон 2000 гц 60 дб отмечались в основном вегетативные реакции. В раннем возрасте ориентировочная двигательная реакция на звук у крысят отсутствует, но наблюдается дыхательная реакция, реже изменения сердечной деятельности и движения. На один и тот же раздражитель в течение опыта довольно часто проявлялось то учащение, то урежение ритмов сердца и дыхания (рис. 4, А и Б), что, по-видимому, определялось различной глубиной тор-

мозного (дремотного) состояния, в котором находятся все подопытные крысята в раннем возрасте.

Наши опыты показали, что до 4-дневного возраста сердечные и дыхательные реакции у крысят весьма неостоянны. Это, по-видимому, определяется функциональной незрелостью звукового анализатора. Для выяснения этого вопроса были проведены опыты с применением других раздражителей. Вегетативные рефлексы на тактильные раздражители наблюдались с первого дня жизни крысят. Особенность их проявления определялась не только силой раздражителя, но и той областью, на которую наносились раздражения. Так же как и при действии звуковых раздражителей, в данных опытах наблюдались изменения дыхания, а ритм сердечной деятельности оставался без перемен.

Опыты показали, что вегетативные реакции животного на обонятельные раздражители различны. На действие паров спирта у всех подопытных животных дыхание учащалось в 1.5—2 раза. Частота сердцебиений учащалась при этом только у некоторых крыс. На действие

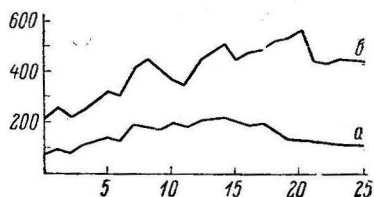


Рис. 3. График становления ритмов дыхательных движений (а) и сердечных сокращений (б) у крысят в течение 1-го месяца жизни.

По оси ординат — частота ритмов; по оси абсцисс — возраст крысят (в днях).

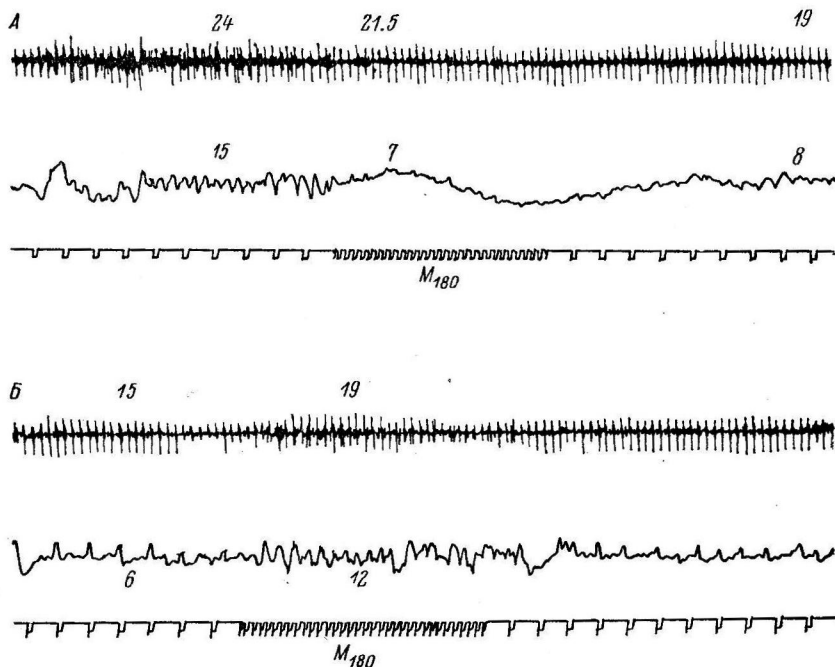


Рис. 4. Изменения частоты сердечных сокращений и дыхательных движений на M_{180} (4-е и 5-е применения) у крысенка в возрасте 4 дней (А и Б).

Сверху вниз: ЭКГ; пневмограмма; отметки раздражения и времени (в сек.).

аммиака с первых дней после рождения у крысят наблюдали урежение или задержку дыхания в зависимости от индивидуальной чувствительности животного к данному агенту и его концентрации. При этом ритм сердечной деятельности у большинства подопытных животных не изменялся и

только у некоторых крысят было замедление частоты сердцебиений (рис. 5).

Результаты исследований показали, что при действии раздражителей частота сердцебиений изменяется реже, чем частота дыхания. У крысят в раннем возрасте изменения ритма дыхательных движений и сердечных сокращений происходят чаще всего не параллельно. У крыс в возрасте 3 месяцев наблюдаются в основном параллельные изменения частоты сердцебиений и дыхания. Эти факты можно понять с точки зрения неодновременного функционального созревания сердечно-сосудистого и дыхательного центров в процессе онтогенеза.

Редкий исходный ритм сердцебиений, урежение частоты сердечных сокращений на аммиак у крыс в первые дни после рождения дают осно-



Рис. 5. Задержка дыхательных движений и урежение частоты сердцебиений на аммиак у новорожденного крысенка.

Сверху вниз: пневмограмма; ЭКГ; отметки раздражения и времени (в сек.).

вание думать о существовании тонического возбуждения в центрах вагусной иннервации сердца.

Для выявления тонуса центров блуждающих нервов в онтогенезе у крысят были проведены опыты с подкожным введением 0.1—0.5 мл сернокислого атропина в разведении 1 : 1000. После введения атропина в раннем постнатальном периоде учащения частоты сердечных сокращений у крысят обнаружить не удалось. В возрасте 16 дней у них впервые отмечено учащение сердцебиений после введения атропина (на 12 ударов в 1 мин. при исходном уровне 492 сердечных сокращений). Для определения тонуса центров блуждающих нервов мы вычисляли степень учащения сердечных сокращений после введения атропина в процентах по отношению к исходному ритму. В возрасте 16 дней отмечен низкий показатель тонуса центров блуждающих нервов (2%). В возрасте 23 дней жизни величина этого показателя возрастает до 8%. У взрослых же крыс величина показателя парасимпатического тонуса равнялась 22—23%, что совпадает с данными Мэнона (1936).

После введения атропина в раннем возрасте у крысят не наступало учащения сердцебиений. Это могло зависеть от ряда причин, в том числе и от недостаточного развития М-холинореактивных систем. Наши опыты с ареколином, который у взрослых крыс воспроизводит вагусный эффект (действуя, как и атропин, на одни и те же холинореактивные системы), показали, что этот препарат вызывает значительное урежение сердцебиений у крысят в раннем возрасте. Так, например, у 9-дневного крысенка 0.1 см³ ареколина в разведении 1 : 10 000, на 4-й мин. после введения вызвал замедление ритма сердцебиений на 192 удара при исходном уровне 110 сердечных сокращений в 1 мин. Для выяснения влияния атропина на М-холинореактивные системы крысенку за 8 мин. до введения ареколина мы вводили атропин и установили, что при этом урежения частоты

сердечных сокращений не наступало. Эти факты свидетельствуют о блокировании М-холинореактивных систем атропином. Вышеприведенные результаты ранних опытов показывают особенности сердечных и дыхательных реакций на введение фармакологических агентов преимущественно периферического действия (холинореактивные системы).

Для изучения механизмов этих реакций важно было применить вещества, действующие на стволовые образования головного мозга, где находятся сердечно-сосудистый и дыхательный центры. Учитывая литературные данные о влиянии аминазина на ретикулярную формацию мозгового ствола, мы решили проследить за вегетативными рефлексамии после введения аминазина. Оказалось, что аминазин влияет на вегетативные реакции крысят с первого дня рождения. Аналогичные результаты были получены М. И. Яковлевой (1959) на котятах. С возрастом эффект действия аминазина менялся. Так, у крысят в возрасте 1—2 дней после введения аминазина в дозе 5 мг на 1 кг веса наблюдали урежение дыхания наполовину по сравнению с исходным, а замедление ритма сердечной деятельности было незначительным. У крысят в возрасте 15 дней отмечалось урежение как дыхания, так и сердечной деятельности. При введении аминазина в больших дозах наблюдали, как правило, более выраженное урежение ритмов дыхания и сердечной деятельности. Следует подчеркнуть, что у взрослых крыс после введения аминазина ритм сердечной деятельности учащался, а дыхание изменялось незначительно.

Для выявления особенностей сердечных реакций были прослежены биотоки сердца крысят в онтогенезе. Опыты с регистрацией ЭКГ у крыс в различные возрастные периоды показали, что время атриовентрикулярного проведения, длительность систолы — от первых дней после рождения до 20—25-дневного возраста уменьшались (интервал PQ от 212 до 92 мсек., интервала QT от 152 до 90 мсек.). Изменялся и вольтаж зубцов электрокардиограмм. Зубец P в первые дни после рождения увеличивался. У некоторых крыс в это время можно было зарегистрировать зубец T . Зубец Q был очень нестойким, часто его вообще не было. Зубец R больше дополнительного зубца R_1 , который отмечался лишь при большом усилении. С возрастом зубец R увеличивался, а S уменьшался. Зубец T становился хорошо выраженным. ЭКГ крысят в возрасте 15—28 дней напоминает ЭКГ взрослых крыс.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что у крысят после рождения отмечается редкий ритм сердцебиений и дыхания. Редкий ритм сердечной и дыхательной деятельности в этом случае обусловлен в первую очередь недостаточным функционированием высших отделов Ц. Н. С. в связи с их неоконченным морфологическим созреванием. Низкий уровень частоты сердцебиений, рефлекторное урежение сердечной деятельности на аммиак в первые дни после рождения дают основание думать о повышенном тонусе центров блуждающих нервов, оказывающих влияние на сердце. Однако результаты опытов с введением атропина, увеличенный зубец P ЭКГ свидетельствуют о преобладающем влиянии симпатической нервной системы над парасимпатической. Редкий ритм сердцебиений, увеличенный интервал PQ , т. е. плохая проводимость в атриовентрикулярном узле, говорят в свою очередь о недостаточном тонусе симпатической иннервации сердца. С возрастом дыхательная и сердечная деятельности совершенствуются. Исчезает периодический ритм дыхания, изменяется ЭКГ, увеличивается тонус ваго-симпатических центров.

Следует отметить, что дыхательная функция у крыс по сравнению с сердечной развивается в более раннем возрасте, о чем свидетельствует появление рефлекторных изменений дыхания у крысят в более раннем возрасте по сравнению с сердечными рефлексамии.

Данные нашего исследования позволяют затронуть вопрос о становлении ориентировочной реакции на звуковой раздражитель у крыс в онтогенезе. В процессе становления ориентировочной реакции на звуковой раздражитель наблюдается предшествование вегетативных реакций двигательным. В раннем онтогенезе вегетативные реакции на звуковой раздражитель не следует называть компонентами ориентировочной реакции, которыми они могут быть лишь впоследствии при ее появлении.

ВЫВОДЫ

1. В ответ на звуковые раздражения у взрослых крыс отмечается ориентировочная реакция с изменением дыхательного и сердечного ритмов. В раннем постнатальном периоде ориентировочная реакция на звук у крысят отсутствует. В основном у них наблюдается отчетливо выраженная дыхательная реакция, реже сердечная и двигательная.

2. В раннем возрасте у крысят отмечается низкий тонус ваго-симпатической иннервации; у взрослых крыс он значительно выше.

3. В процессе онтогенеза у крыс наблюдается более раннее функциональное созревание дыхательной функции по сравнению с сердечной.

ЛИТЕРАТУРА

- Анохин П. К., Физиолог. журн. СССР, 35, № 5, 491, 1949; Внутреннее торможение как проблема физиологии. Медгиз, 1958.
 Бирюков Д. А., Журн. высш. нервн. деят., 2, № 4, 518, 1952.
 Баланов Л. Я. и П. И. Кургановский, Тез. докл. научн. сесс. по вопр. возрастной физиологии человека, Л., 1954.
 Волохов А. А. Эволюция функций нервной системы. Медгиз, 1958.
 Гарцштейн Н. Г., Тр. Лаб. физиолог. и патолог. в. н. д. ребенка и подростка, 4, 206, М., 1934.
 Мэнон Ф., Физиолог. журн. СССР, 21, в. 5—6, 949, 1936.
 Новикова Е. Г., Физиолог. журн. СССР, 45, № 2, 142, 1959.
 Рогов А. А. О сосудистых условных и безусловных рефлексах человека. Изд. АН СССР, М.—Л., 1951.
 Стельмах Л. М., Тез. докл. XVI совещ. по пробл. в. н. д., 207, М., 1953.
 Худорожева А. Т., Журн. высш. нервн. деят., 4, в. 1, 93, 1954.
 Цуге Х. и И. Шима, Журн. высш. нервн. деят., 9, в. 3, 451, 1959.
 Яковлева М. И. В сб.: Исследования по эволюции нервной деятельности. Л., 1959.
 Gantt W. H. and U. Transcott, Am. Journ. Physiol., 159, 3, 569, 1949.

Поступило 24 I 1960

PECULIARITIES OF THE RAT CARDIAC AND RESPIRATORY REFLEXES IN ONTOGENESIS

By T. P. Shliafer

From the Department of comparative physiology and pathology, Institute of Experimental Medicine, Leningrad

СООТНОШЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ АДЕНИЛОВОЙ СИСТЕМЫ
ПРИ ТЕТАНИЧЕСКОМ СОКРАЩЕНИИ МЫШЦЫ

С. Н. Лызлова и Н. С. Пантелеева

Кафедра биохимии Ленинградского государственного университета

Широко распространен взгляд, что энергия для сокращения мышечных волокон черпается за счет расщепления аденозинтрифосфата (АТФ). Ресинтез АТФ осуществляется путем переноса остатка фосфорной кислоты с креатинфосфата на адениловую систему.

Многочисленные наблюдения подтверждают это представление.

Работа мышцы после отравления некоторыми фармакологическими агентами (монйодацетат, 2,4-динитрофенол, хинин, хлоралгидрат) сопровождается расходом креатинфосфата и АТФ (Lundsgaard, 1930; Пантелеева, 1953). В состоянии утомления после раздражения током большой частоты и силы (Лызлова, 1953) или одиночными индукционными ударами (Munch-Petersen, 1953) в мышце наблюдается распад креатинфосфата и заметное уменьшение АТФ.

Искусственно приготовленные актомиозиновые нити, а также мышечные волокна, вымоченные в воде или глицерине, сокращаются в присутствии АТФ и других нуклеозидполифосфатов (ГТФ, ИТФ, УТФ, ЦТФ). Добавление АТФ при определенных условиях вызывает синергизм актомиозиновых гелей, причем АТФ дефосфорилируется до АДФ (Szent-Györgii, 1951; Иванов и Миревич, 1958).

Измерения рН мышечного волокна показали, что в начальную фазу сокращения имеет место подкисление, что хорошо согласуется с представлением о гидролизе АТФ как первичной реакции при мышечном сокращении (Dubuissou, 1950).

Однако непосредственно обнаружить распад АТФ при сокращении целостной неутомленной мышцы чрезвычайно трудно. По данным Хилла (Hill, 1950), выделение тепла при одиночном сокращении составляет 0.003 кал./г мышцы, что соответствует освобождению примерно $2.5 \cdot 10^{-7}$ гМ фосфата из креатинфосфата. Определить такие ничтожные сдвиги (меньше 1 мг% фосфора) очень трудно.

По-видимому, в связи с этим различные авторы при довольно сходных приемах работы приходили подчас к прямо противоположным заключениям.

Наглядным примером тому могут служить две тщательно выполненные работы Мунх-Петерсен и Моммертса (Mommerts, 1955). Оба автора изучали одиночное сокращение мышцы у предварительно курарезированных черепах.

В то время как в первой работе в начальной фазе сокращения отмечается дефосфорилирование АТФ порядка 6—7%, второй автор не наблюдал существенных изменений в содержании АТФ, АДФ, креатина, креатинина и пирувата ни на одной из стадий одиночного сокращения. По крайней мере одно сокращение, — пишет Моммертс, — может происходить без распада энергетически эквивалентных количеств АТФ и креатинфосфата.

Флекенштейн с сотр. (Fleckenstein u. a., 1953, 1954, 1956), исследуя в опытах при 0° соотношение компонентов адениловой системы в прямых мышцах живота лягушки, не нашли убыли АТФ и прироста АДФ при тетанусе и различного рода контрактурах (калийная, кофеиновая, ацетилхолиновая и др.). В то же время Ланге (Lange, 1955) говорит об уменьшении содержания АТФ в фазу сокращения при ацетилхолиновой и калийной контрактурах.

Примеры противоречий в литературе можно было бы продолжить.

По-видимому, в распоряжении исследователей еще нет достаточно надежных методов, позволяющих определять при работе мышцы ничтожные сдвиги в содержании химических компонентов.

В наших предыдущих исследованиях (Пантелеева, 1953; Лызлова, 1953; Лызлова и Пантелеева, 1957) мы не обнаружили снижения суммарного содержания АТФ и АДФ при таких формах деятельности мышцы, как тетанус или тонус (электрическое раздражение), или контрактуры (воздействие ацетилхолина). При тонусе и контрактурах не наблюдалось и снижения запаса креатинфосфата.

В настоящее время возможно определение отдельных компонентов адениловой системы после разделения их хроматографическим методом.

Настоящая работа и посвящена исследованию соотношения адениловой системы и системы креатинфосфата при тетаническом сокращении мышцы.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на икроножных мышцах травяной лягушки (*Rana temporaria*). После 30-минутного выдерживания в растворе Рингера мышца подвергалась электрическому раздражению с нерва или прямым путем. Одноименная мышца второй конечности служила контролем. Запись сокращений проводилась на кимографе.

Замораживание мышц осуществлялось жидким кислородом. В литературе имеются возражения в отношении такого способа фиксации мышцы, относящиеся главным образом к изучению одиночного сокращения. При погружении мышцы в кипящую жидкость на ее поверхности образуется газовая оболочка с низкой теплопроводностью (эффект Лейден—Фроста). Это препятствует мгновенному охлаждению и вызывает сокращение мышцы (Lundsgaard, 1950; Lange 1955, и др.) В настоящей работе исследовались длительные периоды активности мышц, поэтому фиксацию в жидком кислороде мы считали вполне приемлемой.

Замороженная мышца растиралась. На торзионных весах быстро брались навески, которые заливались 5%-й трихлоруксусной кислотой (2.5 мл кислоты на 300 мг мышцы) в ступке, предварительно охлажденной жидким кислородом. Смесь тотчас же замерзала. При начале оттаивания содержимое ступки переносилось в центрифужную пробирку и оставлялось на льду в течение 5 мин. для экстракции. После этого пробы быстро центрифугировались, безбелковый мышечный экстракт сливался с осадка, замораживался в охлаждающей смеси при температуре -18° и в таком виде сохранялся до момента нанесения на хроматограмму (Fleckenstein и Janke, 1953).

Определение адениловых нуклеотидов проводилось после хроматографического разделения их на бумаге Ленинградской бумажной фабрики № 2. Для удаления ионов тяжелых и щелочноземельных металлов бумага погружалась на полчаса в 0.5%-й раствор Na-соли этилендиаминотетрауксусной кислоты (при pH 8.5), затем 6 раз промывалась бидистиллированной водой и высушивалась (Fleckenstein и Janke, 1953). Пробы в количестве 0.1—0.15 мл наносились на расстоянии 2.5 см и высушивались в токе холодного воздуха.

Из 8 испытанных растворителей наиболее пригодным оказался растворитель, состоящий из н.-пропанола, NH_4OH (25%) и воды в отношении 60 : 30 : 10 (Hanes и Isherwood, 1949). Хроматографирование (нисходящее) продолжалось в течение 48 часов при температуре $18-20^{\circ}$. Положение отдельных нуклеотидов устанавливалось по аденину в ультрамикроскопе Брумберга и по фосфору опрыскиванием хроматограмм раствором Хейнса и Ишервуда в видоизменении Берроуса с последующим облучением бактерицидной лампой в течение 10 мин. с каждой стороны хроматограммы.

В качестве свидетеля использовался продажный препарат АТФ Ивановского мясокомбината, хроматограммы которого при просматривании в ультрамикроскопе давали пять четких пятен (рис. 1) следующих соединений: гуанилполифосфатов (1), аденозинпен-

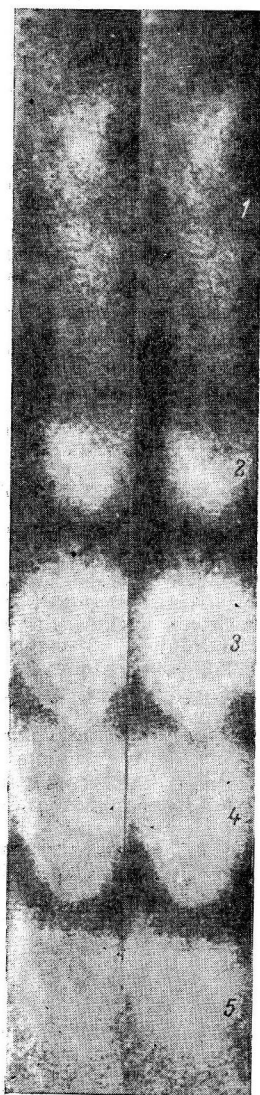


Рис. 1. Хроматограмма раствора аденозинтрифосфорной кислоты (продажный препарат).

Растворитель — н.-пропанол: NH_4OH : вода. Нисходящее направление. Остальные объяснения в тексте.

тафосфата (2), аденозинтрифосфата (3), аденозиндифосфата (4) и аденозинмонофосфата (5). Расстояния, на которые разгоняются эти соединения (R_f), рассчитывались по отношению к адениловой кислоте. Аналогичные результаты по разделению продажного препарата АТФ были получены в работе Т. В. Венкстерн и А. А. Баева (1957).

Для количественного определения адениловых нуклеотидов проводилась экстракция пятен этих соединений N 100 соляной кислотой. Затем измерялось поглощение света экстрактом при помощи электроспектрофотометра (СФ-4) при длине волны 260 мкм. Кроме того, АТФ определялась также по фосфору методом Лоури и сотр. (Lowry а. о., 1954) после сжигания элюатов с серной и хлорной кислотами. Определение других соединений по фосфору не было возможным, так как пятна неорганического фосфора и фосфокреатина частично накладывались на пятна АМФ и АДФ.

Креатинфосфат и неорганический фосфор определялись в мышце по методу Фиске и Суббароу, общий кислоторастворимый фосфор после сжигания с H_2SO_4 и $HClO_4$ — по методу Лоури и сотр.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Первая серия опытов была поставлена с целью определения содержания адениловых нуклеотидов в покоящихся икроножных мышцах лягушки.

Статистическая обработка материалов из 16 опытов свидетельствует, что в симметричных мышцах содержание АТФ и АДФ, а также соотношение между ними является одинаковым (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Содержание АТФ и АДФ в симметричных икроножных мышцах лягушки в покое. Средние данные из 16 опытов: $M \pm \sigma$ (в мг % лабильного фосфора на влажный вес ткани)

Мышцы	Название соединения			
	АТФ	АДФ	АТФ + АДФ	АТФ/АДФ
1-я	21.0 ± 2.97	3.2 ± 1.33	24.2 ± 3.34	6.5 ± 2.89
2-я	21.1 ± 3.01	3.0 ± 1.07	24.1 ± 3.13	7.0 ± 2.69

Если количество АТФ и АДФ выразить в микромолях на 1 г мышцы, то получаются следующие данные:

	АТФ	АДФ
1-я мышца	3.39	1.03
2-я мышца	3.4	0.97

Эти цифры хорошо согласуются с литературными данными (Buchthal, Svenmark a. Rosenfalck, 1956).

Получаемые методом хроматографии цифры для суммарного содержания АТФ и АДФ немного ниже, чем по определению фосфора после 7-минутного гидролиза. Аналогичные указания имеются в статье Ю. Нечипоренко (1958). Это объясняется тем, что при 7-минутном гидролизе в 1 н. HCl при 100° отщепляются фосфатные остатки и от других нуклеозидтрифосфатов.

Адениловая кислота в покоящихся мышцах обнаружена не была. На хроматограммах (рис. 2) отчетливо проявлялось пятно аденозинпентафосфата (особенно у летних лягушек), а иногда и гуанозинполифосфатов, содержание которых столь незначительно, что определить их количественно оказалось невозможным.

Для получения тетанического сокращения мышца подвергалась раздражению электрическим током с нерва (4—15 мин.) или прямым путем (1—2 мин.). Частота ударов индукционного аппарата составляла 40—50 в 1 сек. (прерыватель Бернштейна); в первичной цепи был включен

аккумулятор в 4 в. Расстояние между катушками при непрямом раздражении составляло 40—30 см, при прямом — 12—10 см.

Таблица 2

Содержание АТФ и АДФ в икроножных мышцах лягушки при покое и тетанусе

Раздражение с нерва 4—15 мин. Средние данные из 13 опытов:
 $M \pm \sigma$ (в мг % лабильного фосфора на влажный вес ткани)

Состояние мышцы	Название соединения			
	АТФ	АДФ	АТФ + АДФ	АТФ/АДФ
Покой	19.8 ± 4.00	3.0 ± 0.76	22.8 ± 4.65	7.0 ± 1.63
Тетанус	18.3 ± 4.59	3.4 ± 0.73	21.7 ± 5.12	5.5 ± 1.07

Анализ данных табл. 2 показывает, что при длительном тетанусе продолжительностью от 4 до 15 мин. имеет место заметное дефосфорилирование АТФ и нарастание содержания АДФ. Со-

отношение $\frac{\text{лабильн. Ф—АТФ}}{\text{лабильн. Ф—АДФ}}$, равное 7.0 ± 1.63 в покое, уменьшается до 5.5 ± 1.07 при тетанусе. По данным статистической обработки это расхождение является вполне достоверным.

Что касается суммарного содержания АТФ и АДФ, то в этом случае разницы между покоем и работой нет. По-видимому, даже при такой длительной работе, как 15-минутный тетанус, сдвиги в адениловой системе компенсируются изменениями в системе креатин-креатинфосфат. В самом деле в этом случае распадается в среднем до 56 % креатинфосфата (табл. 3). Какой-либо зависимости величины распада от продолжительности тетануса или способа его получения не обнаруживается. Так, например, в одном из опытов при 10-минутном тетанусе распад креатинфосфата составляет 17 %, а в другом опыте при 4-минутном тетанусе он достигает 59 %.

Здесь следует отметить, что длительное тетаническое раздражение с нерва зачастую приводило к контрактуре, т. е. после снятия раздражения мышца не возвращалась к первоначальной длине. По-видимому, в этих случаях имело место частичное утомление мышц.

Чтобы избежать контрактуры, была предпринята серия опытов с тетанусом меньшей продолжительности (1—2 мин.) и при прямом раздражении мышцы электрическим током (табл. 4).

В этом случае наблюдалась несколько иная картина. Отношение $\frac{\text{лабильн. Ф—АТФ}}{\text{лабильн. Ф—АДФ}}$ в покоящейся мышце составляло в среднем 6.1 ± 0.55 , в тетанизированной мышце — 5.5 ± 0.92 .

Данные статистического анализа показали, что указанное расхождение не является достоверным, т. е. при тетанической работе в пределах 1—



Рис. 2. Хроматограмма мышечного экстракта.

Растворитель — н.-пропанол : NH_4OH : вода. Нисходящее направление. 1 — аденозинпентафосфат; 2 — аденозинтрифосфат; 3 — аденозиндифосфат.

Таблица 3

Содержание креатинфосфата (КФ) и неорганического фосфора (НФ) в икроножных мышцах лягушки при покое и тетанусе

Раздражение с нерва 4—10 мин. Средние данные из 8 опытов
(в мг % фосфора на влажный вес мышцы)

Состояние мышцы	Название соединения			
	КФ	НФ	КФ + НФ	распад КФ (в %)
Покой	37.2	47.0	84.2	—
Тетанус	17.8	52.2	70.0	56

Таблица 4

Содержание АТФ и АДФ в икроножных мышцах лягушки при покое и тетанусе

Прямое раздражение 1—2 мин. Средние данные из семи опытов:
 $M \pm \sigma$ (в мг % лабильного фосфора на влажный вес ткани)

Состояние мышцы	Название соединения			
	АТФ	АДФ	АТФ + АДФ	АТФ/АДФ
Покой	16.6 ± 2.51	2.7 ± 0.46	19.3 ± 2.89	6.1 ± 0.55
Тетанус	16.3 ± 2.89	3.1 ± 1.0	19.4 ± 2.61	5.5 ± 0.92

2 мин. дефосфорилирования АТФ, по-видимому, не обнаруживается. Уже ранее было показано (Пантелеева, 1953; Лызлова и Пантелеева, 1957), что в интервале времени от 15 сек. до 3 мин. не обнаруживалось сдвигов и в содержании легкогидролизуемой фракции как при прямом, так и при непрямом раздражении мышцы.

Таблица 5

Содержание креатинфосфата (КФ) и неорганического фосфора (НФ) в икроножных мышцах лягушки при покое и тетанусе

Прямое раздражение 1—2 мин. Средние данные из 7 опытов
(в мг % фосфора на влажный вес ткани)

Состояние мышцы	Название соединения			
	КФ	НФ	КФ + НФ	распад КФ (%)
Покой	37.1	43.2	80.3	—
Тетанус	22.3	48.0	70.3	52

Процент распада креатинфосфата и в этой серии достигает в среднем 52 (табл. 5). Одновременно с распадом креатинфосфата при тетанусе нарастает содержание неорганического фосфора. Следует, однако, отметить, что прирост неорганического фосфора не покрывает убыли фосфора креатинфосфата.

Сумма КФ+НФ в тетанизированной мышце примерно на 15% меньше суммы КФ+НФ в одноименной покоящейся мышце (табл. 3 и 5). Видимо, при сокращениях мышцы происходит возрастание количества других кислотоустойчивых соединений, в частности гексозомонофосфатов, что определенно установлено для кратковременного тетануса (Фердман, 1953; Caldwell, 1953).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты опытов показали, что при длительной тетанической работе мышцы (4—15 мин.) имеет место убыль АТФ и нарастание АДФ, хотя суммарное содержание этих компонентов не меняется. При более кратковременной работе (1—2 мин.) разницы по сравнению с покоем не обнаруживается ни по суммарному содержанию АТФ и АДФ, ни по соотношению между ними. Одновременно в обоих случаях имеет место распад креатинфосфата (до 50%), наблюдавшийся и ранее рядом авторов (Eggleton a. Eggleton, 1929; Caldwell, 1953; Пантелеева, 1953; Лызлова, 1953; Пантелеева и Лызлова, 1957). Отсутствие резких изменений в системе АТФ, очевидно, связано с компенсацией за счет креатинфосфата, сдвиги в содержании которого обнаруживаются даже при самых кратковременных нагрузках (Caldwell, 1953, и др.). Такое заключение обосновано и энергетическими соображениями, так как запас свободной энергии, рассчитанный на одну фосфатную группу креатинфосфата, примерно на 1 ккал. выше, чем в АТФ (Lehmann, 1936).

Таким образом, результаты этого исследования, выполненного, как и предыдущая работа, на целостной мышце, лежат в русле классических представлений о химизме мышечного сокращения. По крайней мере при длительном электрическом раздражении работоспособность мышцы в первую очередь обеспечивается системами адениловой кислоты и креатинфосфата. Когда же речь идет об одиночном мышечном сокращении или кратковременном тетанусе, то здесь вопрос остается открытым.

Несмотря на противоречивость результатов различных авторов, в последнее время настойчиво распространяется предположение, что при точно ограниченных условиях мышца может работать без распада АТФ и креатинфосфата (Chance a. Connelly, 1957; Fleckenstein a. o., 1953).

Высказывается предположение, что в очень короткие интервалы времени работа мышцы обеспечивается иным механизмом, нежели дефосфорилирование АТФ. Однако возможны и другие объяснения (Perry, 1956). Отсутствие видимого распада АТФ может быть связано с тем, что увеличение концентрации неорганического фосфора в результате сокращения стимулирует гликолиз, что приводит к ресинтезу АТФ за интервал времени меньший, чем можно обнаружить ее распад. Эта возможность усиливается и непосредственной близостью гликолитического аппарата саркоплазмы к миофибриллам, где образуется неорганический фосфор. Однако никто из исследователей не определял скорости гликолиза в процессе одиночного сокращения.

Возможность участия других нуклеозидтрифосфатов вместо АТФ пока сомнительна. Концентрация АТФ в мышце примерно в 100 раз превышает концентрацию неадениловых трифосфатов.

Предположение о карнозинфосфате (Goodall, 1956) как первичном источнике энергии для одиночного сокращения не выдержало экспериментальной проверки. Опыты с меченым фосфором показали, что карнозинфосфат в мышце практически отсутствует (Cain, Delluva a. Davies, 1958).

Исходя из всего вышеизложенного, можно сказать, что попытки ряда авторов ревизовать классические представления о химизме мышечной деятельности являются недостаточно убедительными, хотя и заслуживают внимания.

ВЫВОДЫ

Кратковременный тетанус, вызванный электрическим раздражением (1—2 мин.), не сопровождается изменением в содержании АТФ и АДФ, а также в соотношении между ними.

При более продолжительном тетанусе (4—15 мин.) наблюдается снижение содержания АТФ и нарастание АДФ. Соответственно уменьшается отношение $\frac{\text{лабильн. Ф} - \text{АТФ}}{\text{лабильн. Ф} - \text{АДФ}}$.

Количество креатинфосфата в обоих случаях снижается примерно наполовину. Содержание неорганического фосфора повышается. Это повышение, однако, выражено меньше, чем убыль креатинфосфата.

ЛИТЕРАТУРА

- Венкстерн Т. В. и А. А. Баев, Биохимия, 22, 1043, 1957.
 Иванов И. И. и Н. И. Минович, Усп. совр. биохим., 3, 182, 1958.
 Лызлова С. Н., Вестн. ЛГУ, 10, 105, 1953.
 Лызлова С. Н. и Н. С. Пантелеева, Учен. зап. ЛГУ, серия биол. наук, в. 43, № 222, 297, 1957.
 Нечипоренко Ю., Укр. биохим. журн., 30, 402, 1958.
 Пантелеева Н. С., Вестн. ЛГУ, 10, 115, 1953.
 Фердман Д. Л. Биохимия заболеваний мышц. Изд. АН УССР, 1953.
 Buchthal F., O. Svenmark a. P. Rosenfalck, Physiol. Rev., 36, 503, 1956.
 Cain D. F., A. M. Delluva a. R. E. Davies, Nature, 182, 720, 1958.
 Caldwell P. C., Biochem. Journ., 55, 458, 1953.
 Chance B. a. C. M. Connolly, Nature, 179, 1235, 1957.
 Dubuisson H., Proc. Roy. Soc. B., 137, 63, 1950.
 Eggleston G. P. a. P. Eggleston, Brit. Journ. Physiol., 68, 193, 1929.
 Fleckenstein A., Arch. exp. Path. u. Pharmacol., 228, 46, 1956.
 Fleckenstein A. u. J. Janke, Pflüg. Arch., 258, 177, 1953.
 Fleckenstein A., J. Janke, G. Lechner u. G. Bauer, Pflüg. Arch., 259, 246, 1954.
 Goodall M. C., Nature, 78, 539, 1956.
 Hanes C. S. a. F. A. Isherwood, Nature, 164, 1107, 1949.
 Hill a. V., Proc. Roy. Soc. B., 137, 40, 1950.
 Lange C., Bioch., Zs., 326, 172, 1955.
 Lehmann H., Bioch., Zs., 286, 336, 1936.
 Lowry P. H., N. R. Roberts, K. I. Leiner, M.—L. Wu a. A. L. Farr, Journ. Biol. Chem., 207, 1, 1954.
 Lundsgaard E., Bioch., Zs., 217, 162, 1930; Proc. Roy. Soc., 137, 73, 1950.
 Mommaerts W. F. H. M., Am. Journ. Physiol., 182, 585, 1955.
 Munch-Petersen, A., Acta Physiol. scand., 29, 202, 1953.
 Perry S., Physiol. Rev., 36, 1, 1956.
 Szent-Györgyi A. Chemistry of muscular contraction. New York, Acad. Press, 1951.

Поступило 10 VIII 1959

CORRELATION OF THE ADENYLIC ACID SYSTEM COMPONENTS UNDER TETANIC CONTRACTION OF MUSCLE

By S. N. Lyslova and N. S. Panteleeva

From the Chair of biochemistry, State University, Leningrad

The quantitative changes in the adenylic acid system as well as those of phosphocreatine in the frog muscle have been investigated during tetanic contraction. ATP and ADP were separated by paper chromatography and quantitatively estimated by spectrophotometric technique.

It was found that 1—2 min. long tetanus induced by electric stimulation was not accompanied with changes in the content of ATP and ADP, and their ratio remained unchanged. After a prolonged tetanus (4—15 min.) the ATP decrease and ADP increase were observed. The content of phosphocreatine was reduced nearly by half in both cases. The increase of inorganic phosphorus was less pronounced than the phosphocreatine decrease.

МЕТОДИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

НОВЫЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРТОНИНА

Б. Н. Манухин и Г. А. Бузников

Лаборатория общей и сравнительной физиологии Института морфологии животных АН СССР, Москва

Серотонин (5-окситриптамин) в течение последних десяти лет интенсивно исследуется биологами разных специальностей. Многочисленными работами показано широкое распространение этого физиологически активного вещества в тканях позвоночных и беспозвоночных животных. Функциональное значение серотонина пока еще изу-

чено недостаточно. Полученные данные позволяют предположить участие серотонина в деятельности ц. н. с. у млекопитающих, в передаче нервного возбуждения у моллюсков и ракообразных, в регуляции тонуса кишечника и деятельности почек у позвоночных и т. д. (Ergsamer, 1954; Коштойнц, 1957; Page, 1958).

Существует довольно много методов количественного определения серотонина. Наиболее специфичным и чувствительным из современных физико-химических методов является спектрофлуорометрический (Weissbach, Waalkes a. Udenfriend, 1958). Минимальная концентрация серотонина, определяемая этим методом, равна $2 \cdot 10^{-7}$ г/мл. Некоторые биологические методы позволяют определять серотонин в концентрациях до 10^{-9} — 10^{-11} г/мл. Содержание серотонина в тканях обычно очень невелико. Поэтому необходима разработка еще более чувствительных методов.

Нами установлено, что серотонин вызывает резкое усиление спонтанной моторики эмбрионов голожаберных моллюсков (Gastropoda, Nudibranchia), причем в некоторых случаях пороговая концентрация этого вещества оказывается

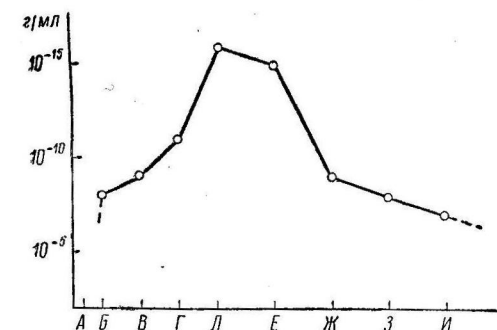


Рис. 1. Возрастные изменения чувствительности к серотонину у эмбрионов *Dendronotus frondosus*.

По оси ординат — пороговая концентрация серотонина (в г/мл); по оси абсцисс — стадии развития. А — ранняя трохофора; Б — трохофора; В — начало образования вельма; Г — ранний вельгер (рис. 2, А); Д — вельгер без раковины (рис. 2, Б); Е — вельгер с небольшой раковинкой; Ж — вельгер с хорошо развитой раковинкой; З — вельгер перед вылуплением; И — вельгер после вылупления (рис. 2, В). Расстояния по оси абсцисс не вполне соответствуют масштабу времени.

ниже 10^{-16} г/мл. Были исследованы эмбрионы 7 видов голожаберных моллюсков (*Dendronotus frondosus*, *Aeolidia papillosa*, *Acanthodoris pilosa*, *Onchidoris muricata*, *Cadlina laevis*, *Coryphella rubibranchialis* и *Cuthona* sp.), наиболее обычных в районе Беломорской биостанции МГУ; все они оказались достаточно удобными тест-объектами для количественного определения серотонина. Кладки голожаберных моллюсков можно добывать на литорали и сублиторали во время отлива. Более удобным и очень простым является получение подошного материала от взрослых моллюсков в аквариальных условиях.

Эффект серотонина оценивается визуально; наблюдения проводятся при малом увеличении микроскопа в рассеянном свете. В лунки предметного стекла помещают по 10—20 икринок одной и той же кладки и добавляют каплю испытуемого раствора или морской воды. Для повторных определений берутся новые порции икры. Опти-

мальная температура при работе на эмбрионах беломорских моллюсков равна 10—15°; повышение температуры до 18—20° не влияет на результаты кратковременных опытов. Более сильное повышение температуры, а также подсыхание жидкости, в которой находятся эмбрионы, недопустимы. В связи с очень высокой чувствительностью эмбрионов голожаберных к серотонину следует обращать особое внимание на чистоту

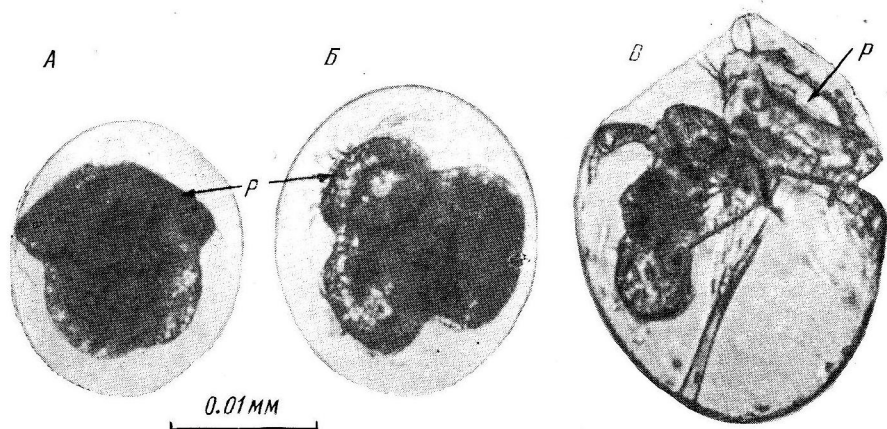


Рис. 2. Эмбрионы *Dendronotus frondosus* на разных стадиях развития (микрофот.).

p — лопасти вельюма с ресничками.

предметных стекол и инструментов. Для экстрагирования серотонина нами применялась гомогенизация тканей в 0.1 N HCl с последующей нейтрализацией фильтрата и разведением его в морской воде. Гомогенизация в морской воде с последующим осаждением белков нагреванием также дает удовлетворительные результаты. При работе на интактных эмбрионах можно использовать неочищенные гомогенаты, так как яйцевые капсулы и поверхностные структуры эмбрионов, по-видимому, непроницаемы для белков. Однако в этом случае часть серотонина, вероятно, остается связанной с белками и не определяется.

Чувствительность эмбрионов голожаберных к серотонину заметно изменяется по ходу развития (рис. 1). Поэтому могут быть предложены различные варианты количественного и качественного определения серотонина.

В а р и а н т 1. Эмбрионы находятся на стадиях трохофоры или раннего вельгера (рис. 2, А). Фоновая активность — легкое покачивание эмбрионов внутри яйцевых капсул, обусловленное работой ресничек прототроха, позднее превращающегося в вельюм. Серотонин резко усиливает и учащает биения ресничек, вследствие чего эмбрионы начинают вращаться. Скорость вращения зависит от концентрации серотонина, что делает возможным построение стандартной кривой (рис. 3). Величину реакции эмбрионов на серотонин определяли по среднему числу оборотов в минуту. Соответствующие подсчеты производились через 5—10 мин. после добавления испытуемого раствора. Вариант 1 наиболее удобен для количественного определения серотонина в концентрациях 10^{-6} — 10^{-10} г/мл (тест-объект — эмбрионы *Dendronotus frondosus*) и 10^{-6} — 10^{-12} г/мл (тест-объект — эмбрионы *Coryphella rufibranchialis*). В норме все эмбрионы одной кладки находятся практически на одинаковой стадии развития. Поэтому каждая кладка может быть использована для десятков, а крупные кладки *Aeolidia* и *Dendronotus* — для сотен определения серотонина.

В а р и а н т 2. Эмбрионы находятся на стадии вельгера, не имеющего раковины; лопасти вельюма хорошо развиты (рис. 2, Б). Фоновая активность — медленное (5—20 об. в мин.) вращение немногих и покачивание большинства эмбрионов. После добавления серотонина число вращающихся эмбрионов и скорость их вращения увели-

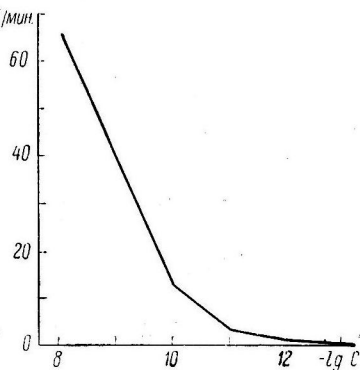


Рис. 3. Влияние серотонина на моторику трохофор *Coryphella rufibranchialis* (вариант 1).

По оси абсцисс — логарифм величины, обратной концентрации С серотонина; по оси ординат — скорость вращения эмбрионов (в об./мин.).

чиваются. При содержании серотонина выше 10^{-12} г/мл наблюдается очень бурная реакция всех эмбрионов. Во 2-м варианте также может быть построена стандартная кривая. Однако, в связи с большей фоновой активностью эмбрионов, этот вариант менее удобен для количественного определения серотонина. Преимуществом 2-го варианта является очень высокая чувствительность (пороговая концентрация серотонина ниже $1 \cdot 10^{-16}$ г/мл).

В а р и а н т 3. Эмбрионы находятся на стадии велигера с максимально развитой раковиной; относительные размеры лопастей вельюма уменьшились (рис. 2, В). На этой стадии развития чувствительность интактных эмбрионов к серотонину снижается (рис. 1); чувствительность изолированных клеток вельюма остается достаточно высокой (пороговая концентрация около $1 \cdot 10^{-13}$ г/мл). Изоляция клеток вельюма производилась посредством гомогенизации эмбрионов в течение 30—60 сек. с охлаждением. Спонтанная моторика изолированных клеток вельюма сохраняется довольно долго. Серотонин усиливает ее и возбуждает биения остановившихся ресничек. Антисеротониновый препарат LSD (диэтиламид d-лизерговой кислоты; 10^{-5} — 10^{-7} г/мл) угнетает моторику как интактных эмбрионов, так и изолированных клеток вельюма и снимает активирующий эффект серотонина. Вариант 3 удобен для проверки специфичности серотониноподобного действия испытуемых растворов. Менее развитые эмбрионы (варианты 1 и 2) не могут быть использованы для этой цели, так как LSD действует на них аналогично серотонину.

Все три варианта предлагаемого метода достаточно специфичны. Такие физиологически активные вещества, как ацетилхолин, адреналин, норадреналин, в концентрациях ниже 10^{-3} — 10^{-4} г/мл не оказывают заметного влияния на моторику интактных эмбрионов. Действие указанных веществ на изолированные клетки вельюма нами не исследовалось. Специфичность реакции на серотонин может быть подтверждена также использованием антисеротониновых препаратов (вариант 3).

Эмбрионы голожаберных моллюсков значительно чувствительнее к серотонину, чем другие биологические тест-объекты (таблица). Для определения достаточно 0.05 мл

Т а б л и ц а
Наиболее чувствительные биологические методы определения серотонина

Автор	Объект	Пороговая концентрация серотонина (в г/мл)	Минимально определяемое количество серотонина (в γ)
Эрспамер (Erspamer, 1952)	Эстральная матка крысы	$2 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Вейн (Vane, 1957)	Полоска ткани желудка крысы	$2 \cdot 10^{-10}$	$2 \cdot 10^{-4}$
Велш (Welsh, 1954)	Сердце <i>Cyprina islandica</i>	$1 \cdot 10^{-10}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Гретте (Grette, 1957)	Сосуды уха свиньи	—	$1 \cdot 10^{-2}$
Фенге (Fänge, 1955)	Сердце <i>Anodonta cygnea</i>	$1 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-2}$
Велш (Welsh, 1957)	Сердце <i>Venus mercenaria</i>	$2 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Коштоянц (1947)	Сердце <i>Helix pomatia</i>	$1 \cdot 10^{-11}$	$1 \cdot 10^{-5}$
Туайрог (Twarog, 1954)	Передний ретрофтор <i>Mytilus edulis</i>	$2 \cdot 10^{-10}$	$2 \cdot 10^{-4}$
Майнард (Maynard, 1955)	Сердце <i>Cancer borealis</i>	$7 \cdot 10^{-9}$	$7 \cdot 10^{-3}$
Собственные данные	Эмбрионы голожаберных моллюсков	$1 \cdot 10^{-16}$	$5 \cdot 10^{-12}$

испытуемого раствора: таким образом может быть установлено присутствие $5 \cdot 10^{-12}$ μ серотонина. Параллельные определения на эмбрионах разных видов дают близкие результаты. Проведение анализа несложно и не требует специального оборудования.

Основные недостатки метода обусловлены биологическими особенностями тест-объектов. Работа может проводиться только в период размножения голожаберных моллюсков (в условиях Беломорской биостанции МГУ в июне—сентябре). Для проведения работы необходимо выезжать на морскую биологическую станцию или доставлять оттуда взрослых голожаберных моллюсков, которые легко размножаются в аквариальных условиях.

Желательно проверить пригодность эмбрионов других широко распространенных видов пресноводных и морских моллюсков для определения серотонина. Положительный результат такой проверки значительно расширил бы возможности использования предлагаемого метода.

ЛИТЕРАТУРА

- Коштыянец Х. С., Изв. АН Армян. ССР, 10, № 7, 13, 1957.
 Erspamer V., Ric. scient., 22, № 4, 694, 1952; Pharmacol. Rev., 6, № 4, 425, 1954.
 Fänge R., Experientia, 11, № 4, 156, 1955.
 Grette K., Acta pharmacol. toxicol., 13, № 2, 177, 1957.
 Maynard D. M., 1955. Цит. по: Welsh, 1957.
 Page I. H., Physiol. Rev., 38, № 2, 277, 1958.
 Twarog B. M., J. cell. comp. Physiol., 44, № 1, 141, 1954.
 Vane J. R., Brit. J. Pharmacol., 12, № 3, 344, 1957.
 Weissbach H., T. P. Waalkes, S. Udenfriend, J. biol. Chem., 230, № 2, 865, 1958.
 Welsh J. H., Nature, 173, № 4411, 955, 1954; Ann. N. Y. Acad. Sci., 66, № 3, 618, 1957.

Поступило 22 X 1959

A NEW BIOLOGICAL METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF SEROTININ

By B. N. Manukhin and G. A. Buznikov

From the laboratory of general and comparative physiology, Severstov Institute of Animal Morphology, Moscow

К ТЕХНИКЕ ВНУТРИСОСУДИСТОГО ВВЕДЕНИЯ РАСТВОРОВ КУРИНЫМ ЭМБРИОНАМ

Л. Г. Лейбсон и Э. М. Плисецкая

Институт эволюционной физиологии им. И. М. Сеченова АН СССР, Ленинград

В литературе описан ряд способов введения жидкостей в сосуды куриных эмбрионов (Eichhorn, 1940; Lee, Stavitsky a. Lee 1946; Goldwasser a. Sheleshyak, 1953; Terasaki a. Cannon, 1957, и др.). Лучшим из них является метод Гольдвассера и Железняк (Goldwasser a. Shelesnyak, 1953). Но и в этом методе имеется ряд недостатков, затрудняющих его применение. В настоящей работе описана модификация способа Гольдвассера и Железняк, значительно облегчающая технику внутрисосудистого введения растворов куриным эмбрионам.

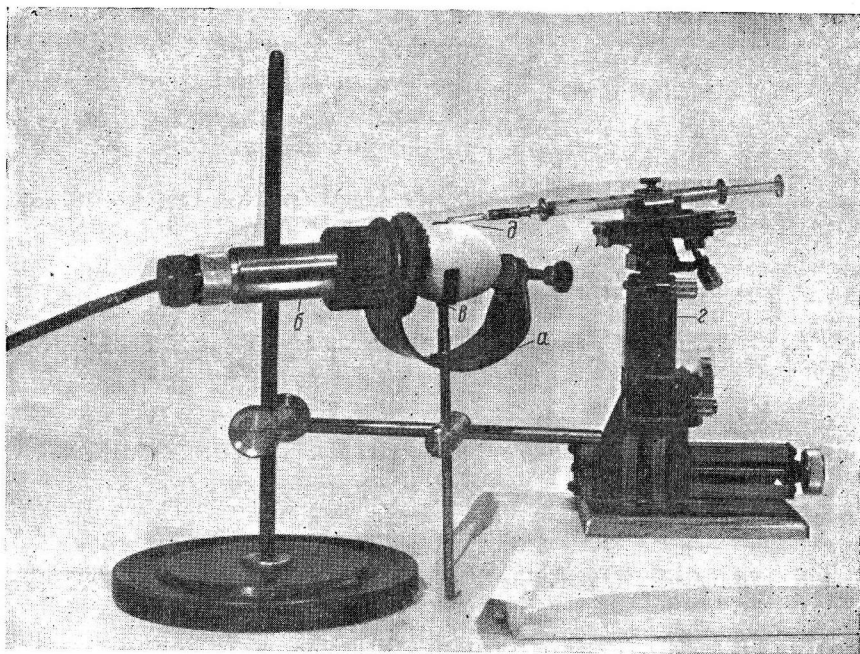
Установка для внутрисосудистых инъекций (см. рисунок) состоит из подставки для яйца и шприца, закрепленного в микроманипуляторе.

Яйцо помещается в U-образный зажим (а), укрепленный на стержне, который соединен с тяжелым основанием. Зажим можно вращать вокруг своей оси, а также поднимать и опускать. Яйцо своим тупым концом входит в широкую металлическую трубку диаметром 3.5 см (б) и упирается в прикрепленное к ней кольцо из губчатой резины. В трубку вставлена электрическая лампочка в 20 вт (можно воспользоваться лампочкой осветителя к микроскопу). Второй конец яйца зажимается винтом также с прикрепленной к нему резиновой прокладкой. Для большей устойчивости яйцо поддерживается снизу изогнутой металлической пластиной (в).

Инъекция производится при помощи туберкулинового шприца (на 1 мл), закрепленного в микроманипуляторе (г). Последний дает возможность осуществлять грубые

движения шприца вверх и вниз, вперед и назад, тонкие движения в стороны, а также наклон шприца вниз. Очень удобна для этих целей половина микроманипулятора Цейсса на тяжелой подставке.

В кровеносный сосуд вводится стеклянная игла (канюля) (д), которая изготовляется из легкоплавкой стеклянной трубочки диаметром в 1.5—2 мм. Стеклянная трубочка вставляется внутрь металлической трубки диаметром 4 мм, которая заранее припаяна к муфте иглы (сама игла удалена), и закрепляется клеем БФ-2. После этого склеенные трубочки следует просушить на воздухе в течение нескольких часов, а затем прокипятить, чем достигается очень прочное соединение стекла и металла. Кончик трубочки оттягивается на спиртовке или на газовой микрогорелке. Диаметр кончика



Установка для внутрисосудистых инъекций.

а — зажим для яйца, б — металлическая трубка с электрической лампочкой внутри нее, — изогнутая пластинка, поддерживающая яйцо снизу, 2 — микроманипулятор, д — стеклянная игла (канюля), вклеенная в металлическую трубочку.

доводится до 50—150 мк, в зависимости от возраста зародышей. Перед каждым опытом иглы стерилизуются кипячением. Чтобы они при кипячении не ломались, удобно пользоваться круглой металлической пластинкой с отверстиями для игл, которая подвешивается в стакане с водой.

При заполнении игл раствором необходимо соблюдать предосторожность, чтобы в них не попали пузырьки воздуха, которые благодаря узкому просвету отверстия не могут быть удалены обычным способом. Поэтому следует сначала отсосать начистую жидкость из иглы, а затем медленно заполнить ее исследуемым раствором.

Яйцо (7—17 дней инкубации) закрепляется на подставке и просвечивается. На скорлупе отмечается положение одной из хориоаллантоисных вен и направление тока крови в ней. Для инъекций лучше брать не крупные сосуды, а их ответвления. Скорлупа над сосудом протирается спиртом, надпиливается маленьким напильником (надфилем) и удаляется пинцетом так, чтобы не повредить подскорлуповых оболочек. Образующееся окошечко имеет длину приблизительно в 1 см и ширину в 0.5 см. Поверхность подскорлуповой оболочки окошечка смачивается стерильным вазелиновым маслом, после чего оболочка становится прозрачной, а сосуд хорошо заметным.

Стеклянная игла устанавливается над сосудом под возможно более острым углом. Затем движением шприца вперед прокалывается подскорлуповая оболочка и игла вводится в сосуд (по направлению тока крови). Последнюю операцию удобнее проводить под стереоскопическим микроскопом МБС-2, который дает возможность все время следить за положением иглы в сосуде. После окончания инъекции иглу следует задержать.

в сосуде на 10—15 сек. Вслед за удалением иглы в некоторых случаях наблюдается небольшое кровотечение, не влияющее на выживаемость эмбрионов.

Яйцо с открытым окошком вновь помещают в инкубатор. Вся операция занимает около 4—5 мин.

Методика была проверена на 170 эмбрионах. Процедура инъекций не нарушала их развития, и выплывание происходило в нормальные сроки.

ЛИТЕРАТУРА

Eichhorn E. A., Science, 92, 245, 1940.

Goldwasser R. a. M. C. Shelesnyak, Science, 118, 47, 1953.

Lee H. F., A. B. Stavitsky a. A. P. Lee, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., 61, 143, 1946.

Terasaki P. a. J. A. Cannon, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med., 94, 103, 1957.

Поступило 22 VII 1959

CONTRIBUTION TO THE TECHNIQUE OF INTRAVASCULAR INTRODUCTION OF SOLUTIONS TO THE HEN EMBRYOS

By L. G. Leibson and E. M. Plissetskaia

From the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

МЕТОДИКА ВЖИВЛЕНИЯ ЭЛЕКТРОДОВ В НЕРВ ДЛЯ СНЯТИЯ БИОТОКОВ В ХРОНИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В. Г. Филимонов

Кафедра патологической физиологии 1-го Московского медицинского института им. И. М. Сеченова

Употребляемая в настоящее время методика отведения биотоков с нерва в остром опыте страдает рядом весьма существенных недостатков: 1) опыт проводится под наркозом, т. е. в условиях торможения ц. н. с; 2) отделение нерва вызывает неизбежное повреждение его тканей, что приводит к появлению токов повреждения, величина которых часто превосходит электрическую активность самого нерва; 3) нерв находится в нефизиологических условиях и может подвергаться высыханию, набуханию и другим изменениям. Кроме того, такие эксперименты невозможны в условиях хронического опыта.

Этих недостатков лишена методика отведения биотоков с помощью вживленных электродов.

В настоящее время получен ряд синтетических материалов, позволяющих успешно решить вопрос вживления электродов в нервы.

Возможность приживления электродов к нерву доказана А. И. Никитиным и К. Т. Абрамовым (1957, а, б). Авторы приживляли электроды в пластмассовой (АКР-7) изоляции к блуждающему и чревному нервам с целью раздражения нервных стволов. Однако вживление электродов в нерв для отведения биотоков несколько сложнее и связано с рядом трудностей.

Нами разработана методика, исключающая указанные выше недостатки. Электроды вживлялись в блуждающий нерв ниже уровня гортани. Операцию производили следующим образом. Боковым разрезом обнажали сосудисто-нервный пучок, находили ветви питающей нерв артерии и отсепаровывали одну из них вместе с участком нерва и окружающими оболочками на протяжении 12 мм (пренебрежение этим правилом ве-

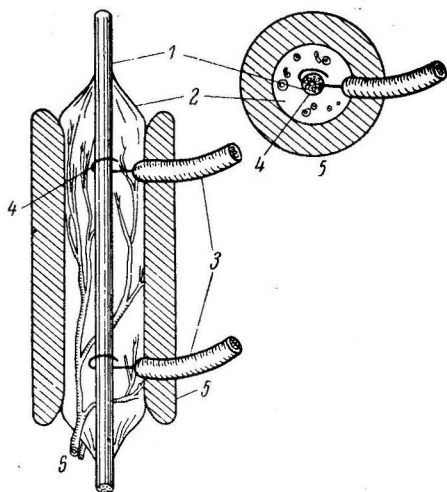


Рис. 1. Схематическое изображение электрода, наложенного на нерв.

1 — нервный ствол; 2 — соединительнотканная муфта; 3 — мягкие выводы; 4 — платиновые электроды; 5 — нейлоновая трубка; 6 — сосуды.

дет к атрофии нерва). Затем на нерв накладывали электроды из платиновой или танталовой проволоки толщиной 80—100 мк на расстоянии 10 мм друг от друга. После прокола нерва свободные концы проволоки загибались. Платиновую или танталовую проволоку заранее припаивали чистым оловом к гибкому проводнику, место соединения втягивали в трубку изоляции проводника и тщательно изолировали посредством оплав-

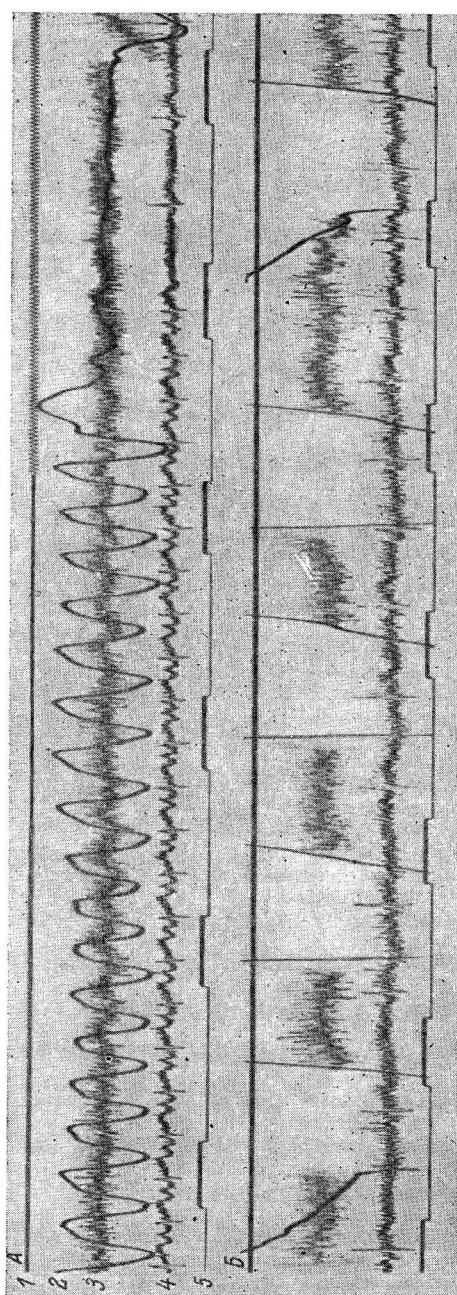


Рис. 2. Пример регистрации дыхания (2), токов нерва (3), токов сердца (ЭКГ, 4). Животное вдыхает пары нашатырного спирта.

Нейрограмма 40 мкв — 5 мм; ЭКГ — II отведение, 1 мв — 10 мм. 1 — отметка раздражения (синусоидная кривая); 5 — отметка времени (в сек.). Кривые на Б являются продолжением кривых на А. Остальные обозначения в тексте.

ления полиэтилена. В качестве гибкого проводника (вывода) мы употребляли многожильный медный провод (0.05 мм×12) в полиэтиленовой изоляции с общим диаметром 0.8 мм. Необходимым условием отведения биотоков с участка нерва является электрическая изоляция этого участка нерва от окружающих тканей. Для этого после наложения электродов на отсепарованный участок надевали трубочку из изоляционного

материала с внутренним диаметром 2—3 мм (лучше конусообразной формы) с толщиной стенок 0.8—1.5 мм. Мы провели испытание многих материалов для изготовления трубки (АКР-7, резина, каучук, полистирол, АСТ=1, полихлорвинил, полиэтилен, нейлон и др.) с целью выяснения переносимости нервом контакта с ними. Установлено, что наиболее подходящими материалами являются нейлон и полиэтилен средней твердости.

После наложения трубки ее стягивали шелком так, чтобы мягкие выводы электродов были ущемлены в разрезе трубки; затем выводы дополнительно фиксировали к трубке, а трубку пришивали к фасциальной стенке нервно-сосудистого ложа. Очень важно, чтобы нерв не был сдавлен и свободно помещался в трубке, так как малейшее сдавление его вызывает атрофию. Гибкие выводы проводились под кожей на череп, где фиксировались шелковыми швами к гребню затылочной кости и выводились через разрез кожи. Раны зашивали обычным способом. Схема крепления электродов показана на рис. 1. Предварительная стерилизация материалов не представляет особенностей — нейлон можно стерилизовать кипячением или в спирте, полиэтилен — в спирте.

Нами была проведена тщательная проверка сохранности и функциональной способности блуждающего нерва с вживленными электродами. Из 34 кроликов у 32 электроды прижились, у 2 нерв атрофировался из-за смещения трубки, что вызвано было недостаточной надежным укреплением ее во время операции. Основным физиологическим тестом являлась последовательная ваготомия. Перерезка интактного вагуса на одной стороне, при условии, если на другой стороне вагус имел вживленные электроды, не вызывала вагусных изменений дыхания и сердечно-сосудистой деятельности. Последующая перерезка вагуса с вживленными электродами приводила к обычным вагусным расстройствам. Патологоанатомические исследования проводились методом люминесцентной микроскопии с трипофлавином по Ромейсу и импрегнацией по Бильшовскому—Гросс. Испытания показали, что функциональная способность нерва при наложении электродов по описанному методу полностью сохраняется. Дистрофические изменения участка нерва незначительны: отмечают небольшое развитие соединительной ткани по ходу прокола нерва электродом и обильное разрастание богатой сосудами соединительной ткани в виде муфты вокруг нерва в пределах наложенной трубки из нейлона или полиэтилена. Эта богато васкуляризированная соединительнотканная муфта, по-видимому, и обеспечивает благодаря хорошему питанию нерва высокую выживаемость нерва с электродами.

Длительность наблюдений за вживленными электродами и запись нейрограмм с них достигает 6 месяцев.

Приводим на рис. 2 запись биотоков левого блуждающего нерва с помощью данных электродов из опыта тригемино-вагального рефлекса, вызванного вдыханием паров нашатырного спирта. Интересны залпы электрической активности нерва (а, б, в, г), синхронные с изменением дыхания. Данный опыт едва ли возможно воспроизвести в остром эксперименте. Исследования биотоков, снятых при помощи описанного метода, показали, что этот метод предоставляет новые возможности для изучения биоэлектрических явлений в нервах.

ЛИТЕРАТУРА

Никитин А. И., К. Т. Абрамов, Тр. Иркутск. Гос. мед. инст. Иркутск, 1957а; Тез. докл. научн. конф. физиолог., биохим. и фармаколог. Зап.-Сиб. объедин., 1957б.

TECHNIQUE OF IMPLANTING THE ELECTRODES IN THE NERVE FOR READING THE BIOPOTENTIALS IN CHRONIC EXPERIMENTS

By V. G. Filimonov

From the Chair of pathological physiology, Sechenov 1-st Medical Institute, Moscow

ИЗ ИСТОРИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ НАУКИ

О СТУДЕНЧЕСКИХ НАУЧНЫХ РАБОТАХ Н. Е. ВВЕДЕНСКОГО

П. Г. Терехов

1878—79 учебный год был в жизни Н. Е. Введенского знаменательным. В течение этого года он с большим успехом вел научно-исследовательскую работу под руководством И. М. Сеченова. «За это время, — пишет Н. Е. Введенский в своей автобиографии, — им было открыто влияние света на рефлекторную раздражительность, сообщение об этих опытах появилось в бюллетенях Академии Наук за 1879 г., тогда же он изучал механизм и иннервацию дыхания у лягушки».¹ О результатах изучения второго вопроса Н. Е. Введенский сделал сообщение на заседаниях отделения зоологии СПб. общества естествоиспытателей 21 апреля и на заседании VI съезда русских естествоиспытателей и врачей (секции анатомии и физиологии) 22 декабря 1879 г.

Эти первые студенческие научные работы Н. Е. Введенского были представлены И. М. Сеченовым к премии в Память I съезда русских естествоиспытателей. В своем отзыве о них И. М. Сеченов 18 января 1880 г. писал:

«Сочинение г. кандидата Николая Введенского „О дыхательной периодичности и иннервации дыхательных движений у *rana temporaria*“, представленное им на соискание премии в „Память I съезда русских естествоиспытателей“ представляет труд самостоятельный, выполненный добросовестно и имеющий положительное значение.

«Наблюдая изменение характера дыхательных движений у лягушки при очень разнообразных условиях (именно, при искусственном заклеивании ноздрей, вскрытии полости рта, замыкании дыхательной щели с опорожненным или раздутым легким, также после перерезки *vagi* и его горланной ветви) г. Введенскому удалось установить истинный тип периодических дыхательных движений у лягушки, чего до сих пор сделано не было. Благодаря этому ему удалось доказать далее влияние растянутого и опорожненного состояния легких на дыхательные движения. В-третьих, он сделал крайне вероятным рефлекторное участие волокон *vagi* в дыхании лягушки.

«Особенную же цену имеет труд г. Введенского в том отношении, что исследование во всех его подробностях ведено им совершенно самостоятельно. На всех этих основаниях мы считаем уже этот один труд заслуживающим премии.

«Кроме того, г. Введенский представил с тою же целью свое более раннее исследование о влиянии света на раздражительность кожи.

«Результат этой работы хотя и не может быть разъяснен, но имеет большой теоретический интерес».²

Отзыв, кроме И. М. Сеченова, подписал Ф. В. Овсянников. Физико-математический факультет постановил наградить Н. Е. Введенского премией в Память I съезда русских естествоиспытателей. По представлению факультета Совет СПб. университета 4 февраля 1880 г. присудил Н. Е. Введенскому премию в 100 руб. Об этом было решено объявить на годичном акте 8 февраля 1880 г. Эти успешные первые шаги на научном поприще послужили основанием для оставления Н. Е. Введенского при университете. «Благодаря оставлению при Университете, — пишет Н. Е. Введенский в своей автобиографии, — он избежал административного удаления из Петербурга, являвшегося тогда неизбежным коррективом к оправдательным приговорам суда, и числился в течение 5 лет лишь под „негласным“ надзором полиции».³

Однако студенческие научные работы Н. Е. Введенского не исчерпываются двумя указанными сочинениями. Нам удалось выявить еще одну студенческую работу Н. Е.

¹ Архив АН СССР, ф. 749, оп. 4, № 24.

² Государственный исторический архив Ленинградской области (ГИАЛО), ф. 14, см. 231, д. 7933, 1879, л. 53 и 53 об.

Напечатано в Протоколе Заседания Совета СПб. университета за I половину 1879-80 акад. года, № 21, стр. 177, СПб., 1880.

³ Архив АН СССР, ф. 749, оп. 4, № 24.

Н. Е. Введенского, о которой не упомянуто в его автобиографии. Это — его студенческая диссертация на степень кандидата под заглавием «Влияние полета (воздушной среды) насекомых на постройку и отправления их органов (всех систем)».¹ На диссертации не указан год ее написания, но история возникновения ее может быть прослежена по следующим материалам за 1879 г.

20 апреля 1879 г. физико-математический факультет избрал студента Н. Е. Введенского исполняющим обязанности консерватора зоотомического кабинета. 27 апреля того же года Совет Университета утвердил представление факультета. Попечитель учебного округа разрешил поручить студенту IV курса Введенскому исполнение обязанностей консерватора зоотомического кабинета по найму с оплатой в размере 300 руб. в год.

31 мая 1879 г. Совет Университета по представлениям факультетов утвердил большую группу студентов, выдержавших установленное испытание и представивших диссертации на степень кандидата. Н. Е. Введенский оказался в другой небольшой группе студентов, о которой Совет Университета вынес постановление: «Удостоить той же степени, если представят в установленный срок диссертации и таковые будут одобрены надлежащими факультетами».²

Очевидно, интересные занятия в Физиологической лаборатории И. М. Сеченова настолько увлекли Н. Е. Введенского, что он не смог своевременно выполнить учебные требования. К тому же и исполнение служебных обязанностей в последние месяцы его пребывания на студенческой скамье тормозили представление диссертации.

Надо полагать, что лето 1879 г. Н. Е. Введенский посвятил написанию студенческой диссертации. Тема диссертации была согласована с его патроном по зоотомическому кабинету проф. Н. П. Вагнером. К концу июля диссертация была готова и Н. Е. Введенский выехал к себе на родину в Вологодскую губернию.

10 сентября 1879 г. Совет Университета постановил: «Утвердить Н. Соколова, Н. Вениюкова, Н. Введенского, А. Соловьева. . . в степени кандидата и выдать дипломы на эту степень».³

Студенческая диссертация Н. Е. Введенского, очевидно, и является той диссертацией, которую он представил для получения диплома об окончании университета. Рукопись Н. Е. Введенского состоит из шести скрепленных листов размером менее тетрадного листа.

Из диссертации видно, что еще на студенческой скамье Н. Е. Введенский на примере насекомых обратил внимание на влияние среды на организм. Личиночное состояние насекомых он рассматривает как приспособление насекомых к условиям существования данного вида, а организацию тела летающих форм насекомых с точки зрения приспособления к воздушной жизни. Органы движения летающих насекомых прикреплены к более прочным и устойчивым сегментам груди. В этой области наиболее развиты локомоторные мышцы. Грудь резко отделена от брюшка, в котором сосредоточены органы животной жизни. У нелетающих форм такого резкого деления на грудь и брюшко не наблюдается. У крылатых насекомых слабо развита кровеносная система, но зато высшее развитие получила трахейная система. Это облегчает насекомому возможность держаться в воздухе. Большое значение Н. Е. Введенский приписывает жировому телу, которое у летающих форм сравнительно невелико.

Во всех изменениях, происходящих в организации тела насекомых, Н. Е. Введенский большую роль отводит нервной системе.

Студенческая диссертация представляет интерес для биографии автора, поскольку она указывает на то, что биологический принцип в физиологии, о котором Н. Е. Введенский писал в зрелые годы (1897, 1917), занимал его еще на студенческой скамье.

Поступило 1 II 1960

ON THE WORKS OF N. E. VEDENSKII AS A STUDENT

By P. G. Terekhov

Leningrad

¹ ГИАЛО, ф. 14, св. 3800, д. 35, лл. 1—6.

² Протоколы заседания Совета СПб. университета за II половину 1878/79 акад. года, № 29, стр. 71, СПб., 1880.

³ Протоколы заседаний Совета СПб. университета за I половину 1879/80 акад. года, № 21, стр. 31, СПб., 1880.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Хачатур Сергеевич Коштойянц	1035
Х. С. Коштойянц, Г. А. М а л о ю к и н а и С. П. А л е к с а н д р ю к. Роль переднего мозга в проявлении «группового эффекта» у рыб	1038
И. В. Ч у д а к о в а. Анализ механизма эффекта последействия нервно-мышеч- ного прибора насекомых	1044
А. К. В о с к р е с е н с к а я и В. Л. С в и д е р с к и й. Анализ природы сле- довых ритмических реакций в нервно-мышечном приборе крыла насекомых	1050
Т. М. Т у р п а е в. Активные центры холинорецептора и изменение их свойств при охлаждении	1056
Т. Г. П у т и н ц е в а. К вопросу о механизме образования α -фактора при дей- ствии ацетилхолина на сердце лягушки	1064
Г. Ю. Ю р ь е в а. К вопросу о роли реактивных групп белка во вкусовой рецеп- ции	1071
Н. Б. В ы с о ц к а я, Е. И. И л ь и н а и Д. А. Х а р к е в и ч. Влияние ганглио- блокирующих средств на активность некоторых ферментных систем и со- держание сульфгидрильных групп в верхнем шейном ганглии	1076
М. Е. Л о б а ш е в, В. Б. С а в в а т е е в, Р. Ю. К а с и м о в и В. В. П о н о- м а р е н к о. Исследование некоторых сторон животного гипноза	1083
М. Я. К у н ц о в а. Особенности взаимодействия иннервационных систем в нервно-мышечном приборе некоторых видов черноморских крабов	1090
Л. С. Г а м б а р я н. О спинальных путях кортикальной проекции проприо- цептивной сигнализации	1098
М. В. С е р б и н е н к о. К вопросу о локализации и возможном механизме дей- ствия аминазина на нисходящую ретикулярную формацию ствола мозга	1105
А. И. Ш а п о в а л о в. Облегчение и угнетение нервно-мышечной передачи в ходе ритмической стимуляции при внутриклеточном отведении	1112
Г. С. К о в а л ь с к и й. Атония (пассивная гиперполяризация) зрительных центров лягушки	1120
Н. Ю. Б е л е н к о в. Временные связи и некоторые вопросы их эволюции	1126
Е. М. М а т р о с о в а, А. В. С о л о в ь е в и О. В. С о л о д к и н а. Отношения между секреторной и моторной деятельностью малой и большой кривизны желудка	1132
А. Н. Т а м б о в ц е в. О секреторной функции кишечника	1141
Т. П. Ш л я ф е р. Об особенностях сердечных и дыхательных рефлексов у крыс в онтогенезе	1147
С. Н. Л ы з л о в а и Н. С. П а н т е л е е в а. Соотношение компонентов аденило- вой системы при тетаническом сокращении мышцы	1153
<i>Методика физиологических исследований</i>	
Б. Н. М а н у х и н и Г. А. Б у з н и к о в. Новый биологический метод количе- ственного определения серотонина	1160
Л. Г. Л е й б с о н и Э. М. П л и с е ц к а я. К технике внутрисосудистого введе- ния растворов куриным эмбрионам	1163
В. Г. Ф и л и м о н о в. Методика вживления электродов в нерв для снятия био- токов в хроническом эксперименте	1165
<i>Из истории физиологической науки</i>	
П. Г. Т е р е х о в. О студенческих научных работах Н. Е. Введенского	1168

CONTENTS

	Page
Khachatur Sergeevich Koshtoiantz	1035
Kh. S. Koshtoiantz, G. A. Maliukina and S. P. Alexandriuk. Rôle of the forebrain in the «group effect» in fish	1038
I. V. Chudakova. Analysis of the after-effect mechanism of the neuromuscular apparatus in the insects	1044
A. K. Voskressenskaiia and V. L. Sviderskii. Analysis of the nature of rhythmical trace reactions in the neuromuscular apparatus of the insect wing	1050
T. M. Turpaiev. Active cholinoreceptor centres and the change in their properties at cooling	1056
T. G. Putintseva. On the mechanism of α -factor formation under the action of acetylcholine on the frog's heart	1064
G. Ju. Yurieva. On the rôle of reactive groups of protein in taste reception	1071
N. B. Vysotskaiia, E. I. Iliina and D. A. Kharkevich. The influence of ganglion-blocking agents on the activity of some enzymatic systems and the sulphhydryl groups content in the upper cervical ganglion	1076
M. E. Lobashev, V. B. Savvateev, R. Yu. Kasimov and V. V. Ponomarenko. Investigation of certain aspects of animal hypnosis	1083
M. Ya. Kuntsova. Peculiarities of interaction of the innervation systems in the neuromuscular apparatus of certain species of the Black sea crabs	1090
L. S. Gamarian. On the spinal paths of cortical projection of the proprioceptive signalling	1098
M. V. Serbinenko. On the problem of localization and possible mechanism of the aminazine effect upon the descending reticular formation of the brain stem	1105
A. I. Shapovalov. Facilitation and depression of the neuromuscular transmission during rhythmical stimulation in the process of intracellular recording	1112
G. S. Kovalskii. The atony (passive hyperpolarization) of the frog visual centres	1120
N. Yu. Belenkov. The temporary connections and certain problems of their evolution	1126
E. M. Matrosova, A. N. Solov'ev and O. V. Solodkina. The relationship between the secretory and the motor activity of the greater and lesser curvatures of the stomach	1132
A. N. Tambovtzev. On the secretory function of the intestine	1141
T. P. Shliafer. Peculiarities of the rat cardiac and respiratory reflexes in ontogenesis	1147
S. N. Lyslova and N. S. Panteleeva. Correlation of the adenylic acid system components under tetanic contraction of muscle	1153

Experimental techniques

B. N. Manuchin and G. A. Buznikov. A new biological method of quantitative determination of serotonin	1160
L. G. Leibson and E. M. Plisetskaiia. Contribution to the technique of intravascular introduction of solutions to the hen embryos	1163
V. G. Filimonov. Technique of implanting the electrodes in the nerve for reading the biopotentials in chronic experiment	1165

Historical notes

P. G. Terekhov. On the works of N. E. Vedenskii as a student	1168
--	------



Подписано к печати 20/VIII 1960 г. М-45544. Бумага $70 \times 108^{1/16}$. Бум. л. $4^{3/8}$.
Печ. л. $8^{3/4} = 11.98$ усл. печ. л. + 1 вкл. Уч.-изд. л. 12.21. Тираж 2735. Заказ № 751.

1-й изд. АН СССР. Ленинград, В-34, 9 линия, д. 12.

В «Физиологическом журнале СССР им. И. М. Сеченова» публикуются экспериментальные исследования по актуальным вопросам физиологии человека и животных, новые методические приемы исследования, а также статьи по биохимии и фармакологии, имеющие физиологическую направленность; статьи по истории физиологической науки, рецензии на новые учебники и монографии по физиологии, краткие отчеты о научных конференциях и съездах.

В журнале печатаются только статьи, еще нигде не опубликованные. Не принимаются к печати предварительные сообщения по незаконченным экспериментальным работам.

Статья должна быть написана кратко, ясно и тщательно отредактирована. К статье необходимо приложить ее резюме (1/2 стр.) для перевода на английский язык.

Рукопись должна быть визирована ответственным научным руководителем лаборатории, отдела или кафедры и сопровождена направлением от учреждения, где выполнялась работа.

Название учреждения и город, где выполнялась работа, должны быть указаны в заголовке статьи после фамилии автора.

Размер рукописи не должен превышать 11 машинописных страниц текста. Рукописи большего размера могут присылаться только после предварительного согласования с Редакцией. Число рисунков или таблиц при рукописи не должно превышать пяти. Все графы в таблицах и сами таблицы должны иметь заголовки; сокращение слов в таблицах не допускается.

Рисунки, диаграммы, фотографии и т. п. посылаются при описи. Подписи к рисункам должны даваться на отдельном листе в двух экземплярах. Фотографии следует присылать обязательно в 2 экземплярах. На обороте рисунков надо дать фамилию автора и название статьи.

К рукописи должен быть приложен список литературы, который помещается в конце статьи и должен включать только тех авторов, имена которых упоминаются в тексте статьи. В список включаются в алфавитном порядке сначала русские авторы, а затем иностранные. После названия журнала или книги указываются: том, №, страницы, год, например: Петрова Н. И., Физиолог. журн. СССР, 19, № 1, 137, 1953; номер тома выделяется подчеркиванием; при указании иностранных журналов следует придерживаться международной транскрипции.

Рукописи должны быть четко отпечатаны на машинке на одной стороне листа и направляться в Редакцию в двух экземплярах, из которых один должен быть первым машинописным экземпляром. Фамилии иностранных авторов в тексте статей должны даваться в русской, а при ссылке на список литературы — в оригинальной транскрипции, например: Штейнах (Steinach, 1895) наблюдал сокращение гладких мышц. . .». Иностранные слова должны быть вписаны на машинке или от руки четко, библиотечным почерком.

Работа русского автора, опубликованная на иностранном языке, включается в русский алфавит, причем перед иностранным написанием фамилии автора фамилия и инициалы его даются по-русски в круглых скобках, например: (Иванов С. Н.) Ivanoff S. N., Pflüg. Arch., 60, 693, 1895.

Рукопись, присланная без соблюдения указанных правил, Редакцией не принимается и возвращается автору.

Редакция оставляет за собой право по мере надобности сокращать статьи.

В случае возвращения статьи автору на переработку первоначальная дата ее поступления сохраняется за ней в течение срока до 2 месяцев.

В случае невозможности помещения статьи в «Физиологическом журнале» один из двух экземпляров может быть возвращен автору.

Редакция просит авторов в конце статьи указывать свой домашний и служебный адрес, а также имя и отчество полностью.

Рукописи следует направлять по адресу: Ленинград, В-164, Менделеевская лин., 1. Издательство Академии наук СССР. Редакция «Физиологического журнала СССР». Телефон А-2-79-72.