

А К А Д Е М И Я Н А У К С С С Р

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

СССР

И М Е Н И И . М . С Е Ч Е Н О В А



Том I, № 11

Н О Я Б Р Ъ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА

1964

ЛЕНИНГРАД

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ СССР им. И. М. СЕЧЕНОВА

Основан И. П. ПАВЛОВЫМ в 1917 г.

Главный редактор *Д. А. Бирюков*

Зам. главного редактора *Н. В. Зимкин, Д. Г. Квасов*

Члены Редакционной коллегии:

*П. Е. Анохин, И. А. Булыгин, И. П. Голодов, Е. К. Жуков,
Е. М. Кресс, С. П. Нарикашвили, Ф. Н. Серков, А. В. Соловьев,
М. Г. Удельнов, В. Н. Черниговский, Н. Н. Яковлев*

Секретари: *Ф. П. Ведяев, В. Д. Глебовский*

Члены Редакционного совета:

Асратян Э. А. (Москва),	Лебединский А. В. (Москва),
Барышников И. А. (Ленинград),	Ливанов М. Н. (Москва),
Бериташвили И. С. (Тбилиси),	Маршак М. Е. (Москва),
Васильев Л. Л. (Ленинград),	Никитин В. Н. (Харьков),
Воронцов Д. С. (Киев),	Парин В. В. (Москва),
Гершуни Г. В. (Ленинград),	Петровский В. В. (Уфа),
Данилов П. В. (Ростов н/Д.),	Полосухин А. П. (Алма-Ата),
Караев А. И. (Баку),	Сергиевский М. В. (Куйбышев),
Коган А. Б. (Ростов н/Д.),	Смирнов Г. Д. (Москва),
Костюк П. Г. (Киев),	Сорохтин Г. Н. (Петрозаводск),
Каэр-Кингисепп Э. Г. (Тарту),	Сперанская Е. Н. (Ленинград).

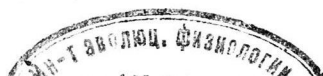
ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА И АЦЕТИЛХОЛИНА НА ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ
ОТДЕЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ РЕТИКУЛЯРНОЙ ФОРМАЦИИ
ПРОДОЛГОВАТОГО МОЗГА*Л. А. Вихрева, Ю. П. Лиманский и Н. Н. Преображенский*Лаборатория общей физиологии Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Представление о высокой чувствительности ретикулярной формации к различным физиологически активным веществам, в частности к адреналину и ацетилхолину, получило в последние годы широкое распространение.

Ряд авторов (Bonvallet, Dell, Hibel, 1954; Bradley, Elkes, 1957; Rothbaler, 1957) на основании опытов с перерезкой ствола мозга на разных уровнях и одновременного анализа ЭЭГ на фоне введения адреналина и ацетилхолина в сосудистое русло, локальной микроинъекции в ствол мозга и т. д. пришел к заключению, что имеет место прямое действие этих веществ на нейроны ретикулярной формации. Однако анализ ЭЭГ при внутрисосудистом введении физиологически активных веществ не позволяет конкретно судить о месте действия последних в ретикулярной формации. Более точное выяснение этого вопроса можно осуществить путем изучения изменений электрической активности ретикулярных нейронов с помощью микроэлектродов при внутрисосудистом введении адреналина и ацетилхолина, а также путем непосредственного приложения ионов этих веществ к мембране ретикулярных нейронов с помощью электрофореза через микроэлектрод.

Исследуя активность отдельных ретикулярных нейронов ствола мозга, Брэдли и Моллика (Bradley, Molluca, 1958) нашли, что в продолговатом мозгу около 50% ретикулярных нейронов реагируют ее изменением через 2—5 сек. после введения 1—5 мкг адреналинхлорида в общую сонную артерию. Введение тем же путем 0.2—1 мкг ацетилхолинхлорида вызывало изменение функционального состояния всех изученных ретикулярных нейронов. Авторы пришли к выводу, что вышеуказанные вещества, введенные в кровеносное русло, оказывают прямое действие на ретикулярные нейроны. Однако известно (Клоссовский, Космарская, 1961), что у кошек кровоснабжение ствола головного мозга осуществляется в основном через базальную артерию, которая является продолжением позвоночных артерий. Через общую сонную артерию снабжаются кровью преимущественно передние отделы головного мозга. Эти данные заставляют критически отнестись к утверждению Брэдли и Моллика о прямом действии адреналина и ацетилхолина на ретикулярные нейроны продолговатого мозга; описанные ими эффекты вполне могли быть связаны с косвенными влияниями из вышележащих мозговых структур.

Мы провели специальное сравнение влияния адреналина и ацетилхолина на деятельность отдельных ретикулярных нейронов продолговатого мозга при различных путях введения их в кровеносное русло: внутривенно, через общую сонную и через позвоночную артерии.



МЕТОДИКА

Исследования проведены на кошках весом от 2 до 3.5 кг. Применялся внутривенно наркоз хлоралозой (50 мг/кг) и нембуталом (15 мг/кг). Доступ к продолговатому мозгу осуществлялся со стороны основания черепа (Лиманский, 1961). Обнаженная поверхность мозга заливалась теплым раствором агар-агара (около 40°) и после его затвердевания покрывалась перфорированной пластинкой. Этим достигалось снижение пульсовых и дыхательных колебаний мозга.

Отведение электрической активности отдельных ретикулярных нейронов из области гигантоклеточного ядра продолговатого мозга осуществлялось внеклеточно стеклянными микроэлектродами, заполненными 3 М КСl, с сопротивлением 5—10 Мом. Для идентификации ретикулярных нейронов использовалась их способность отвечать на приход импульсов различных модальностей. Глубина погружения микроэлектрода для каждого нейрона определялась по микрометру; по окончании регистрации биопотенциалов тонкая часть микроэлектрода срезалась и оставлялась в ткани мозга с целью установления тракта, по которому погружался микроэлектрод, и последующего расчета положения нейронов.

Исследуемые вещества, растворенные в изотоническом растворе NaCl, вводились в бедренную кожную вену, общую сонную или позвоночную артерии в дозах: адреналинхлорид 1.5—15 мкг и ацетилхолинхлорид 0.3—3 мкг на 1 кг веса животного. Объем вводимой жидкости был всегда постоянным и минимальным (0.3 см³). В ряде опытов производились контрольные инъекции аналогичных объемов физиологического раствора.

В опытах с введением этих веществ в сонную артерию производилась перевязка наружной сонной артерии и в ряде опытов билатеральная денервация каротидных синусов путем обработки их наружной поверхности концентрированным раствором фенола.

Запись артериального давления осуществлялась кровавым способом из бедренной артерии, соединенной системой полиэтиленовых трубок с емкостным датчиком, выход которого через усилитель постоянного тока был соединен с одним из каналов двухлучевого осциллографа. На другом канале осциллографа регистрировалась электрическая активность отдельных ретикулярных нейронов.

Одним из видов анализа импульсной активности исследуемых нейронов являлась регистрация среднего числа потенциалов действия в единицу времени с помощью прибора, разработанного в нашей лаборатории Б. Я. Пятигорским. Прибор имеет три линейных диапазона для частот следования импульсов 1—20, 5—100, 20—400 в 1 сек. и запускается импульсами обеих полярностей длительностью 0.1—3 мсек. и амплитудой 0.2—10 в. В приборе предусмотрена возможность формировать из потенциалов действия стандартные прямоугольные импульсы (0.5 мсек., 70 в) для записи на магнитную ленту. Напряжение на выходе прибора, пропорциональное среднему числу потенциалов действия в единицу времени, записывалось на чернилопишущем приборе; одновременно на нем также регистрировался уровень артериального давления.

У части нейронов ритмическая активность и ее изменения после введения физиологически активных веществ были проанализированы с помощью счетчика импульсов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Испытана чувствительность к адреналину 122 нейронов, из них 18 при введении вещества в вену, 30 при введении в общую сонную артерию и 74 при введении в позвоночную артерию. Действие ацетилхолина проведено на 115 нейронах, причем на 47 при внутривенном введении, на 23 при введении в сонную артерию и на 45 при введении в позвоночную артерию. Суммарные результаты действия внутрисосудистых инъекций адреналина и ацетилхолина на ретикулярные нейроны, приведены в нижеследующей таблице.

При внутривенном введении адреналина 7 из 18 нейронов реагировали учащением ритма, 5 — торможением, у 6 нейронов не отмечено никакого эффекта. Внутривенное введение ацетилхолина привело к учащению ритма у 14 из 47 нейронов, у 16 нейронов наступило торможение фоновой ритмики, у 17 нейронов не обнаружено никакого эффекта. Во всех случаях изменение фоновой ритмической активности ретикулярных нейронов наступало через 6—15 сек. после начала инъекций и развивалось либо после (14 нейронов), либо одновременно (7 нейронов) с изменением артериального давления. Изменение артериального давления наступало при этом на 7—15-й сек. после инъекции; при введении адреналина давление повышалось, в случае введения ацетилхолина — понижалось.

Результаты внутривенных введений адреналина и ацетилхолина показывают, что реакция на адреналин наблюдалась у 70% и на ацетилхолин у 64% нейронов; наступающие при этом изменения фоновой ритмической активности ретикулярных нейронов возникают после изменений системного артериального давления и, следовательно, могут быть результатом многочисленных, не поддающихся учету факторов действия адреналина и ацетилхолина на весь организм в целом.

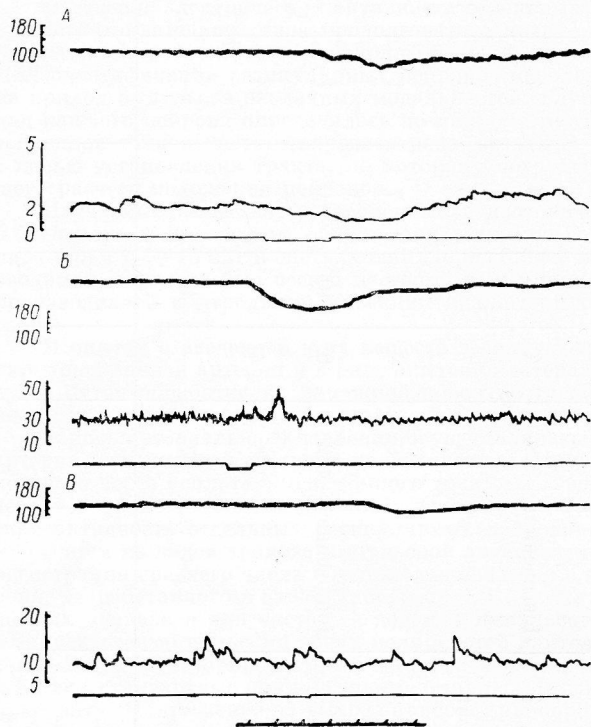


Рис. 1. Действие ацетилхолина на активность трех разных нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга.

А — введено в базальную артерию 3 мкг ацетилхолина — урежение ритма; Б — введено 2 мкг — учащение ритма; В — введено 3 мкг — ритм без изменения. Верхняя запись и верхняя шкала слева — артериальное давление; средняя запись и нижняя шкала — количество потенциалов действия нейрона в единицу времени; нижняя запись — начало и конец введения испытуемого вещества. Отметка времени — 5 сек.

урежение фоновой активности; 34 нейрона не изменили своего ритма.

Примеры изменения ритмической активности различных ретикулярных нейронов под влиянием инъекций адреналина и ацетилхолина в позвоночную артерию приведены на рис. 1 и 2. Следует отметить, что у некоторых ретикулярных нейронов в результате воздействия исследуемых веществ при инъекциях в сонную и позвоночную артерии развивались сложные изменения ритмической активности — учащение ритма после урежения, или наоборот.

В ряде случаев наблюдалась отчетливая зависимость между дозой вводимого в позвоночную артерию вещества и степенью изменения частоты ритмики исследуемого ретикулярного нейрона. Соответствующий пример приведен на рис. 3.

При сравнении начала изменений фоновой ритмики ретикулярных нейронов с началом изменения артериального давления оказалось, что у некоторых из изученных таким путем нейронов изменения фоновой ритмической активности возникали раньше (на 3—5-й сек. после начала инъек-

При инъекциях адреналина в общую сонную артерию 13 из 30 нейронов реагировали учащением ритма, 11 — урежением, у 6 нейронов не наблюдалось никакого эффекта. В случаях инъекций ацетилхолина таким путем эффект возбуждения наблюдался всего лишь у 7 из 23 нейронов, торможение у 11; 5 нейронов не изменили исходного состояния ритмической активности.

В серии опытов по инъекциям адреналина и ацетилхолина в одну из позвоночных артерий изучено 119 нейронов; из них 74 при введении адреналина и 45 при введении ацетилхолина. При введении адреналина в позвоночную артерию 16 из 74 нейронов реагировали учащением ритма, 24 — урежением и 34 нейрона не изменили фоновой активности. Ацетилхолин, вводимый в позвоночную артерию, у 6 из 45 нейронов вызывал учащение, у 5

ций адреналина и ацетилхолина в сонную или позвоночную артерии), чем изменялось системное артериальное давление. Соответствующий пример приведен на рис. 4.

Ритмическая активность этого нейрона через 3 сек. после начала введения 15 мкг адреналина в сонную артерию стала заметно реже, тогда как артериальное давление еще не изменилось. Лишь через 15 сек. артериальное давление повысилось; ритмическая активность стала при этом более частой по сравнению с фоном. Через 25 сек. артериальное давление сохранялось на высоком уровне, тогда как ритмическая активность уже возвратилась к норме.

Таких нейронов, фоновая ритмика которых менялась до изменения системного артериального давления, было 4 из 16 (25%), подвергнутых исследованию при инъекциях адреналина в сонную артерию, и 6 из 23 (26%) — при введении тем же путем ацетилхолина. При инъекциях исследуемых веществ в позвоночную артерию число таких нейронов было

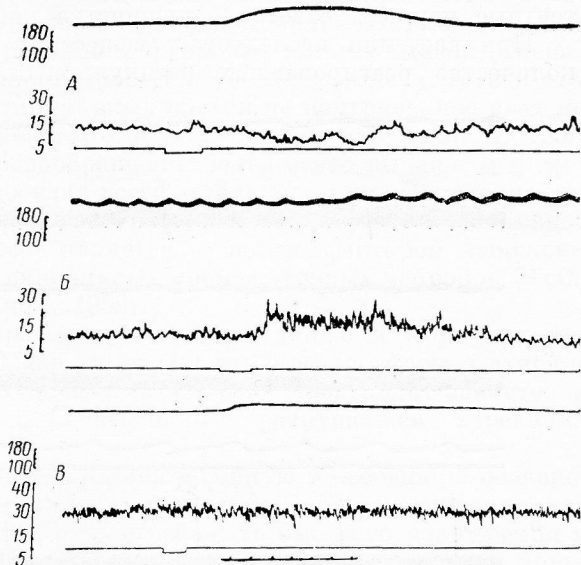


Рис. 2. Действие адреналина на активность трех разных нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга.

А — введено 10 мкг — урежение ритма; Б — введено 12 мкг — учащение ритма; В — введено 12 мкг — ритм без изменения.

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

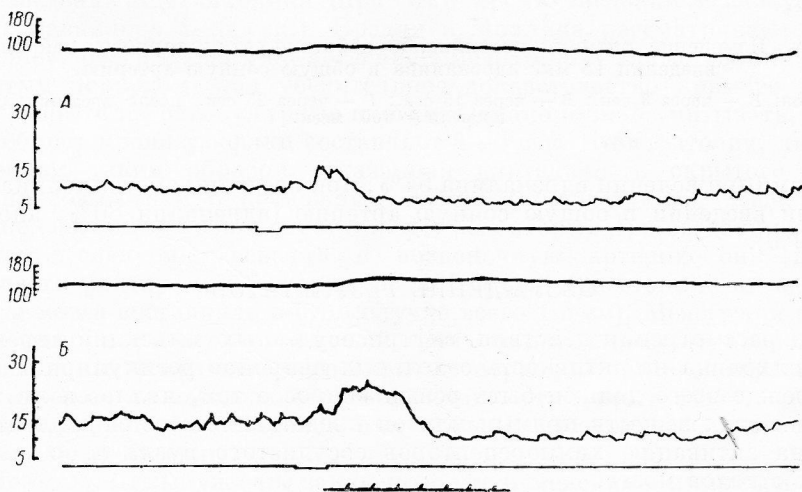


Рис. 3. Зависимость изменения ритмики одного и того же нейрона ретикулярной формации от дозы испытуемого вещества.

Введение адреналина в базальную артерию: А — 10 мкг; Б — 15 мкг.

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

значительно меньшим. При введении адреналина только у 7 из 72 нейронов (9.5%), а при введении ацетилхолина — только у 4 из 45 (11%) фоновая ритмическая активность менялась до начала изменений системного

артериального давления. Хотя при внутриартериальном введении путь для испытуемых веществ к ретикулярным нейронам был значительно сокращен, особенно при введении в позвоночную артерию, тем не менее латентные периоды ответов большинства нейронов почти не изменялись.

При введении исследуемых веществ в позвоночную артерию общее количество реагирующих ретикулярных нейронов было значительно

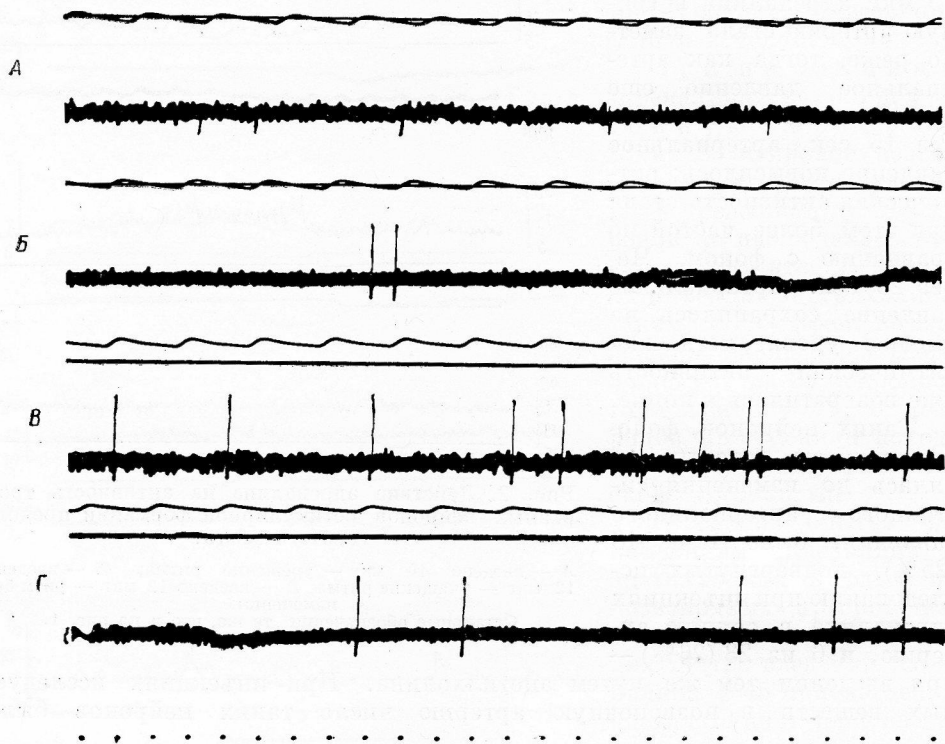


Рис. 4. Изменение ритмики потенциалов действия ретикулярного нейрона при введении 15 мкг адреналина в общую сонную артерию.

А — фон; Б — через 3 сек.; В — через 15 сек.; Г — через 25 сек. после введения. Отметка времени — 100 мсек.

меньшим (при введении адреналина 54%, при введении ацетилхолина 24%), чем при введении в общую сонную артерию (адреналин 80%, ацетилхолин 79%).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При рассмотрении действия внутрисосудистых инъекций адреналина и ацетилхолина на активность отдельных нейронов ретикулярной формации прежде всего должен быть решен вопрос о том, является ли эффект действия этих веществ прямым или он представляет собой рефлекторный ответ на активацию химиорецепторов сосудистого русла либо нейронов других отделов мозга.

Бонвалле, Южлен и Делл (Bonvallet, Hugelin, Dell, 1956) сообщили об эффекте интравенозных инъекций адреналина на активность нейронов в участке среднего мозга с сохраненным кровообращением, но лишенным всех нервных связей. В их опытах поэтому нельзя было установить принадлежность нейронов к ретикулярной формации. Как нам кажется, утверждение этих авторов о прямом действии внутривенно введенного адреналина на мезэнцефалические нейроны в этом случае не имеет достаточных оснований. Наши опыты показали, что активность ретикулярных ней-

ронов изменяется при внутривенном введении адреналина лишь после изменения системного артериального давления. Сложный путь попавшего в венозное русло адреналина, существование большого количества адреналиночувствительных звеньев в нервной и эндокринной системах, наконец быстрое ферментативное разрушение адреналина аминоксидазой (Сперанская, 1961) слишком усложняют процесс, чтобы серьезно думать в этом случае о прямой реакции ретикулярных клеток на внутривенное введение адреналина. Как показано некоторыми исследователями (Sokoloff, 1959), регионарные изменения в кровообращении более резко выражены в сосудах головного мозга, чем в сосудах всего остального тела. Изменение просвета мозговых сосудов, а следовательно, снабжения нейронов головного мозга кислородом само по себе является мощным фактором изменения активности ретикулярных и спинальных промежуточных нейронов (Amasian, 1957; Kolmodin, Scoglund, 1959).

Приведенные выше соображения относятся также и к внутривенно введенному ацетилхолину. Надо отметить, что процесс ферментативного разрушения ацетилхолина холинэстеразой крови происходит значительно быстрее по сравнению с ферментативным разрушением адреналина (Сперанская, 1961).

Введение адреналина и ацетилхолина в сонную и особенно в позвоночную артерии позволяет значительно сократить путь поступления этих веществ в головной мозг и тем самым избежать быстрого разрушения их ферментами, уменьшить возможность влияния этих веществ на другие органы и системы до воздействия на нейроны ц. н. с. Как показали результаты наших опытов, в ретикулярной формации существует ряд нейронов, активность которых изменяется через 3—5 сек. после окончания введения этих веществ, т. е. до начала изменения системного артериального давления. С нашими результатами совпадают данные Брэдли и Моллика (Bradley, Mollica, 1958) о латентных периодах ответов ретикулярных нейронов на введение в сонную артерию адреналина и ацетилхолина. В опытах этих авторов активность ретикулярных нейронов изменялась через 4—5 сек. после окончания введения адреналина и 0.5—8 сек. после окончания введения ацетилхолина (при этом время введения исследуемых веществ равнялось 4—5 сек.). Брэдли и Моллика рассматривают наличие нейронов, реагирующих на введение адреналина и ацетилхолина, с таким скрытым периодом, как убедительное доказательство прямого действия этих веществ на ретикулярные клетки. Однако нужно учитывать, что полный оборот крови у кошки составляет 4—6 сек. (Кондратович, личное сообщение); таким образом, указанная длительность скрытого периода вполне совместима с возможным действием испытуемых веществ через другие системы нейронов и сосудистые рецепторы. При введениях в наших опытах исследуемых веществ в позвоночную артерию они попадали в область ретикулярной формации в 1-ю сек. (расстояние от канюли до ствола мозга составляло в этом случае всего 1.5 см). Между тем никакого ускорения скрытого периода действия вводимых веществ на ретикулярные нейроны по сравнению со скрытым периодом при введении их в сонную артерию не наблюдалось. Более того, отмечалось явное сокращение числа реагирующих нейронов при введении исследуемых веществ через позвоночную артерию.

Поэтому мы вынуждены заключить, что изменения в импульсной активности ретикулярных нейронов при внутриартериальном введении исследуемых веществ могут быть обусловлены не прямым центральным действием этих веществ, а рефлекторными воздействиями. Хотя опыты с денервацией каротидных синусов, а также введение веществ через базальную артерию исключают возможность химической стимуляции рецепторов каротидных синусов, однако они не исключают возможности рефлекторных влияний из рецепторных зон внутримозговых сосудов, а также активации каких-либо других нейронных структур мозга.

ВЫВОДЫ

При исследовании стеклянными микроэлектродами ритмической активности нейронов гигантоклеточного ретикулярного ядра продолговатого мозга кошки и изменений ее под влиянием внутрисосудистых введений адреналина и ацетилхолина, изменения фоновой ритмики при внутривенном введении адреналина наблюдались у 70%, а при внутривенном введении ацетилхолина — у 64% всех исследованных нейронов.

Общее количество реагировавших ретикулярных нейронов при введениях в сонную артерию адреналина равнялось 80%, ацетилхолина — 79%; при введениях в позвоночную артерию адреналина — 54%, ацетилхолина — 24%.

Изменения фоновой ритмики ретикулярных нейронов в первые 5 сек. после инъекций в сонную артерию (до начала изменений системного кровяного давления) адреналина наблюдались у 25%, после инъекций ацетилхолина — у 26% всех реагировавших нейронов. При введениях в позвоночную артерию в течение первых 5 сек. на адреналин реагировало лишь 9.5%, а на ацетилхолин — 11% нейронов.

Высказано предположение, что адреналин и ацетилхолин даже при внутриартериальном введении действуют на ретикулярные нейроны продолговатого мозга в основном рефлекторным путем.

ЛИТЕРАТУРА

- К л о с о в с к и й Б. Н., Е. Н. К о с м а р с к а я. Деятельное и тормозное состояние мозга. Медгиз, 1961.
- Л и м а н с к и й Ю. П., Физиолог. журн. СССР, 47, № 6, 671, 1961.
- С п е р а н с к а я Е. Н. Вопросы физиологии вегетативного отдела нервной системы. Медгиз, 1961.
- A m a s s i a n V. E., Fed. Proc., 16, 3, 1957.
- B r a d l e y P. B., J. E l k e s, Brain, 80, № 2, 77, 1957.
- B r a d l e y P. B., A. M o l l i c a, Arch. ital. Biol., 96, № 2, 168, 1958.
- B o n v a l l e t M., A. H u g e l i n, P. D e l l, Journ. Physiol. (Paris), 48, № 3, 403, 1956.
- K o l m o d i n G. M., C. R. S c o g l u n d, Acta physiol. scand., 45, № 1, 1, 1959.
- R o t h b a l l e r A. B., Anat. Rec., 127, № 3, 359, 1957.
- S o k o l o f f L., Pharmacol. Rev., 11, № 1, 1, 1959.

Поступило 8 VIII 1963

EFFECTS OF ADRENALINE AND ACETHYLCHOLINE ON THE
ACTIVITY OF INDIVIDUAL NEURONES IN THE BULBAR RETICULAR
FORMATION

By L. A. Vikhreva, Yu. P. Limanski and N. N. Preobrazhenski

From the Laboratory for General Physiology, A. A. Bogomoletz Institute of
Physiology, Ukr. SSR Acad. Sci., Kiev

УДК 612.591.181

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ПОТЕНЦИАЛОВ ДЕЙСТВИЯ
В ГИГАНТСКИХ НЕЙРОНАХ МОЛЛЮСКОВ

В. Д. Герасимов, П. Г. Костюк, В. А. Майский

Лаборатория общей физиологии Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН СССР, Киев

Гигантские нейроны моллюсков благодаря своей величине и доступности для экспериментальных вмешательств позволяют детально изучать ионные механизмы возникновения на их мембране потенциала покоя и потенциала действия (Hagiwara, Saito, 1959; Hagiwara, Kusano, Saito, 1961; Oomura, Ozaki, Maeno, 1961; Tauc, Frank, 1962; Герасимов, 1964; Герасимов, Майский, 1963). Получаемые при этом данные открывают возможность более детальных исследований того, как происходит возбуждение клетки при различных способах ее активации: при прямом электрическом раздражении, синаптическом возбуждающем действии, а также при «спонтанной» ритмической активности.

МЕТОДИКА

Опыты производились на гигантских нейронах виноградной улитки (*Helix pomatia*) и пресноводной катушки (*Planorbis corneus*) в летне-осеннее время. Изолированная окологлоточная нервная масса помещалась в проточной камере. Основным раствором при работе на ганглиях виноградной улитки служил раствор, содержащий 75 ммол натрия, 5 ммол калия, 10 ммол кальция и 100 ммол хлора, а при работе на ганглиях катушки — 50 ммол натрия, 1,6 ммол калия, 4 ммол кальция и 59,6 ммол хлора. Указанные растворы были составлены на основании фотометрических измерений ионного состава гемолимфы этих животных.

В отдельные нервные клетки вводились два микроэлектрода, один из которых служил для отведения трансмембранной разности потенциалов, а второй — для прямой поляризации мембраны клетки. Подробно методика отведения потенциалов и способ поляризации клеточной мембраны были описаны ранее (Майский, 1963; Герасимов, Майский, 1963).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прямое возбуждение. Прямая деполяризация сомы гигантского нейрона электрическим током во всех случаях вызывает одинаковый по характеру ответ клетки. Когда деполяризующий толчок достигает критической величины (7—15 мв), на его фоне возникает ритмический разряд потенциалов действия (ПД). Если деполяризующий толчок не сильно превышает пороговую величину (рис. 1, А 1 и А 2), то такой разряд может давать равномерную частоту без каких-либо признаков урежения даже в случаях длительной деполяризации. При усилении деполяризации частота разряда увеличивается только в начале действия тока, а затем заметно урежается (рис. 1, В). При особенно значительном увеличении последнего генерируется лишь 1—2 ПД в самом начале его нарастания; последующие ПД оказываются резко затянутыми по длительности и уменьшенными по амплитуде или вовсе не развиваются (катодическая депрессия — рис. 1, В).

Характерной особенностью возникновения каждого ПД на фоне каталектотона является то, что ему предшествует фаза медленно нарастающей деполяризации («препотенциал»; Arvanitaki, Chalazonitis, 1956; Костюк, Семенютин, 1961). В некоторых случаях эта фаза настолько плавно переходит в собственно ПД, что определение критического уровня такого перехода оказывается затруднительным. Чем выше частота разряда, тем круче происходит нарастание медленной деполяризации. После окончания ПД возникает, наоборот, фаза реполяризации мембраны; в некоторых случаях

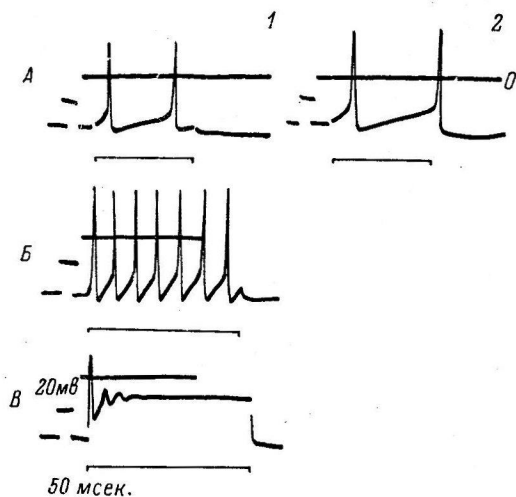


Рис. 1. Ответ гигантских нервных клеток на прямую деполяризацию через внутриклеточный микроэлектрод.

А (1, 2) — при пороговой силе раздражающего тока; на 2 — выключение тока произведено до момента возникновения второго потенциала действия; Б — при сверхпороговых силах раздражающего тока; В — развитие катодической депрессии при значительном повышении силы раздражения. Линии под осциллограммами — длительность прямого раздражения. Калибратор совмещен с началом развертки. На этом и следующих рисунках 0 — уровень нулевого потенциала покоя.

вне контролируемых экспериментатором раздражений), характеризуется чрезвычайно постоянной частотой. Последняя колеблется у различных клеток в пределах от 1—2 до нескольких десятков импульсов в 1 сек. Очень часто пусковым моментом появления спонтанной ритмической активности является механическое действие на клетку микроэлектрода — мощный разряд потенциалов действия возникает сразу же после прокола, а затем частота их быстро уменьшается. Спонтанная активность может продолжаться в клетке часами. Можно думать, что основную роль в появлении стойкой спонтанной активности играет некоторая деполяризация клеточной мембраны, наступающая при введении микроэлектрода.

Действительно, если клетка не дает спонтанной активности в покое, то такую активность всегда можно вызвать стойкой деполяризацией ее мембраны постоянным током, пропускаемым через один из внутриклеточных микроэлектродов. Такой же эффект дает и деполяризация мембраны при увеличении в среде ионов калия (Майский, 1963; Герасимов, 1964). Вызванная таким образом ритмическая активность может длиться на протяжении многих десятков минут.

Изменяя уровень постоянной поляризации мембраны, можно соответствующим образом управлять спонтанной активностью клетки. Гиперполяризация приводит к урежению частоты спонтанной ритмики за счет

последняя не только достигает исходного уровня трансмембранной разности потенциалов, но и превышает его (рис. 1, Б). Реполяризация вновь уступает место медленной деполяризации, и так повторяется с каждым новым импульсом. Выключение деполяризующего толчка сразу же прекращает этот процесс. Однако, если выключение произошло в тот момент, когда пассивная деполяризация начала перерастать в возбуждение, то процесс продолжается независимо от выключения поляризующего тока и приводит к генерации полноценного ПД (рис. 1, А, 2).

Спонтанная активность. Большинство гигантских нейронов генерирует ПД и без приложения к их мембране деполяризующих токов, а также независимо от раздражения афферентных путей. Такая ритмическая активность, которая может быть обозначена как «спонтанная» (т. е. возникающая

замедления нарастания медленной деполяризации; при значительной гиперполяризации (до 60 мв) спонтанная ритмика прекращается полностью. При деполяризации (до определенного предела) частота ритмики увеличи-

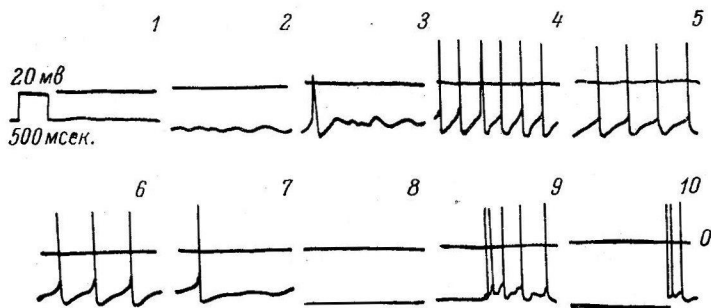


Рис. 2. Зависимость ритмической активности нейрона от уровня его трансмембранной разности потенциалов (необходимая разность потенциалов поддерживалась пропусканием тока соответствующего направления через один из микроэлектродов).

1—10 — постепенное увеличение трансмембранной разности потенциалов. Калибратор совмещен с началом развертки.

вается в связи с более крутым нарастанием медленной деполяризации. Чрезмерная деполяризация (до 20 мв) нарушает механизм генерации ПД — сначала прекращается генерация ПД, но сохраняются лишь ритмические медленные колебания, а затем прекращаются и последние. Соответствующие примеры приведены на рис. 2.

Каждый цикл активности обязательно включает в себя ряд последовательных фаз (препотенциал—потенциал действия—реполяризация), которые описывались уже выше. Длительность фазы реполяризации составляет 200—400 мсек. При редкой частоте спонтанной активности (рис. 2, 6, 7) можно отчетливо видеть, что исчезновение гиперполяризации и начало новой медленной деполяризации — процессы различные; после возвращения трансмембранной разности потенциалов к исходному уровню она некоторое время остается неизменной, и лишь затем начинается новая фаза медленной деполяризации. При высокой же частоте спонтанной активности фаза гиперполяризации после одного ПД действия и медленная деполяризация перед следующим из них сливаются в сплошной процесс.

Иногда при длительном отведении активности клетки можно наблюдать изменение в характере медленных колебаний, связанных со спонтанной активностью. Фаза реполяризации сохраняется, однако медленная деполяризация (препотенциал) исчезает полностью (рис. 3, А, 1 и А, 2).

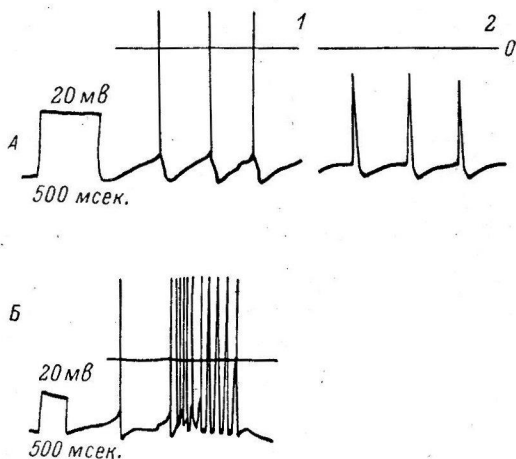


Рис. 3. Различный характер ритмической активности нейронов *Planorbis corneus*.

А — спонтанная ритмическая активность клетки в начале (1) и к концу (2) длительного отведения; наблюдается исчезновение препотенциалов (трансмембранная разность потенциалов все время была увеличена пропусканием электрического тока); Б — спонтанный ВПСР и ритмическая активность другой клетки. Калибратор совмещен с началом развертки.

По-видимому, в этих случаях происходит перемещение места генерации ПД из сомы в другую часть клетки (в аксон). Препотенциалы при этом не достигают сомы, и в нее входят лишь распространяющиеся ПД.

Синаптическое возбуждение. Синаптическое возбуждение гигантских нейронов моллюсков, как уже отмечалось в ряде исследований (Таус, 1956, 1958; Герасимов, Майский, 1963), протекает аналогично синаптическому возбуждению нейронов мозга высших животных. Аfferентная волна вызывает градуальную деполяризацию постсинаптической мембраны — возбуждающий постсинаптический потенциал (ВПСП), который при достижении критического уровня переходит в распространяющийся ПД. Такие ВПСП могут быть вызваны раздражением нервных стволиков; часто они возникают и без специального раздражения в виде нерегулярных колебаний потенциала покоя, будучи связанными в этом случае со случайным поступлением синаптической импульсации к исследуемой клетке.

Обычно ВПСП нарастает довольно круто, и ПД развивается на нем с незначительным скрытым периодом. В таких случаях не удается установить, возникает ли ПД сразу при достижении ВПСП критического уровня или ему также предшествует медленная деполяризация (препотенциал). Однако в тех случаях, когда аfferентный залп импульсов вызывает более или менее длительный ВПСП (полисинаптического типа), генерируемый им разряд носит ритмический характер; при этом отчетливо видно, что каждый ПД в нем создается таким же образом, как и при прямой деполяризации клетки — ему предшествует плавно нарастающая медленная деполяризация (рис. 3, Б).

ВПСП также изменяются при изменении трансмембранной разности потенциалов клетки, однако совершенно иначе, чем это характерно для препотенциалов при спонтанной активности. Если препотенциалы возникают лишь в сравнительно узкой оптимальной области изменений трансмембранной разности потенциалов, то ВПСП сохраняются как при самой сильной гиперполяризации (от 80 мв и выше), так и при глубокой деполяризации мембраны. Амплитуда ВПСП увеличивается пропорционально с увеличением трансмембранной разности потенциалов и достигает у гиперполяризованных клеток огромной величины. Если ВПСП достигают критической величины деполяризации, то они генерируют ПД таким же образом, как и ВПСП в нормальной клетке (рис. 2, 9—10).

Сравнение различных способов возбуждения одной и той же клетки. У некоторых нейронов критические величины деполяризации, необходимые для возникновения ПД, оказываются одинаковыми при различных способах возбуждения, например при прямом или синаптическом (Герасимов, Майский, 1963). Однако в других случаях наблюдаются существенные отличия этих величин. При этом ПД при синаптическом возбуждении возникает легче при меньшей деполяризации, чем ПД при спонтанной активности или при прямой деполяризации (рис. 4, Б, В). По-видимому, это обстоятельство связано не с какими-либо коренными отличиями в механизмах возбуждения, а с различной локализацией места возникновения медленных колебаний и потенциала действия в клетке. Известно, что в гигантских нейронах синаптические окончания расположены не на соме, а на прилежащей к ней части аксона; здесь же расположена электрически наиболее возбудимая часть клетки, в которой раньше всего возникает ПД (Таус, 1962). Поэтому при внутриклеточной регистрации из сомы отводятся лишь электротонические эффекты созданных в аксоне ВПСП, несомненно в определенной мере ослабленные пространственным фактором. ПД же при этом распространяются на сому активно, и поэтому создается впечатление, что они генерируются менее значительной синаптической деполяризацией мембраны, чем это имеет место на самом деле в аксоне. Когда медленные колебания потенциала при спонтанной активности и прямом раздражении возникают

непосредственно в соме клетки, в самом месте отведения, то они регистрируются неослабленными. Ясно, что получение таких данных не говорит о действительном различии порогов при возбуждении клетки различными путями.

Спонтанная активность, синаптическое и прямое возбуждение могут различным образом взаимодействовать друг с другом. Длительные ВПСП учащают спонтанную активность; в свою очередь ВПСП, возникающие на фоне препотенциала, легче вызывают ПД. Во время фазы реполяризации ВПСП оказываются менее эффективными.

Природа медленных колебаний, связанных с генерацией потенциала действия. Для выяснения природы медленных колебаний (препотенциала), предшествующих генерации ПД, наиболее подходящей является низкочастотная спонтанная ритмика, при которой, как указывалось выше, фазы медленной деполяризации и реполяризации хорошо разделяются. Нами было проведено измерение изменений сопротивления клеточной мембраны во время развития этих фаз с помощью посылки через поляризующий микроэлектрод стандартных гиперполяризующих толчков тока силой $1 \cdot 10^{-8}$ а и длительностью 50 мсек. В связи с большой постоянной времени нормальной мембраны нарастание анаэлектротона до максимума при толчках такой длительности

еще не заканчивается; однако применение более длительных толчков оказывается невозможным, так как они становятся соизмеримыми с длительностью фазы медленной деполяризации и реполяризации. Существенных ошибок в определении относительных изменений сопротивления клеточной мембраны это ограничение длительности толчка не вносит; при необходимости более точных измерений полное значение анаэлектротона может быть высчитано по имеющейся части кривой его нарастания.

Измерения показали, что фаза реполяризации характеризуется сниженным сопротивлением мембраны по сравнению с периодом устойчивого состояния между ними (рис. 4, Г). Это снижение сопротивления составляет примерно 20% и отражает повышенную ионную проводимость мембраны в соответствующий период. Фаза медленной деполяризации перед возникновением ПД сопровождается менее выраженным снижением сопротивления мембраны.

Для суждения о том, какие специфические изменения проницаемости создают отмеченное повышение ионной проводимости мембраны, может служить изучение зависимости электрических изменений на мембране в этот период от изменения трансмембранной разности потенциалов и концентрационных градиентов ионов. Как указывалось выше, фаза реполяризации приводит не только к восстановлению величины трансмембранной разности потенциалов в покое, но и превышает ее (истинная гиперполяризация мембраны). Трансмембранная разность потенциалов в фазу реполя-

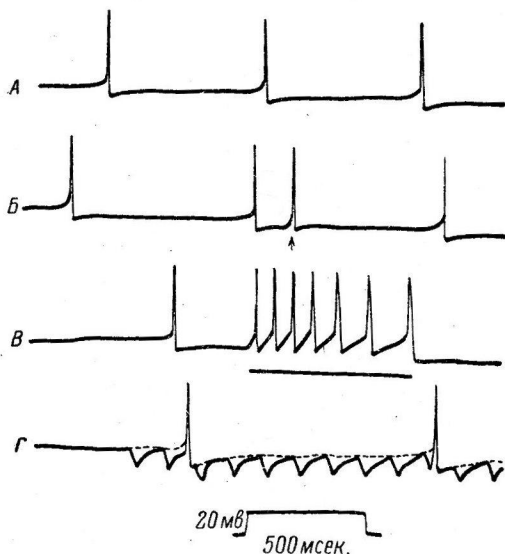


Рис. 4. Сравнение различных форм электрической активности одной и той же нервной клетки.

А, Б — спонтанная ритмическая активность (стрелкой отмечен ВПСП и созданный им потенциал действия); В — ответ на прямую деполяризацию (линией обозначена длительность стимула); Г — измерение сопротивления мембраны клетки в разные фазы спонтанной ритмической активности.

ризации достигает 50—60 мв. Искусственное изменение поляризации мембраны в ту или иную сторону в тех пределах, при которых сохраняется нормальная генерация потенциалов действия, не влияет на эту величину (рис. 2). Лишь при значительной деполяризации, нарушающей механизм генерации ПД, приводящей к уменьшению превышения последнего над нулевым уровнем потенциала покоя, фаза реполяризации также начинала нарушаться и значение трансмембранной разности потенциалов во время ее развития быстро уменьшалось. Это говорит о том, что во время фазы реполяризации проницаемость повышается лишь к ионам, потенциал равновесия которых несколько превышает трансмембранную разность потенциалов в покое и составляет 50—60 мв.

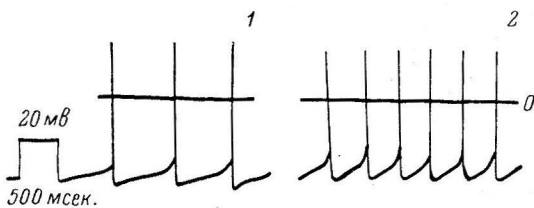


Рис. 5. Влияние повышенной концентрации ионов калия во внешнем растворе на ритмическую активность нейрона.

1 — ритмическая активность в норме; 2 — то же после увеличения концентрации калия в омывающей клетку растворе. Калибратор совмещен с началом развертки.

у *Planorbis corneus* и до 10 ммол у *Helix pomatia*, когда мембрана деполяризуется еще мало, сохраняется интенсивная спонтанная активность. При этом величина трансмембранной разности потенциалов во время максимального развития фазы реполяризации оказывается меньшей, чем в среде с нормальным содержанием ионов калия (рис. 5). Что касается медленной деполяризации, то ее крутизна увеличивается в соответствии со степенью деполяризации, вызванной увеличенным содержанием ионов калия.

Замена нормального солевого раствора раствором с таким же количеством ионов калия, но лишенным ионов хлора (путем замены их на плохо проникающие через мембрану крупные анионы) не приводила к каким-либо существенным изменениям в медленных колебаниях и в трансмембранной разности потенциалов во время фазы реполяризации.

Все это позволяет считать, что фаза реполяризации связана с повышением ионной проводимости мембраны к ионам калия («калиевой активацией»), приводящим к сдвигу трансмембранного потенциала к уровню равновесного потенциала для этих ионов; существенной активации хлорной проводимости при этом не происходит.

Медленная деполяризация (препотенциал) представляет собой сдвиг трансмембранной разности потенциалов в противоположном направлении и в этом отношении совпадает с ВПСП. Однако в отличие от ВПСП эта деполяризация обнаруживает специфическую чувствительность к изменениям ионного состава окружающей среды. В бесхлорных растворах препотенциалы развиваются совершенно нормально, в растворах же без натрия быстро наступает их замедление. Через 2—3 мин. спонтанная активность у *Planorbis corneus* прекращается полностью. При более длительном содержании в безнатриевом растворе нейроны *Planorbis corneus* постепенно деполяризуются и теряют возбудимость. На нервных клетках *Helix pomatia* в таких растворах при синаптическом или прямом раздражении оказывается возможным вызывать полноценные ПД в течение длительного времени (Герасимов, 1964), что связано с их возможностью использо-

могут быть лишь ионы калия и хлора.

Изменение калиевого концентрационного градиента у гигантских нейронов может быть проведено в небольших пределах, так как даже при сравнительно малом увеличении содержания ионов калия в наружной среде происходит чрезвычайно значительное увеличение проницаемости мембраны, ее деполяризация и потеря возбудимости (Майский, 1963).

Лишь при увеличении концентрации ионов калия до 2,5—5 ммол

вать ионы кальция в качестве переносчика зарядов через мембрану в период восходящей фазы ПД. Иногда возникают и спонтанные ПД, но в очень редком ритме. Генерации ПД предшествуют препотенциалы, однако очень медленно нарастающие.

На основании этих данных можно думать, что повышение проводимости мембраны во время медленной деполяризации отражает собой в основном градуальное нарастание проницаемости для тех же ионов, которые создают нарастающую фазу потенциала действия (ионов натрия у *Planorbis corneus* и ионов натрия и кальция у *Helix pomatia*).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Приведенные выше данные о механизме генерации потенциалов действия в гигантских нейронах *Helix pomatia* и *Planorbis corneus* совпадают с данными, полученными Арванитаки и Халазонитис (Arvanitaki, Chalazonitis, 1955, 1956) и Тауцом (Tauc, 1955, 1956, 1958) на гигантских нейронах *Aplysia*. Для нейронов *Aplysia* также весьма характерна спонтанная ритмическая активность, в основе которой лежат медленные квази-синусоидальные колебания трансмембранной разности потенциалов («activité de base» или «oscillations sousliminaires»). Когда деполяризационная фаза этих колебаний — «препотенциал» или «генераторный потенциал» — достигает определенного критического уровня, генерируется потенциал действия, за которым следует длительная фаза реполяризации (следовая гиперполяризация). Промежуточная стадия между пассивной деполяризацией и потенциалом действия — препотенциал — характерна также для прямого (Tauc, 1956) и синаптического (Arvanitaki, Chalazonitis, 1956) возбуждения гигантских нейронов *Aplysia*.

Таким образом, переход к потенциалу действия через особую форму реакции, представляющую собой локальный ответ клетки, является, по-видимому, универсальным способом возбуждения гигантских нейронов, и лишь в случаях очень резкого нарастания деполяризации генерация максимального потенциала действия может происходить настолько быстро, что локальные ответы практически сливаются с ним. В этом отношении гигантские нейроны моллюсков отличаются от сомы нейронов высших животных, у которых локальные ответы типа препотенциалов хотя и наблюдаются (Костюк, Семенютин, 1964), но менее регулярно; очень часто, в особенности при синаптическом возбуждении, потенциалы действия развиваются сразу от уровня ВПСП без каких-либо признаков переходного процесса.

Процессы в гигантских нейронах в этом отношении ближе к тем явлениям, которые развиваются при прямом раздражении немиелинизированных нервных волокон и перехватов Ранье миелинизированных нервных волокон (Hodgkin, 1938; Castillo, Stark, 1952; Ходоров, 1962).

Значительная чувствительность препотенциалов к содержанию ионов натрия в окружающей среде позволяет думать, что деполяризация мембраны в этот период связана с постепенным повышением ее проницаемости к этим ионам. То же самое известно и в отношении медленно нарастающей деполяризации (генераторного потенциала) в других образованиях, способных к автоматической активности, например, в волокнах синусного узла сердца (Draper, Weidmann, 1951), поперечнополосатых мышечных волокнах в бескальциевых растворах (Костюк, Сорокина, Шаповалов, 1959), гладких мышечных волокнах (Bülbring, Kuriyama, 1963). Конечно, сам по себе этот факт еще не говорит о том, что изменение натриевой проницаемости является единственным механизмом создания препотенциалов. В отношении генераторных потенциалов в сердце высказываются, например, и другие предположения (Weidmann, 1956). Механизм мембранной неустойчивости, приводящей к периодическим колебаниям ионной проницаемости, и природа его зависимости от трансмембранной разности по-

тенциалов тем более остаются пока неясными. Эти колебания происходят и тогда, когда механизм генерации потенциалов действия полностью исключен; следовательно, периодичность их не связана с сочетанием препотенциалов и следовых изменений после потенциала действия. Однако появление пика оказывает существенное влияние на периодичность — развивающиеся после него повышение калиевой проницаемости и соответствующий сдвиг трансмембранной разности потенциалов в сторону равновесного потенциала для ионов калия снижают на довольно длительный период возбудимости клетки, затрудняют развитие очередного препотенциала и тем самым удерживают ритмику на весьма низком уровне.

ВЫВОДЫ

1. Как прямая, так и синаптическая деполяризация сомы нейрона вызывает всегда однотипный ответ — ритмический разряд потенциалов действия. При пороговой силе тока этот разряд имеет равномерную частоту, с усилением тока частота увеличивается только в первый момент деполяризации, а затем постепенно урежается.

2. Возникновению каждого потенциала действия предшествует фаза медленно нарастающей деполяризации (препотенциал); лишь при круто нарастающей синаптической деполяризации препотенциал становится незаметным. После окончания потенциала действия возникает фаза реполяризации мембраны, во время которой трансмембранная разность потенциалов на несколько милливольт превышает потенциал покоя.

3. Фаза реполяризации характеризуется сниженным по сравнению с покоем (до 20%) сопротивлением мембраны. Это снижение сопротивления связано, по-видимому, с повышением проводимости мембраны для ионов калия. Во время препотенциала сопротивление мембраны снижается меньше.

ЛИТЕРАТУРА

- Герасимов В. Д., Физиолог. журн. СССР, 50, № 4, 457, 1964.
 Герасимов В. Д., В. А. Майский, Физиолог. журн. СССР, 49, № 9, 1099, 1963.
 Костюк П. Г., И. П. Семенютин, Биофизика, 6, в. 4, 448, 1961.
 Костюк П. Г., З. А. Сорокина, А. И. Шаповалов, Биофизика, 4, в. 3, 310, 1959.
 Майский В. А., Физиолог. журн. СССР, 49, № 12, 1468, 1963.
 Ходоров Б. И., Усп. соврем. биол., 54, 333, 1962.
 Arvanitaki A., N. Chalazonitis, Arch. Sci. Physiol., 9, 115, 1955; 10, 95, 1956.
 Bülbring E., H. Kuriyama, Journ. Physiol., 166, 29, 1963.
 Castillo J. del, L. Stark, Journ. Physiol., 118, 207, 1952.
 Draper M. H., S. Weidmann, Journ. Physiol., 115, 74, 1951.
 Hagiwara S., K. Kusano, N. Saito, Journ. Physiol., 155, 470, 1961.
 Hagiwara S., N. Saito, Journ. Physiol., 148, 161, 1959.
 Hodgkin A. L., Proc. Roy. Soc. Lond., 126, 87, 1938.
 Omura Y., S. Ozaki, T. Maeno, Nature, 191, 1265, 1961.
 Tauc L., Journ. de Physiol., 47, 769, Paris, 1955; 48, 715, 1956; Arch. ital. Biol., 96, 78, 1958; Journ. Gen. Physiol., 45, 1077, 1962.
 Weidmann S. Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser. Bern—Stuttgart, 1956.

Поступило 31 I 1964

PECULIARITIES IN GENERATION OF ACTION POTENTIALS IN THE GIGANT NEURONES OF MOLLUSCS

By V. D. Gerasimov, P. G. Kostyuk and V. A. Maiski

From the Laboratory for General Physiology, A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Ukr. SSR Acad. Sci., Kiev

УДК 612.825.54+612.84+612.827

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ СУКЦИНОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ
В МИТОХОНДРИЯХ НЕВРОНОВ СЛУХОВОЙ И ЗРИТЕЛЬНОЙ
КОРЫ И МОЗЖЕЧКА В УСЛОВИЯХ ОТНОСИТЕЛЬНОГО ПОКОЯ
И АДЕКВАТНОГО СТИМУЛИРОВАНИЯ

Я. А. Винников, И. Л. Жинкин и С. А. Щуколоков

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

Как показал ряд исследований, активность окислительных ферментов в митохондриях самых разнообразных клеток, в том числе рецепторных и нервных, обнаруживает при их стимулировании определенные качественные сдвиги (Винников и Титова, 1959, 1961, 1962; Винников и сотр., 1960; Островский, 1961; Лукашевич, 1962; Бронштейн, 1962; Бронштейн и Крестинская 1961; Коган 1962). При этом наблюдается пространственное передвижение митохондрий в теле клетки, их округление и набухание, а также, что в особенности важно, их более интенсивная импрегнация фармазаном при инкубировании в растворах тетразолиев. Последнее, обычно, расценивается как показатель повышения ферментативной активности. Затем, как правило, ферментативная активность падает, митохондрии отбухают и наступает восстановление их первоначальной формы. Аналогичные изменения в митохондриях нейронов при изучении их рибонуклеотидов наблюдал А. Л. Шабадаш, как в условиях рентгеновского облучения (Шабадаш, 1957а, 1957б, 1958, 1961; Шабадаш, Зеликина и Аграчева, 1959, 1961), так и во время тормозных состояний ц. н. с. (Шабадаш, Зеликина и Аграчева, 1962).

В настоящей статье излагаются данные, полученные при гистохимическом исследовании ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях нейронов слуховой и зрительной коры и мозжечка в условиях относительного покоя и адекватного стимулирования органов слуха и зрения. В работе ставилась задача исследовать, в какой степени процесс возбуждения и его передача в виде импульсов в нервные клетки может быть обнаружен в их митохондриальном аппарате, в котором локализованы ферменты цикла Кребса, окислительное фосфорилирование и транспорт электронов (Грин, 1961), обеспечивающие протекание основных энергетических процессов.

МЕТОДИКА

Были проделаны две серии опытов на морских свинках. В первой серии животные подвергались в специальной камере звуковому воздействию 1500 или 300 гц, 95 дб, в течение 15—30 мин., 1—6 часов. Часть контрольных животных звуковому воздействию не подвергалась. Во второй серии исследовались животные после воздействия ярким ритмическим светом в течение 30 мин., или животные, адаптированные к темноте. После опыта животные немедленно обезглавливались, череп вскрывался и извлеченные участки зрительной или слуховой коры и мозжечка нарезались на срезы одинаковой толщины на замораживающем микротоме с охлажденной бритвой. Ферменты сукциноксидазной системы обнаруживались неотетразолием (НТ) по Шелтону и Шнейдеру (Shelton, Schneider, 1952) в модификации Винникова и Титовой (1960) и нитросиним тетразолием (НСТ) по Нахласу и др. (Nachlas, Tsou, Souza, Cheng, Seligman, 1957). Часть срезов обрабатывалась без прибавления экзогенного субстрата, на эндогенную активность, которая отражает суммарную активность дегидраз и связанную с ними активность эндогенных субстратов и коферментов.

В последние годы рядом авторов была предпринята попытка уточнения звеньев сукциноксидазной системы, восстанавливающих тетразолии при проведении гистохимической реакции на сукциндегидрогеназу. Как показали Нахлас, Моргулис и Зелигман (Nachlas, Margulis, Seligman, 1960), в инкубационной среде НТ получает электроны (водород) в значительной степени за счет цитохромоксидазы и только частично за счет других звеньев цепи транспорта водорода и электронов, локализованных до цитохрома С. Поэтому при проведении гистохимической реакции с помощью НТ правильно говорить не об активности сукциндегидразы, а об активности сукциноксидазной системы. Что же касается НСТ, то, как оказалось, он получает электроны (водород) от компонентов сукциноксидазной системы, расположенных в дыхательной цепи ближе к сукцинодегидразе, — по-видимому, преимущественно от кофермента Q_{10} (Nachlas, Margulis, Seligman, 1960).

Следовательно, окислительные ферменты, выявляемые при помощи НТ и НСТ (сукцинат-НТ-редуктаза и сукцинат-НСТ-редуктаза), в большей или меньшей степени включают как активность сукциндегидразы, так и активности цитохромоксидазы, которые в совокупности составляют сукциноксидазную систему (сукциноксидаза). Как известно, сукциноксидаза локализуется в мембранах митохондрий (Грин, 1964).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование слуховой и зрительной коры и мозжечка животных, находящихся в состоянии относительного покоя (для зрительной коры темнота), показало ряд интересных особенностей. Так как проведенная реакция выявляет окислительные ферменты только в митохондриях, то их обильное и более или менее равномерное распределение в цитоплазме нервных клеток хорошо очерчивает силуэт перикариона и крупные нервные отростки пирамид и звездчатых клеток (рис. 1, 2). При этом прослеживается очертание прозрачного ядра с ядрышком, естественно свободных от митохондрий. Митохондрии имеют форму вытянутых палочек или овальных зерен разной величины, которые в связи с импрегнацией отложившимся формазаном имеют сине-фиолетовый оттенок. Синаптических скоплений митохондрий вокруг тела нейрона с достоверностью проследить не удается. Как указывалось, степень интенсивности импрегнации формазаном может рассматриваться как показатель ферментативной активности. В окружающих глиальных элементах видны отдельные беспорядочно разбросанные мелкие митохондрии со слабой ферментативной активностью. Эти мелкие митохондрии глиальных клеток в совокупности образуют диффузный фон, на котором резко выделяются тела отдельных пирамид.

Главная особенность, которая бросается в глаза на срезах через мозговую ткань, это неоднозначная активность фермента сукциноксидазной системы в митондриях разных нейронов. Одни из них отличаются практически полным отсутствием отложения формазана внутри митохондрий, другие напротив, весьма интенсивным отложением формазана. Но и в этих последних, судя по разной интенсивности отложения, ферментативная активность отдельных митохондрий весьма варьирует. Наибольшее число нейронов с высокой ферментативной активностью, как правило, обнаруживается в области 4-го и отчасти 6-го слоев как слуховой, так и зрительной коры. Таким образом, если считать, что ферментативная активность митохондрий в какой-то степени отражает функцию нейронов, то можно прийти к выводу, что в данный отрезок времени, в условиях так называемого относительного покоя, функционируют далеко не все нервные клетки, а какая-то определенная, незначительная их часть. Такое же незначительное число нейронов обнаруживается при исследовании эндогенной ферментативной активности, которая выявляется без добавления экзогенного субстрата. Эндогенная активность в митондриях нервных клеток, как правило, всегда слабее по сравнению с активностью сукциноксидазы.

Совсем другая картина наблюдается в мозжечке. Весьма высокая ферментативная активность сукциноксидазы отчетливо прослеживается в митондриях клеток Пуркиньи и в нейронах зубчатого ядра. При этом образуются тела всех нервных клеток, попавших в срез (рис. 3, 4). В элементах зернистого слоя ферментативная активность более умеренна.

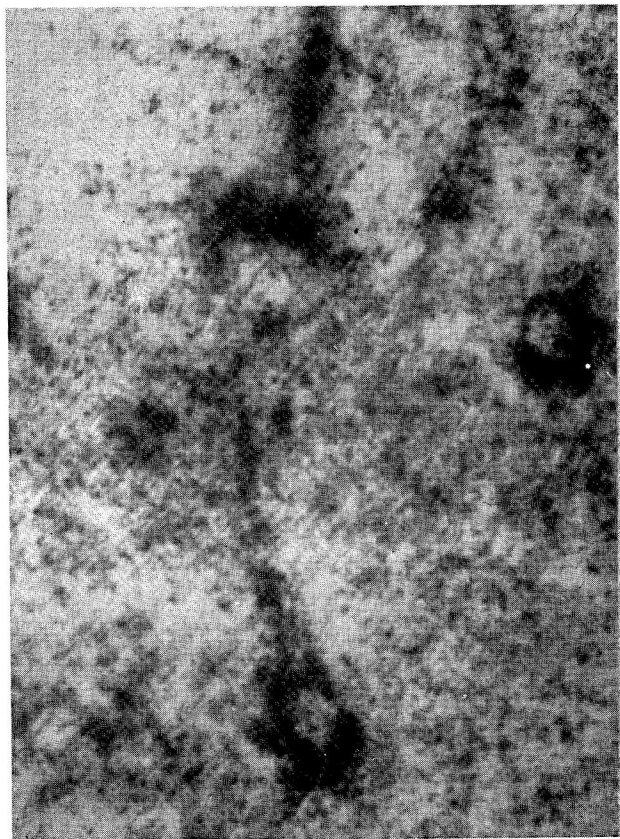


Рис. 1. Активность ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях пирамидных клеток 4-го слоя слуховой коры морской свинки, находившейся в состоянии относительного покоя. (На этом и рис. 4—6 дано иммерсионное увеличение).

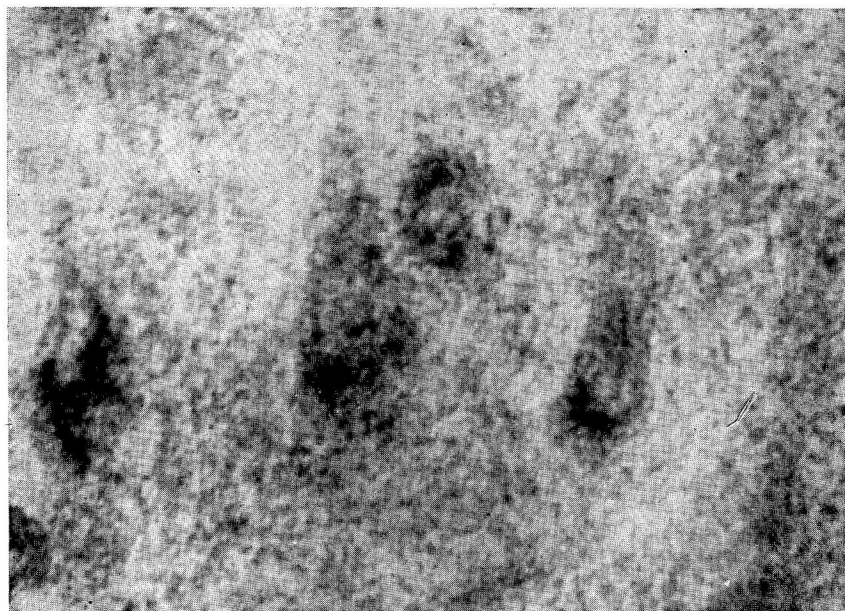


Рис. 2. Активность ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях пирамидных клеток 4-го слоя зрительной коры морской свинки, находившейся в состоянии относительного покоя

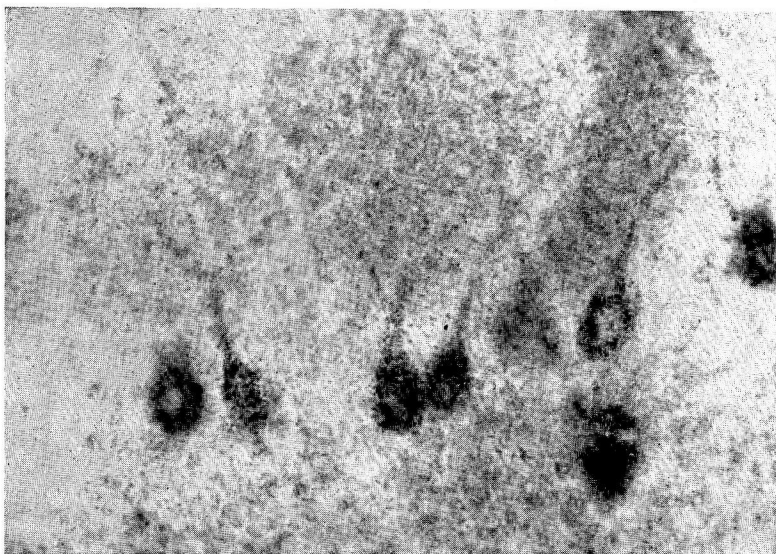


Рис. 3. Активность ферментов сукцинооксидазной системы в митохондриях клеток Пуркинье мозжечка морской свинки, находившейся в состоянии относительного покоя. (Ок. 10, об. 40).



Рис. 4. Активность ферментов сукцинооксидазной системы в митохондриях нейронов зубчатого ядра морской свинки, находившейся в состоянии относительного покоя.

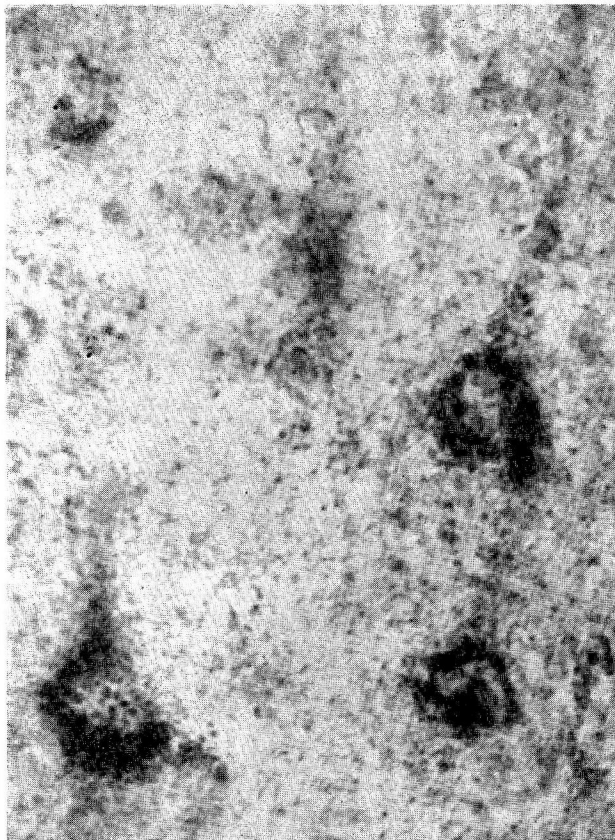


Рис. 5. Активность ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях пирамидных клеток 4-го слоя слуховой коры морской свинки после звукового воздействия 1500 гц 95 дб. в течение 30 мин.

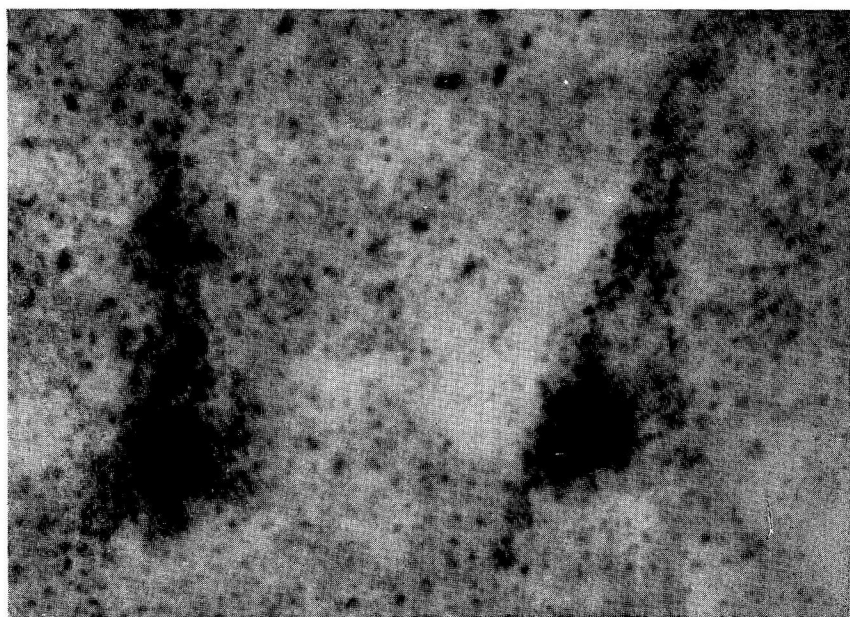


Рис. 6. Активность ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях пирамидных клеток 6-го слоя зрительной коры морской свинки после воздействия ярким ритмическим светом в течение 30 мин.

Аналогичный характер имеет и эндогенная активность. Таким образом, в противоположность коре головного мозга, в которой в единицу времени ферментативная активность обнаруживается только в отдельных пирамидах, в мозжечке все клетки Пуркиньи и нейроны зубчатого ядра обладают постоянной весьма высокой активностью ферментов сукциноксидазной системы. Можно думать, что указанная закономерность в какой-то степени отражает различие функций этих частей головного мозга (Винников и Титова, 1960, 1961).

Через 30 мин. или 1 час воздействия звуков интенсивностью в 95 дБ независимо от применявшейся частоты (1500 и 300 гц) наблюдается демонстративное усиление ферментативной активности в митохондриях отдельных нейронов, главным образом 4-го и отчасти 6-го слоя слуховой области коры (рис. 5). Оно сопровождается перераспределением митохондрий в теле клетки. Митохондрии надвигаются на ядро, образуют отдельные скопления и часто выстраиваются в цепочки, которые наиболее четко прослеживаются на периферии клеточного тела и в его отростках. В связи с набуханием митохондрии округляются, интенсивность импрегнации формазана резко возрастает. Тут же следует оговориться, что число нейронов с измененнейшей ферментативной активностью сукциноксидазы в общем не превышает числа нервных элементов, обнаруживаемых на срезах в контроле, т. е. полученных от животных, находящихся в условиях относительного покоя. Это же относится и к эндогенной активности. Нам не удалось проследить в той или другой части слуховой коры какого-нибудь местного увеличения количества нейронов с измененной ферментативной активностью в зависимости от применявшихся звуковых частот, которые бы отражали локализацию звукового восприятия, отмеченную для центральной части слухового анализатора (Tunturi, 1959, 1960; Woolsey, 1960). Может быть, в этом отношении нужны дополнительные исследования.

Через 2—4—6 час. звукового воздействия наблюдается несомненное падение ферментативной активности в митохондриях большинства описанных нейронов. Оно сопровождается отбуханием и восстановлением их первоначальной формы. Одновременно наблюдаются пирамиды с достаточно высокой активностью сукциноксидазы, мало чем отличающиеся по сравнению с контролем. Это же относится и к эндогенной активности.

В зрительной коре животных, адаптированных в темноте, т. е. практически находящихся в состоянии относительного покоя, обнаруживаются силуэты пирамидных клеток главным образом в области 4-го слоя с отчетливой активностью сукциноксидазы в митохондриях (рис. 2). Митохондрии густо заполняют перикарион, оставляя свободным ядро и располагаясь более рыхло в отростках. В окружающей глиальной ткани также обнаруживаются митохондрии с умеренной ферментативной активностью. Синаптических скоплений митохондрий выявить не удается. В зрительной коре, так же как и в слуховой, активность сукциноксидазы прослеживается в митохондриях далеко не всех нейронов. Аналогичные картины обнаруживаются на срезах, обработанных на эндогенную активность. В зрительной коре эндогенная активность была значительно слабее по сравнению с сукциноксидазой.

При воздействии ярким ритмическим светом в течение 30 мин. наблюдается повышение активности ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях пирамидных клеток зрительной коры главным образом на уровне 4-го слоя (рис. 6). Митохондрии перераспределяются в цитоплазме, надвигаясь на ядро или образуя отдельные густые скопления. В отростках митохондрии выстраиваются в правильные цепочки. При этом митохондрии округляются, набухают и более избирательно откладывают формазан. Однако, как и в контроле, т. е. у животных адаптированных к темноте, наряду с пирамидами, отличающимися повышенной ферментативной активностью, имеются клетки со слабой активностью или с полным

ее отсутствием. При обработке срезов зрительной коры на эндогенную активность после светового воздействия в общем наблюдаются сходные закономерности, хотя общая ферментативная активность митохондрий более умеренна по сравнению с активностью сукцинооксидазы. Перенесение животного после светового воздействия в темноту уже через 30—45 мин. приводит к тому, что ферментативная активность в митохондриях нейронов зрительной коры возвращается к той, которая была описана выше для условий темновой адаптации. В мозжечке, в митохондриях клеток Пуркиньи и нейронов зубчатого ядра при звуковых или световых воздействиях на животное не удавалось обнаружить сдвигов ферментативной активности сукцинооксидазы. Ее уровень оставался столь же высоким, как и у контрольных животных. Это же относится и к эндогенной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты в сопоставлении с литературными данными позволяют думать, что функциональное состояние клетки в целом связано с энергетическими процессами в ее митохондриях.

А. Л. Шабдаш и сотр. (1962) при исследовании тормозного состояния нейронов отмечают, что наряду с изменением содержания рибонуклеотидов в митохондриях происходит набухание митохондрий, которые образуют характерные цепочки. Аналогичные цепочки митохондрий наблюдаются в синапсах волосковых клеток при адекватном стимулировании лабиринта (Винников и Титова, 1962). А. Б. Коган (1962), используя модификацию метода Винникова и Титовой (1961), показал изменение характера сукцинооксидазной активности в митохондриях нейронов коры при различных на нее воздействиях; изменение митохондриального аппарата сопровождалось изменением биоэлектрической активности коры. В других опытах воздействием электрического тока сопровождалось изменением активности сукцинооксидазы в митохондриях спинальных нейронов (Бронштейн и Крестинская, 1961) и в нейронах двигательного анализатора в коре (Винников и Титова, 1959; Винников и сотр., 1960). Наконец, Хьюден и сотр. (Hyden, Lange, 1960; Hyden, Pigon, 1960; Egyhazi, Hyden, 1962) при помощи количественных исследований изолированных нервных и глиальных клеток ядра Дейтерса также показали сдвиги активности сукцинооксидазы в зависимости от адекватного стимулирования преддверия лабиринта.

Приведенные данные, которые пока еще немногочисленны, все же свидетельствуют о том, что обнаруженные нами изменения в структуре и ферментативной активности митохондрий каким-то образом связаны с функцией нейронов, которая сопровождается изменением энергетических процессов в митохондриях — по крайней мере на уровне транспорта электронов (водорода). Об этом можно судить по изменению формы митохондрий и интенсивности отложения формазана. Что касается окислительного фосфорилирования и цикла Кребса, то в этом отношении нужны специальные исследования, так как об их изменениях мы можем судить только косвенно.

Обнаруженные качественные сдвиги активности сукцинооксидазы в митохондриях отдельных нейронов слуховой и зрительной коры при адекватном стимулировании органов слуха и зрения интересно сопоставить с результатами изучения сукцинооксидазной системы в Кортиевом органе (Винников и Титова, 1958, 1961) и в фоторецепторах сетчатки (Лукашевич, 1960, 1962; Островский, 1961). В волосковых клетках Кортиева органа при аналогичных условиях стимуляции набухание митохондрий и повышенные активности сукцинооксидазы наблюдалось на нижних завитках улитки при высоких звуковых частотах (1500 гц, 95 дб), а на верхних завитках при низких звуковых частотах (300 гц, 96 дб). В фоторецепторах сетчатки световое воздействие (по сравнению с темновой адаптацией) приводит

к набуханию митохондрий эллипсоидов и к повышению в них активности сукцинооксидазы и некоторых других окислительных ферментов. Таким образом, изменения функционального состояния периферических частей слухового и зрительного анализаторов, сигнализируемое по проводникам в центральные их части, сопровождаются одинаковыми цитохимическими сдвигами в митохондриях как рецепторных клеток, так и нейронов коры.

Бросается в глаза то обстоятельство, что если в периферических частях анализатора, как правило, одновременно функционирует большое число элементов — целые завитки улитки или большие участки сетчатки, — то в центральных частях анализатора аналогичные процессы обнаруживаются только в незначительном числе нейронов. Это явление мозаичности ферментативной активности, несомненно, свидетельствует о неравноценности энергетических процессов в единицу времени, не только для отдельных нейронов, слоев, но, может быть, и для разных частей коры в целом.

Другие закономерности должны быть отмечены для мозжечка. Как это было отмечено Винниковым и Титовой (1959), Винниковым и сотр. (1960), а затем и другими исследователями (Geoscharov, 1961a, 1961b), ферментативная активность сукцинооксидазы в митохондриях клеток Пуркинье и других нейронов мозжечка отличается своей большой величиной и постоянством. Следовательно, энергетические процессы, связанные с транспортом электронов (водорода) и, по всей вероятности, с окислительным фосфорированием и циклом Кребса в митохондриях всех нейронов мозжечка, отличаются по своей интенсивности по сравнению с нейронами коры. Следует также указать, что адекватное стимулирование коры не отражается на мозжечке, насколько это можно судить на основании примененной методики. Высокая активность сукцинооксидазы в нейронах клеток Пуркинье и в нейронах зубчатого ядра, по-видимому, отражает своеобразие функции мозжечка (Карамян, 1956). Это может быть также связано со структурными и химическими особенностями митохондрий нейронов коры и мозжечка. В этом направлении нужны дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Бронштейн А. А., ДАН СССР, 142, 4, 936, 1962.
 Бронштейн А. А., Т. Н. Крестинская, Арх. анат., гистолог., эмбриол., 40, 5, 39, 1961.
 Винников Я. А., Л. К. Титова, ДАН СССР, 122, 5, 921, 1958; в кн.: Пластические и восстановительные процессы, 32. Медгиз, М., 1959; в кн.: Кортиев орган. Изд. АН СССР, 1961; ДАН СССР, 142, 4, 484, 1962.
 Винников Я. А., Л. К. Титова, А. А. Бронштейн, Т. Н. Крестинская и Т. П. Лукашевич. В сб.: Вопросы цитологии и общей физиологии, 61. Изд. АН СССР, 1960.
 Грин Д. Е. Структура и функция субклеточных частиц. (Пленарная лекция на V Межд. биох. конгр.). Изд. АН СССР, 1961.
 Диксон М., Э. Уэбб. В кн.: Ферменты. Изд. ИЛ, М., 1961.
 Карамян А. И. В кн.: Эволюция функций мозжечка и больших полушарий головного мозга. Медгиз, Л., 1956.
 Коган А. Б., ДАН СССР, 147, 4, 985, 1962.
 Лукашевич Т. П., I Конф. по вопр. цито- и гистохимии, 91, 1960, ДАН СССР, 145, 3, 669, 1962.
 Островский М. А., Журн. общ. биол., 6, 471, 1961.
 Шабаташ А. Л. В сб.: Вопросы биохимии нервной системы, 231. Изд. АН СССР, Киев, 1957a; ДАН СССР, 114, 3, 658, 1957b; Арх. анат., гистолог., эмбриол., 35, 1, 3, 1958; Тез. докл. VI Всесоюз. съезда анатомов, гистологов, эмбриологов, 98, Киев, Харьков 1958; Радиобиология, 1, 2, 212, 1961.
 Шабаташ А. Л., Т. Н. Зеликина, Н. Д. Аграчева, ДАН СССР, 128, 6, 1290, 1959; ДАН СССР, 136, 1, 222, 1961; Радиобиология, 1, 1, 42, 1961; ДАН СССР, 145, 3, 657, 1962.
 Eghazi A., Journ. of Biophys. a Biochem. Cytology, 10, 3, 403, 1961.
 Hyden H. The neuron. In: The Cell Biochem. Physiol., Morphol. Ed. by Brachet a. Mirsky, Berg. Press, 1961; Endeavour, 21, 83, 144, 1962.
 Hyden H. a. A. Eghazi, Journ. of Cell Biol., 15, 1, 87, 1962.
 Hyden H., P. Lange, IV Intern. Neurochem. Symposium, Perg. Press, 190, 1960.
 Hyden H., A. Pigon, Journ. of Neurochem., 6, 1, 57, 1960.

- Nachlas M., R. Tsou de, E. Souza, C. Cheng, A. Seligman, M. Nachlas, S. Margulis, *Journ. of Histochem. a. Cytochem.*, 5, 4, 420, 1957.
- Seligman A., *Journ. Biol. Chem.*, 235, 9, 249, 1960.
- Pearse A. The structure of the eye. *Acad. Press*, 53, 1961.
- Shelton E., W. Schneider, *Anat. Record*, 112, 61, 1952.
- Teocharov B., *Comptes rendus de l'Acad. bulgare des Sciences*, 14, 8, 851, 1961a; *Comptes rendus de l'Acad. bulgare des Sciences*, 14, 7, 755, 1961b.
- Tunturi A., *Am. Journ. Physiol.*, 15, 4, 779, 1959; In: *Neural mechanism of the audit. a. vestib. systems*, 181. *Acad. Press*, 1960.
- Wattenberg I., J. Leong, C. Woolsey, *Journ. Histochem a. Cytochem.*, 8, 4, 296, 1960; In: *Neural mechanism of the audit. a. vestib. systems*, 165, *Acad. Press*, 1960.

Поступило 5 V 1963

ENZYMATIC ACTIVITY OF SUCCINEOXYDASE SYSTEM IN
MITOCHONDRIA FROM NEURONES OF AUDITORY AND VISUAL CORTEX
AND CEREBELLUM UNDER CONDITIONS OF RELATIVE REST AND
ADEQUATE STIMULATION

By J. A. Vinnikov, I. L. Zhinkin and S. A. Shukoliukov

From the I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

ДАЛЬНЕЙШЕЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕДЛЕННЫХ И БЫСТРЫХ
МЫШЕЧНЫХ СИСТЕМ У ЛЯГУШКИ

Н. Ф. Скоробовичук и Н. А. Чиждова

Лаборатория сравнительной физиологии института им. А. А. Ухтомского
Ленинградского государственного университета

С конца 40-х годов в литературе накапливается все больше сведений о том, что тоничность той или иной мышцы лягушки придается наличием в этой мышце особых медленных мышечных волокон, иннервируемых тонкими нервными волокнами (гамма-волоками). Эти медленные (тонические) мышечные волокна характеризуются: 1) наличием нескольких нервных окончаний на поверхности каждого волокна; 2) неспособностью к быстрому распространению возбуждения — сократительный механизм активируется в нескольких точках волокна за счет местных синаптических потенциалов; 3) высокой пластичностью; 4) большой суммационной способностью — отчетливый сократительный ответ наблюдается лишь при ритмическом раздражении; 5) способностью реагировать местной контрактурой на приложение ацетилхолина (Скоробовичук, 1964).

Тоническим прибором лягушки, чаще всего используемым в экспериментах, является так называемый «тонический пучок» *m. ileofibularis* с ветвью седалищного нерва, получаемый путем выделения более интенсивно окрашенной части мышцы. Однако такой препарат наряду с небольшим количеством тонических двигательных единиц содержит очень много нетонических, и соответственно его реакция на раздражение является смешанной, что затрудняет работу с ним.

В лаборатории Е. К. Жукова был описан препарат, приготовляемый из *m. ileofibularis* путем перерезки нервной веточки, иннервирующей быструю часть этой мышцы (Хуан И-мин, 1960). При раздражении нервных волокон, оставшихся неперерезанными, наблюдается типично тоническое сокращение и не удается зарегистрировать мышечного ответа при одиночных раздражениях нерва. При ритмическом раздражении сокращение развивается медленно (в течение секунд) и также медленно происходит расслабление мышцы после прекращения раздражения. По данным Хуан И-мина, во время тонического сокращения мышцы регистрируются местные низковольтные потенциалы, не имеющие характера спайка.

На основании этих данных можно предполагать, что остающаяся неперерезанной нервная веточка, входящая в область тонического пучка мышцы, состоит только из тонких нервных волокон, иннервирующих медленные мышечные волокна, результатом деятельности которых и является медленное сокращение.

Однако морфологическое исследование нервной веточки препарата Хуан И-мина показало, что в ее состав входят и толстые нервные волокна, которые не могут быть целиком отнесены к афферентной системе (Федоров, 1964). Это, естественно, наводит на мысль о наличии в описанном препарате быстрых двигательных единиц.

Вместе с тем можно было ожидать, что быстрые двигательные единицы препарата Хуан И-мина будут отличаться некоторыми особенностями, так как препарат в целом характеризуется тоническими свойствами. Целью данной работы и являлась проверка высказанного предположения.

МЕТОДИКА

Исследование проводилось на препарате Хуан И-мина, приготовляемом из *m. ileofibularis* травяной лягушки. Препарат приготовлялся путем последовательной перерезки нервных веточек, на которые распадается общая ветвь седалищного нерва, идущая к подвздошно-малоберцовой мышце. Прекращение продолжалась до тех пор

пока не исчезал быстрый сократительный ответ мышцы на приложение пробного одиночного раздражения к седалищному нерву. Сохранность препарата проверялась по наличию медленного сократительного ответа на ритмическое раздражение. По окончании препаровки препарат в течение часа выдерживался в растворе Рингера. Всего было использовано 38 препаратов.

В ряде опытов производилась одновременная регистрация сокращения и мышечных потенциалов, в большинстве случаев записывалась только электрическая активность мышцы. Потенциалы записывались с помощью шлейфного осциллографа МПО-2. Использовался усилитель переменного тока с линейной частотной характеристикой в пределах от 0.2 до 2000 гц.

Раздражающие серебряные электроды прикладывались к седалищному нерву. Для раздражения использовался генератор прямоугольных импульсов с радиочастотным выходом. Длительность раздражающих импульсов равнялась 0.1 мсек. Сила раздражения в 2—3 раза превосходила максимальную. Мышечные потенциалы отводились кисточными электродами (серебряная проволока — гарусная нить, смоченная раствором Рингера). Один из отводящих электродов располагался на сухожилии, по возможности дальше от тонического пучка, другой мог свободно передвигаться вдоль пучка. Сокращения записывались изотоническим миографом при вертикальном расположении мышцы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наши опыты, в соответствии с данными Хуана И-Мина, показывают, что на одиночные или редкие ритмические раздражения (до 5—8 в 1 сек.) седалищного нерва исследуемый препарат никогда не отвечает сокращениями такой величины, которые можно было бы зарегистрировать с помощью миографа. На рис. 1, а видно, что раздражение с частотой 4 в 1 сек. является неэффективным. При наблюдении под стереоскопическим микроскопом (увеличение $\times 16$) в 50% случаев сокращение также не обнаруживается, в остальных 50% опытов при одиночных раздражениях нерва можно было видеть легкие подергивания мышечных волокон, входящих в состав тонического пучка мышцы. В том случае, когда видимые сокращения полностью отсутствуют, от тонического пучка отводятся лишь местные синаптические потенциалы. Они имеют характерную форму, амплитуду в пределах 50 мкв и регистрируются только при определенных положениях передвигного отводящего электрода на тоническом пучке (рис. 1, б). При наличии подергиваний в тоническом пучке регистрируется очень слабая пиковая электрическая активность (рис. 1, в). Отчетливый сократительный ответ тонического типа от препарата Хуана И-мина удается получить только при достаточно частом ритмическом раздражении двигательного нерва. На рис. 1, а видно, как плавно поднимается кривая сокращения при изменении частоты раздражения с 4 на 40 в 1 сек. При этом от тонического пучка всегда отводятся пиковые потенциалы (рис. 1, г). Однако на некоторых препаратах и при ритмическом раздражении от тонического пучка удается отвести только синаптические потенциалы. В этом случае с помощью микроскопа можно видеть сокращение, протекающее в форме медленного слабого стягивания мышечных волокон. Зарегистрировать такое сокращение миографически не удается.

При переходе от редкого (одиночного) раздражения к частому мышечные спайки возникают не сразу, а с некоторой задержкой (рис. 3, а). Эта задержка тем больше, чем ниже частота ритмического раздражения. Так, в одном из опытов при переходе от одиночных раздражений к частоте 10 в 1 сек. задержка равнялась 6 сек. при переходе к частоте 25 в 1 сек. — 2.5 сек., к частоте 40—70 в 1 сек. — всего лишь 200—50 мсек. Возникающие при этом пики образуют «лестницу», которая сильнее выражена при редком ритме. При обратном переходе от частого раздражения к редкому в течение некоторого времени (больше секунды) сохраняется высокая спайковая активность, т. е. проявляется сильно выраженная посттетаническая потенция (рис. 2).

Действие *d*-тубокурина. Исследуемый нервно-мышечный препарат погружался в рингеровский раствор с добавлением *d*-тубокурина. Концентрация курина составляла $5 \cdot 10^{-6}$. На время

отведения потенциалов мышца приподнималась над раствором. Электрическая активность мышцы регистрировалась в разные сроки после начала

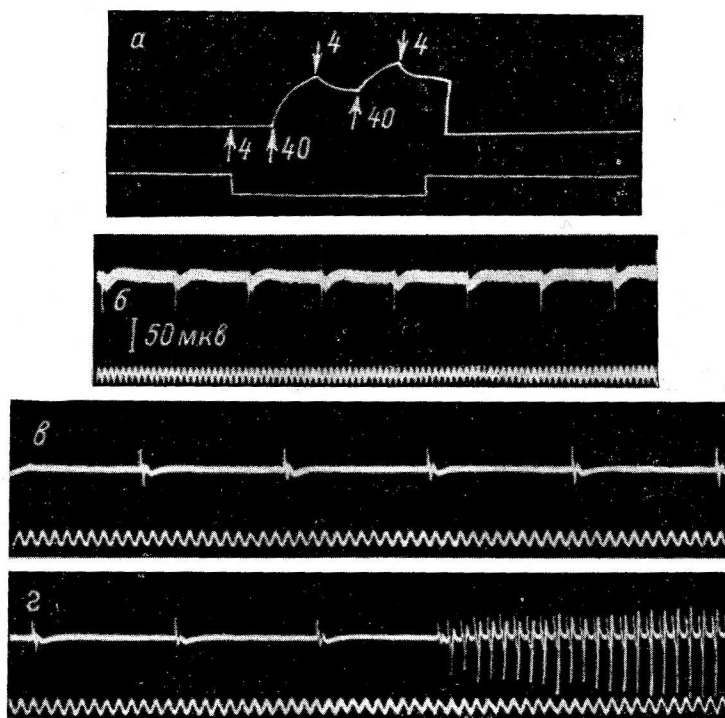


Рис. 1. Запись сокращения и мышечных потенциалов «тонического» препарата Хуана И-мина.

а: верхняя линия — кривая сокращения (стрелками обозначены моменты изменения частоты раздражения), нижняя линия — отметка раздражения; б — электрический ответ мышцы на редкое раздражение (4 в 1 сек.) при полном отсутствии сокращений; в — электрический ответ мышцы (4 в 1 сек.) при наличии подергиваний в отдельных волокнах; г — мышечные потенциалы при переходе частоты раздражения от 4 в 1 сек. к 40 в 1 сек.

кураризации. При одиночных раздражениях, когда в норме регистрируются только синаптические потенциалы, действие курарина проявляется в постепенном снижении этого потенциала по мере углубления действия

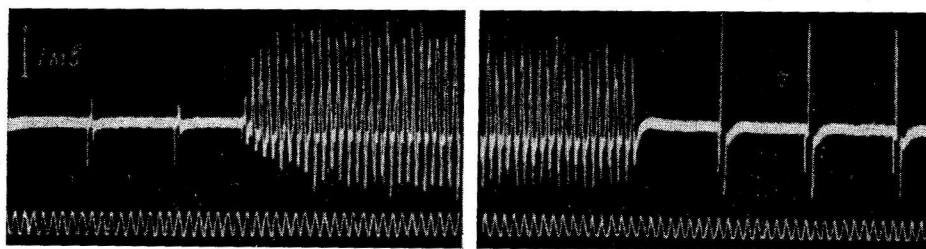


Рис. 2. Мышечные потенциалы «тонического» препарата при переходе от редкого раздражения к частому и обратно. Между кадрами пропуск — 1.2 сек.

яда. При переходе к ритмическому раздражению на отравленной курарином мышце появление пиков затрудняется. При неглубоком отравлении, как это видно на рис. 3, время от начала частого раздражения до возникновения пиков значительно увеличивается; в течение этого времени наблю-

дается постепенное увеличение синаптического потенциала, т. е. явление потенциации оказывается более выраженным, чем в норме. Углубление кураризации приводит к невозможности получить пиковую активность даже при длительном частом раздражении.

Действие прозерина. Благодаря многочисленным работам А. Г. Гинецинского и его сотрудников установлено, что антихолинэстеразные препараты (эзерин, прозерин и др.) оказывают разное действие на тонические и нетонические мышечные волокна. Отравление этими ядами нетонических мышечных волокон приводит к ускорению развития пессимума при непрямом ритмическом раздражении, в то время как тонические волокна реагируют усилением контрактуры. Мы решили посмотреть

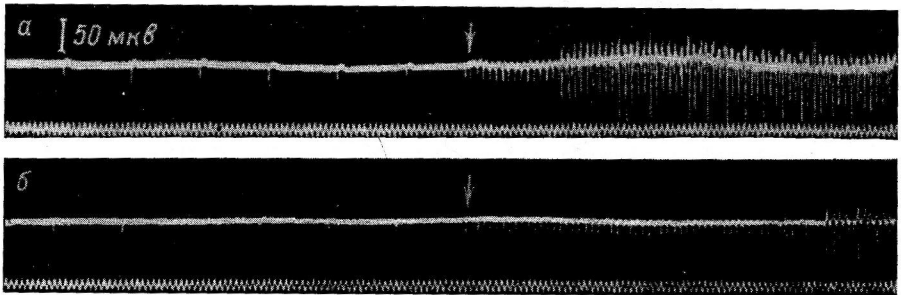


Рис. 3. Изменение мышечных потенциалов «тонического» препарата под влиянием *d*-тубокурарина. В момент, обозначенный стрелкой, редкий ритм раздражения сменяется частым.

а — норма при редкой стимуляции регистрируются артефакты раздражения и слабые синаптические потенциалы, которые увеличиваются и переходят в спайки при учащении раздражения; *б* — через 13 мин. после погружения мышцы в раствор *d*-тубокурарина, при редкой стимуляции регистрируются только артефакты раздражения.

действие прозерина на исследуемый препарат. Способ воздействия прозеринном был тот же, что и при применении курарина. Мышца погружалась в раствор Рингера с концентрацией прозерина $2.5 \cdot 10^{-6}$, и по мере углубления действия прозерина проводились наблюдения за изменениями электрической активности мышцы в ответ на раздражение.

При достаточно частом ритмическом раздражении на которое в норме мышца отвечает устойчивой серией пиков, действие прозерина на исследуемый препарат оказывается аналогичным его действию на быстрые системы: при дрящемся раздражении мышечные потенциалы быстро снижаются, т. е. быстро развивается пессимум. После длительного выдерживания в растворе прозерина наблюдается лишь начальная вспышка потенциалов.

Очень характерной является реакция прозеринизированного препарата на редкие раздражения. В тех случаях, когда препарат исходно отвечает на раздражение только синаптическими потенциалами, уже легкая прозеринизация приводит к возникновению пиковых ответов. При углублении действия прозерина в ответ на каждое раздражение возникает группа пиков, т. е. наблюдается ритмический ответ (рис. 4), характерный для прозеринизированных мышц млекопитающих (Brown, 1937).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, сокращение мышцы в препарате Хуана И-мина, которое по целому ряду признаков может быть рассматриваемо как тоническое, обусловлено деятельностью не только типично тонических мышечных волокон. Во всяком случае в нем наряду с тоническими, генерирующими только слабые синаптические потенциалы, участвуют и такие волокна, которые способны продуцировать распространяющиеся потенциалы действия. Автор недавней работы (Orkand, 1963) по целому

ряду признаков относит волокна, генерирующие спайки только при частом раздражении, к быстрой двигательной системе, иннервируемой α -мотонейронами. Свою точку зрения он противопоставляет представлению Н. М. Шамариной (1962а, 1962б) о том, что волокна тонического пучка, продуцирующие пики только при ритмическом раздражении, должны быть отнесены к медленной двигательной системе лягушки.

Однако такие факты как: 1) замедленный характер сокращения препарата при ритмическом раздражении, 2) отсутствие регистрируемого сократитель-

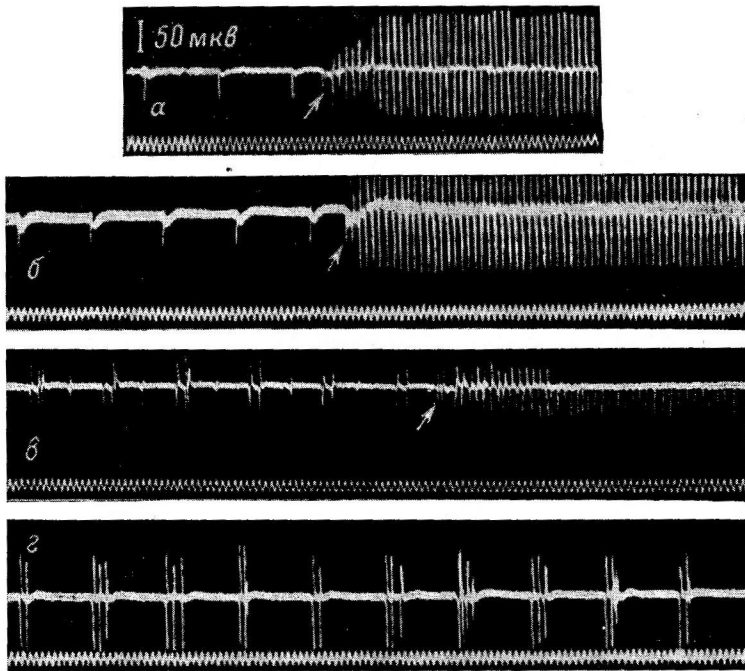


Рис. 4. Влияние прозерина на мышечные потенциалы «тонического» препарата.

а — норма; *б* — через 20 мин. после отравления прозеринном; *в* — через 30 мин. после отравления прозеринном (после исчезновения спайков сохраняются только артефакты раздражения); *г* — пример ритмической активности прозеринизированного препарата из другого опыта. На кривых *а*, *б*, *в* стрелками отмечены моменты перехода от редкого раздражения к частому.

ного ответа и пика при одиночных раздражениях, 3) чрезвычайно выраженная потенциация — говорят о том, что типичные быстрые мышечные волокна в этом сокращении не участвуют.

Как можно характеризовать исследуемые волокна по нашим данным? Эти волокна в отличие от типично тонических обладают способностью к пиковой активности, к проведению возбуждения вдоль волокна. Но по условиям возникновения пиков они отличаются и от типично быстрых волокон. По свидетельству ряда авторов (Fatt, Katz, 1951; Шаповалов, 1960, и др.), в норме лишь от некоторых быстрых волокон не удастся отвести пиковый потенциал при одиночных раздражениях. В нашем же случае в 50% исследованных препаратов пиковый ответ на одиночные раздражения отсутствует во всех волокнах, в остальных препаратах лишь незначительная часть волокон продуцирует пики. Вместе с тем эти волокна обладают чрезвычайно выраженной способностью к потенцированию синаптического ответа при ритмическом раздражении и к возникновению полноценного спайка. Возникновение пиков при не слишком частом раздражении происходит неодновременно в разных волокнах: суммарно отводи-

мый пик растет постепенно. Этим обеспечивается плавный подъем кривой сокращения, который, по-видимому, еще больше затягивается в результате деятельности типично тонических волокон, наличие которых в тоническом пучке бесспорно доказано (Kuffler, Williams, 1953; Burke, Ginsborg, 1956; Orkand, 1963).

Кураризация оказывает на изучаемые волокна такое же действие, как на быстрые, снимая пиковую активность благодаря уменьшению синаптических потенциалов. Что же касается влияния антихолинэстеразных препаратов, то прозерин при частном ритмическом раздражении ускоряет развитие пессимума, и его действие в этом отношении в наших условиях регистрации не отличается от действия на типичные быстрые волокна. Наблюдаемый же при редком раздражении пиковый ритмический ответ является весьма своеобразным. По-видимому, исследуемые мышечные волокна тонического пучка обладают особой склонностью к ритмическому реагированию на нервный импульс. Наличие ритмического ответа должно сглаживать кривую сокращения при не слишком частом раздражении и придавать ей «тонический» характер.

На основании сказанного можно понять замедленность ответа препарата Хуана И-мина на ритмическое раздражение, несмотря на присутствие в нем двигательных единиц, иннервируемых толстыми нервными волокнами, способных к пиковой активности. В последние годы в литературе накапливаются сведения о наличии в мышцах лягушки особых волокон, промежуточных по функции между быстрыми и медленными (Жуков, Леушина, 1948; Гинецинский, Несмеянова, 1956). Эти волокна названы «переходными».

В каком же отношении находятся исследуемые нами волокна к описанным в литературе «переходным»? Можно думать, что это одни и те же волокна. И те и другие обнаруживаются главным образом в боковых частях тонического пучка *m. ileofibularis* и отличаются по функции как от типично быстрых, так и от типично тонических волокон. Однако сведения о «переходных» волокнах получены в опытах с прямым воздействием на волокно электрического тока или ацетилхолина. При этом регистрировался сократительный ответ волокон, а электрическая реакция на раздражение не изучалась. На основании этих данных нельзя судить, как активизируется сократительный процесс «переходных» волокон: за счет распространяющегося потенциала, по типу местной контрактуры или с участием обоих механизмов. И наши данные, так же как данные Орканда, пока не дают ответа на этот вопрос.

Поэтому вопрос о тождестве атипичных быстрых волокон препарата Хуана И-мина с «переходными» волокнами остается не вполне решенным и его решение требует дальнейших исследований.

ВЫВОДЫ

1. В работе сопоставляется характер сокращения тонического пучка *m. ileofibularis* после частичной денервации («тонический» препарат) с электрической реакцией на раздражение при внеклеточном отведении потенциалов.

2. Из опытов следует, что, несмотря на тоническое по характеру сокращение, исследуемый препарат наряду с типично тоническими двигательными единицами включает в себя и такие двигательные единицы, которые способны к продуцированию распространяющихся мышечных потенциалов.

3. По реакции на *d*-тубокурарин эти волокна аналогичны быстрым. Однако от типичных быстрых волокон они отличаются тем, что распространяющиеся потенциалы обычно возникают в них только при достаточно частом ритмическом раздражении. Кроме того, при действии про-

зерина названные волокна приобретают особую склонность к ритмическому ответу на одиночное раздражение.

4. В статье обсуждается вопрос о тождестве исследуемых волокон с описанными ранее в литературе «переходными» волокнами.

ЛИТЕРАТУРА

- Гинецинский А. Г., Т. Н. Несмеянова, Материалы по эволюционной физиологии, 1, 98, Л., 1956.
Хуан И-мин, Физиолог. журн. СССР, 46, № 7, 828, 1960.
Жуков Е. К., Л. И. Леушина, ДАН СССР, 62, № 4, 565, 1948.
Скоробовичук Н. Ф., Усп. соврем. биол., 57, 1, 115, 1964.
Федоров В. В., Физиолог. журн. СССР, 50, № 3, 348, 1964.
Шамарина Н. М., Тез. Всесоюзн. конфер., посв. 110-летию со дня рождения Н. Е. Введенского, 257, М., 1962а.
(Шамарина Н. М.) Chamarina N. M., Nature, 193, 783, 1962б.
Шаповалов А. И., Физиолог. журн. СССР, 46, № 9, 1112, 1960.
Brown G. Z., Journ. Physiol., 89, 220, 1937.
Burke W., B. L. Ginsborg, Journ. Physiol., 132, 599, 1956.
Fatt P., B. Katz, Journ. Physiol., 115, 320, 1951.
Kuffler S. W., E. M. Williams, Journ. Physiol., 121, 289, 318, 1953.
Orkand R. K., Journ. Physiol., 167, 181, 1963.

Поступило 19 IX 1963

FURTHER STUDIES ON SLOW AND FAST MUSCLE SYSTEMS IN THE FROG

By N. F. Skorobovichuk and N. A. Tchizhova

From the Laboratory for Comparative Physiology, A. A. Ukhtomski Institute.
Leningrad University

СОПОСТАВЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МЫШЕЧНЫХ
ВОЛОКОН

Г. А. Наследов

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

Благодаря ряду современных физиологических (Gasaki, Mizutani, 1944; Верещагин, Жуков, 1947; Kuffler, Gerard, 1947; Kuffler, Laporte, Ransmeier, 1947; Жуков, Богомолова, 1949; Kuffler, Vaughan Williams, 1953; Жуков, 1956; Burke, Ginsborg, 1956) и морфологических (Günter, 1949; Krüger, 1952; Gray, 1957, 1958; Hess, 1960) работ в настоящее время утвердилось старое представление о том, что в скелетных мышцах амфибий существует 2 разных типа мышечных волокон: медленные (тонические) волокна и быстрые (фазные). Отличие первых от вторых состоит в том, что: 1) тонические волокна не способны к спайковой активности, и активация сократительного субстрата у них происходит локально, в области выделения синаптического медиатора; 2) у них имеет место множественная иннервация, которая осуществляется более тонкими нервными волокнами, образующими окончания типа «виноградной кисти»; 3) у тонических волокон миофибриллы на поперечном срезе расположены не равномерно, а разделены на «поля». Кроме того, согласно данным А. Г. Гинецинского (1947), тонические и фазные волокна имеют различной протяженности области, чувствительные к ацетилхолину. Если у фазных волокон эта область ограничивается зоной мионеврального соединения, то у тонических охватывает всю поверхность.

Вместе с тем имеются данные о том, что в смешанных мышцах лягушки содержится большое количество волокон, занимающих по своим физиологическим свойствам промежуточное место между типичными тоническими и фазными волокнами. Так, Е. К. Жуков и Л. И. Леушина (1948) нашли, что в ответ на прямое раздражение разные мышечные волокна тонического пучка *m. ileofibularis* проявляют разную степень тоничности, начиная от типичного тонического ответа и кончая настоящим быстрым. При этом волокна, дающие промежуточное сокращение (и потому названные «переходными»), составляют большинство в тоническом пучке. А. Г. Гинецинский и Т. Н. Несмеянова (1956) также указывают на существование переходных волокон на основании их реакции на ацетилхолин. Н. М. Шамарина (1962а, 1962б) путем микроэлектродного отведения потенциалов от отдельных мышечных волокон установила, что волокна, которые, судя по контрактурной реакции на ацетилхолин и большой длительности локальных потенциалов, являются тоническими, в ряде случаев могут продуцировать распространяющийся ток действия.

Остается неясным, какие же именно волокна, с точки зрения их морфологических характеристик, могут давать различные промежуточные типы реакций? Быть может, типичные тонические волокна, имеющие множественную иннервацию? Или же быстрые мышечные волокна, иннервируемые толстыми нервными волокнами, способны развивать мед-

ленные синаптические потенциалы? Для выяснения этих вопросов в настоящей работе сопоставляются количество, форма и расположение нервно-мышечных синапсов отдельных мышечных волокон с их электрофизиологической характеристикой.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на тоническом пучке *m. ileofibularis* травяной лягушки (*Rana temporaria*) в зимний период.

Порядок проведения опыта был следующим. Обычным микроэлектродом (пирексовая микропипетка, заполненная 2 М КСl, с сопротивлением от 5 до 30 мегом) отводились внутриклеточные потенциалы от одного из поверхностных волокон тонического пучка при непрямом раздражении. Потенциалы усиливались усилителем переменного тока (частотная характеристика прямолинейна в диапазоне 0.2—2000 гц) и фотографировались с экрана катодного осциллографа. Параллельно с усилителем переменного тока был включен усилитель постоянного тока и самопишущий прибор типа НЗ73, что позволяло одновременно регистрировать уровень потенциала покоя (ПП).

После окончания опыта с отведением потенциалов на исследованное волокно в точке отведения наносилась метка. Это делалось при помощи второй микропипетки с диаметром кончика 10—20 мк, которая предварительно была заполнена раствором $KMnO_4$. Пипетка была соединена с отрицательным полюсом источника тока. При подведении кончика пипетки к поверхности волокна через нее пропускался ток 2—5 мка и на волокне появлялось бурое пятно, настолько устойчивое, что оно было хорошо заметно даже через несколько месяцев хранения мышечного волокна в формалине.

Мышца фиксировалась в 10%-м растворе формалина 15 мин., после чего подопытное волокно отыскивалось по метке и выделялось. На этом волокне проводилась реакция на холинэстеразу по Келле в модификации М. А. Жеребцова (Gerebtzoff, 1959) с ацетилтихолином. Как известно, метод гистохимического определения локализации холинэстеразы позволяет выявить строение субсинаптического аппарата в мионевральной области мышечного волокна (Couteaux, 1955). Этот субсинаптический аппарат в окончаниях типа «виноградной кисти» тонических волокон имеет хорошо отличимые особенности по сравнению с аппаратом окончаний типа «конечного кустика» фазных волокон (Hess, 1960; Csillik, Schneider, Kalman, 1961). Таким образом на подопытном волокне выявлялись нервные окончания, их число, форма и расстояние от места отведения (путем измерения отрезка волокна между меткой и окончанием). Затем эти данные сопоставлялись с электрофизиологической характеристикой того же самого волокна.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Всего было исследовано 78 волокон из тонического пучка. Оказалось, что подавляющее большинство составляют волокна с окончаниями, характерными для фазных волокон. При этом с одним окончанием было 63 волокна (81%) и с двумя окончаниями — 9 волокон (11.5%). Из всего количества исследованных волокон только 6 (7.5%) оказались волокнами с множественной иннервацией (3 и более окончаний на волокне); при этом окончания имели конфигурацию, характерную для тонических волокон.

При сопоставлении биопотенциалов волокон с разным количеством окончаний были получены следующие данные.

Каждое волокно, имеющее множественную иннервацию, было исследовано при ритмическом раздражении с различной частотой, от 1 до 100 в 1 сек. Во всех случаях наблюдались медленные потенциалы с периодом полуспада 15—30 мсек. (общей длительностью 70—120 мсек.), которые при увеличении частоты раздражения суммировались друг с другом, образуя слитную деполяризацию (рис. 1). Ни на одном из этих волокон даже при длительном раздражении с частотой 100 в 1 сек. спайковая активность не появлялась. На всех волокнах этой группы удалось наблюдать при увеличении силы раздражения нерва начиная от допороговой ступенчатое увеличение амплитуды потенциала. Это явление, впервые описанное Каффлером и Вильямсом (Kuffler, Vaughan Williams, 1953), служит доказательством множественной (полиаксональной) иннервации тонических волокон.

Латентный период потенциалов этих волокон колеблется от 6 до 11 мсек., в среднем 8.6 мсек.; амплитуда составляет 6—30 мв. Особо сле-

дует остановиться на величине ПП. Как известно, исследователи находили, что ПП у тонических волокон подвержен большим колебаниям и в среднем ниже, чем у фазных волокон (Kuffler, Vaughan Williams, 1953 — 60 мв; Kissling, 1960 — 63 мв). Исследованные нами волокна с множественной иннервацией имели следующие величины ПП: 73, 76, 80, 82, 84 и 88 мв, в среднем 80.5 мв. Таким образом, ПП в исследованных волокнах оказался выше, чем по данным предыдущих авторов.

Биопотенциалы, зарегистрированные от волокон тонического пучка, имеющих одно или два окончания, очень разнообразны. Определенных различий по потенциалам

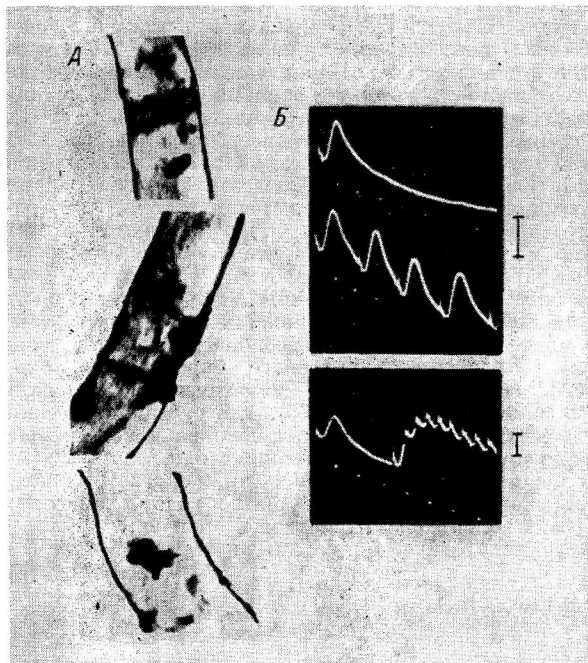


Рис. 1. Синаптические области мышечного волокна с множественной иннервацией после гистохимической реакции с ацетилтихолином (А) и отведенные от этого волокна синаптические потенциалы (Б).

На всех осциллограммах запись производилась поперек движущейся пленки; увеличение микрофотографий 130×. Калибровка осциллограмм 10 мв, время 20 мсек.; частота раздражения 1 в 1 сек., 25 и 100 в 1 сек.

различий по потенциалам или по характеру окончаний в зависимости от того, имеет волокно одно или два окончания, не обнаружено. Как известно, иннервация типичных фазных волокон разными нервными волокнами в 2 местах является общепризнанным фактом (Katz, Kuffler, 1941; Hunt, Kuffler, 1954). Указанные данные заставляют относить волокна с одним и двумя окончаниями к одной группе волокон с единичной иннервацией. Поэтому описание их биоэлектрической активности объединено.

При раздражении нерва эти волокна отвечают как возникновением спайков, так и синаптическими потенциалами разной длительности, начиная от быстрых, типичных потенциалов концевой пластинки (ПКП). Фазных волокон с периодом полуспада 2—5 мсек., кончая очень медленными. Последние в ряде случаев достигали по

периоду полуспада 30 мсек. и более, т. е. не отличались по длительности от синаптических потенциалов тонических волокон.

Нами установлено, что из исследованных 78 волокон у 10 волокон с одним и двумя окончаниями наблюдался синаптический потенциал с полуспадом свыше 25 мсек., т. е. такой же медленный, как самые медленные потенциалы тонических волокон. А 17 волокон этой группы (что составляет 24%) давали потенциалы с продолжительностью полуспада свыше 15 мсек., т. е. не короче чем любое из тонических волокон. Еще 9 волокон (или 12%) давали синаптический потенциал с промежуточной продолжительностью полуспада 5—15 мсек. И лишь оставшиеся 46 волокон (64%) этой группы продуцировали короткие (с полуспадом 2—5 мсек.) синаптические потенциалы (т. е. типичные ПКП быстрых волокон) и пики.

Из тех 24% волокон с одним и двумя окончаниями, у которых наблюдались медленные синаптические потенциалы (полуспад свыше 15 мсек.), в $\frac{1}{4}$ случаев при переходе от одиночных раздражений к ритмическому (25—100 в 1 сек.) появлялась пиковая активность (рис. 2). У остальных

$\frac{3}{4}$ пики не появились и при частоте раздражения 100 в 1 сек. Из 12% волокон, дававших синаптический потенциал промежуточной длительности (полуспад 5—15 мсек.), $\frac{2}{3}$ при ритмическом раздражении проявляли пиковую активность. Наконец, оставшиеся 64% волокон, дававших при одиночном раздражении либо спайк, либо короткий ПКП (рис. 3), при ритмическом раздражении все за исключением одного перешли к спайковой активности.

На основании полученных данных можно разделить все волокна с одним и двумя окончаниями на две группы: а-волокна, от которых отводятся синаптические потенциалы с периодом полуспада 2—5 мсек. (ПКП) или пики, и б-волокна, от которых отводятся синаптические потенциалы с периодом полуспада 5—30 мсек. и в ряде случаев пики.

Как известно, скорость нарастания (и соответственно общая продолжительность регистрируемого ПКП) зависит от расстояния между нервным окончанием и местом отведения (Fatt, Katz, 1951). Поэтому можно было предположить, что разница между а- и б-волокнами заключалась лишь в том, что у первых потенциал отводился поблизости от окончания, в то время как у вторых — на большем или меньшем расстоянии от последнего. Однако измерения показали, что разница в длительности потенциалов в разных группах волокон не зависит от условий отведения (см. таблицу).

Латентный период волокон, имеющих одно или два окончания, лежит в пределах 1.7—6 мсек., т. е. значительно короче латентного периода волокон с множественной иннервацией. Далее оказалось, что латентный период синаптического потенциала у а-волокон закономерно меньше латентного периода потенциала б-волокон. Если у первых он распределяется (рис. 4) от 1.7 до 3.5 мсек. (со средней величиной 2.6 мсек.), то у вторых — от 3 до 6 мсек. (со средней 4.1 мсек.). Таким образом, хотя кривые распределения длительности латентного периода у а-волокон и б-волокон перекрывают друг друга в районе 3—3.5 мсек., они четко разделяются и имеют отдельные максимумы.

Средняя величина ПП волокон, от которых отводятся медленные синаптические потенциалы, равна 80.5 мв, а-волокон, от которых отводятся ПКП и пики, — 85—87.5 мв, т. е. выше на 5—7 мв. Что касается разницы в ПП у а-волокон и б-волокон, то она находится всего в пределах 1—2 мв.

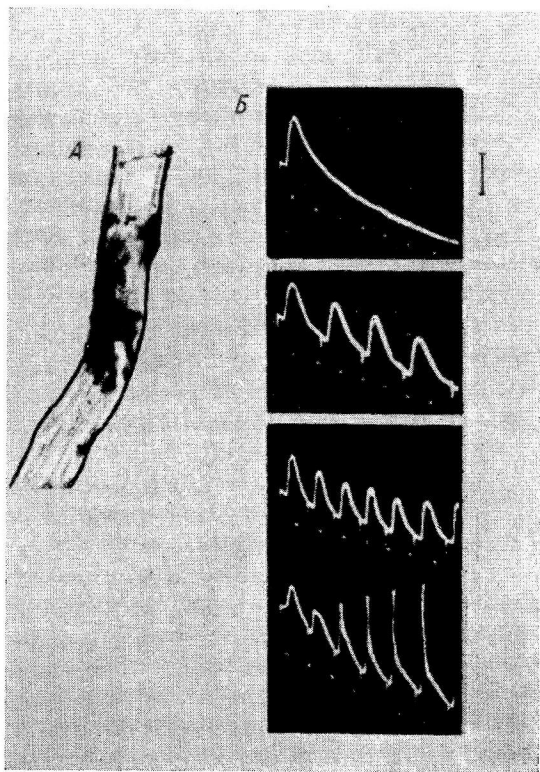


Рис. 2. Синаптическая область волокна с одним окончанием после гистохимической реакции с ацетилтихолином (А) и отведенные от этого волокна синаптический потенциал и пик (В).

Калибровка осциллограмм 10 мв; время — 20 мсек., частота раздражения 1, 30 и 45 в 1 сек. Расстояние между местом отведения и серединой синаптической области 1.2 мм.

Из работы Гесса (Hess, 1960) известно, что в тоническом пучке *m. ileo-fibularis* мышечные волокна имеют нервные окончания более разнообразной формы (при этом обычно более короткие и разветвленные), чем волокна быстрой части мышцы. Исходя из этих данных, было интересно проследить, не различаются ли α - и β -волокна по форме и размерам их нервных окончаний?

Сопоставление длительности периода полуспада потенциалов и расстояния, на котором они были зарегистрированы от синапсов (данные на различных волокнах с одним нервным окончанием)

Время полуспада (в мсек.)	Расстояние между синапсом и отводящим микроэлектродом (в мм)
30	0.4, 0.4, 1.2, 1.2
25	0.9, 1.3
20	0.7, 1.7, 3.0
15	0.7, 2.0, 2.2, 3.0
10	1.0, 1.8
5	0.4, 0.6, 0.7
2—3	0.1, 0.5, 1.1, 1.3

Рассматривая окончания у разных волокон, мы убедились в чрезвычайном разнообразии их формы. Поэтому мы решили исходить из площади, которую занимает видимый субсинаптический аппарат на поверхности мышечного волокна. Для этого измерялись длина, на которую вытянуто окончание вдоль волокна, и диаметр этого волокна. Эти величины умножались друг на друга и на величину π . При этом мы отдавали себе отчет в большой условности наших измерений, так как принимали окончание распространяющимся на поверхность всей окружности волокна в си-

наптической области, тогда как на самом деле окончание охватывает лишь часть окружности. Тем более не учитывалась сложная конфигурация разветвлений субсинаптического аппарата.

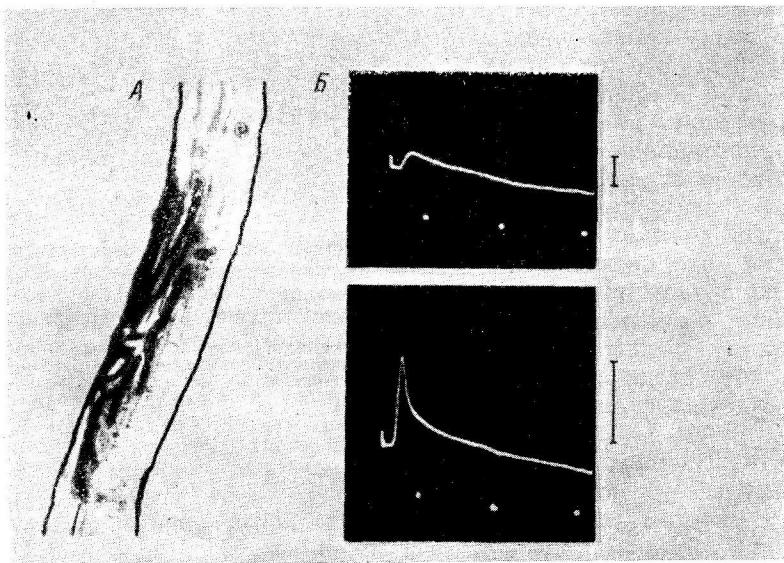


Рис. 3. Синаптическая область волокна с одним окончанием после гистохимической реакции с ацетилтихолином (А) и отведенные от этого волокна синаптический потенциал (ПКП) и спайк (Б).

Время 20 мсек.; частота раздражения 1 в 1 сек. Расстояние между местом отведения и серединой синаптической области 1 мм.

Измерения производились только на волокнах с одним окончанием. Длина окончаний у исследованных волокон колеблется от 70 до 410 мк, диаметр — от 47 до 123 мк. Площадь синаптической области составила 17 000—127 000 мк². Оказалось, что существует прямая связь между дли-

ной латентного периода синаптического потенциала и площадью синаптической области. Все а-волокна, дающие ПКП с латентным периодом 1,7—3,5 мсек., имеют площадь синаптической области в среднем 85 тыс. мк². б-волокна, дающие медленный синаптический потенциал с латентным периодом 3—6 мсек., в среднем имеют площадь синаптической области 46 тыс. мк². Далее б-волокна были разделены на 2 подгруппы: с более коротким латентным периодом (3—3,5 мсек.) и с более длинным латентным периодом (3,5—6 мсек.). Оказалось, что средняя величина площади синаптической области в первой группе составляет 50 тыс. мк², а во второй — 36 тыс. мк². Таким образом, и внутри группы б, чем меньше площадь синаптической области волокна, тем длиннее латентный период синаптического потенциала.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Медленный синаптический потенциал может наблюдаться как у мышечных волокон с множественной иннервацией, так и у волокон с единичной иннервацией. Однако у первых никогда не наблюдается появление пиковой активности, в то время как у вторых в ряде случаев, особенно при переходе от одиночного раздражения к ритмическому, появляются пиковые потенциалы.

Е. К. Жуковым и Л. И. Леушиной (1948) описаны переходные волокна, которые в ответ на прямое раздражение производят сокращение, по своему характеру промежуточное между быстрым сокращением фазных волокон и медленным градуальным сокращением тонических. По-видимому, выделенные нами в группу б-волокна идентичны этим переходным волокнам. Однако и по своей иннервации (единичные окончания типа «концевой пластинки»), и по способности к пиковой активности эти волокна, несомненно, относятся к быстрой системе. Действительно промежуточное положение занимают эти волокна по величине латентного периода синаптического потенциала и, следовательно, по диаметру иннервирующих их нервных волокон. Это противоречит мнению Орканда (Orkand, 1963), согласно которому латентные периоды потенциалов быстрых и медленных волокон (1,6—3 и 5—9 мсек.) разделяются промежуточком, которому не соответствуют никакие волокна, однако согласуется с данными Каффлера и Вильямса (Kuffler, Vaughan Williams, 1953), о том, что быстрые и медленные нервные волокна по скорости проведения примыкают друг к другу в области 8 м/сек. В. В. Федоров (1964) специально изучал диаметр нервных волокон в веточках, иннервирующих *m. ileofibularis*. Им установлено, что суммарная гистограмма толстой и тонкой нервных веточек имеет 2 максимума — для тонких нервных волокон (2—5 мк) и для толстых (5—10 мк). В области диаметров около 5 мк кривые перекрещиваются, что говорит о наличии волокон, по своему диаметру промежуточных между тонкими и толстыми.

Существование в быстрой системе лягушек особых мышечных волокон подтверждается еще следующими данными. Каффлер (Kuffler, 1952) в *m. submental* нашел волокна, которые в норме отвечают возникновением пика не на каждый нервный импульс, и для улучшения передачи в этих волокнах требуется ритмическое раздражение. Орканд по электро-

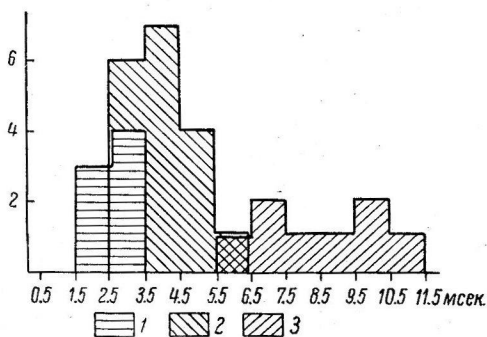


Рис. 4. Распределение волокон в зависимости от величины их латентного периода.

1 — волокна с быстрым синаптическим потенциалом (а); 2 — волокна с медленным синаптическим потенциалом (б); 3 — волокна с множественной иннервацией. По оси ординат — количество волокон; по оси абсцисс — длительность (в мсек.).

физиологическим ответам разделил волокна *m. ileofibularis* на 3 группы, где наряду с типичными тоническими и фазными выделил также быстрые волокна, которые на одиночные стимулы отвечают только синаптическими потенциалами. Однако в отличие от наших данных автор находит эти потенциалы по их длительности и латентному периоду идентичными таковым у типичных фазных волокон. Частое отсутствие пиков в этих волокнах Орканд объясняет низким (подпороговым) квантовым составом их синаптического потенциала. Для подкрепления этой мысли он приводит данные Гесса (Hess, 1960), о меньшем размере синаптической области в волокнах тонического пучка, что, возможно, и определяет меньшее количество выделяемых ими квантов медиатора. Последнее подтверждается нашими опытами с измерением площади синаптической области.

Существование б-волокон, по-видимому, разрешает противоречие между данными Н. М. Шамариной (1962а, 1962б) о возможности возникновения спайка в ряде тонических волокон и данными других авторов (Kuffler, Vaughan Williams, 1953; Burke, Ginsborg, 1956; Orkand, 1963), отрицающих такую возможность. Можно думать, что описанные Н. М. Шамариной волокна, у которых наблюдается медленный синаптический потенциал и пиковая активность, относятся к этим «замедленным» волокнам быстрой системы, ибо критерием отнесения волокон к тоническим у Н. М. Шамариной служила не длительность латентного периода (как косвенный показатель диаметра иннервирующих нервных волокон), а контрактурная реакция на ацетилхолин и большая длительность самого синаптического потенциала, т. е. показатели, непосредственно говорящие о тоничности волокна.

ВЫВОДЫ

1. В работе проведено сопоставление характера биоэлектрической активности различных мышечных волокон из тонического пучка *m. ileofibularis* лягушки с количеством и характером нервных окончаний этих волокон, выявляемых методом гистохимического определения холинэстеразы.

2. Установлено, что медленные синаптические потенциалы могут наблюдаться как у мышечных волокон с множественной иннервацией, так и у волокон с единичной (одно или два окончания) иннервацией. Однако у первых никогда не наблюдается появления пиковой активности, в то время как у вторых при ритмическом раздражении могут появляться пики.

3. От волокон с множественной иннервацией отводятся медленные синаптические потенциалы с периодом полуспада 15—30 мсек. и с латентным периодом 6—11 мсек.

4. Волокна с единичной иннервацией по длительности синаптического потенциала разделяются на 2 группы: а-волокна, от которых отводятся быстрые синаптические потенциалы (период полуспада 2—5 мсек.), и б-волокна, от которых отводятся медленные синаптические потенциалы (период полуспада 5—30 мсек.). Первые имеют латентный период 1.7—3.5 мсек., вторые 3—6 мсек. Приближенное измерение площади синаптической области показало, что у а-волокон она в среднем почти вдвое больше, чем у б-волокон.

5. Высказывается предположение об идентичности б-волокон и описанных Е. К. Жуковым и Л. И. Леушиной (1948) переходных волокон.

ЛИТЕРАТУРА

- Верецагин С. М., Е. К. Жуков, Физиолог. журн. СССР, 33, № 3, 335, 1947.
 Гинецинский А. Г., Физиолог. журн. СССР, 33, № 4, 413, 1947.
 Гинецинский А. Г., Т. Н. Несмеянова. Материалы по эволюционной физиологии, 1, 98. Изд. АН СССР, 1956.

- Жуков Е. К. Исследования о тонусе скелетных мышц. Медгиз, 1956.
- Жуков Е. К., Т. П. Богомолова, Физиолог. журн. СССР, 35, № 1, 73, 1949.
- Жуков Е. К., Л. И. Леушина, ДАН СССР, 62, № 4, 565, 1948.
- Федоров В. В. Физиолог. журн. СССР, № 3, 348, 1964.
- Шамарина Н. М., Всесоюзн. конфер., посвящ. Н. Е. Введенскому, Тез. докл., 257, М., 1962a; Nature, 193, 783, 1962b.
- Burke W., B. L. Ginsborg, Journ. Physiol., 132, 586, 1956.
- Couteaux R., Intern. Rev. cytol., 4, 335, 1955.
- Csillik B., I. Schneider, G. Kalman, Acta Neuroveget., 22, 212, 1961.
- Fatt P., B. Katz, Journ. Physiol., 115, 320, 1951.
- Gerebtzoff M. A. Cholinesterases. Pergamon Press, London, 1959.
- Gray E. G., Proc. Roy. Soc., B., 146, 416, 1957; Journ. Anat., 92, 559, 1958.
- Günter P. G., Anat. Anz., 97, 175, 1949.
- Hess A., Am. Journ. Anat., 107, 129, 1960.
- Hunt C. C., S. W. Kuffler, Journ. Physiol., 126, 293, 1954.
- Katz B., S. W. Kuffler, Journ. Neurophysiol., 4, 209, 1941.
- Kissling A., Pflüg. Arch., 271, 124, 1960.
- Krüger P. Tetanus u. Tonus der quergestreiften Skelettmuskeln der Wirbeltiere u. des Menschen. Leipzig, 1952.
- Kuffler S. W., Fed. Proc., 11, 87, 1952.
- Kuffler S. W., R. W. Gerard, Journ. Neurophysiol., 10, 383, 1947.
- Kuffler S. W., J. Laporte, R. E. Ransmeier, Journ. Neurophysiol., 10, 395, 1947.
- Kuffler S. W., E. M. Vaughan Williams, Journ. Physiol., 121, 289, 318, 1953.
- Orkand R. K., Journ. Physiol., 167, 181, 1963.
- Tasaki J., K. Mizutani, Jap. Journ. med. Sci., Biophys., 10, 237, 1944.

Поступило 4 X 1963

CONFRONTATION OF CERTAIN MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL
CHARACTERISTICS OF MUSCLE FIBERS

By G. A. Nasledov

From the I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

О МЕХАНИЗМЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОДДЕРЖАНИЯ
МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ У ЧЕРЕПАХИ

И. И. Лебединская

Лаборатория эволюции двигательной деятельности Института эволюционной физиологии им. И. М. Сеченова АН СССР, Ленинград

Периферический двигательный аппарат черепах привлекал к себе внимание ряда исследователей (Wachholder и Ledebur, 1930; Wachholder, 1932; Гинецинский и Итина, 1938; Итина, 1938). Этими авторами было установлено, что скелетные мышцы черепах (особенно мышцы втягивателя головы) являются сильно тоническими. Существует точка зрения (Risser, 1925; Sommerkamp, 1928; Гинецинский, 1947; Верещагин, 1950; Жуков, 1956), которая связывает тоничность мышц с наличием в них механизма физиологической ацетилхолиновой контрактуры. Возникает вопрос, является ли этот механизм единственным во время поддержания тех длительных тонических сокращений, которые так характерны для многих скелетных мышц этих животных.

Е. К. Жуковым (1960) в результате изучения нервно-мышечного аппарата сухопутной черепахи *Testudo graeca* было сделано предположение, что тоническое сокращение у этих животных осуществляется также и по механизму тетанического тонуса. Задачей настоящей работы является дальнейшее исследование вопроса о периферических механизмах длительных сокращений и связанных с ними функциональных особенностей двигательного аппарата черепахи.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на степных черепахах (*Testudo horsfieldi*). После декапитации животного готовился нервно-мышечный препарат, который выдерживался в течение 10—15 мин. в физиологическом растворе, а затем помещался во влажную камеру. Температура в камере была 18—25°. Было исследовано несколько различных мышц, но большинство опытов было поставлено на *m. m. ileofibularis* и *gastrocnemius*. Регистрация мышечного сокращения производилась в изотоническом режиме. Нерв раздражался с помощью стимулятора прямоугольными импульсами.

При регистрации биопотенциалов нервно-мышечный препарат помещался в металлическую влажную камеру, которая одновременно служила и экраном. Отведение потенциалов действия было биполярным. Биопотенциалы усиливались с помощью усилителя переменного тока типа УБН-М (мастерские ИЭМ АМН СССР) с прямолинейной частотной характеристикой от 0.2 до 3500 гц. Регистрация производилась плейфным осциллографом типа Н-102. В опыте использовался плейф V.

Для решения ряда вопросов были применены ацетилхолин (АХ), прозерин, кураре. При воздействии этих веществ препарат целиком погружался в соответствующий раствор.

Исследования проводились как в Ленинграде, так и в Средней Азии. В Ленинграде животные содержались в сухих террариумах при температуре 20—30° при соответствующем питании. В Средней Азии животные брались в опыт на 5—10-й день со времени их поимки. Всего было поставлено около 300 опытов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Реакция на ацетилхолин. Все мышцы степной черепахи при погружении в раствор АХ концентрации 10^{-6} — 10^{-5} развивают контрактуру. Некоторые мышцы, как например *m. ileo-fibialis*, дают неустой-

чивую контрактуру, иногда с фибрилляциями. Характерным в реакции на АХ является то, что на повторное его применение, как правило, развивается сокращение меньшее по величине, с большим латентным периодом. Это наблюдается даже при интервалах между повторными пробами в 5—10, а иногда и в 30 мин. Между тем, если чередовать погружение в раствор АХ с кратковременной непрямой тетанизацией мышцы, то при уменьшении чувствительности к АХ, а иногда даже и при наступлении

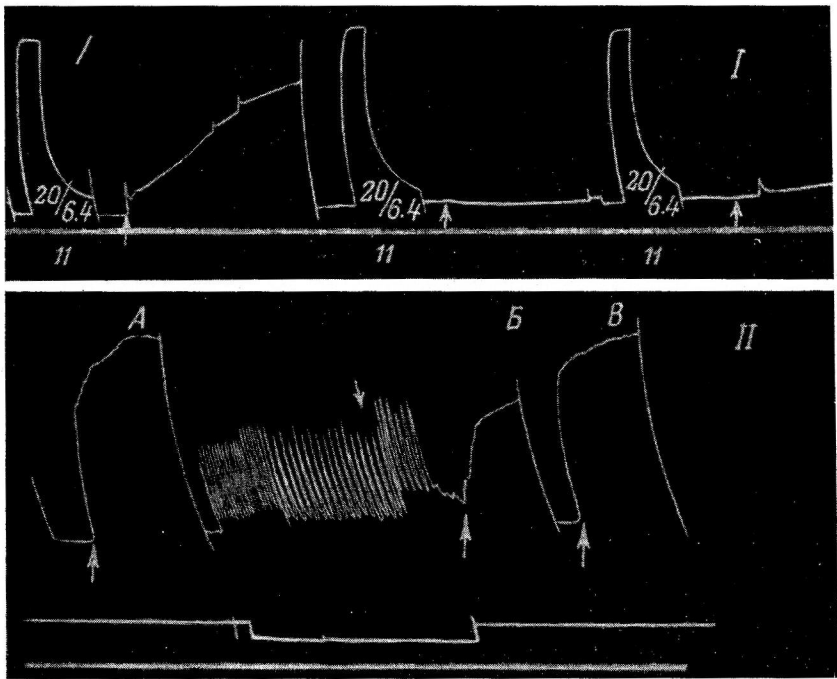


Рис. 1. Уменьшение чувствительности к АХ *m. ileofibularis*.

I — при повторном погружении ее в раствор АХ; *II* — под влиянием предшествующего возбуждения мышцы нервными импульсами. *A* — реакция на АХ до возбуждения мышцы нервными импульсами; *B* — после 10-минутного раздражения пороговой силы при частоте 1 импульс в 3 сек.; *B* — повторная реакция на АХ после непрямой тетанизации, такой же интервал времени между *A* и *B* — 30 мин., включая длительность тетанизации, такой же интервал между *B* и *B*. Сверху вниз: миограмма, отметки раздражения, времени (1 сек.). Цифры в числителе — частота тетанизации (в сек.); цифры в знаменателе — сила тетанизации (в вольтах); цифры под отметкой времени — длительность тетанизации (в сек.). Стрелка вниз — остановка кимографа на 10 мин.; стрелка вверх — погружение мышцы в раствор АХ.

полной ее утраты, характер сокращения на электрическое раздражение остается без изменения (рис. 1, *I*).

Если мышцу раздражать в течение 20—30 мин. так, чтобы утомление не наступило (пороговая сила или чуть выше порога; частота 1—2 импульса в 1—3 сек.), то сразу после такого раздражения реакция на АХ будет меньше, чем спустя некоторое время, а также меньше, чем до раздражения (рис. 1, *I*). В опытах этого рода соблюдалось условие, при котором все три раза (до тетанизации, сразу после тетанизации и еще раз после тетанизации) АХ испытывался через равные промежутки времени.

Реакция мышца на кратковременное непрямоететанизирующее раздражение. При кратковременном раздражении двигательного нерва сокращение мышцы распадается на два компонента: пик и хвост (тоническое последствие). Такой характер сокращения отражает функциональную неоднородность сократительного субтракта, где пик есть проявление деятельности нетонических волокон, а хвост — тонических (Гинецинский и Михельсон, 1937;

Верещагин и Жуков, 1948; Жуков, 1960). Тоническое последствие оказывается чрезвычайно непостоянным: на 2-е или 3-е раздражение хвост сокращения уменьшается или полностью исчезает; иногда вместо него остается только замедление расслабления. Если посредством увеличения силы или длительности раздражения снова вызвать волну тонического последствия (хвост), то и в этих новых условиях на 2-е или 3-е раздражение она опять претерпевает вышеописанное изменение (рис. 2). Эта

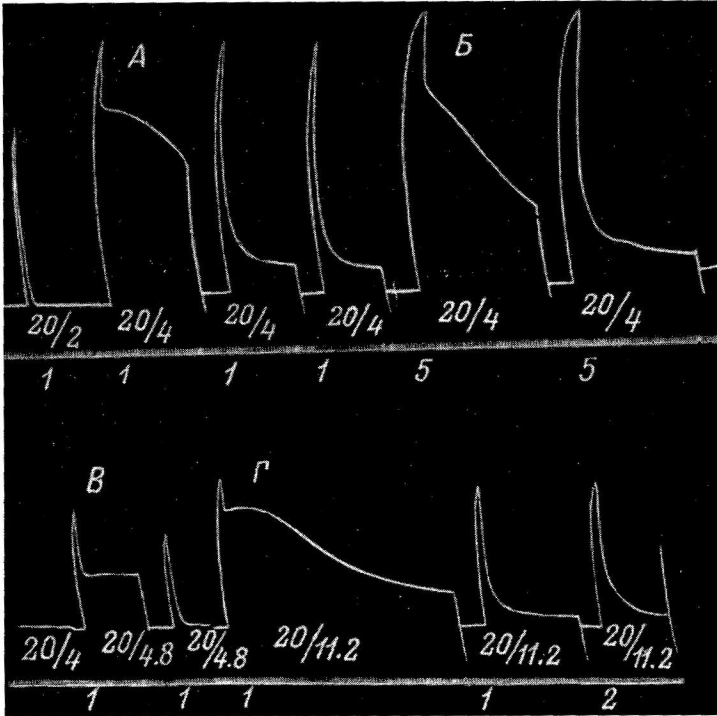


Рис. 2. Неустойчивость хвоста (тонического компонента) при повторном непрямом раздражении *m. pubo-ischii-tibialis* (А—Б) и *m. gastrocnemius* (В—Г).

А — тетанизация с частотой 20 в 1 сек. при силе раздражения в 2 реобазы в течение 1 сек.; Б — увеличение длительности тетанизации до 5 сек.; В — тетанизация с частотой 20 в 1 сек. при пороговой силе в течение 1 сек.; Г — усиление тетанизации до 2.5 реобаз. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

особенность сократительной деятельности мышц черепахи была отмечена также Е. К. Жуковым (1960).

Применение прозерина способствует проявлению тонического компонента, но и в этих условиях он неустойчив.

Тоническое последствие в виде самостоятельной волны (хвост) снимается кураре (10^{-4}) примерно через 30 мин. Напротив, последствие в виде простого замедления расслабления не всегда снимается до конца под влиянием кураре; в этом случае по мере действия этого вещества происходит одновременное уменьшение и пика, и последствия.

Реакция мышц на непрямое длительное тетанизирующее раздражение. Мышцы черепахи способны поддерживать длительное непрерывное сокращение до 1 часа. При этом проявляется длительность тонических и нетонических нейромоторных единиц. Мы останавливаем внимание главным образом на тех особенностях сокращения, которые указывают на участие в этом сокращении нетонических единиц.

В большинстве опытов при непрямом раздражении мышцы сокращение ее довольно быстро достигает максимума. Миограмма обычно носит ровный характер, иногда имеются более или менее выраженные фибрилляции. Пластичность почти не обнаруживается: мышца, растянутая ударом по рычажку миографа, сразу возвращается к достигнутому уровню сокращения. Оптимальной частотой для вызова максимального сокращения является 10—20 в 1 сек. Пессимальное расслабление при переходе к высоким частотам раздражения часто наступает легко. При смене оптимальных частот на более низкие (1—2 в 1 сек.) сокращение продолжает поддерживаться, хотя уровень миограммы несколько опускается; при

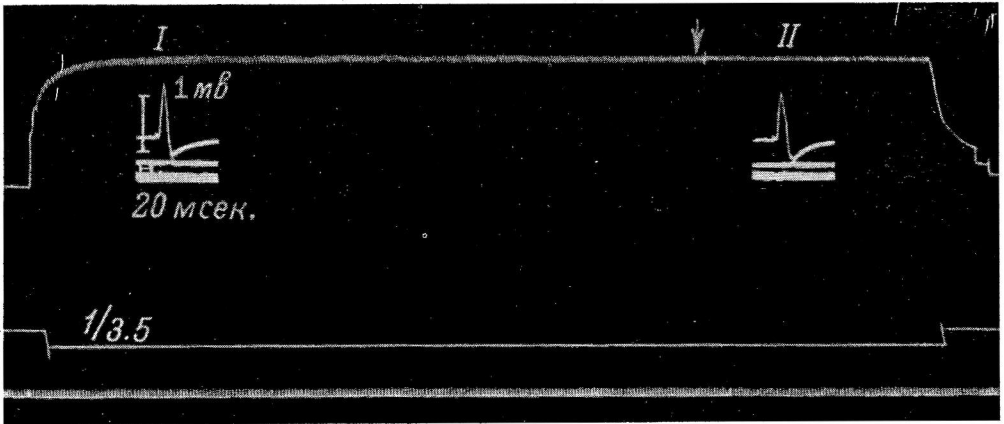


Рис. 3. Характер миограммы и потенциалов действия *m. ileofibularis* при длительном раздражении с частотой 1 в 1 сек.

I и *II* — осциллограммы при одинаковом усилении. Стрелка — остановка кимографа на 5 мин. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

этом обнаруживается вздрагивание в ритме раздражения. По прекращении длительного тетанизирующего раздражения мышца расслабляется обычно не до конца, обнаруживая контрактуру утомления.

Способность к длительному сокращению остается одной и той же независимо от того, какой нервно-мышечный пренерат раздражается: тот, который обнаруживает хорошо выраженное тоническое последствие в виде большого хвоста, или тот, который такого последствия не обнаруживает; тот, который реагирует на АХ хорошо выраженной контрактурой, или тот, который дает контрактуру слабую и неустойчивую. Способность к поддержанию длительного сокращения остается и при угнетении тонического компонента холинолитиком.

В основе сокращения, развиваемого смешанными мышцами при длительном раздражении, лежат некоторые особенности двигательного аппарата черепахи. Если нерв раздражать с частотой 1—2 в 1 сек., то мышца будет отвечать зубчатым тетанусом в течение 1 часа и более, что свидетельствует об относительной неутомляемости быстрых нейромоторных единиц. Уже при такой редкой частоте проявляется высокая способность сокращений к суперпозиции (рис. 3). Другая особенность состоит в том, что во время длительных раздражений происходит замедление процесса сокращения, что можно выявить посредством чередования высокой частоты раздражения с редкой — 1 в 1 сек. (рис. 4). По мере деятельности мышцы длительность одиночного сокращения иногда может возрасти в 5—10 раз.

Изложенные данные показывают, что в длительных сокращениях мышц черепахи принимают участие наряду с тоническими волокнами и нетони-

ческие. Такое взаимодействие облегчается относительной функциональной близостью нетонических и тонических единиц у этих животных. Так,

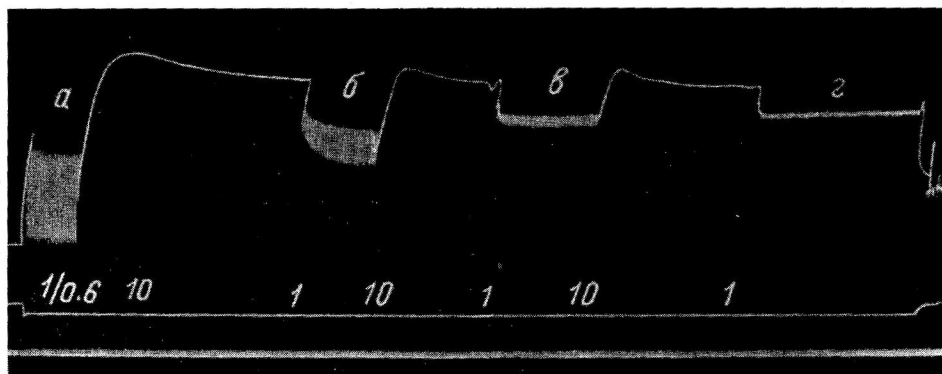


Рис. 4. Последовательное (а—е) замедление волн сокращения во время длительного непрямого раздражения *m. ileofibularis*.

1, 10 — частота раздражения (в сек.); 0,6 — сила раздражения (в вольтах). Сверху вниз: микрограмма, отметки раздражения, времени (1 сек.).

здесь не наблюдается существенной разницы в силе раздражения нервного ствола для получения пика и хвоста сокращения, т. е. возбудимость тонических и нетонических единиц является примерно одинаковой. Те и

другие единицы дают реакции оптимума и пессимума в одинаковых районах частоты раздражения (рис. 5). Кроме того, лабильность, которая у нетонических единиц вообще невысока (частота слияния в гладкий тетанус равна 5—10 в 1 сек), по ходу деятельности все больше снижается, приближаясь к лабильности тонических единиц (тетанус может стать слитным уже при частоте 3—4 в 1 сек.).

Электрoфизiological data. На свежем нервно-мышечном препарате в начале длительного раздражения при частоте 5—20 в 1 сек. регистрируются двухфазные потенциалы действия величиной 2—5 мв, длительностью 5—15 мсек. При этом наблюдается явление лестницы, которое часто сопровождается превращением нераспространяющихся вначале потенциалов в распространяющиеся, о чем свидетельствует появление у них второй фазы. Затем начинается изменение потенциалов действия в обратном порядке: происходит уменьшение их величины и двухфазности, а также увеличение длительности. Эти изменения

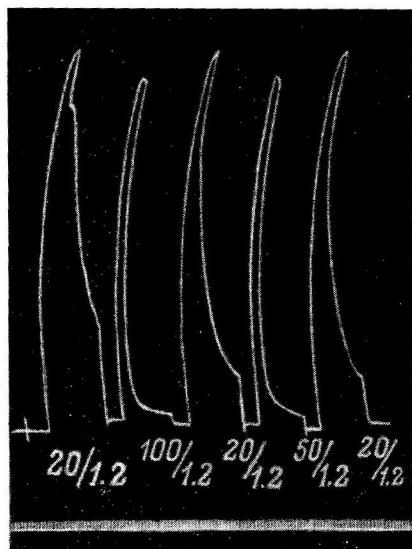


Рис. 5. Оптимум и пессимум частоты раздражения для пика и хвоста сокращения *m. ileofibularis*.

Длительность тетанизации 2 сек. Цифры в числителе—частота тетанизации (в сек.); цифры в знаменателе — сила тетанизации (в в).

совершаются очень быстро (в течение нескольких секунд от начала раздражения), обычно по достижении максимума сокращения. Иногда можно заметить наличие потенциалов действия другого рода, более медленных и меньших по величине, которые бывают более отчетливо

видны, когда двухфазность потенциалов первого рода не сильно выражена. По мере раздражения быстрые потенциалы или совсем исчезают, или, сильно растягиваясь и уменьшаясь, сливаются с медленными (рис. 6).

Через некоторое время от начала раздражения на протяжении длительной тетанизации в большом числе случаев регистрируются однофазные потенциалы, которые колеблются по величине, форме, длительности.

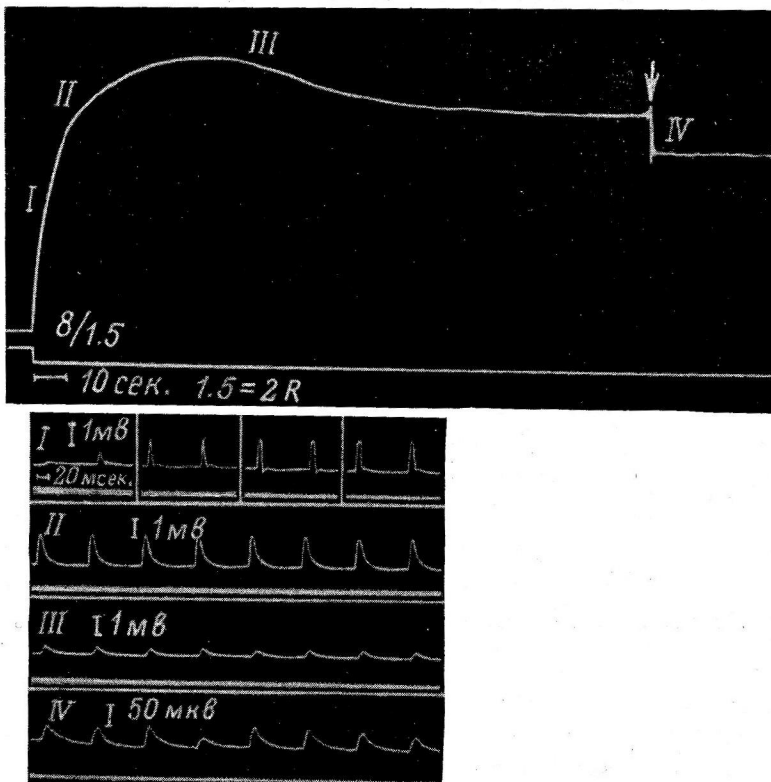


Рис. 6. Динамика потенциалов действия во время 40-минутного сокращения *m. gastrocnemius*.

Осциллограммы I, II, III, IV соответствуют однозначным участкам на миограмме. Стрелка — остановка кимографа на 35 мин. R — сила раздражения в реобазах. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

Иногда происходит расщепление таких потенциалов на 2—3 волны, которые то сливаются, то разъединяются; одна из них может быть двухфазной. Величина такого суммарного потенциала составляет 50—500 мкв при длительности от 20 до 80 мсек.

При редких раздражениях (1—5 в 1 сек.) потенциалы действия могут оставаться двухфазными длительное время (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования указывают на некоторые характерные особенности реакций периферического двигательного аппарата степной черепахи на АХ.

При погружении в раствор АХ мышцы черепахи обнаруживают явление адаптации, когда при повторном его воздействии может произойти полная утрата чувствительности к этому веществу. Такое явление наблюдалось и на мышцах лягушки (Беритов, 1939; Серков, 1947; Thesleff,

1961). Мы подчеркиваем, однако, количественные различия — в мышцах черепахи этот феномен выражен в большей степени, чем у лягушки. Так, по И. С. Беритову (1939), постоянную по величине контрактуру у лягушки можно многократно получить при интервалах между пробами в 5—10 мин., тогда как у черепахи это не всегда удается и при 30-минутном интервале.

Чувствительность мышцы к АХ также уменьшается после предварительной тетанизации ее нерва. Возможно, одной из причин этого являются угнетающие влияния с моторного нерва (Гальперин и Орбели, 1932; Орбели, 1944; Сонин, 1945). Нам кажется, что в некоторой связи с этим фактом находится неустойчивость тонического последействия у степной черепахи при повторной кратковременной непрямой тетанизации мышцы. В данном случае тормозящие влияния импульсации с нерва способствуют уменьшению тонического хвоста, имеющего ацетилхолиновую природу. Об этом упоминает Е. К. Жуков (1956) при разборе вопроса о величине тонического компонента у лягушки. По его данным, у лягушки при интервале между двумя раздражениями больше 10 сек. имеет место полное восстановление хвоста. У степной черепахи даже через 5—10 мин. тонический хвост часто не восстанавливается. Можно думать, что если след угнетающего влияния двигательной иннервации у лягушки измеряется секундами, то у черепахи — минутами.

Таким образом, можно прийти к заключению, что у степной черепахи механизм возникновения физиологической ацетилхолиновой контрактуры является менее совершенным, чем у лягушки.

Как известно, деятельность тонических единиц, в основе которой лежит механизм ацетилхолиновой контрактуры, определяет наличие ровного характера миограммы, вязкости, пластичности, малой упругости, затрудненности пессимальных расслаблений, однофазных потенциалов действия, отсутствие видимых ответов на раздражение с частотой 1 в 1 сек. и т. д. (Kuffler a. Gerard, 1947; Жуков и Верещагин, 1949; Kuffler, 1953; Жуков, 1956). Характерно, что во время длительного поддержания тонусоподобных сокращений мышцами степной черепахи наблюдаются слабая пластичность, большая упругость, наличие пессимальных расслаблений, иногда неровный характер миограммы (фибрилляции), способность развивать высокие сокращения при частоте раздражения 1 в 1 сек. Это свидетельствует о том, что во время таких сокращений существенную роль играют нетонические нейромоторные единицы. Об этом же говорят и электрофизиологические данные: во время длительных тонусоподобных сокращений часто регистрируются перемчивые по форме, величине и длительности потенциалы действия, которые при низких частотах раздражения могут длительное время оставаться двухфазными.

Сказанное выше позволяет сделать следующее заключение. Во время длительных тонусоподобных сокращений смешанных мышц степной черепахи, кроме тонических единиц, в деятельности которых обнаруживаются черты несовершенства, принимают участие и нетонические единицы, функционирующие по механизму тетануса. Очень может быть, что при такой деятельности существенную роль играют также «переходные» мышечные волокна, совмещающие в себе фазическую и тоническую функцию (Жуков и Леушина, 1948; Гинецинский и Несмеянова, 1956), которые в большом количестве были найдены в мышцах черепахи при гистологических исследованиях (Köhler, 1938).

ВЫВОДЫ

1. Периферический двигательный аппарат степной черепахи обнаруживает ряд черт, указывающих на несовершенство в нем механизма физиологической ацетилхолиновой контрактуры: выраженная адаптация к повторным применениям ацетилхолина, неустойчивость тониче-

ского компонента сокращения, преходящий эффект действия прозерина.

2. Факты показывают, что в поддержании длительных тонусоподобных сокращений скелетных мышц черепахи наряду с тоническими нейромоторными единицами принимают участие нетонические, функционирующие по механизму тетануса. На это указывают миографические (наличие фибрилляций, пессимального расслабления, большой упругости и малой пластичности, а также способности к сокращению при угнетении тонического компонента холинолитиком) и электрофизиологические данные (наличие двухфазных потенциалов действия, изменение биопотенциала по форме, длительности, величине; наличие расщеплений, во время которых обнаруживается деятельность различных единиц).

3. Слиянию дискретных сокращений нетонических мышечных волокон черепахи в слитное длительное тонусоподобное сокращение способствует их относительная неуготляемость, хорошо выраженная способность к суперпозиции, замедление процессов возбуждения и сокращения по мере деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

- Беритов И. С., Физиолог. журн. СССР, 27, № 6, 667, 1939.
 Верецагин С. М. Материалы о природе тонуса скелетных мышц. Дисс. Л., 1950.
 Верецагин С. М. и Е. К. Жуков, Физиолог. журн. СССР, 34, № 2, 207, 1948.
 Гальперин С. И. и Л. А. Орбели, Физиолог. журн. СССР, 15, № 6, 439, 1932.
 Гинецинский А. Г., Физиолог. журн. СССР, 33, № 4, 413, 1947.
 Гинецинский А. Г. и Н. А. Итина, Бюлл. эксп. биол. и мед., 5, № 4, 386, 1938.
 Гинецинский А. Г. и Н. И. Михельсон, Усп. соврем. биол., 6, 399, 1937.
 Гинецинский А. Г. и Т. Н. Несмеянова, В сб.: Материалы по эволюционной физиологии, 1, 96. Л., 1956.
 Жуков Е. К. Исследование о тонусе скелетных мышц. Медгиз, 1956; в сб.: Нервная система, 2, 89. Изд. ЛГУ, 1960.
 Жуков Е. К. и С. М. Верецагин, Физиолог. журн. СССР, 35, № 1, 64, 1949.
 Жуков Е. К. и Л. И. Леушина, ДАН СССР, 62, № 4, 565, 1948.
 Итина Н. А., Физиолог. журн. СССР, 25, № 5, 664, 1938.
 Орбели Л. А. (1944), Избр. тр., 1, 183, Изд. АН СССР, М—Л., 1961.
 Серков Ф. Н., Бюлл. эксп. биол. и мед., 23, № 1, 32, 1947.
 Сонин В. Р., Тр. Физиолог. инст. им. И. П. Павлова, 1, 13, Изд. АН СССР, М.—Л., 1945.
 Köhler H. Z., Zellforsch., 28, 596, 1938.
 Kuffler S. W., Arch. exp. Path. a. Pharm., 220, 116, 1953.
 Kuffler S. W. a. R. W. Gerard, Journ. Neurophysiol., 10, 383, 1947.
 Risser O., Handb. norm. path. Physiol., 8, 192, 1925.
 Sommerkamp H., Arch. exp. Path. u. Pharm., 123, 99, 1928.
 Thesleff S., Ann. N. J. Acad. Sci., 94, 2, 535, 1961.
 Wachholder K., Pflüg. Arch., 229, 143, 1932.
 Wachholder K. u. J. F. Ledebur, Pflüg. Arch., 225, 627, 1930.

Поступило 25 XII 1963

MECHANISM OF SUSTAINED MUSCLE CONTRACTION IN THE TURTLE

By I. I. Lebedinskaia

From the I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
КОНЦЕВОЙ ПЛАСТИНКИ ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТОГО
МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА ЛЯГУШКИ В ХОДЕ
ЕЕ РИТМИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ*И. А. Владимирова*Лаборатория общей физиологии Института физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Химическая чувствительность концевой пластинки (к. п.) при ее ритмической активации является важной для понимания механизма нервно-мышечной передачи и пессимального торможения. Однако исследования этого вопроса, проведенные независимо в различных лабораториях, привели к совершенно противоположным результатам. Так, Теслефф (Thesleff, 1959) показал на нервно-мышечном препарате диафрагмы крысы, что чувствительность к. п. к ацетилхолину при электрофоретическом приложении его значительно уменьшается после ритмического раздражения двигательного нерва. Это уменьшение чувствительности, по мнению Аксельсон, Теслефф (Axelsson, Thesleff, 1958), является главной причиной депрессии нервно-мышечной передачи. Отсука, Ендоу и Нономура (Otsuka, Endo, Nonomura, 1962) при изучении химической чувствительности к. п. нервно-мышечных препаратов лягушки и диафрагмы крысы пришли, в противоположность Теслеффу, к заключению о пресинаптической природе нервно-мышечной депрессии. По данным указанных авторов, чувствительность к. п. к ионам ацетилхолина в ходе ее ритмического возбуждения остается неизменной, в то время как амплитуда потенциалов концевых пластинок (п. к. п.) значительно уменьшается.

В связи с важностью этого вопроса в настоящей работе была изучена чувствительность к. п. мышечного волокна лягушки к ионам ацетилхолина на различных стадиях изменения передачи ритмических импульсов: в периоды суммации п. к. п., снижения их амплитуды и трансформации ритма.

МЕТОДИКА

Исследования производились на изолированном, кураризированном (D-тубокураринхлорид $4 \cdot 10^{-6}$) нервно-мышечном препарате портняжной мышцы лягушки. Мышца укреплялась в одной части камеры с проточным раствором Рингера, а двигательный нерв располагался на неполяризующихся электродах в смежной части камеры, заполненной вазелиновым маслом. Для ритмического раздражения нерва использовался генератор прямоугольных импульсов с радиочастотным выходом.

Потенциалы концевых пластинок отводились внутриклеточно от синаптической области мышечного волокна при помощи стеклянных электродов с сопротивлением от 5 до 15 мом.

Локализация к. п. определялась по наибольшей амплитуде и крутизне нарастания п. к. п.; с этой целью микроэлектрод передвигался вдоль по мышечному волокну до получения максимальных ответов. Когда таким образом определялась область к. п., регистрирующий электрод вводился в мышечное волокно, а вторая микрошпателька подводилась к этой же к. п. на расстояние менее 100 мк (рис. 1). Эта микрошпателька, наполненная раствором ацетилхолин-хлорида в концентрации 1—3 М, служила для электро-

форетического приложения ионов ацетилхолина. В опытах использовались микропипетки с сопротивлением от 2 до 15 мом. Electroды с большим сопротивлением очень часто не пропускали ток нужной силы и длительности, а у электродов с меньшим сопротивлением наблюдалась диффузия ионов ацетилхолина, несмотря на применение рекомендуемого рядом авторов (Castillo, Katz, 1955; Curtis, Eccles, 1958) способа «защипания» микроэлектрода небольшим (десятые доли вольта) напряжением (от батареи T , рис. 1).

Выход ионов из пипетки достигался приложением положительного толчка тока $1 \cdot 10^{-7}$ а, длительностью от 10 до 100 мсек.

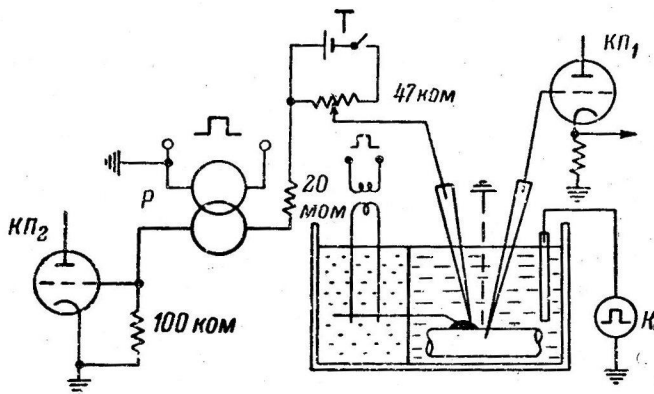


Рис. 1. Схема, показывающая способ отведения потенциалов и приложения ионов ацетилхолина.

$KП_1$ — катодный повторитель в канале отведения потенциалов; $KП_2$ — катодный повторитель в канале измерения прикладываемого тока; P — радиочастотный элемент стимулятора; T — дополнительная цепь для создания постоянного отрицательного напряжения на микроэлектроде, заполненном ацетилхолином; K — калибратор.

Источником тока для электрофореза служил генератор прямоугольных импульсов. Изоляция цепи для электрофоретического приложения ацетилхолина от земли достигалась радиочастотным элементом P , собранным на полупроводниковом триоде (Майский, 1962).

Работа производилась на комплексе электрофизиологической аппаратуры, разработанной в нашей лаборатории В. Д. Герасимовым, В. А. Майским, Б. Я. Пятигорским. Комплекс аппаратуры включал два усилителя постоянного тока с катодными повторителями. Один из них ($KП_1$) служил для отведения потенциалов; второй ($KП_2$) — измерял силу тока путем отведения падения напряжения на сопротивлении 100 ком, включенном в эту цепь. Напряжение в 2 мв на этом сопротивлении соответствовало пропуску тока в $2 \cdot 10^{-8}$ а.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСЛЕДОВАНИЙ

Электрофоретическое приложение ацетилхолина к наружной поверхности мембраны к. п. вызывало деполяризацию последней. Величина этой деполяризации на различных препаратах при силе тока $1 \cdot 10^{-7}$ и длительности от 10 до 100 мсек. варьировала в пределах от 1 до 20 мв.

Приложение ацетилхолина к к. п. не всегда было одинаково эффективным. Необходимо было найти особые (чувствительные) точки этой пластинки, чтобы получить наибольший ответ. Незначительное смещение микропипетки сопровождалось резким уменьшением амплитуды ацетилхолинового потенциала. Перемещение микропипетки на 20—30 мк вдоль по мышечному волокну приводило к падению величины ответа более чем на 70% (рис. 2, А, Б). При дальнейшем перемещении микропипетки вдоль волокна, в безнервную его часть, приложение такого же количества ацетилхолина не вызывало каких-либо изменений поляризации мембраны.

Повторное приложение постоянного количества ацетилхолина к одной и той же к. п. сопровождалось постепенным уменьшением ответа, что

указывает на некоторую адаптацию («десенситизацию») к. п. к передатчику. Как видно на рис. 2, В, Г, после двадцатикратного приложения

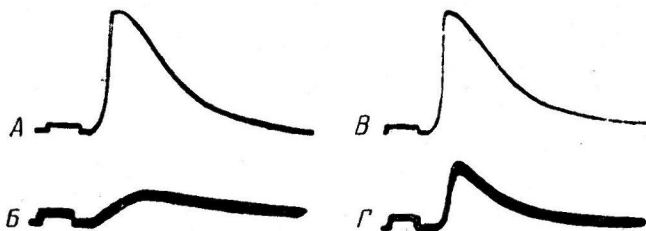


Рис. 2. Факторы, влияющие на амплитуду ацетилхолинового потенциала.

Слева — изменения амплитуды ацетилхолинового потенциала при удалении пипетки с ацетилхолином от к. п. А — ответ к. п. на электрофоретическое приложение ацетилхолина к наиболее чувствительной точке этой к. п.; Б — ответ той же к. п. при смещении микропипетки с ацетилхолином вдоль по волокну на расстояние 25 мк. Длительность толчка — 50 мсек., сила тока — $1 \cdot 10^{-7}$ а. Справа — изменения амплитуды ацетилхолинового потенциала при повторном приложении ионов ацетилхолина. В — то же, что и А; Г — ответ к. п. на ацетилхолин после двадцатикратного приложения его.

На этом и последующих рисунках в начале каждой осциллограммы указана калибровка: напряжение 1 мв, длительность 500 мсек.

ацетилхолина амплитуда ацетилхолинового потенциала уменьшилась более чем вдвое.

Чувствительность к. п. к ионам ацетилхолина в начале ритмического раздражения, в период суммации п. к. п., заметно изменялась. Если ацетилхолин прикладывался в то время, когда развивалась стойкая деполяризация к. п., то дополнительная деполяризация, вызываемая ацетилхолиновым потенциалом, имела значительно меньшую амплитуду, чем исходная деполяризация (рис. 3), вызванная приложением того же количества ацетилхолина.

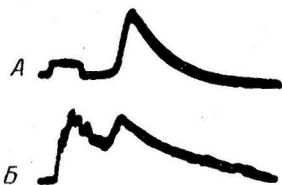


Рис. 3. Эффект электрофоретического приложения ацетилхолина на фоне ритмической активации к. п., сопровождающейся стойкой деполяризацией.

А — ацетилхолиновый потенциал без ритмического раздражения; Б — он же, вызванный через 750 мсек. после начала ритмического раздражения нерва с частотой 150 импульсов в 1 сек.

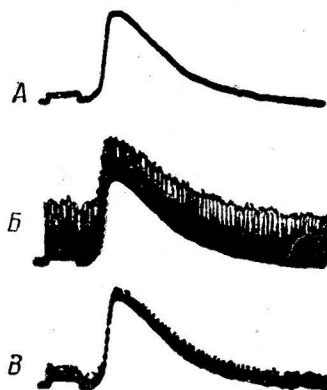


Рис. 4. Изменения п. к. п. на фоне ацетилхолинового потенциала.

А — ацетилхолиновый потенциал вне приложения ритмического раздражения; Б — изменения амплитуды п. к. п. в начале ритмического раздражения с частотой 40 импульсов в 1 сек.; В — то же при уменьшении амплитуды п. к. п. в результате длительного ритмического раздражения с той же частотой.

Если ацетилхолин прикладывался к к. п. тогда, когда ее стойкая деполяризация уже исчезала, а амплитуда отдельных п. к. п. была незначительно уменьшена, ацетилхолиновый потенциал оставался таким же, как и до приложения ритмической стимуляции. В то же время п. к. п.

на фоне ацетилхолинового потенциала изменялись: амплитуда п. к. п. на восходящей части и на вершине ацетилхолинового потенциала уменьшалась и только на исходящей части она снова восстанавливалась до

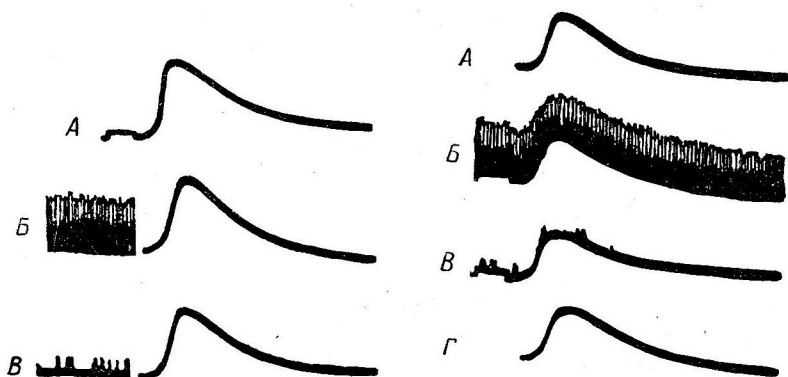


Рис. 5. Пресинаптическое блокирование нервно-мышечной передачи и химическая чувствительность к. п. к ацетилхолину.

Слева: А — ответ на приложение ацетилхолина без стимуляции нерва; Б — то же через 1 сек. после конца тетанической стимуляции с частотой 40 импульсов в 1 сек.; В — то же в условиях пресинаптической блокировки импульсов. Справа: А — ответ на приложение ацетилхолина без стимуляции нерва; Б — то же на фоне ритмической активности к. п., частота раздражения 40 импульсов в 1 сек.; В — то же на фоне трансформации ритма п. к. п.; Г — то же через 1 сек. после прекращения стимуляции.

исходного уровня (рис. 4, А, В). Когда п. к. п. накладывались на вершину ацетилхолинового потенциала, то, несмотря на их уменьшение, общая деполяризация оказывалась почти в полтора раза больше, чем деполяризация, вызываемая только ацетилхолином.

Более длительное тетаническое раздражение с той же частотой приводило к значительному падению амплитуды п. к. п.; в различные фазы ацетилхолинового потенциала они изменялись аналогичным образом (рис. 4, В). Приложение ацетилхолинового потенциала на таком фоне также не сопровождалось изменением химической чувствительности к. п.: ацетилхолиновый потенциал имел такую же амплитуду, как и исходный.

Ответ к. п. на приложение ацетилхолина оставался постоянным независимо от того, вызывался ли он на фоне ритмической активации или же сразу после ее прекращения (рис. 5, А, Б, слева).

Увеличение частоты и длительности тетанизации приводило к трансформации ритма п. к. п. Они начинали полностью выпадать, что свидетельствует о пресинаптическом блокировании проведения нервных импульсов (Костюк, 1956, 1958; Krnjevic, Mileti, 1957, 1958). Исследование химической чувствительности на этой стадии показало, что чувствительность к ацетилхолину при этих условиях остается неизменной. На рис. 5 представлены ответы к. п. на приложение ацетилхолина в условиях ненарушенной нервно-мышечной передачи и при возникновении пресинаптического блокирования нервных импульсов. На приведенных рисунках совершенно отчетливо видно, что ацетилхолиновый потенциал оставался

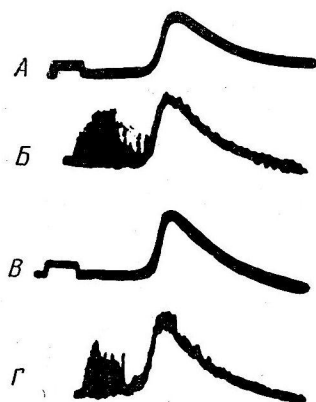


Рис. 6. Химическая чувствительность к. п. при различной частоте стимуляции нерва.

А, В — контрольное приложение ацетилхолина; Б, Г — то же на фоне раздражения с частотой 80 и 100 импульсов в 1 сек.

одинаковым на фоне ненарушенной передачи (рис. 5, *Б*) и на фоне пресинаптического блокирования (рис. 5, *В*). В этих случаях также испытывалось действие ацетилхолина как после прекращения тетанизации, так и на ее фоне; каких-либо отличий обнаружено не было.

Увеличение частоты раздражения (80—100 импульсов в 1 сек.) вызывало более быстрое падение амплитуды п. к. п. и появление трансформации ритма. Ацетилхолиновый потенциал оставался неизменным и при этих условиях (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поскольку химическим медиатором в нервно-мышечном соединении является ацетилхолин, то локальное приложение его к мышечному волокну в области к. п. должно вызвать такой же эффект, как и действие передатчика при прохождении через синапс нервного импульса. Поэтому исследование химической чувствительности к. п. при передаче ритмических импульсов и ее нарушении может помочь выяснить роль пресинаптических изменений в этих процессах. Правда, морфологические особенности нервных окончаний нервно-мышечного соединения лягушки (их большие размеры) могут затруднить доступ электрофоретически приложенного ацетилхолина к чувствительным точкам постсинаптической мембраны. Однако описанное выше строго локальное действие ионов ацетилхолина на определенные точки к. п. позволяет предположить, что приложенный ацетилхолин влияет именно на рецепторные участки постсинаптической мембраны. Взаимодействие ацетилхолинового потенциала и п. к. п. в начальный период тетанизации также может говорить о том, что ацетилхолин действует на те же структуры, что и выделенный окончанием медиатор.

Уменьшение амплитуды п. к. п. как при оптимальной, так и при пессимальной частоте раздражения описано многими авторами — Хаттер (Hutter, 1952), Отсука, Ендоу (Otsuka, Endo, 1960), Отсука, Ендоу, Нономура (Otsuka, Endo, Nonomura, 1962, и др.). Они считают, что такое уменьшение обусловливается уменьшением количества медиатора, освобождаемого нервным окончанием под влиянием нервного импульса; механизм десенситизации постсинаптической мембраны, по их мнению, играет незначительную роль в депрессии к. п. Полученные нами данные также позволяют сделать заключение в пользу пресинаптической природы постепенного ослабления амплитуды п. к. п. при ритмической стимуляции, так как в то время, когда амплитуда п. к. п. значительно снижается, химическая чувствительность к. п. к ацетилхолину не изменяется.

Совершенно другой точки зрения придерживаются Кац, Теслефф (Katz, Thesleff, 1957), Аксельсон, Теслефф (Axelsson, Thesleff, 1958) и др. Эти авторы на основании своих экспериментальных данных пришли к заключению, что главной причиной уменьшения п. к. п. в нервно-мышечном соединении диафрагмы крысы является уменьшение чувствительности к. п. к ацетилхолину в результате десенситизирующего действия передатчика. Возможно, что отличие наших данных от данных указанных авторов обусловлено различными свойствами объектов. Не исключена также возможность, что уменьшение ответа на ацетилхолин после ритмического раздражения может быть артефактом, связанным с механическими движениями препарата. В наших опытах мы неоднократно наблюдали, что самое ничтожное смещение концевой пластинки было достаточным для того, чтобы ослабить или полностью устранить ответ на ацетилхолин; п. к. п. при этом сохранялись неизменными, так как внутриклеточный микроэлектрод следовал за волокном, в то время как внешний смещался от чувствительной точки.

Раздражение нерва высокими частотами приводит к блокированию синаптического проведения по типу трансформации ритма п. к. п. П. Г. Ко-

стюк (1956, 1958), Крневич, Миледи (Krnjevic, Miledi, 1957, 1958, 1959) считают, что этот блок обусловлен преимущественно нарушением проведения в пресинаптических терминалях. Данные настоящей работы показали, что чувствительность постсинаптической мембраны к ацетилхолину не меняется в случае трансформации ритма п. к. п. Это подтверждает пресинаптический характер указанных изменений и не согласуется с высказываемыми иногда предположениями о постсинаптической их природе.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании химической чувствительности концевой пластинки при ее ритмической активации на нервно-мышечном препарате поперечно-полосатой мышцы лягушки при помощи электрофоретического приложения ацетилхолина и внутриклеточного отведения потенциалов концевых пластинок (п. к. п.) установлено, что в начальный период тетанизации, когда происходила суммация п. к. п. и развивалась стойкая деполяризация концевой пластинки, приложение ацетилхолина вызывало меньшую дополнительную деполяризацию, чем приложение того же количества ацетилхолина без ритмической активации. П. к. п., вызванные на восходящей части и вершине ацетилхолинового потенциала, также уменьшались по амплитуде.

2. При более длительном раздражении, когда стойкая деполяризация концевой пластинки уже исчезала, а отдельные п. к. п. уменьшались (более чем на половину), чувствительность к электрофоретически приложенному ацетилхолину оставалась неизменной. Таким образом, это прогрессивное ослабление п. к. п. обуславливается изменениями в пресинаптических образованиях, а не десенситизацией постсинаптической мембраны.

3. В период трансформации ритма п. к. п. также не происходит изменений химической чувствительности постсинаптической мембраны. Следовательно, эта трансформация обусловлена пресинаптическим блокированием проведения нервных импульсов.

4. Десенситизация концевой пластинки к ацетилхолину не имеет существенного значения в механизме пессимального торможения Введенского в нервно-мышечном соединении лягушки.

ЛИТЕРАТУРА

- Костюк П. Г., Докл. на XX Междунар. конгр. физиолог. в Брюсселе, 272, М., 1956; Биофизика, 3, № 3, 274, 1958; 4, № 2, 134, 1959.
 Майский В. А., Физиолог. журн. УРСР, 7, 128, 1962.
 Axelsson J., S. Thesleff, Acta physiol. scand., 43, 15, 1958.
 Castillo J. del, B. Katz, Journ. Physiol., 128, 157, 1955.
 Curtis D., J. Eccles, Journ. Physiol., 141, 435, 1958.
 Hutter O. F., Journ. Physiol., 118, 216, 1952.
 Katz B., S. Thesleff, Journ. Physiol., 138, 63, 1957.
 Krnjevic K., R. Miledi, Nature, London, 180, 814, 1957; Journ. Physiol., 140, 427, 1958; 149, 1, 1959.
 Otsuka M., M. Endo, Nature, London, 188, 501, 1960.
 Otsuka M., M. Endo, J. Nonomura, Japan. Journ. Physiol., 12, № 6, 573, 1962.
 Thesleff S., Journ. Physiol., 148, 959, 1959.

Поступило 15 XI 1963

INVESTIGATION OF END-PLATE CHEMO-SENSITIVITY IN STRIATE MUSCLE FIBER OF THE FROG DURING ITS RHYTHMICAL ACTIVITY

By I. A. Vladimirova

From the Laboratory for General Physiology, A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, Ukr. SSR Acad. Sci., Kiev

О СРАВНИТЕЛЬНОЙ РЕАКТИВНОСТИ НЕРВНО-МЫШЕЧНЫХ СИНАПСОВ У РАЗЛИЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

С. И. Хрусталева

Кафедра фармакологии медицинского института, Днепропетровск

В ряде предыдущих исследований нами было показано, что в основе расслабления скелетной мускулатуры под влиянием различных доз курареподобных препаратов лежит градиент лабильности нервно-мышечных синапсов. В частности, более высоколабильные синапсы диафрагмы оказались более устойчивыми к воздействию диплацина, чем менее лабильные синапсы межреберной и наименее лабильные в этом ряду синапсы икроножной мышц (Хрусталева, 1960, 1962).

Результаты экспериментальных наблюдений совпадают с данными сравнительной анатомии и физиологии. Эти данные свидетельствуют о том, что нервно-мышечные образования, возникающие на ранних этапах эволюции, обладают относительно меньшей функциональной подвижностью по сравнению с приборами, возникающими на более поздних этапах развития.

Еще А. А. Ухтомский считал, что повышение лабильности — приспособление огромной важности, поднимающее организм на более высокую ступень в борьбе за существование. Однако процесс эволюции приборов центральной и периферической нервной системы нельзя себе представить в виде прямой восходящей линии. Огромное влияние на процесс формирования частных образований нервно-мышечной системы оказывают условия обитания. Соответственно этому одни те же образования у разных животных в соответствии с их экологией могут быть различными (Орбели, 1933; Коштоянц, 1934; Фролов, 1938; Северцев, 1951; Бирюков, 1960, и др.).

Затронутые выше вопросы изучены мало, по крайней мере в отношении физиологических свойств нервно-мышечных синапсов и их устойчивости к действию курареподобных препаратов. В связи с этим мы поставили перед собой задачу изучить сравнительную лабильность синапсов икроножной мышцы у животных, стоящих на различных ступенях эволюционной лестницы. С этой целью нами были поставлены опыты на собаках, голубях и лягушках.

МЕТОДИКА

У животных под эфирным наркозом перевязывался седалищный нерв, ближе к спинному мозгу. Периферическая его часть укладывалась на раздражающие электроды и вместе с последними закрывалась тканями и кожей. Отводящие серебряные электроды толщиной 200 мк накладывались в области экваториальной и сухожильной частей икроножной мышцы. Производилась высокая перерезка спинного мозга под продолговатым. Собаки и голуби при этом переводились на искусственное дыхание. Дача эфира прекращалась, и через 40—50 мин. начинался опыт.

Сравнительная лабильность нервно-мышечных синапсов проверялась путем нанесения на нерв раздражений с нарастающей частотой, начиная от 25—30 стимулов в 1 сек. и заканчивая частотой, вызывающей полное прекращение ответных мышечных потенциалов. Длительность отдельного стимула была 0.7 мсек. Сила тока в каждом опыте подбиралась такой, которая при частоте 25—30 стимулов в 1 сек. вызывает максимальные ответные потенциалы мышц.

После установления исходной лабильности синапсов, животным каждые 5 мин. внутривенно вводился раствор диплацина из расчета 0.25 мг/кг веса — до момента полного прекращения передачи с нерва на мышцу импульсов, идущих с частотой 25—30 в 1 сек. У части голубей параллельно с изучением синапсов икроножной мышцы изучались и синапсы грудной мышцы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наблюдения показали, что лабильность мионевральных синапсов икроножной мышцы у собак, голубей и лягушек не одинакова. Данные, характеризующие уровень лабильности, представлены в табл. 1 и 2. Анализ данных табл. 1 показывает, что синапсы икроножной мышцы отдельных собак усваивают без существенной трансформации ответных потенциалов ритмы раздражений, идущие с частотой до 80—150 в 1 сек.

Таблица 1

Реакция нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы собак и лягушек на раздражение разной частоты и на диплацин

№ п/д	Вес животного (в кг)	Частотная характеристика раздражителя, вызывающего снижение ответных потенциалов на			Доза диплацина (в мг/кг), вызывающая полный пессимум	№ п/д	Вес животного (в г)	Частотная характеристика раздражителя, вызывающего снижение ответных потенциалов на			Доза диплацина (в мг/кг), вызывающая полный пессимум
		20—30%	40—60%	100%				20—30%	40—60%	100%	
Собаки						Лягушки					
1	17.0	80	140	200	2.5	1	42	120	140	180	0.75
2	13.0	90	200	270	3.5	2	40	60	60	120	0.5
3	11.3	160	200	270	1.75	3	50	50	60	120	0.5
4	10.0	90	200	240	1.25	4	50	60	80	120	0.5
5	10.2	140	240	270	3.0	5	50	60	80	100	0.5
6	13.5	90	200	270	2.75	6	40	60	100	120	0.25
7	12.8	150	200	240	1.0	7	40	60	60	120	0.25
8	7.8	90	200	270	2.0	8	50	60	90	100	0.5
9	5.8	100	140	270	3.0	9	50	60	60	90	0.5
10	13.0	90	140	220	2.0	10	40	60	60	100	0.5

Таблица 2

Реакция нервно-мышечных синапсов икроножной и грудной мышц голубей на раздражение разной частоты и на диплацин

№ п/д	Вес животного (в г)	Частотная характеристика раздражителя, вызывающего снижение ответных потенциалов на						Путь введения диплацина	Доза диплацина (в мг/кг), вызывающая полный пессимум
		20—30%		40—60%		100%			
		икроножная	грудная	икроножная	грудная	икроножная	грудная		
1	350.0	60	—	80	—	120	—	в/в	0.5
2	310.0	60	—	80	—	140	—	п/к	0.5
3	280.0	60	—	100	—	120	—	п/к	0.5
4	300.0	60	120	60—80	160	160	180	в/в	0.25
5	310.0	50	80	60	120	120	180	в/в	0.5
6	300.0	80	100	120	140	160	160	в/в	0.25
7	300.0	60	80	80	100	100	120	п/к	0.75
8	410.0	80	160	160	180	200	200	в/в	0.25
9	260.0	60	120	80	160	180	200	в/в	0.12
10	245.0	80	—	120	—	140	—	в/в	0.12

Примечание. в/в — внутривенно, п/к — подкожно.

При дальнейшем увеличении частоты раздражений ответные потенциалы мышцы уменьшаются и при определенной частоте практически отсутствуют, наступает полный пессимум в нервно-мышечных синапсах. У отдельных собак он развивается при увеличении частоты раздражения до 200—270 в 1 сек.

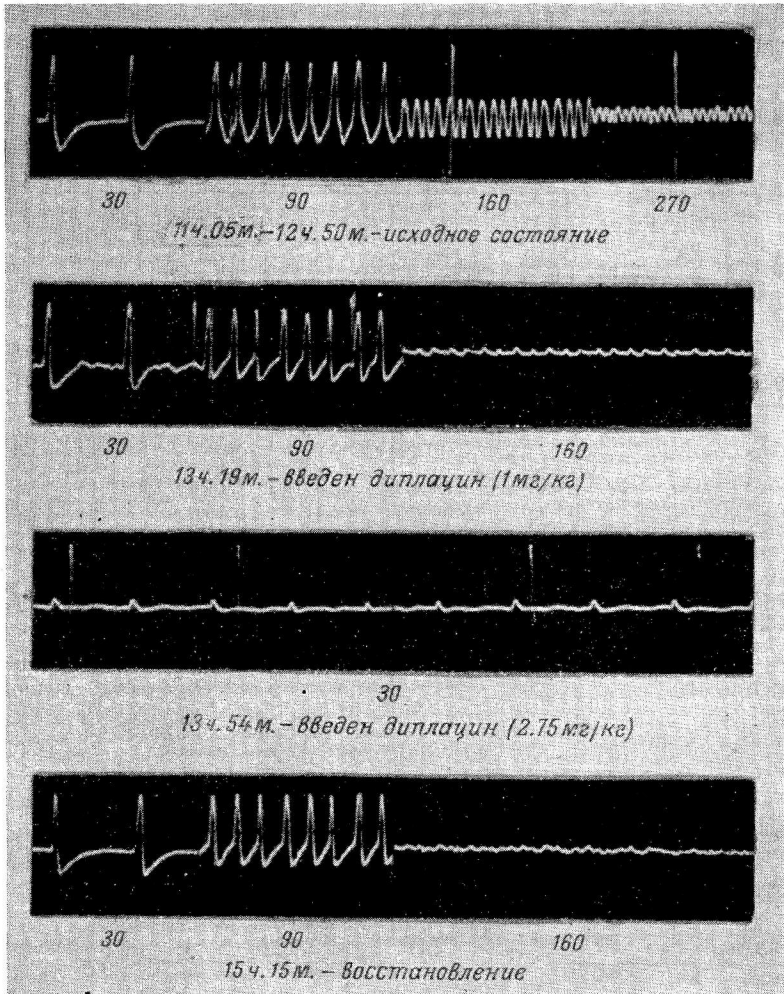


Рис. 1. Влияние диплацина на лабильность нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы собаки.

Самка, вес 13.5 кг. Цифры — частота раздражений нерва в 1 сек. То же в остальных рисунках.

По мере насыщения животного диплацином нервно-мышечные синапсы постепенно теряют свою лабильность и для возникновения в них полного пессимума требуются все меньшие и меньшие частоты раздражения. Наконец, после введения определенной дозы диплацина, даже такая частота раздражения, как 25—30 стимулов в 1 сек., вызывает полный пессимум в синапсах. После прекращения введения диплацина восстановление идет в обратном порядке: вначале восстанавливается воспроизведение раздражений с малой частотой, а затем с большой.

В качестве иллюстрации приводим опыт № 6 (рис. 1). На рис. 1 можно видеть, что в исходном состоянии синапсы икроножной мышцы собаки

усваивают без существенной трансформации амплитуды потенциалов действия ритмы раздражения до 90 в 1 сек. По мере увеличения частоты раздражения нерва амплитуда потенциалов мышцы падает, и при 270 стимулах в 1 сек. возникает полный пессимум. При дробном введении диплацина (общая доза 1 мг/кг), воспроизведение ритмов, идущих с частотой 30—90 в 1 сек., еще существенно не меняется, в то время как при раздражении стимулами частотой 160 в 1 сек. в синапсах развивается пессимум. При внутривенном введении диплацина в дозе 2.75 мг/кг пессимум в синапсах наступает уже при раздражении нерва стимулами 30 в 1 сек.

Устойчивость нервно-мышечных синапсов разных собак к диплацину оказалась неодинаковой. Полный пессимум в нервно-мышечных синапсах у отдельных животных наступал после дробного введения диплацина в дозе от 1.0 до 3.25 мг/кг. При этом обращает на себя внимание, что исходный уровень лабильности мионевральных синапсов еще не может служить показателем устойчивости их к диплацину. Так, например, в опытах №№ 1, 2, 6, 8 и 10 оптимум частоты мионевральных синапсов достигал 80—90 раздражений в 1 сек., а полный пессимум развивался после введения диплацина в дозе от 2.0 до 2.75 мг/кг. В отличие от этого в опытах №№ 3 и 7 при более высоких показателях лабильности (табл. 1) устойчивость мионевральных синапсов к диплацину оказалась значительно ниже. Полный пессимум наступил после введения препарата в дозе 1.0 и 1.75 мг/кг.

На основании этих фактов мы можем сделать заключение, что исходный уровень лабильности у разных животных еще не предопределяет пределов выносливости нервно-мышечных синапсов по отношению к действию релаксантов, подобно тому как исходный характер ЭЭГ не предопределяет пределов выносливости ц. н. с. в условиях наркоза (Батрак и Доронин, 1961; Линенко, 1961; Крышень, 1961, и др.).

Для сравнительного изучения реактивности нервно-мышечных синапсов гомологичной мышцы других видов животных мы использовали голубей. Результаты исследования на голубях приведены в табл. 2. Анализ данных табл. 2 показывает, что оптимальная частота раздражений, усваиваемая нервно-мышечными синапсами икроножной мышцы у отдельных животных, колеблется в пределах от 50 до 80 в 1 сек. Полный пессимум синапсов икроножной мышцы развивается у большинства голубей при частоте раздражений 120—200 в 1 сек.

При сопоставлении данных, характеризующих реактивность гомологичных нервно-мышечных синапсов собак и голубей, можно видеть, что лабильность синапсов у голубей меньше, чем у собак, примерно на половину. Следовало ожидать, что в такой же степени будет отличаться и их устойчивость к диплацину. Однако наблюдения показали, что это далеко не так.

После внутривенного введения голубю диплацина в дозе 0.5 мг/кг (табл. 2, опыты №№ 1, 5) сразу же прекратилась передача нервных импульсов с нерва на мышцу, в то время как введение такой же дозы собакам сопровождалось только незначительным снижением лабильности (табл. 1, рис. 1).

В связи с тем, что переход нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы голубей в состояние пессимума после введения указанной дозы был очень быстрым, мы уменьшили дозу диплацина до 0.25 мг/кг (табл. 1, опыты №№ 4, 6 и 8). Однако и после введения такой дозы трудно было определить переход от пороговой реакции к наступлению полного пессимума. Лишь при дозе вводимого препарата 0.12 мг/кг пессимум развивался несколько медленнее. В качестве примера приводим результат опыта № 10 (рис. 2). На рис. 2 видно, что в исходном состоянии в синапсах икроножной мышцы развивался полный пессимум при раздражении нерва стимулами частотой 140 в 1 сек. После внутривенного введения

диплацина в дозе 0.12 мг/кг, т. е. в дозе в 10—30 раз меньшей, чем собаке, проводимость в синапсах икроножной мышцы голубя прекращается. Восстановление ее наступило примерно через 30 мин. после инъекции диплацина.

Приведенные данные показывают, что лабильность синапсов икроножной мышцы голубей по сравнению с лабильностью синапсов гомологичной мышцы собак ниже примерно на 40—50%, в то время как устойчивость их к диплацину меньше в 10—20 раз и более.

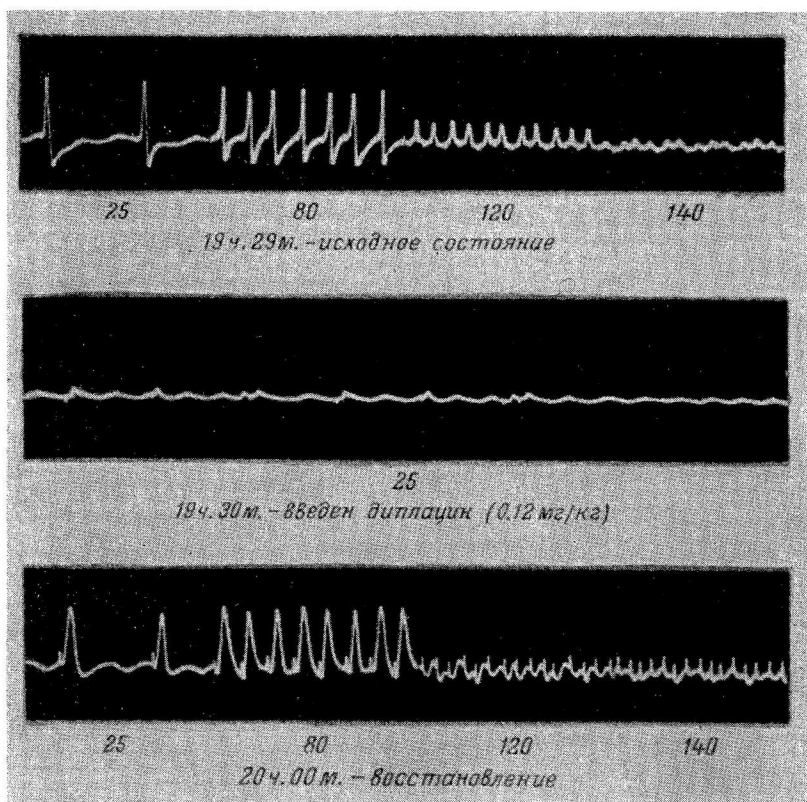


Рис. 2. Влияние диплацина на лабильность нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы голубя. Вес 245 г.

Такая низкая устойчивость нервно-мышечных синапсов голубей к диплацину побудила нас еще раз проверить этот феномен, но при нескольких иных условиях опыта. С этой целью было поставлено 10 опытов на интактных голубях, чтобы исключить влияние оперативной травмы. Данные этих опытов представлены в табл. 3. Опыты показали, что при внутривенном введении диплацина интактному голубю в дозе 0.25 мг/кг (опыты №№ 1, 3, 4, 6) наступает полное расслабление мускулатуры с резким угнетением дыхания, а иногда и с полной его остановкой. После введения диплацина в дозе 0.12 мг/кг расслабляются мышцы конечностей и шеи, но дыхание сохраняется; при этом расслабление мускулатуры очень кратковременно. Через 3—5 мин. после инъекции тонус мышц конечностей и шеи уже восстанавливается.

Наряду с этим наши опыты, проведенные на голубях, показывают, что синапсы грудной мышцы голубей во всех случаях (6 животных, табл. 2) обладают более высокой лабильностью, чем синапсы икроножной мышцы. Соответственно этому при введении диплацина, даже в дозе, вызываю-

Т а б л и ц а 3

Влияние диплацина на тонус мышц голубей и лягушек

№ опыта	Вес животного (в г)	Доза диплацина (в мг/кг)	Характер реакции мускулатуры		Скорость восстановления тонуса конечностей (мин.)
			конечностей и шеи	дыхательной	
Голуби					
1	350	0.25	Расслабление	Дыхание прекратилось	9
2	235	0.12	»	Дыхание поверхностное	5
3	270	0.25	»	»	3
4	297	0.25	»	»	4
5	237	0.12	Неполное расслабление	Дыхание хорошее	4
6	250	0.25	Расслабление	Дыхание прекратилось	5
7	300	0.12	»	Дыхание поверхностное	5
8	280	0.12	»	»	3
9	360	0.12	»	»	4
10	265	0.12	Неполное расслабление	Дыхание хорошее	3
Лягушки					
1	45	0.75	Расслабление	Дыхание поверхностное	
2	40	0.5	»	»	17
3	26	0.5	»	»	27
4	50	0.75	»	»	16
5	60	0.5	»	»	31
6	80	0.25	»	»	20
7	90	0.5	»	»	32
8	85	0.5	»	»	46
9	40	0.5	»	»	24
10	40	0.5	»	»	10

щей быструю кураризацию, нам удалось зарегистрировать у некоторых животных (табл. 2, опыты №№ 5, 7, 8, 9) более раннее выключение проводимости в менее лабильных синапсах икроножной мышцы, и более позднее в более лабильных синапсах грудной мышцы (рис. 3). Эти факты подтверждают наши предыдущие наблюдения, показавшие, что в основе последовательного выключения мускулатуры тела в пределах одного организма при введении релаксантов лежит градиент лабильности нервно-мышечных синапсов.

Некоторое своеобразие в реакции синапсов икроножной мышцы мы наблюдали у лягушек, которые по своей экологии отличаются как от собак, так и от голубей. Исследования показали, что оптимальная частота синапсов икроножной мышцы лягушек лежит несколько ниже, чем голубей, в пределах 50—60 стимулов в 1 сек. (табл. 1). Исключение составляет только опыт № 1, когда синапсы усваивали до 120 раздражений в 1 сек. Полный пессимум у 4 лягушек из 10 развивался при увеличении частоты раздражения до 100 в 1 сек., у 5 он наступал при частоте 120, а у одной — при 180 в 1 сек. (табл. 1). Как видно из данных табл. 1, четкой зависимости между уровнем исходной лабильности синапсов и их выносливостью к диплацину у отдельных животных не отмечалось. Так, например, при внутривенном введении диплацина в дозе 0.5 мг/кг парабозол наступал как в синапсах, пессимальный порог которых в исходном состоянии составлял 100 раздражений в 1 сек. (табл. 1, опыты №№ 5, 8, 9, 10), так и в более лабильных, полный пессимум которых наступал в исходном состоянии при 120 стимулах в 1 сек. (табл. 1, опыты №№ 2, 3, 4). Таким образом, для синапсов икроножной мышцы лягушек в 7 случаях из 10

при внутривенном введении диплацина пороговой оказалась доза в 0.5 мг/кг, а у З — 0.25 мг/кг.

Столько же диплацина понадобилось, чтобы вызвать расслабление мускулатуры конечностей и у intactных лягушек при визуальном наблюдении (табл. 3). При этом дыхание у них сохранялось. Таким образом, лягушки, обладая несколько менее лабильными синапсами икроножной мышцы, чем голуби, обнаружили сравнительно большую устойчивость

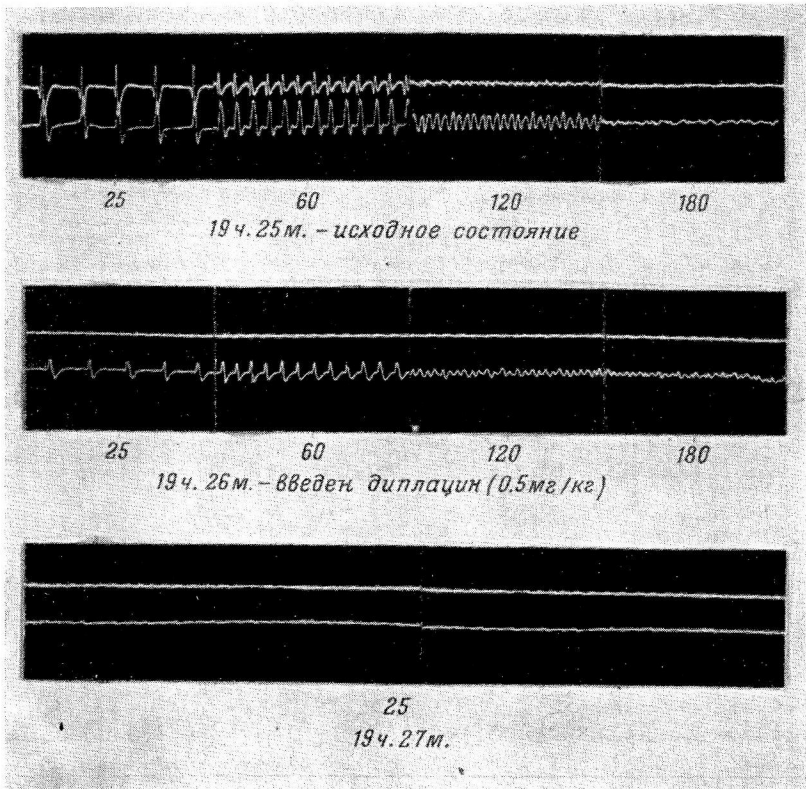


Рис. 3. Влияние диплацина на лабильность нервно-мышечных синапсов икроножной и грудной мышц голубя. Вес 310 г.

Сверху вниз — потенциалы икроножной, грудной мышц.

к диплацину как при визуальном, так и при точном осциллографическом наблюдении. В качестве примера приводим фрагменты опыта № 6. На рис. 4 видно, что в исходном состоянии пессимум нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы лягушки развивался при увеличении частоты раздражения нерва до 120 в 1 сек. и что проводимость импульсов, идущих с частотой 25—30 в 1 сек., прекратилась после введения диплацина в дозе 0.25 мг/кг.

Следует отметить интересный факт, а именно: лабильность синапсов икроножной мышцы у осенних лягушек (табл. 1, опыты №№ 1, 2, 3, 4, 5) и устойчивость их к диплацину в подавляющем случае выше, чем у лягушек, взятых в феврале и марте (опыты №№ 6, 7, 8, 9, 10). Это, по-видимому, связано, с одной стороны, с изменением обмена веществ, а с другой — с явлением детренировки синапсов, которая имела место на протяжении нескольких зимних месяцев. Вопрос о зависимости лабильности синапсов от тренировки нуждается в дополнительной специальной разработке.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у лягушек оптимальная частота раздражения для синапсов икроножной мышцы составляет 50—60 стимулов в 1 сек. У голубей она оказалась равной 50—80 в 1 сек. и, наконец, у собак еще выше — 80—150 в 1 сек. Такая же закономерность отмечается и в отношении частоты, вызывающей полный пессимум. Таким образом, уровень лабильности нервно-мышечных си-

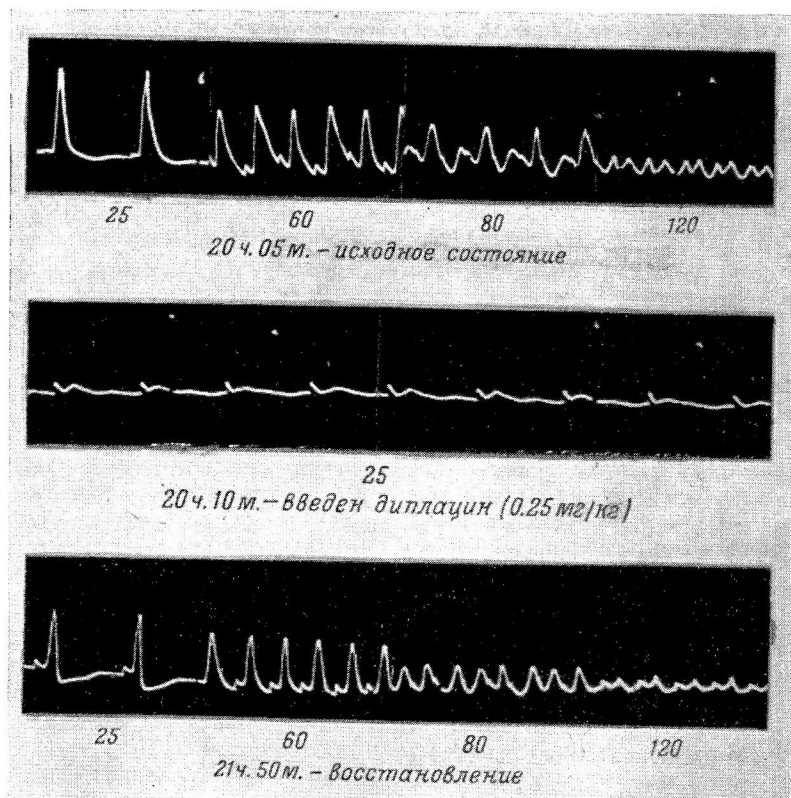


Рис. 4. Влияние диплацина на лабильность нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы лягушки. Самец, вес 40 г.

напсов икроножной мышцы у лягушки, голубя и собаки оказался неодинаковым.

При изучении реакции нервно-мышечных синапсов на действие диплацина мы не могли установить строгой зависимости между уровнем их лабильности и устойчивостью по отношению к этому веществу. Так, например, у лягушек при относительно малой лабильности нервно-мышечных синапсов икроножной мышцы полный пессимум наступал при введении диплацина в дозе 0.25—0.50 мг/кг. В отличие от этого у голубей, у которых икроножная мышца обладает более высокой лабильностью нервно-мышечных синапсов, полный пессимум развивался после введения в кровь диплацина в дозе 0.12 мг/кг, т. е. в 2—3 раза меньшей по сравнению с дозой, которая вводилась лягушкам. Собаки оказались более выносливыми по сравнению с голубями и лягушками; полный пессимум у них наступал после введения диплацина в дозе 1.0—3.5 мг/кг, т. е. от дозы примерно в 2—7 раз большей, чем у лягушек, и в 10—30 раз большей, чем у голубей.

Наряду с этим нами было установлено, что в пределах одного организма устойчивость различных нервно-мышечных синапсов по отношению к диплацину находится в прямой зависимости от градиента их лабильности. Так, например, при введении диплацина голубям сначала расслабляются мышцы конечностей, а затем грудные мышцы, синапсы которых обладают более высокой лабильностью.

ЛИТЕРАТУРА

- Батрак Г. Е., А. Г. Дорониn, Фармаколог. и токсиколог., № 4, 410, 1961.
 Бирюков Д. А. Экологическая физиология нервной деятельности. Медгиз, 1960.
 Коштоянц Х. С. Некоторые вопросы сравнительной физиологии. Медгиз, 1934.
 Крышень П. Ф., Сб. научн. тр., 257, Днепропетровск, 1961.
 Линенко В. И., Тез. VI Украинск. съезда физиолог., биохим. и фармаколог., Одесса, 1961.
 Орбели Л. А., Природа, № 3-4, 1933.
 Северцев С. А. Проблемы экологии животных. М., 1951.
 Фролов Ю. П., Усп. соврем. биолог., 8, № 2, 1938.
 Хрусталеv С. И., Матер. VIII Всесоюзн. конфер. фармаколог, 154, Тбилиси, 1960; Фармаколог. и токсиколог., № 1, 88, 1962.

Поступило 15 VII 1963

COMPARATIVE DATA ON REACTIVITY OF NERVE-MUSCLE SYNAPSES IN DIFFERENT ANIMALS

By *S. I. Khrustalev*

From the Department of Physiology, Medical Institute, Dniepropetrovsk

ИЗМЕНЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА
И НАПРЯЖЕНИЯ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК
В ОТВЕТ НА РАСТЯЖЕНИЕ

Р. С. Орлов

Кафедра нормальной физиологии Медицинского института, Свердловск

Растяжение уретры (Sleator, Butcher, 1955), матки (Reynolds, 1949), кишки (Bülbring, Lion, Schofield, 1958) вызывает увеличение напряжения гладких мышц этих органов. Сокращение гладкомышечных органов при их растяжении рассматривается большинством авторов как местный рефлекс. Однако при отведении потенциалов от отдельных клеток изолированной полоски толстой кишки морской свинки Бюльбринг (Bülbring, 1955) была обнаружена зависимость между степенью растяжения, величиной мембранного потенциала (МП), частотой потенциалов действия (ПД) и напряжением мышцы. На основании этих фактов ею было высказано предположение о том, что в гладкомышечных клетках сократительный механизм непосредственно сочетается со свойствами рецептора растяжения. Но в опытах Бюльбринг была использована изолированная полоска толстой кишки, между гладкомышечными клетками которой располагается большое количество нервных сплетений с нервными клетками. В силу этого обстоятельства нельзя исключить, что растяжение мышцы могло возбуждать нервные элементы и через их посредство влиять на уровень МП:

Мы исследовали взаимоотношения между растяжением *m. retractor penis* собаки, не содержащей в своей структуре ганглиозных нервных образований (Колосов, Мещеряков, 1938), и характером электрического и механического ответов ее гладкомышечных клеток.

МЕТОДИКА

Регистрация потенциалов отдельных клеток ретрактора осуществлялась стеклянными микроэлектродами, заполненными 3*M* раствором хлористого калия; изменения напряжения мышцы записывались при помощи механоэлектронного преобразователя (Орлов, 1961). Растяжение мышцы производилось посредством горизонтального манипулятора со скоростью 1 мм в 1 сек. Опыты ставились в условиях целого организма на интактной мышце после перерезки и дегенерации симпатических, парасимпатических и чувствительных нервов, а также после удаления мозгового слоя надпочечных желез [с целью нарушения синтеза и пресинаптического выделения адренергического медиатора (Кибяков, 1950)].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Растяжение интактной мышцы при стабильном МП, когда отсутствует спонтанная электрическая и механическая активность клеток ретрактора, приводит к градуальному падению МП. При некоторой степени растяжения градуально нарастающая волна деполяризации достигает критической величины и на ее гребне появляются ПД. Появление ПД совпадает с началом сокращения мышцы (рис. 1, а). Анализ электрических и меха-

нических ответов 80 клеток (10 препаратов) показал, что возникновение критической деполяризации клеточной мембраны с разрядами ПД наблюдается при отношении степени растяжения к исходной длине мышцы 1 : 10. Иначе говоря, величина порогового растяжения составляла около 1 мм на 10 мм длины мышцы. Латентный период сокращения мышцы от начала растяжения до момента возрастания напряжения мышцы коле-

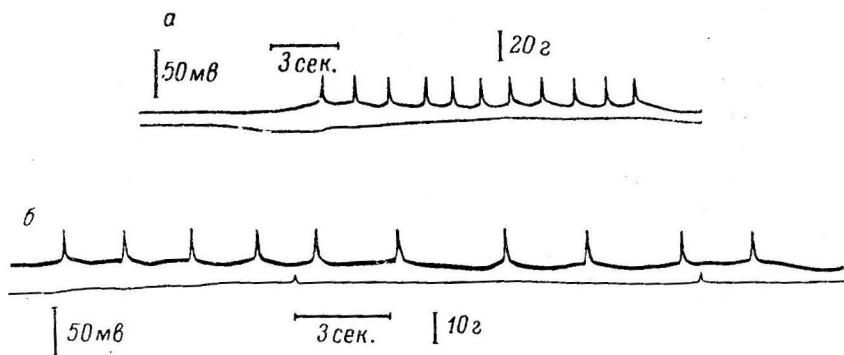


Рис. 1. Изменения МП и напряжения интактной мышцы в ответ на растяжение.

а — при стабильном МП; *б* — при неустойчивом МП. Сверху вниз: уровень МП; напряжение мышцы.

бался от 1.5 до 2.5 сек. Сокращение длилось обычно 12—15 сек. Для вызова повторного ответа на растяжение требовался интервал между растяжениями порядка 6—7 мин.

Растяжение мышцы, осуществляемое в период спонтанной электрической и механической активности гладкомышечных клеток, не вызывает увеличения напряжения мышцы и падения МП, а наоборот, уменьшает частоту спонтанных ПД и гиперполяризует клеточную мембрану (рис. 1, б).

Растяжение денервированной мышцы вызывало изменения МП, практически не отличающиеся от изменений МП в ответ на растяжение интактной мышцы. Изучение электрических и механических ответов 60 клеток

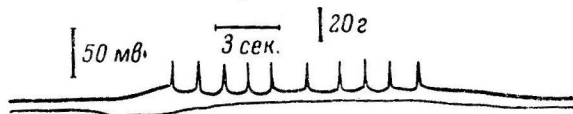


Рис. 2. Изменения МП и напряжения денервированной мышцы при растяжении.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

(8 препаратов) показало, что критическая деполяризация с разрядом ПД развивалась при пороговых величинах растяжения порядка 1 мм на 10.5—11 мм длины мышцы. Следовательно, в клетках денервированной мышцы имелось даже некоторое повышение возбудимости мембраны к растяжению. Латентный период вызванного сокращения колебался от 1 до 2.6 сек., сокращение длилось от 14 до 18 сек. (рис. 2).

Ранее было показано (Орлов, 1962), что удаление мозгового слоя надпочечных желез приводит к повышению исходного уровня МП гладкомышечных клеток в среднем на 3—4 мв. Если полагать, что деполяризация мембраны гладкомышечных клеток в ответ на растяжение определяется исходным уровнем стабильного МП, то увеличение исходной поляризации клетки должно сказываться на электрической и механической реакциях клеток при изменении их длины. Действительно, скорость нарастания градуальной деполяризации в ответ на растяжение по сравнению со скоростью развития деполяризации в клетках интактной мышцы уменьшается. Анализ ответных реакций 48 клеток (6 препаратов с удаленным

мозговым слоем надпочечных желез) показал, что критическая деполяризация с разрядом ПД развивается при отношении степени растяжения к исходной длине мышцы как 1 : 8, 1 : 9, т. е. имеется некоторое повышение порога по сравнению с клетками контрольных препаратов. Латентный период сокращения колебался от 2 до 5 сек. (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, в условиях целого организма растяжение гладкой мышцы, несодержащей в своем составе ганглиозных нервных элементов, вызывает активное сокращение. Наши данные, полученные на отдельных клетках целой мышцы, совпадают с результатами опытов Бернстока и Проссера (Burnstock, Prosser, 1960), поставленных на изолированных полосках гладких мышц слизистой пищевода свиньи, taenia coli кролика и морской свинки, уретры крысы и морской свинки, m. retractor penis собаки.

Регистрируя электрическую активность этих мышц методом сукрозного мостика и записывая одновременно их сокращения, эти авторы обнаружили появление активного сокращения в ответ на быстрое растяжение. Медленное растяжение также вызывало градуально нарастающую устойчивую деполяризацию. В обоих случаях потенциалы действия всегда предшествовали сокращению.

В наших опытах увеличение напряжения мышечных клеток в ответ на изменение их исходной длины также не является результатом прямого раздражения сократительных элементов клеток, так как ПД непременно предшествуют сокращению мышцы. Появление градуально нарастающей деполяризации, при достижении критического уровня которой появляются ПД в ответ на растяжение, наблюдается в различных клетках ретрактора. Следовательно, любые клетки гладкой мышцы могут быть источником ритмической электрической активности при повышении их возбудимости, вызываемой растяжением или другими деполяризующими воздействиями.

Растяжение оказывает различное влияние на величину МП в зависимости от исходной степени поляризации мембраны гладкомышечных клеток. В клетках, МП которых стабилен, растяжение вызывает деполяризацию; в клетках, находящихся в состоянии активности, безразлично спонтанной или вызванной, растяжение увеличивает МП.

По-видимому, растяжение вызывает увеличение проницаемости мембраны гладкомышечных клеток для различных ионов, так как предварительное воздействие на клетку типичных деполяризаторов — ацетилхолина и хлористого калия — понижает порог клеточной мембраны к растягивающему стимулу (Prosser, 1962). Нет оснований считать, что растяжение оказывает различное влияние на мембранную проницаемость активных и неактивных клеток. Скорее всего гиперполяризация при растяжении вызывается вторичным путем.

Возникновение деполяризации и потенциалов действия при активном сокращении гладкой мышцы в ответ на растяжение в клетках как интактной, так и денервированной мышцы позволяет сделать вывод о существовании прямой связи между степенью растяжения гладкомышечных клеток, уровнем мембранного потенциала и сократимостью.

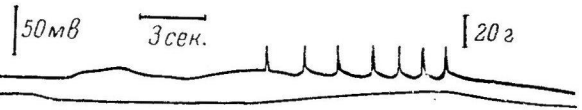


Рис. 3. Изменения МП и напряжения мышцы после удаления мозгового вещества надпочечных желез.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

ЛИТЕРАТУРА

- К и б я к о в А. В. О природе регуляторного влияния симпатической нервной системы. Татгосиздат, 1950.
К о л о с о в Н. Г., А. М. М е щ е р я к о в, Тр. Казанск. мед. инст., 2, 229, 1938.

- Орлов Р. С., Физиолог. журн. СССР, 47, 500, 1961; 48, 342, 1962.
Burnstock G., C. Prosser, Am. Journ. Physiol., 198, 921, 1960.
Bülbring E., Journ. Physiol., 128, 200, 1955.
Bülbring E., R. Lion, G. Schofield, Exper. Physiol., 43, 26, 1958.
Prosser C. L., Physiol. Rev., Suppl., 5, 42, 1962.
Reynolds S. M. Physiology of the Uterus. New York, 1949.
Sleator W., H. R. Butcher, Am. Journ. Physiol., 180, 261, 1955.

Поступило 10 I 1964

CHANGES IN MEMBRANE POTENTIAL AND TENSION OF SMOOTH
MUSCLE CELLS IN RESPONSE TO STRETCH

By *R. S. Orlov*

From the Department of Physiology, Medical Institute, Sverdlovsk

О СООТНОШЕНИИ ДЛИТЕЛЬНОСТИ СОКРАЩЕНИЯ И РАССЛАБЛЕНИЯ ГЛАДКОЙ МУСКУЛАТУРЫ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА

А. А. Генкин и Т. Д. Дзидзигури

Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Ленинград

Двигательная активность тонкого кишечника уже давно стала предметом изучения физиологов. С одной стороны, этому способствовала необходимость изучения двигательной деятельности всего желудочно-кишечного тракта, с другой — тонкий кишечник является удобным объектом для анализа некоторых вопросов нервной регуляции вегетативных функций организма.

Несмотря на внешнюю простоту изучения двигательной деятельности кишечника и большое число работ, выяснявших механизм этой активности, все же ряд важных вопросов остается до сих пор невыясненным. Причины этого довольно многообразны, однако основной из них является отсутствие методики, позволяющей дать точную количественную оценку всех изменений ритмического процесса сокращения, которые происходят при различных воздействиях на орган или систему. Следует подчеркнуть, что это замечание относится не только к деятельности тонкого кишечника, но и к другим циклическим процессам в организме.

Обычно при оценке таких колебательных процессов в гладкомышечных образованиях организма, в том числе и тонкой кишке, физиологи ограничиваются измерением амплитуды, частоты сокращений и времени реакции.

При этом обычно не учитывается информация о скорости сокращения и скорости расслабления. Удобной мерой, характеризующей скорости сокращения и расслабления, может стать длительность восходящей и нисходящей фаз колебаний или число, характеризующее различие в длительностях этих фаз. Работой одного из нас (Генкин, 1962а, 1962б) показано, что эта информация важна для анализа ряда физиологических процессов и позволяет выявить их изменение тогда, когда другие характеристики остаются неизменными.

Удобным методом такого исследования должно явиться определение асимметрии процесса сокращения, т. е. соотношение длительностей восходящей фазы сокращения и нисходящей фазы расслабления. То, что при воздействиях на организм характер такой асимметрии меняется, было отмечено давно. Так, например, при утомлении нервно-мышечного препарата происходит изменение соотношения длительностей восходящей и нисходящей фаз сокращения. Нами (Дзидзигури, 1954) при изучении двигательной деятельности желудочно-кишечного тракта при экспериментальных неврозах было отмечено, что наряду с другими изменениями также нарушалось соотношение фаз сокращения и расслабления.

Однако эти исследования не нашли своего развития, так как не было никаких данных о том, какие величины характеризуют асимметрию при нормальной деятельности тонкого кишечника. Существовала одна методическая погрешность, которая мешала таким измерениям. Как известно, подавляющее большинство исследователей производят запись сокращений с помощью различных миографов, капсул и рычажков, кончик которых при движении описывает дугу окружности большего или меньшего радиуса. Определить степень асимметрии по таким кривым не представляется возможным.

Поэтому настоящая работа преследовала две цели: разработать такую методику записи сокращений, при которой возможен анализ асимметрии колебательного процесса, а также выяснить, является ли такой анализ тонким объективным методом изучения функционального состояния органов, обладающих ритмической активностью.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на 3 собаках с фистулами желудка и тонкого кишечника по Тири—Велла. Двигательная деятельность кишечника изучалась баллонным методом. Регистрирующей частью служили водяные пистон-рекордеры с колоколообразным поплавком или спирограф с прямолинейной записью на кимографе при разной скорости развертки. Давление в баллоне линейно соотносилось с отклонением писчика. 1 мм отклонения на кимограмме соответствовал изменению давления в баллоне на 1 мм водяного столба.

Анализ асимметрии ритмических колебаний тонкого кишечника удобно проводить, когда перистальтические сокращения не регистрируются. Этим обеспечивается иссле-

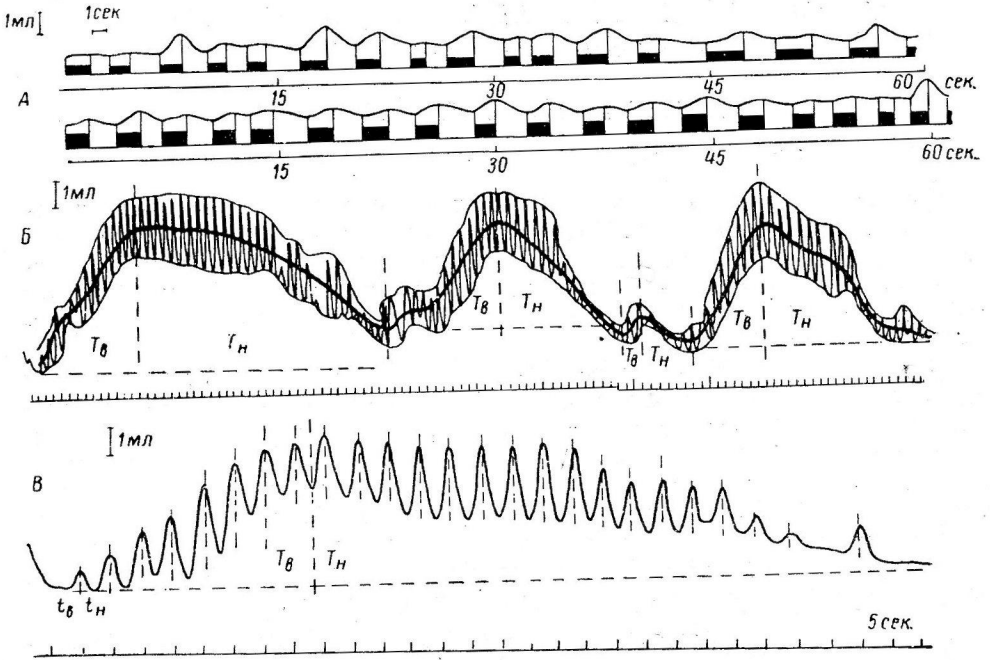


Рис. 1. Иллюстрация измерения длительности восходящих (T_v) и нисходящих (T_n) ритмических и перистальтических сокращений.

А — анализ ритмических волн; Б — анализ перистальтической волны; В — одновременный анализ ритмических и перистальтических сокращений. Вертикальные линии — начало восходящих и нисходящих фаз сокращений. Горизонтальные линии — нулевые. Остальные объяснения в тексте.

дование ритмических колебаний без искажений, вносимых медленными сокращениями кишечника. Такая картина наблюдается при малом давлении в баллоне. При больших давлениях в баллоне приходится применять специальные регистрирующие устройства, которые не воспроизводят медленных колебаний. Для этой цели применялись преобразователи механических колебаний — тензометрические или фотоэлектрические датчики; регистрация производилась на осциллографе, частотная характеристика усилителя позволяла исключить медленные перистальтические волны.

На рис. 1, А приводится запись ритмических колебаний циркуляторной мускулатуры кишечника, полученная одним из таких способов. Неискаженная форма записи ритмических сокращений кишечника и большая скорость развертки (6 мм в 1 сек.) позволяет измерить раздельно с достаточной точностью длительность фаз сокращений $t_v^1, t_v^2, t_v^3, \dots, t_v^n$ и расслабления $t_n^1, t_n^2, t_n^3, \dots, t_n^n$ циркуляторной мускулатуры.

Соотношение длительности фаз для каждого колебания оценивается величиной $\lambda_i = \frac{t_n^{(i)}}{t_v^{(i)}} (i = 1, 2, \dots, n)$ или $\Delta_i = t_n^{(i)} - t_v^{(i)} (i = 1, 2, \dots, n)$. Для характеристики указанных соотношений за определенный промежуток времени вычисляются параметры $\lambda_n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \lambda_i$ или $\Delta_n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \Delta_i$, характеризующие средние значения асимметрии за n циклов сокращений циркуляторной мускулатуры.

Чтобы оценить длительность восходящих и нисходящих фаз перистальтических колебаний, имеющую часто сложную форму, которая затрудняет нахождение экстремальных значений, проводятся огибающие по максимумам и минимумам ритмических колебаний (рис. 1, Б) и через средние значения ординат этих огибающих проводится новая кривая. Для получения кривой измеряется длительность восходящих и нисходящих фаз ($T_{в.}$ и $T_{н.}$), подобно тому, как это делалось при анализе ритмических сокращений, и вычисляются аналогичные параметры L_n и D_n за некоторый интервал времени, определяемый условиями эксперимента.

Представляет интерес одновременное изучение асимметрии перистальтических и ритмических колебаний (рис. 1, В). С небольшими погрешностями это изучение может проводиться при большой скорости развертки (не менее 2 мм в 1 сек.). Регистрация длительности восходящих и нисходящих фаз, кроме асимметрии, позволяет получить также величину периода сокращения единичного цикла: $t_{ц.} = t_{в.} + t_{н.}$ для ритмической и $T_{ц.} = T_{в.} + T_{н.}$ для перистальтической волны.

Соответственно получаем средний период за n циклов тех и других колебаний:

$$\bar{t}_{ц.} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_{ц.}^{(i)}, \quad \bar{T}_{ц.} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_{ц.}^{(i)}$$

Эти значения позволяют оценить среднюю частоту ритмических и перистальтических колебаний за выбранный интервал времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, при балонном методе регистрации двигательной деятельности тонкого кишечника наблюдаются сокращения двух видов — ритмические, частотой 8—15 сокращений в 1 мин., вызванные деятельностью циркулярной мускулатуры, и перистальтические — длительностью от 1 до нескольких минут, связанные с деятельностью продольной мускулатуры (Демур, 1938; Сперанская, 1961, 1962).

Исследование параметров Δ и λ , D и L для больших временных интервалов выявило, что как перистальтические, так и ритмические сокращения имеют асимметрию фаз сокращения и расслабления. Обычно фаза сокращения длится более короткое время, чем фаза расслабления. На рис. 1, где приведены образцы записей сокращений кишечника, отчетливо видна асимметрия ритмических и перистальтических сокращений.

Имеется ли связь между величиной асимметрии и функциональным состоянием органа? Для выяснения этого вопроса было проведено сопоставление введенных нами параметров, характеризующих асимметрию, с амплитудой и частотой сокращений, которые обычно используются как показатели функционального состояния кишечника.

В первую очередь были проведены опыты с регистрацией двигательной деятельности кишечника при различных давлениях в баллоне. Оказалось, что величина параметров Δ , λ , D и L зависит от степени растяжения и уровня давления. Роль растяжения механорецепторов в рефлекторных ответах при раздражении интерорецепторов тонкого кишечника была установлена работами В. Н. Черниговского и его сотрудников (Черниговский, 1961).

На рис. 2 приведена динамика параметров асимметрии и амплитуды сокращений кишечника при различных величинах давления. При небольшом давлении (50—100 мм вод. ст.), когда наблюдаются лишь ритмические сокращения небольшой амплитуды, асимметрия $\lambda=1$. Когда давление в кишечнике достигает 200—300 мм (при объеме 4.0—5.0 мл), на фоне ритмических сокращений появляются перистальтические сокращения, которые со временем увеличиваются. В этих условиях, при нормальном функциональном состоянии кишечника и организма в целом, параметры асимметрии для ритмических и перистальтических сокращений увеличиваются, причем максимум увеличения асимметрии (Δ около 3) появляется при давлении 400 мм вод. ст. При давлении 500, 600, 700, 1000 вод. ст. и большем вновь происходит уменьшение асимметрии. При уменьшении давления в баллоне параметры асимметрии вновь достигают исходных

показателей. Как видно из рис. 2, изменение амплитуды ритмических сокращений является более инертным, чем изменение параметров асимметрии. Частота сокращений практически не меняется.

Таким образом было показано, что параметры асимметрии длительностей восходящих и нисходящих фаз сокращений отражают функциональное состояние тонкого кишечника, изменяемое варьированием степени его растяжения. Сопоставление параметров Δ , D и λ , L с амплитудой и частотой кишечных сокращений показывает, что параметры Δ , D и λ , L являются тонким критерием для

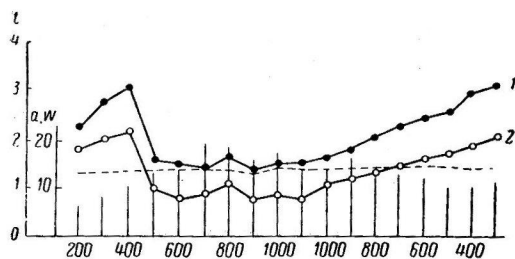


Рис. 2. Зависимость асимметрии ритмических и перистальтических сокращений кишечника от давления в баллоне.

По оси абсцисс — величина давления в кишечнике (в мм вод. ст.); по оси ординат: t — время (в сек.); a , w — амплитуда (в мм) и частота колебаний в 1 мин. 1 — λ , 2 — Δ , прерывистая линия — частота, вертикальные линии — амплитуда.

оценки функционального состояния кишечника. Изменение асимметрии, как правило, обнаруживается раньше, чем изменение амплитуды. Кроме того, в большинстве опытов при средних величинах давления амплитуда остается неизменной, хотя при этом отмечается резкое изменение соотношения длительностей фаз.

При постоянном уровне давления величина асимметрии, а также другие характеристики колебательного процесса, флуктуирует около некоторого среднего значения. Для иллюстра-

ции этих флуктуаций в таблице приведены результаты последовательных наблюдений характеристик перистальтических и ритмических сокращений при уровне давления 200—300 мм вод. ст.

По предварительным данным, коэффициент корреляции средней величины асимметрии и частоты сокращений равен 0.280 и является статистически недостоверным. Корреляция между величиной асимметрии и

Флуктуация асимметрии, амплитуды и частоты сократительной активности тонкого кишечника

	Характеристика перистальтических сокращений		Характеристика ритмических сокращений			
	L	a (в мм)	λ	Δ (в сек.)	ω (в мин.)	a (в мм)
Опыт № 8	2.20	15.0	2.4	2.39	11.0	19.4
	2.16	12.0	1.9	2.10	11.0	25.0
	2.53	17.0	2.8	1.64	10.7	21.4
	2.73	31.0	2.3	2.25	11.0	19.8
	2.60	12.0	2.2	2.47	11.3	18.8
	2.62	35.0	2.3	2.05	11.7	19.7
Опыт № 14	2.36	18.0	2.38	2.10	11.0	28.0
	2.86	28.0	2.86	2.55	11.0	21.0
	2.86	32.0	2.48	2.64	12.0	16.0
	2.00	38.0	2.37	2.00	12.0	18.0
	2.60	40.0	2.12	1.75	12.0	24.0
	2.14	37.0	2.38	2.00	11.0	22.0
	2.30	50.0	2.01	1.67	12.0	22.0
	2.86	34.0	2.0	1.63	12.0	27.0
	2.78	34.0	—	1.55	11.0	25.0
	2.55	31.0	1.96	1.63	11.0	28.0
	2.50	26.0	2.24	2.15	11.0	31.0

амплитудой еще меньше — 0.034. Приведенные здесь коэффициенты корреляции свидетельствуют о том, что во всяком случае при спонтанных сокращениях информация, заключенная в величине асимметрии ритмических сокращений, статистически независима от величины амплитуды и частоты.

Дальнейшим этапом наших экспериментов явилось изучение величины асимметрии сокращений тонкого кишечника при введении атропина и карбохолина. Через несколько минут после введения 0.5 мг атропина под кожу наблюдалось резкое уменьшение асимметрии перистальтических

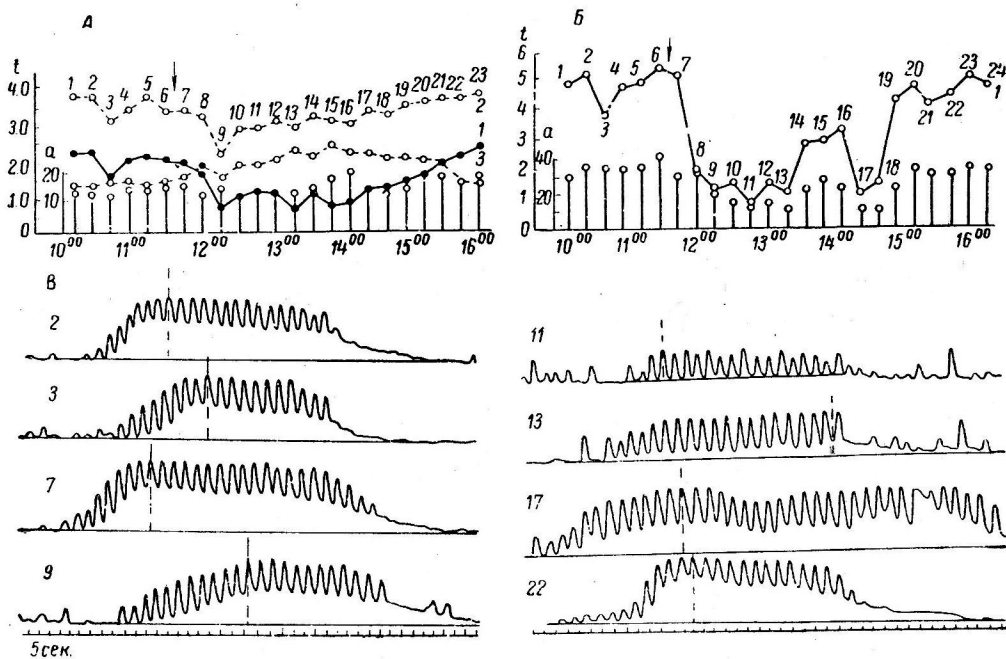


Рис. 3. Динамика асимметрии, амплитуды и частоты ритмических и перистальтических сокращений при действии атропина.

А — динамика характеристик ритмических сокращений; В — динамика характеристик перистальтических сокращений; В — образцы записей фоновой ритмики и ритмики на разных этапах после введения атропина (цифры у микрограмм соответствуют цифрам на А и В). Для А, В: по оси абсцисс — время записи сокращений; по оси ординат: t — длительность (в сек.); a — амплитуда (в мм); 1 — величина параметра Δ , 2 — средняя длительность нисходящей фазы за одно перистальтическое колебание (цифры — номера последовательных перистальтических волн), 3 — длительность восходящей фазы за одно перистальтическое колебание; вертикальные линии — амплитуда; стрелка — введение атропина.

волн. На рис. 3 приведены отдельные участки записи сокращений тонкого кишечника в разные моменты после введения атропина и результаты количественного анализа динамики колебаний. На рис. 3, А видно, что при введении атропина происходит уменьшение асимметрии (параметра Δ) ритмических сокращений. Это изменение связано с увеличением длительности восходящих и уменьшением длительности нисходящих фаз. Заметные изменения амплитуды обнаруживаются позже, чем параметров асимметрии. При этой дозе атропина уменьшение асимметрии (параметра L) перистальтических волн более выражено (на рис. 3, В приведена динамика изменений параметра L в этом же опыте). Введение меньших доз атропина вызывает уменьшение асимметрии при отсутствии заметных изменений других показателей сокращения. При увеличении дозы атропина изменения амплитуды параметров асимметрии выражены более отчетливо (рис. 4).

В опытах с введением холиноэргических препаратов, в частности карбохолина в различной дозировке (10^{-10} , 10^{-5}), как подкожно, так и при орошении петли кишечника были получены изменения параметров асимметрии перистальтических колебаний в противоположную сторону.

Введение карбохолина вызывает увеличение параметров асимметрии — уменьшение длительности восходящей и увеличение длительности нисходящей фаз сокращения. Параметр L достигает максимума. При малых и средних дозах карбохолина меняется и асимметрия ритмических сокращений. На рис. 5 приводятся результаты действия карбохолина на асимметрию и другие параметры перистальтического и ритмических сокращений.

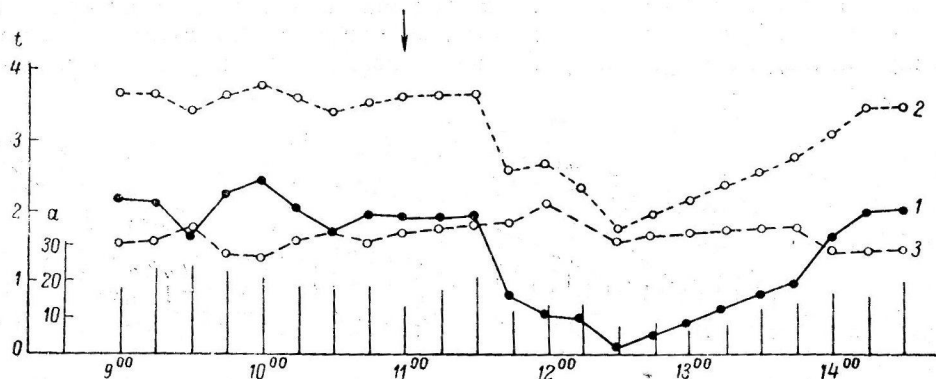


Рис. 4. Динамика сокращений при действии 1 мг атропина.

Обозначения те же, что и на рис. 3, А.

ний. Как видно из рисунка, введение карбохолина на фоне ритмических сокращений вызывает появление перистальтических сокращений и параметр L постепенно увеличивается. Холиноэргический механизм увеличения асимметрии перистальтических колебаний подтверждается уменьшением ее при последующем введении атропина.

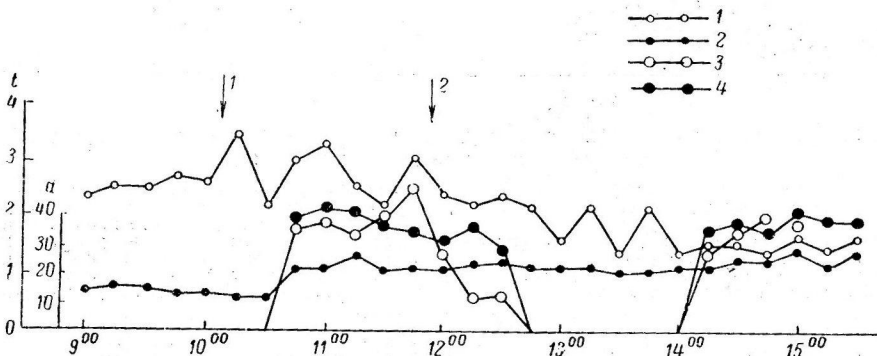


Рис. 5. Динамика характеристик ритмических сокращений и перистальтических сокращений при действии карбохолина.

По оси абсцисс — время записи сокращений; по оси ординат: длительность (в сек.), a — амплитуда (в мм). 1 — λ ; 2 — амплитуда ритмических сокращений; 3 — L ; 4 — амплитуда перистальтических сокращений. Стрелки — введение карбохолина (1) и атропина (2).

Полученные данные о действии карбохолина на асимметрию перистальтических и ритмических сокращений не совпадают с данными Е. Н. Сперанской и ее сотрудников (1961) и Демура (1938), считающих, что ацетилхолин и ему подобные вещества не изменяют сокращений циркуляторных мышц кишечника. Анализ показывает, что отсутствие влияния ацетилхолина наблюдалось в опытах, где имеется очень сильное растяжение кишечника баллоном или миографом.

Подытоживая полученные данные, можно сказать, что имеется 4 вида изменения асимметрии перистальтических сокращений, которые отражают функциональное состояние органа и его регулирующих систем. Рис. 6

иллюстрирует типичные формы кривой сокращений кишечника, где изменения асимметрии отражают изменения функционального состояния одного и того же животного. Кривая 1 иллюстрирует нормальную перистальтическую волну. Кривая 2 отражает стадию усиления двигательной активности с увеличением асимметрии. Кривая 3 — начальную фазу угнетения активности. На кривой 4 параметр L становится меньше единицы — перед полным угнетением двигательной активности. Таким образом, если при изучении динамики сократительного процесса обнаруживается увеличение параметра L , то это свидетельствует о повышении функ-

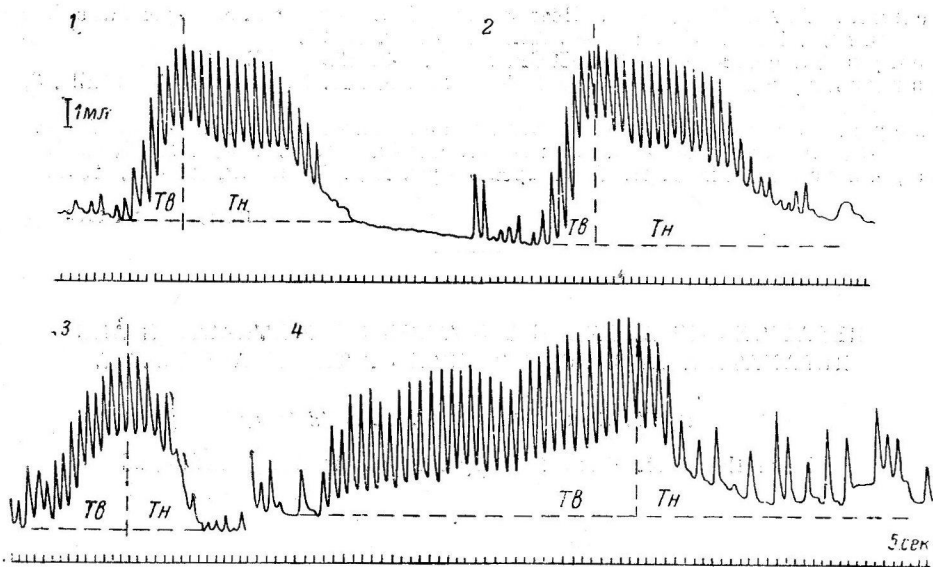


Рис. 6. Некоторые формы перистальтических сокращений тонкого кишечника с различным параметром асимметрии, отражающим разные функциональные состояния (1—4).

Обозначения те же, что и на рис. 1, Б.

ционального состояния; уменьшение L при неизменной или даже увеличивающейся амплитуде говорит об уменьшении возбуждения, о снижении функционального состояния. Появляется возможность по характеру кривой предсказать динамику процесса сокращения в последующем.

Изучение асимметрии других колебательных процессов в живом организме (ЭЭГ, сокращение сердечной мышцы, уровень кровяного давления и ряд секреторно-моторных реакций) заставляет предположить, что этот параметр имеет общее значение; он является, по-видимому, отражением динамики возбудительного процесса.

ВЫВОДЫ

1. Ритмические и перистальтические сокращения гладкой мускулатуры кишечника имеют асимметрию длительностей фаз сокращений и расслаблений.
2. В нормально функционирующей кишке величина асимметрии (λ , L) колеблется в диапазоне от 0.3 до 3.
3. Величина асимметрии спонтанно протекающих ритмических сокращений кишечника не коррелирует с их амплитудой и частотой.
4. Атропин (0.5—1.0 мг) уменьшает асимметрию как ритмических, так и перистальтических сокращений.

5. Карбохолин (10^{-10} — 10^{-5}) увеличивает асимметрию ритмических и перистальтических сокращений (при средних и слабых растяжениях кишечника баллоном; $P=50$ — 100 мм вод. ст.).

6. Соотношение длительностей восходящих и нисходящих фаз сокращения и расслабления гладкой мускулатуры, является тонкой характеристикой функционального состояния органа и отражает динамику возбудительного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- Генкин А. А., Тез. докл. II Всесоюзн. конфер. по примен. электроники в биол. и мед., 15, Л., 1962а; Докл. АПН, № 4, 99, 1962б.
Демур Т., Физиолог. журн. СССР, 24, № 1-2, 133, 1938.
Дзидзигури Т. Д., Тр. Инст. физиолог. им. И. П. Павлова АН СССР, 3, 10, Л., 1954.
Сперанская Е. Н. Вопросы физиологии вегетативного отдела нервной системы. Изд. АН СССР, М.—Л., 1961; Бюлл. экспер. биол. и мед., 22, 1, 1962.
Черниговский В. Н. Интерорецепторы. Изд. АН СССР, М.—Л., 1961.

Поступило 2 I 1963

RELATIONSHIP BETWEEN DURATION OF CONTRACTION AND RELAXATION IN SMOOTH MUSCLE OF THE SMALL BOWEL

By *A. A. Genkin* and *T. D. Dzidzigury*

From the S. M. Kirov Military Medical Academy, Leningrad

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ПОВЫШЕНИЯ
ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ
АДАПТИРОВАННЫХ К ГИПОКСИИ КРЫС

З. И. Барбашова

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

В предыдущей работе (Барбашова, 1963) нами было показано, что при повышении резистентности организма, вызванного тренировкой к гипоксии, отмечается возрастание осмотической резистентности эритроцитов. Теоретически возможно допустить несколько толкований этого феномена. Известно, что устойчивость эритроцитов взрослых животных повышается при кровопотерях, ожогах, при отравлении гемолитическими ядами, действии кобальта (Шустров, Владос, 1920; Гительзон, Терсков, 1960, 1961) и, как мы показали, при длительном действии гипоксии, т. е. во всех тех случаях, в которых вызывается стимуляция эритропоэза. Значительное усиление новообразования красной крови сопровождается, как правило, поступлением в кровяное русло менее зрелых эритроцитов, что выражается в первую очередь в повышении количественного содержания ретикулоцитов и появлении молодых их форм.

Многочисленными исследованиями показано, что молодые формы эритроцитов обладают большей стойкостью к действию гипотонических растворов солей, кислот, гемолитических ядов и ряда других агентов (Гительзон, Терсков, 1960, 1961; Воробьев, Бриллиант, 1961, и др.). Следовательно, во-первых, в порядке предположения можно считать, что причиной повышения осмотической резистентности эритроцитов адаптированных к гипоксии крыс является обогащение крови более стойкими молодыми формами красных клеток. Если это так, то должна быть строгая корреляция между изменением состава красной крови и стойкости эритроцитов.

Во-вторых, как свидетельствуют многочисленные наблюдения, эритроциты отличаются по своей стойкости не только в зависимости от своего возраста, но также и от возраста животного. Так, эритроциты эмбрионов и новорожденных обладают более высокой осмотической резистентностью по сравнению с эритроцитами взрослых животных (Шустров, Владос, 1920; Вакуленко, Павлова, 1927; Hognung, 1927, и др.), более устойчивы они и к гемолитическим ядам (Шустров, Владос, 1920). Напротив, устойчивость их к действию щелочи меньше, чем у взрослых (Тринчер, Гинцбург, 1963). Следовательно, если изменение состава красной крови, вызванное длительным действием гипоксии, сопряжено с появлением каких-то свойств, характерных для крови новорожденного, то тогда наряду с повышением осмотической резистентности и стойкости к гемолитическим ядам должно наблюдаться и снижение устойчивости к действию щелочей.

Наконец можно предположить, что повышение осмотической резистентности эритроцитов у адаптированных к гипоксии крыс связано не с «омоложением» крови и не с появлением каких-то эмбриональных свойств

крови, но с однонаправленным сдвигом устойчивости всей массы эритроцитов, в том числе и зрелых, зависящем от изменения физико-химических свойств крови. Возможность такого механизма изменения устойчивости эритроцитов показана в работах Гительсона и Терского (1961). Если повышение осмотической резистентности эритроцитов у адаптированных к гипоксии крыс имеет именно этот механизм, то совсем не обязательна строгая корреляция между величиной осмотической резистентности и составом красной крови.

Задачей настоящей работы была экспериментальная проверка правильности высказанных предположений о возможных причинах ранее показанного нами повышения осмотической резистентности эритроцитов в крови адаптированных к гипоксии крыс. С этой целью определялись осмотический, сапониновый и щелочной гемолиз эритроцитов, а также количественный и качественный состав красной крови у белых крыс, тренированных к гипоксии.

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили белые крысы линии Вистар (самцы) весом 200—250 г. Адаптация к гипоксии достигалась путем тренировки в барокамере при ежедневно нарастающем разрежении атмосферного воздуха вплоть до 308 мм рт. ст., что соответствует 7000 м высоты. Экспозиция в барокамере продолжалась по 4 часа в день 6 раз в неделю. Всего тренировались две группы крыс: первая (22 крысы) в течение одного и вторая (10 крыс) — в течение трех месяцев. Через сутки после окончания срока тренировки в барокамере для оценки степени адаптированности определялась устойчивость к острой гипоксии. С этой целью тренированные крысы и контрольные поодиночке помещались под колпак вакуумного насоса, в котором в течение 40 сек. создавалось разрежение воздуха, соответствующее высоте в 12 000 м. Максимальная экспозиция на этой «высоте» равнялась 5 мин. Если до конца этого срока начинался резкий судорожный припадок или отмечалось длительное прекращение дыхания, то крысы немедленно «спускались» путем быстрого впуска воздуха под колпак насоса. Велись наблюдения за частотой и характером дыхания, общей двигательной активностью, состоянием мышечного тонуса и характером судорожных подергиваний отдельных групп мышц или всего тела. Более детально методика тренировки в барокамере и способ оценки общей устойчивости организма к гипоксии подопытных животных описаны прежде (Барбашова, 1963). Не раньше, чем через сутки после такого испытания (в подавляющем большинстве случаев позже), адаптированные к гипоксии крысы, непременно в паре с контрольными, брались для определения состава крови и резистентности эритроцитов.

Осмотическая резистентность эритроцитов определялась обычным способом по степени гемолиза крови в растворах с убывающей концентрацией хлористого натрия (Барбашова, 1963).

Щелочная устойчивость эритроцитов изучалась методом, описанным К. С. Тринчером (1959) — по скорости гемолиза взвеси эритроцитов в изотоническом щелочном буфере. Кровь в количестве 0.1 мл смешивалась с 0.5 мл раствора, состоящего из 3 частей физиологического раствора и 1 части 5%-го раствора цитрата натрия. 0.01 мл этой (разбавленной в 5 раз) крови смешивались с 5 мл изотонического боратного буфера с рН 9.97 и оставлялись при температуре в 20 или 31°. Момент смешивания крови со щелочным буфером отмечался как начало воздействия щелочной среды на эритроциты. Через определенные промежутки времени на фотоэлектроколориметре (при длине волны в 534 мкм) измерялась оптическая плотность смеси для определения степени гемолиза. Гемолиз считался законченным, когда величины оптической плотности достигали наименьших постоянных значений, соответствующих плотности прозрачного раствора гемоглобина.

Сходным способом определялась скорость гемолиза эритроцитов при действии гемолитического яда сапонина. С этой целью 0.05 мл той же (в 5 раз разбавленной) крови смешивались с 15 мл физиологического раствора и в 4 мл этой смеси определялась исходная оптическая плотность на фотоэлектроколориметре. Затем прямо в кювету с кровью, стоящую в фотоэлектроколориметре, быстро добавлялись 0.75 мл 0.1%-го раствора сапонина, разведенного на физиологическом растворе. После быстрого и тщательного перемешивания каждые 20 сек. производился отсчет величины оптической плотности смеси. В фотоэлектроколориметре поддерживалась постоянная температура 26°. Гемолиз считался законченным при стабилизации величин оптической плотности и уравнивании их с плотностью прозрачного раствора гемоглобина, как и при определении щелочного гемолиза.

Состав красной крови определялся обычным способом: количество гемоглобина измерялось в геметометре Сали; количество эритроцитов подсчитывалось в камере Горяева; количество ретикулоцитов подсчитывали по четырем группам, согласно классификации И. А. Кассирского и Г. А. Алексеева (1955).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Характеристика общей устойчивости крыс к гипоксии при «подъеме» на 12 000 м. Быстрый «подъем» на 12 000 м показал, что все 22 крысы, тренировавшиеся в барокамере в течение месяца, хорошо адаптировались и приобрели повышенную устойчивость к гипоксии. Они все пережили 5-минутную экспозицию в удовлетворительном состоянии; дыхание уже к моменту достижения «высоты» 12 000 м было частым (от 100 до 130 раз в 1 мин.) и ритмичным; не отмечалось резкого двигательного возбуждения в 1-ю мин. пребывания на «высоте»; мышечный тонус нарушался в умеренной степени, и крысы сохраняли способность находиться в обычной позе, поднимать голову вверх и удерживать ее в таком положении. После «спуска» животные сразу же могли самостоятельно передвигаться. Что касается 10 крыс, тренировавшихся в течение 3 месяцев, то состояние их во время пребывания на 12 000 м свидетельствовало о плохой устойчивости к гипоксии. Они, так же как 24 контрольных, к моменту достижения «высоты» 12 000 м обнаруживали резкое двигательное возбуждение, наблюдались судороги в отдельных частях тела; дыхание, как правило, прекращалось; вслед за короткими судорожными припадками наступали паузы глубокой атонии, когда животные лежали на полу камеры, распластавшись на животе. В тех случаях, когда у животных дыхание все же восстанавливалось и они могли находиться на «высоте» в течение некоторого времени (иногда даже в течение 5-минутной экспозиции), то дыхание было редким (от 12 до 70 раз в 1 мин.), аритмичным, наблюдались фазовые патологические нарушения характера дыхания с появлением гаспноитической одышки. Состояние было настолько тяжелым, что после «спуска» крысы лежали на боку и начинали передвигаться лишь через несколько минут. Полученные результаты дали нам право считать, что только месячная тренировка в барокамере дала положительные результаты и что только эту группу крыс можно считать успешно адаптировавшейся и повысившей свою общую резистентность. У крыс же, тренировка которых продолжалась 3 месяца, произошел срыв адаптации; по-видимому, режим тренировки оказался слишком жестким при такой длительности. В дальнейшем эту группу крыс мы будем называть перетренированной. Следует заметить, что крысы линии Вистар вообще отличаются меньшей устойчивостью к гипоксии. Это заставило нас снизить остроту как тренировочного режима (7000 вместо 7600 м, как это было в наших прежних работах), так и условий при испытании общей устойчивости к острой гипоксии (12 000, вместо 13 000 м).

2. Картина красной крови. Месячная тренировка в барокамере осуществлялась в два приема: 15 крыс тренировались к гипоксии весной и 8 — осенью 1963 г. По ряду соображений, которые будут ясны при дальнейшем изложении материала, данные о составе красной крови мы представим по каждой группе отдельно. Как видно из данных таблицы, месячная тренировка к гипоксии привела к заметной стимуляции кроветворения как в весенней, так и в осенней партии крыс. Кровь обогатилась гемоглобином в среднем с 15.3 до 19.2 г% весной и с 15.3 до 19.3 г% осенью; количество эритроцитов выросло с 9.03 до 10.21 млн весной и с 8.58 до 10.55 млн осенью; число ретикулоцитов — с 25 до 62% весной и с 23 до 33% — осенью. При этом в составе ретикулоцитов одинаково отчетливо выражен сдвиг влево.

Что касается группы перетренированных крыс (тренировавшихся весной в течение 3 месяцев), то несмотря на то что они оказались неадаптированными и у большинства из них количество эритроцитов не отличалось от контрольных величин, все же у 6 животных из 10 имелось более высокое содержание гемоглобина (в среднем по группе 17.1 г%) и отме-

Средние величины количественного состава крови

Количество	Контрольные крысы		Адаптированные к гипоксии		Перетренированные
	весна	осень	весна	осень	
Крыс	15	9	14	8	10
Гемоглобина (в г %о)	15.3 ± 0.10	15.3 ± 0.16	19.2 ± 0.44	19.3 ± 0.35	17.1 ± 0.39
Эритроцитов (в млн)	9.03 ± 0.14	8.58 ± 0.19	10.21 ± 0.3	10.55 ± 0.3	8.83 ± 0.33
Ретикулоцитов (в %о)	25 ± 1.33	23 ± 0.87	62 ± 3.40	33 ± 1.44	41 ± 3.50
В том числе:					
I группы	Нет	Нет	0.1	Нет	0.6
II группы	4	7	18	12	16
III группы	7	6	16	10	12
IV группы	14	10	28	11	12

чался заметный сдвиг влево в составе красной крови. Количество ретикулоцитов у этих 6 крыс не только было повышенным, но имелось высокое содержание даже таких незрелых клеток, как ядерные нормобласты (I группа). Сдвиг влево клеток красного ряда свидетельствует об усилении эритропоэтической функции красного ростка костного мозга у большинства крыс и этой группы.

3. Осмотическая резистентность эритроцитов. Так же, как и в предыдущей нашей работе (Барбашова, 1963), осмотическая резистентность эритроцитов адаптированных к гипоксии крыс оказалась более высокой, чем у контрольных животных. Кривые гемолиза были точно такими же, как в прежней работе, поэтому мы их здесь приводить не будем. Укажем лишь, что в данной работе 50%-й гемолиз эритроцитов у контрольных животных происходил в среднем при концентрации хлористого натрия, равной 0.58%, при колебаниях в отдельных опытах от 0.54 до 0.62%, тогда как у адаптированных к гипоксии крыс 50%-й гемолиз наступал при более низких разведениях солевого раствора — в среднем при 0.49%, с колебаниями в отдельных опытах от 0.45 до 0.54%.

Если сопоставить величины, характеризующие состав красной крови у каждой контрольной и адаптированной крысы, с величинами осмотической резистентности их эритроцитов (принимая за показатель резистентности концентрацию хлористого натрия, при которой гемолизировалось 50% эритроцитов), то, как это явствует из рис. 1, А, В, на первый взгляд, между этими величинами выступает прямая зависимость. Чем выше эритропоэз (рис. 1, В, I, II), чем больше в крови ретикулоцитов (рис. 1, В, III), тем выше и осмотическая резистентность (рис. 1, В, IV). Однако такое впечатление является ошибочным. При более детальном анализе полученных материалов выступает ряд фактов, которые заставляют считать, что подлинной корреляции между высотой осмотической резистентности эритроцитов и степенью левого сдвига в составе красной крови нет. В самом деле оказывается, что наиболее высокая резистентность эритроцитов у крыс, отмеченных на рис. 1, В, IV цифрами 1, 2, 3, 4, никак не коррелирует со степенью «омоложения» крови, т. е. возрастанием количества ретикулоцитов у тех же животных (рис. 1, I, 2, 3, 4 на В, III). Нет зависимости осмотической резистентности и от содержания гемоглобина в крови и от общего числа эритроцитов (рис. 1, I, 2, 3, 4 на В, I, II). Корреляция нет и при сопоставлении величин осмотической устойчивости эритроцитов у крысы, обозначенной цифрой 5 (средняя устойчивость), или у крысы 6 (самая низкая устойчивость) с содержанием ретикулоцитов, эритроцитов и гемоглобина у этих же крыс. Значит есть что-то другое, от чего зависит изменение осмотической резистентности эритроцитов у адаптированных к гипоксии животных.

Уверенность в этом подкрепляется в еще большей степени при рассмотрении результатов, полученных на группе перетренированных крыс (рис. 1, В). Несмотря на то что у большинства крыс этой группы коли-

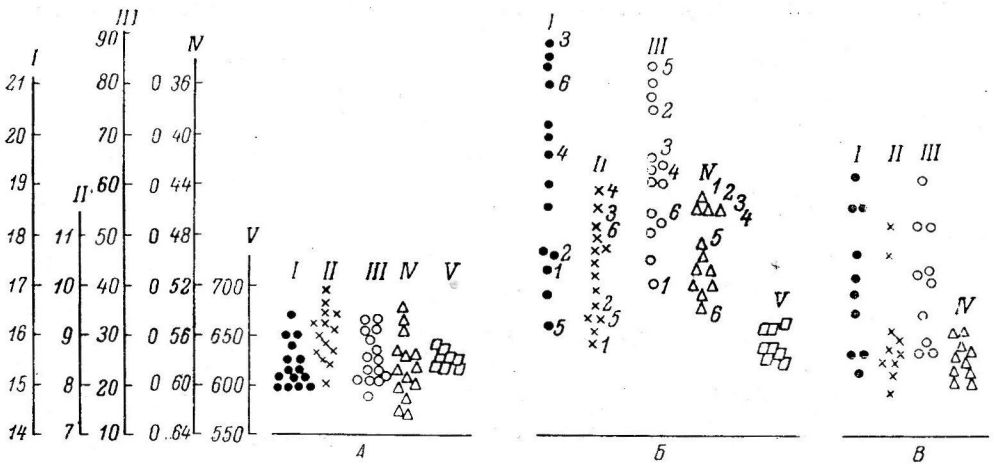


Рис. 1. Сопоставление устойчивости эритроцитов к гемолизу и состава красной крови крыс.

I — количество гемоглобина (в г %); II — количество эритроцитов (в млн); III — количество ретикулоцитов (в %); IV — концентрация хлористого натрия (в %), при которой происходит 50%-й гемолиз; V — время (в мин.), при котором степень щелочного гемолиза соответствует оптической плотности 0.50 (при 20°). А — контрольные, Б — адаптированные к гипоксии, В — перетренированные крысы. Каждый значок — величина, полученная для отдельной крысы.

чество ретикулоцитов повышено (рис. 1, В, III) и в их ряду отмечается заметный сдвиг влево, осмотическая резистентность эритроцитов (рис. 1, В, IV) ничем не отличается от величин, полученных для контрольных животных (рис. 1, А, IV); 50%-й гемолиз у них происходил в среднем при концентрации хлористого натрия 0.58%, так же как и в контроле. Напрашивается вывод, что повышение осмотической резистентности не является следствием повышенного эритропоэза, приводящего к «омоложению» крови.

4. Устойчивость эритроцитов к сапони и ну. Скорость сапонинового гемолиза определялась только на осенней партии крыс, только на хорошо адаптировавшихся к гипоксии животных и соответствующей им контрольной группе. Всего было обследовано 8 пар животных. У всех 8 адаптированных к гипоксии крыс кривые сапонинового гемолиза были очень сходны между собою.

Не отличались они и от кривых гемолиза у контрольных крыс. Поэтому на рис. 2 мы приводим лишь статистически достоверные средние величины. Как видно из рис. 2, все фазовые изменения оптической плотности взвеси эритроцитов после добавления сапонины у опытных и контрольных крыс протекали одинаково. Вначале,

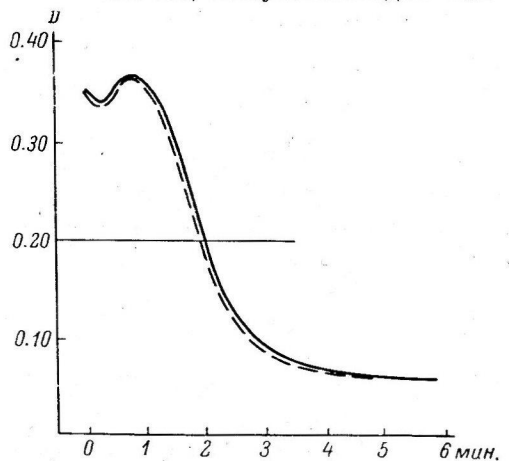


Рис. 2. Скорость сапонинового гемолиза эритроцитов крыс.

По оси ординат — оптическая плотность взвеси эритроцитов; по оси абсцисс — время (в мин.). Прерывистая линия — контрольные, сплошная линия — адаптированные к гипоксии животные.

в течение около 1 мин., отмечалось небольшое падение, а затем повышение оптической плотности, связанное с периодом сферуляции эритроцитов. После этого примерно до 2½ мин. наблюдалось резкое падение величин оптической плотности, свидетельствующее о быстро нарастающем гемо-

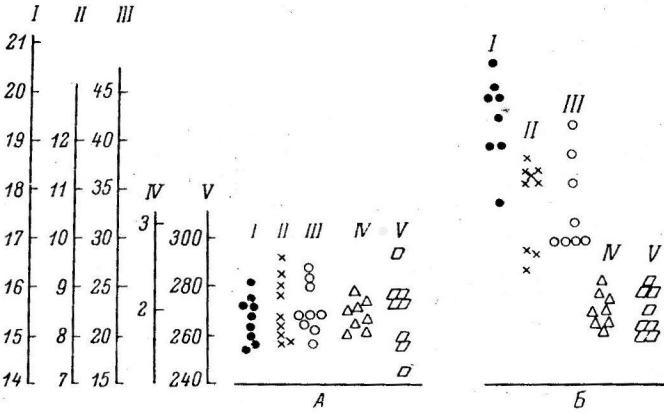


Рис. 3. Сопоставление устойчивости эритроцитов к гемолизу и состава красной крови крыс.

IV — время (в мин.), при котором степень сапонинового гемолиза соответствует оптической плотности 0.20; V — то же, что на рис. 1, но при 31°.

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

лизе все большего и большего числа эритроцитов, сменяющееся затем плавным снижением оптической плотности — фаза, когда гемолизируются последние, наиболее стойкие клетки. Примерно к 6-й мин. процесс гемолиза в обеих группах заканчивался, о чем свидетельствовали стабильные

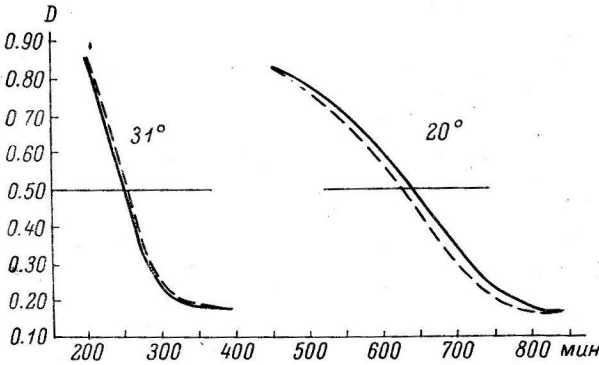


Рис. 4. Скорость щелочного гемолиза эритроцитов крыс.

Обозначения те же, что и на рис. 2.

адаптированных (рис. 3, Б, IV) и контрольных крыс (рис. 3, А, IV) никак не коррелирует со значительным усилением эритропоэза и сдвигом состава красной крови влево, происходящем при адаптации к гипоксии (на рис. 3 сравнить Б, I, II, III с А, I, II, III).

5. Устойчивость эритроцитов к щелочи. Скорость щелочного гемолиза определялась в крови как весенней, так и осенней группы животных. На рис. 4 представлены средние величины скорости протекания гемолиза эритроцитов под влиянием действия изотонического щелочного боратного буфера с рН 9.97 у контрольных и адаптированных

цифры оптической плотности, равные величине плотности прозрачного раствора гемоглобина.

Если выразить скорость сапонинового гемолиза временем наступления гемолиза, соответствующего значению оптической плотности 0.20 (приблизительно 50%-й гемолиз; рис. 2), и сопоставить эти величины для каждой крысы с составом ее крови, то получится следующее (рис. 3): одинаковость устойчивости эритроцитов к сапонину

к гипоксии крыс. Как видно на рис. 4, при комнатной температуре в 20° (весенняя группа) и при температуре в 31° (осенняя группа) скорость гемолиза на всех этапах его протекания является одинаковой для обеих групп животных. Небольшая разница в кривых гемолиза при 20° статистически недостоверна.

На рис. 1, *V* и рис. 3, *V* представлены экспериментальные данные по щелочному гемолизу для каждого животного. Критерием скорости щелочного гемолиза взято время (в мин.) от начала действия щелочи до падения величин оптической плотности до 0.50, что соответствовало наступлению приблизительно 50%-го гемолиза. На рис. 1 и 3 видно, что при обеих температурах скорость гемолиза всех подопытных животных, как контрольных, так и адаптированных к гипоксии, была сходной. Небольшое повышение устойчивости у адаптированных крыс весенней группы (рис. 1, *B*, *V*) мы не можем считать достоверным, так как зоны разброса величин сильно перекрываются, и *P* хотя и меньше 0.05, но больше 0.03, что при таком количестве опытов, какое было у нас, не может являться критерием достоверности. Можно лишь с большой натяжкой говорить о тенденции к повышению устойчивости.

Таким образом, устойчивость эритроцитов у адаптированных к гипоксии крыс не изменялась при действии сапонина и щелочи, хотя у этих животных отчетливо выражены не только повышение гемо- и эритропоэза, но и сдвиг влево в составе клеток красного ряда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прежде всего следует отвергнуть предположение о том, что причиной повышения осмотической резистентности эритроцитов у адаптированных к гипоксии крыс является обогащение крови более стойкими молодыми формами эритроцитов, в связи со сдвигом влево состава красной крови. Такому предположению противоречит, во-первых, отсутствие повышения осмотической резистентности эритроцитов у перетренированных, т. е. неадаптированных к гипоксии крыс, хотя гемопоэз у них был повышен и в составе красной крови отмечался заметный сдвиг влево. Во-вторых, этому предположению противоречит также и тот факт, что, несмотря на значительное возрастание молодых клеток красного ряда у адаптированных крыс, скорость сапонинового гемолиза не повысилась, а осталась неизменной.

Следует отклонить также и предположение, что «омоложение» состава периферической крови сопровождается возвратом неких свойств, присутствующих организму на ранних стадиях онтогенеза, обуславливающих измененную резистентность эритроцитов. Если бы это было так, то отмечалось бы снижение устойчивости эритроцитов к действию щелочей. В наших опытах, однако, и при температуре 20°, и при температуре 31° скорость щелочного гемолиза у адаптированных к гипоксии крыс полностью совпадала со скоростью гемолиза у контрольных животных.

Остается в силе предположение о том, что причиной повышения осмотической резистентности эритроцитов является однонаправленный сдвиг устойчивости в с е й м а с с ы эритроцитов, связанный с какими-то изменениями физико-химических свойств крови. Необходимо отметить, что наблюдаемое нами изменение резистентности эритроцитов носит специфический характер, так как оно проявляется только при изменении осмотического давления в среде и не обнаруживается при действии щелочи или сапонина.

Так как скорость и характер сапонинового и щелочного гемолиза эритроцитов, адаптированных к гипоксии животных, оставались неизменными, хотя в крови отмечалось повышенное содержание гемоглобина, эритроцитов и ретикулоцитов, со сдвигом влево в ряду ретикулоцитов, то можно сделать вывод, что не всякое «омоложение» состава красной

крови сопровождается повышением общей гемолитической стойкости эритроцитов.

Факт повышения осмотической стойкости эритроцитов характерен лишь для крыс, хорошо адаптированных к гипоксии, и отсутствует у животных, перетренированных в барокамере, у которых, хотя и отмечается сдвиг влево в составе красной крови, но резистентность организма в целом не повышена. Этот феномен полностью совпадает с аналогичными наблюдениями в нашей предыдущей работе (Барбашова, 1963). По-видимому, повышение осмотической резистентности эритроцитов у адаптированных к гипоксии животных является адаптивной реакцией и частью общего механизма повышения резистентности организма. Остается исследовать, в чем заключаются физико-химические сдвиги в крови, приводящие к изменению характера водно-солевого обмена эритроцитов.

Если повышение осмотической стойкости эритроцитов действительно является компонентом общего механизма повышения резистентности организма при тренировке к гипоксии, а падение ее свидетельствует о неблагоприятном течении тренировочного процесса, то следует специально обратить внимание, нельзя ли осмотическую резистентность эритроцитов использовать как тест для определения общей резистентности человеческого организма при различного рода тренировках, сопряженных с возникновением в организме гипоксического состояния. Это могло бы дать в руки врачей и физиологов спорта дополнительную возможность контроля за правильностью проведения различного рода тренировок.

ЛИТЕРАТУРА

- Барбашова З. И., Физиолог. журн. СССР, 49, № 5, 626, 1963.
 Вакуленко И. Л., А. И. Павлова, Сибирск. арх. теорет. и клин. мед., 2, в. 3-5, 233, 1927.
 Воробьев А. И., М. Д. Бриллиант. В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов, в. 2, 226. Изд. Сибирск. отд. АН СССР, Красноярск, 1961.
 Гительзон И. И., И. А. Тесков. В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Изд. Сибирск. отд. АН СССР, Красноярск, 1960; в. 2, 1961.
 Кассирский И. А., Г. А. Алексеев. Клиническая гематология. Медгиз, 1955.
 Тринчер К. С., Биофизика, 4, в. 1, 78, 1959.
 Тринчер К. С., Э. И. Гинцбург, Физиолог. журн. СССР, 49, № 5, 621, 1963.
 Шустров Н. М., Х. Х. Владос, Клин. мед., в. 2, 4, 1920.
 Hopning R., Deutsche Med. Wschr., 44, 1849, 1927.

Поступило 30 XI 1963

MECHANISM OF INCREASING OSMOTIC RESISTANCE OF RATS ERYTHROCYTES WITH ADAPTION TO HYPOXIA

By Z. I. Barbashova

From the I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology, Leningrad

О СЕКРЕТИРОВАНИИ ХЛОРА, ОРТОФОСФАТА,
СУЛЬФАТА, НАТРИЯ, ЦИНКА
И ТИАМИНА ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗОЙ

Ю. А. Петрович

Украинский научно-исследовательский институт стоматологии, Одесса

Различные вещества совершенно по-разному секретируются околоушной слюнной железой.

Так, содержание йода и родана (Edwards, Fletcher, Rowlands, 1954; Ferguson, Naimark, Hildes, 1957), а также кальция (Емченко, 1949; Гаврилов, Шастин, 1957; Бабкин, 1960) в паротидной слюне во много раз выше, чем в крови.

В отличие от перечисленных ионов содержание брома в слюне и крови почти одинаково (Петрович, Михнева, Вишневская, 1961).

Наконец, уровень некоторых ионов и соединений, в частности натрия (Емченко, 1949; Бабкин, 1960; Сукманский, 1961), неорганического фосфата (Бурлакова с соавт., 1953; Сукманский, 1958) и аминокислот (Петрович, Подорожная, 1962), в секрете околоушной железы ниже, чем в крови. Однако полная картина особенностей секретирования многих веществ слюнными железами еще не описана. В частности, следует выяснить, как проникает в слюну ряд ионов и соединений, не концентрирующихся слюнными железами.

Учитывая сказанное, в настоящей работе сопоставлен переход из крови в паротидную слюну собак нескольких ионов и соединений, а именно: хлора, ортофосфата, сульфата, натрия, цинка и тиамина. Опыты проводили с соединениями, мечеными радиоактивными изотопами, чтобы иметь возможность отличить их от ранее содержащихся в организме ионов и соединений.

МЕТОДИКА

Были использованы следующие радиоактивные изотопы: C^{36} в составе хлористого натрия в дозе 233—300 имп./мин. на 1 г веса животного, Na^{24} в виде того же соединения (2000—6897 имп./мин. на 1 г), P^{32} в составе двузамещенного фосфорнокислого натрия — (2000—2204 имп./мин. на 1 г), Zn^{65} в виде хлористого цинка — (242—249 имп./мин. на 1 г) и S^{35} в составе двух соединений — сернокислого натрия — (1415—1548 имп./мин. на 1 г) и тиамина — (4520—5541 имп./мин. на 1 г). Все изотопы инъецировали в вену задней ноги. Наличие Cl^{36} , Na^{24} , P^{32} и S^{35} определяли по количеству испускаемых ими β -частиц. Содержание Zn^{65} устанавливали по излучаемой им γ -радиации.

Сопоставляли радиоактивность цельной крови краевой вены уха и слюны околоушной желез до начала опыта и через 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 мин., 2, 3, 8, 24, 48 часов после инъекции. До внутривенного введения изотопа слюна и кровь не были радиоактивны.

Безусловным раздражителем служил мясо-сухарный порошок (1 : 2). Слюну в течение 1 мин. собирали из слюнной воронки в пробирку. С помощью радиометрической установки подсчитывали активность предварительно высушенных 0.2 мл слюны. Кровь в количестве 0.05 мл при определении Na^{24} , Cl^{36} , P^{32} и Zn^{65} и в объеме 0.025 мл в случае анализа S^{35} также высушивали перед подсчетом.

Вычисляли «процент включения» — процентное отношение содержания изотопа (в имп./мин.) в миллилитре исследуемой жидкости к дозе (в имп./мин.), введенной на 1 г веса животного.

Каждое меченое соединение вводили 3—5 собакам. Были подобраны взрослые животные весом от 11 250 до 24 500 г, так как у молодых особей состав слюны отличается от взрослых (Подорожная, 1962).

Данные, полученные у разных животных, были в известной степени сходными, и поэтому можно было ограничиться демонстрацией только одного показательного опыта с каждым изотопом. В случае необходимости в тексте следуют разъяснения, касающиеся некоторых отклонений, если они имели место у других собак, данные о которых не включены в нижеприведенные таблицы и рисунки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как видно на рис. 1, концентрация Cl^{36} в крови и слюне в первую минуту после инъекции хлористого натрия

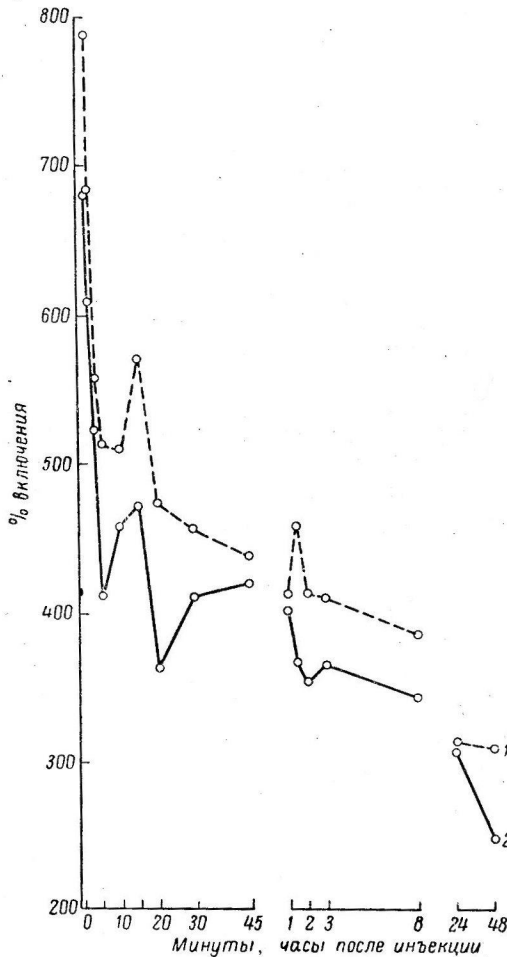


Рис. 1. Процент включения Cl^{36} в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции NaCl^{36} .

На всех рисунках: 1 — цельная кровь; 2 — слюна околоушной железы.

максимальна, а затем уменьшается. В последующем соотношение уровней радиоактивного хлора в слюне и крови не остается постоянной величиной. Однако содержание в крови всегда более высокое, чем в слюне.

То же самое следует и из таблицы, где приведены величины «относительной активности» (отношение процента включения в слюну к проценту включения в кровь). В опыте, приведенном в таблице, относительная активность Cl^{36} слюны колеблется от 0.76 до 0.98. У других собак, не представленных в данной таблице, этот показатель никогда не опускался ниже 0.2 и никогда не превышал 1. Несмотря на известные колебания относительной активности, изменения уровня Cl^{36} в слюне в определенной степени напоминают сдвиги содержания этого изотопа в крови.

Рис. 2 иллюстрирует одно из наблюдений с Na^{24}Cl . Максимальный уровень Na^{24} в крови наблюдается в первые минуты после инъекции, а затем постепенно снижается. Количество его в слюне в первые минуты после внутривенного введения близко к уровню в крови. В дальнейшем кривая содержания радионатрия в слюне изменяется в какой-то мере подобно тому, что наблюдается в крови. За редким исключением концентрация радиоактивного натрия в слюне по сравнению с содержанием его в крови более низкая. Материалы, представленные в таблице, подтверждают, что относительная активность Na^{24} слюны не превышает 1. Обычно она не опускается ниже 0.5.

Типичный опыт с определением поступления ортофосфата в кровь и слюну представлен на рис. 3. Концентрация P^{32} в крови всегда более вы-

Относительная активность паротидной слюны собаки
(сравнительно с кровью) после внутривенной
инъекции изотопа

Время после инъекции	Изотопы (соединения)					
	Cl ³⁶ (NaCl)	Na ²⁴ (NaCl)	P ³² (Na ₂ HPO ₄)	S ³⁵ (тиамин)	S ³⁵ (Na ₂ SO ₄)	Zn ⁶⁵ (ZnCl ₂)
1 мин.	0.86	1.00	0.01	0.041	0.002	—
2 »	0.89	—	—	0.049	0.007	—
3 »	0.94	—	—	—	0.010	0.008
5 »	0.80	0.92	0.08	0.082	0.004	0.005
10 »	0.89	0.91	0.08	0.099	0.010	0.017
15 »	0.82	0.84	0.12	—	0.014	0.015
20 »	0.76	0.83	0.23	0.120	0.022	0.011
30 »	0.89	0.94	0.28	0.111	0.019	0.022
45 »	0.95	0.84	0.38	0.151	0.012	0.014
60 »	0.96	—	0.44	0.161	0.011	0.035
90 »	0.79	0.94	0.32	0.062	0.074	0.010
2 часа	0.84	0.84	0.22	0.150	0.074	0.011
3 »	0.93	0.90	0.20	0.117	0.127	0.013
8 часов	0.88	0.93	0.22	0.129	0.062	0.032
24 часа	0.98	0.70	0.18	0.120	0.149	0.039
48 часов	0.79	—	0.20	0.080	0.109	0.025

сокая, чем в слюне. Наибольшее количество радиоактивного фосфора в крови содержится в первые минуты после инъекции, затем уровень его снижается. В отличие от Cl³⁶ и Na²⁴ активность P³² в слюне в первые ми-

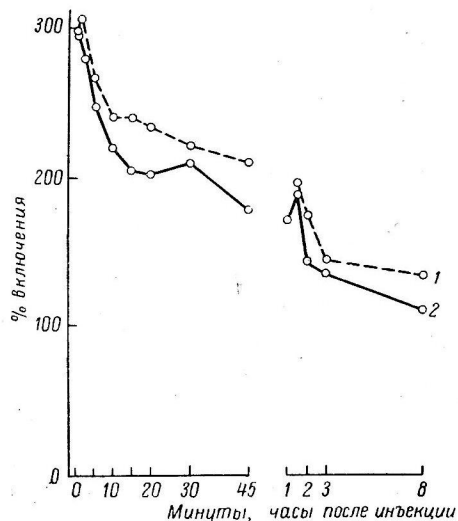


Рис. 2. Процент включения Na²⁴ в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции Na²⁴Cl.

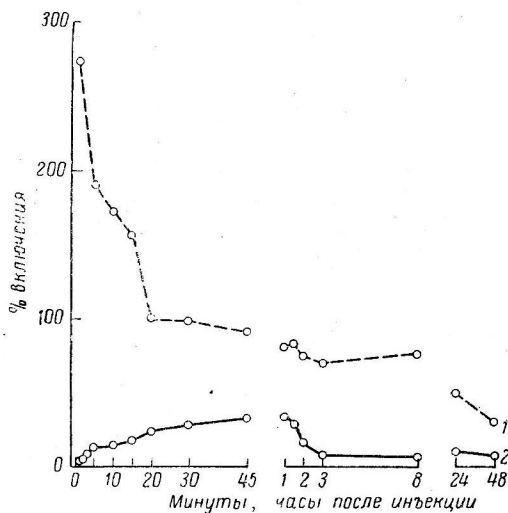


Рис. 3. Процент включения P³² в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции Na₂HP³²O₄.

нуты после инъекции весьма незначительна. После достижения максимума (на 30—90-й мин. опыта у разных животных) концентрация радиоактивного фосфора в слюне начинает снижаться.

Относительная активность P³² слюны, как видно из данных таблицы, не превышала 0.44. Начиная с 10—20-й мин. после инъекции относительная активность обычно колеблется в пределах между 0.1 и 0.4. В первые

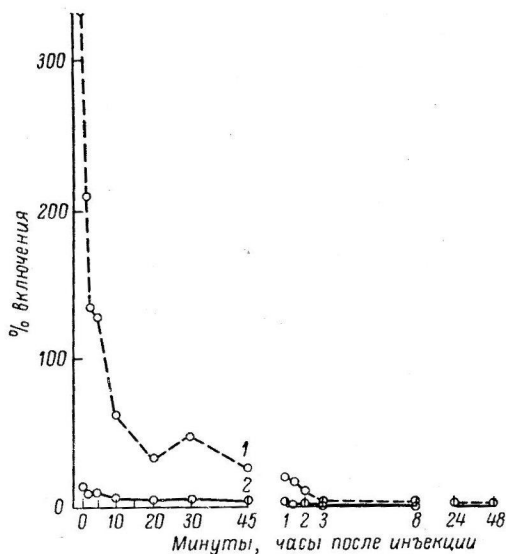


Рис. 4. Процент включения S^{35} в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции тиамин — S^{35} .

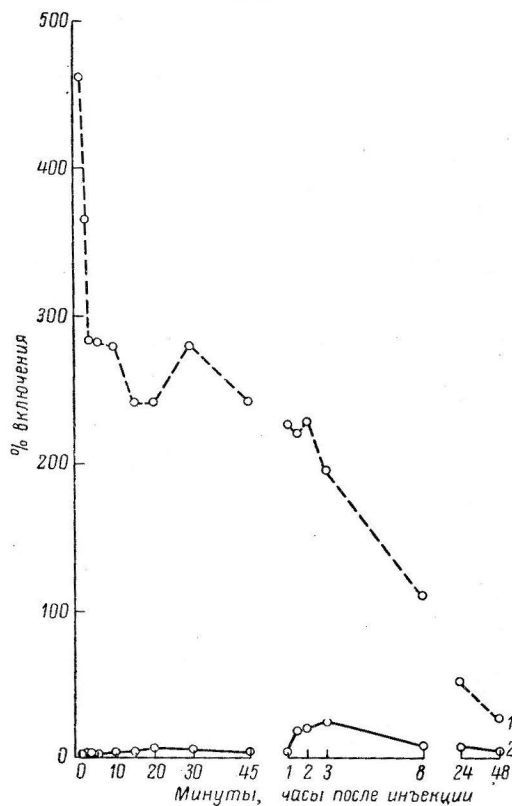


Рис. 5. Процент включения S^{35} в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции $Na_2S^{35}O_4$.

даже 0.025. Такая же низкая относительная активность была отмечена и у других животных.

Рис. 6, отражающий колебания уровня Zn^{65} в крови и слюне, весьма похож на рис. 4 и 5. Видны такой же подъем активности крови в первые

минуты после введения изотопа различие между кровью и слюной еще больше выражено.

Следующая группа экспериментов была посвящена тиамину — S^{35} (рис. 4). В первые минуты после внутривенной инъекции радиоактивность крови была максимальной, затем, как и в опытах с другими изотопами, она постепенно снижалась. Однако в отличие от опытов с Cl^{36} , Na^{24} и P^{32} радиоактивность слюны после инъекции меченого тиамин все время была весьма низкой, а через 3, 8, 24 и 48 час. после инъекции она была настолько низка, что кривая, отражающая уровень в слюне, слилась с осью абсцисс.

Данные таблицы относительной активности показывают, что для радиоактивной серы, введенной в составе молекулы тиамин, этот показатель обычно колеблется в пределах сотых долей, не превышая 0.2. Самая высокая относительная активность S^{35} слюны у других животных была равна 0.25. В первые минуты после введения изотопа относительная активность слюны наиболее низкая. Затем она несколько увеличивается.

Почти аналогичная картина характерна для меченого сульфата (рис. 5). В первые минуты активность цельной крови является наибольшей, а затем уменьшается. В слюне активность все время невысокая, но отмечается тенденция к некоторому небольшому увеличению через час-два после инъекции изотопа.

В первые сутки после введения меченого сульфата, как видно из данных таблицы, относительная активность S^{35} не превышает 0.13. В первый час опыта относительная активность значительно ниже и не дости-

минуты эксперимента и такое же последующее снижение. Для этого изотопа характерно почти полное отсутствие радиоактивности в слюне.

Относительная активность Zn^{65} слюны, как показывают данные таблицы, достигает всего лишь 0.039. В остальных опытах, не попавших на эту таблицу, относительная активность радиоактивного цинка слюны также не превышает 0.05. Таким образом, среди всех исследованных изотопов радиоактивный цинк обладает самой низкой относительной активностью.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В соответствии с особенностями проникновения из крови в слюну ионы и соединения, не концентрируемые слюнными железами, можно объединить в три группы.

В первую группу следует выделить ионы, содержание которых в слюне в течение всего опыта немного ниже, чем в крови. Уровень их в слюне начиная с первых минут эксперимента в какой-то мере отражает изменения, которые претерпевает их концентрация в крови. К этой группе принадлежат Na^{24} и Cl^{36} . По особенностям секретирования к ним близок Br^{82} (Петрович, Михнева, Вишневецкая, 1961).

Во вторую группу необходимо отнести ионы и соединения, мало проникающие в слюну. Слюнная железа для них является плохо преодолимым барьером. Содержание их в слюне в десятки и сотни раз более низкое, чем в крови. В эту группу входят меченные радиоактивной серой сульфат и тиамин, а также радиоактивный цинк.

Наконец, P^{32} (точнее, ортофосфат) нельзя отнести ни к первой, ни ко второй группе. Количество его в слюне обычно остается в несколько раз более низким, чем в крови, но все же оно не столь мало, как в случае веществ второй группы. Кроме того, в отличие от ионов первой группы содержание радиоактивного фосфора в слюне достигает максимального уровня не с первых минут опыта. Должно пройти определенное время (полчаса-час-полтора) пока уровень P^{32} в слюне станет максимальным. Таким образом, количество фосфата в слюне во время первого и второго часа опыта почти не отражает колебаний, которые претерпевает его концентрация в крови.

Ортофосфат по особенностям секретирования околоушной слюнной железой в какой-то мере приближается к меченым аминокислотам (Петрович, Подорожная, 1962). Максимальное содержание метионина — S^{35} в слюне также наблюдается через несколько часов после инъекции. Правда, отличие между уровнями меченого метионина в крови и слюне еще более значительное, чем у P^{32} . Количество глицина — Cl^{14} в слюне во много раз более низкое, чем в крови. Однако количество его в слюне наибольшее в первые минуты после инъекции. Таким образом, ортофосфат, метионин и глицин можно объединить в третью группу.

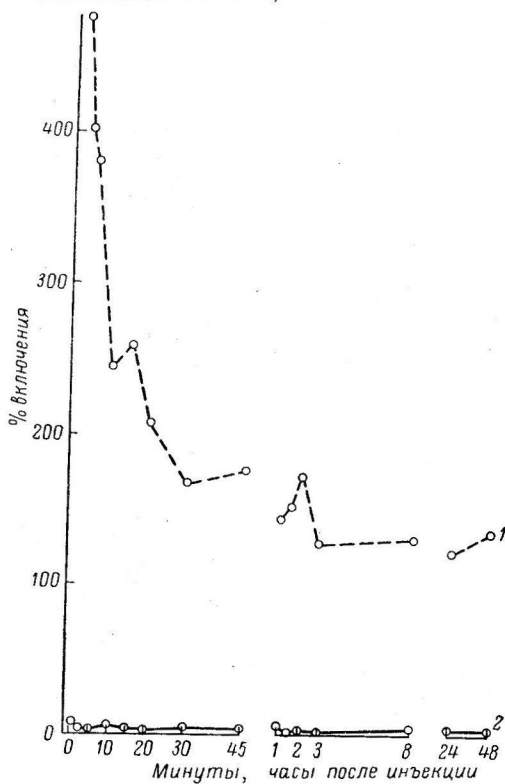


Рис. 6. Процент включения Zn^{65} в кровь и слюну собаки после внутривенной инъекции $Zn^{65}Cl_2$.

При сопоставлении интенсивности выделения слюнными железами веществ, принадлежащих к наиболее отличающимся группам, а именно: значительно (в десятки раз) концентрирующихся сравнительно с кровью (йод и родан) и почти не поступающих в слюну (тиамин, сульфат и цинк), обнаруживается отличие в сотни и тысячи раз.

Различия секреции разных ионов и соединений в известной мере отражают особенности трофических (обменных) процессов, протекающих в самих слюнных железах. Возможно, что значительная часть ортофосфата и меченых аминокислот не переходит из крови в слюну, в определенном объеме вследствие активного участия этих веществ в обмене околоушной железы. Известно, что в тканях слюнных желез из аминокислот активно синтезируются белки (Fritz, Verech, 1955; Воронин, 1960; Подорожная, Коновец, 1961). В этом органе P^{32} интенсивно включается в АТФ, нуклеиновые кислоты, фосфопротеины, фосфолипиды и другие фосфорсодержащие соединения (Губерниев, Ильина, 1950; Губерниев, Ковырев, Родзиллер, 1951; Rabinovitch, Rothschild, Junqueira, 1952; Hokin, Sherwin, 1957; Рубель, Апанасюк, Чернышева, 1957).

Несколько большее выделение слюнными железами хлора и натрия может объясниться тем, что эти элементы значительно меньше, чем ортофосфат и аминокислоты, участвуют в обмене самой железы.

Тот факт, что слюнные железы мало пропускают в слюну тиамин, сульфат и цинк, также может найти объяснение в активном участии этих веществ в обмене железы. Имеются указания на то, что слюнные железы относятся к органам с высоким поглощением цинка (Miwa, 1959). До 40% Zn^{65} в железах включается в карбоангидразу. Неорганический сульфат весьма интенсивно участвует в синтезе мукополисахаридов слюнной железы (Воронин, 1960). О роли фосфорилированного тиамин в ферментативных процессах декарбоксилирования в слюнной железе как в органе, обладающем высокой интенсивностью анаэробного гликолиза и тканевого дыхания, хорошо известно (Schneider, Person, 1960; Strömlad, 1961).

Конечно, одним только участием в обмене веществ самой железы нельзя ограничиться при объяснении причин, обуславливающих разную интенсивность перехода различных веществ через железу. По-видимому, здесь следует учесть особенности избирательной проницаемости секреторных клеток слюнных желез, а также селективность в секреторной деятельности этого органа. Здесь следует думать о том, что аминокислоты и ортофосфат мало переходят в слюну из-за их включения в сложные органические соединения крови, мало пропускаемые слюнными железами.

Но каков бы ни был механизм задержки и пропускания разных веществ слюнной железой ясно, что интенсивность секреции разных ионов и соединений совершенно различна.

ВЫВОДЫ

1. Различным ионам и соединениям, не концентрирующимся околоушной слюнной железой сравнительно с кровью, свойственны разные особенности секретирования этим органом.

2. Хлор и натрий содержится в паротидной слюне в несколько меньшем количестве, чем в цельной крови. Уже в первые минуты после внутривенной инъекции количество Cl^{36} и Na^{24} в слюне достигает максимальных величин. Концентрация этих элементов в слюне в известной мере отражает изменения, которые претерпевает их уровень в крови.

3. Цинк, неорганический сульфат и тиамин почти не переходят из крови в слюну. Количество Zn^{65} , сульфата — S^{35} и тиамин — S^{35} в секрете слюнной железы в десятки, сотни и даже тысячи раз меньше, чем в крови.

4. Ортофосфат отличается своеобразными особенностями секретирования околоушной слюнной железой. В слюне P^{32} всегда намного меньше,

чем в крови. Максимальных величин уровень ортофосфата в паротидной слюне достигает через 30—90 мин. после внутривенной инъекции, но и в это время в слюне его значительно меньше, чем в крови. В течение первого и второго часа эксперимента направления изменений количества ортофосфата в крови и в слюне обычно отличаются друг от друга.

ЛИТЕРАТУРА

- Бабкин Б. П. Секреторный механизм пищеварительных желез. Л., 1960.
- Бурлакова Е. В., И. В. Малкиман, В. М. Рубель, С. И. Филиппович, М. П. Апанасюк, Г. В. Чернышева. В кн.: Труды по применению радиоактивных изотопов в медицине, 213. М., 1953.
- Воронин Г. Н., ДАН СССР, 131, № 2, 425, 1960.
- Гаврилов Р. И., Р. Н. Шастиг, Тр. Калининск. гос. мед. инст., в. 1, 122, Калинин, 1957.
- Губерниев М. А., Л. И. Ильина, ДАН СССР, 71, № 2, 351, 1950.
- Губерниев М. А., И. Г. Ковырев, М. Д. Родзиллер, ДАН СССР, 76, № 1, 101, 1951.
- Емченко А. И., Наукові зап. Київськ. держ. унів., 8, 7, 171, 1949.
- Петрович Ю. А., Н. Е. Михнева, Н. Б. Вишневская, Бюлл. экпер. биол. и мед., 52, № 9, 69, 1961.
- Петрович Ю. А., Р. П. Подорожная, ДАН СССР, 143, № 2, 487, 1962.
- Подорожная Р. П., Физиолог. журн. СССР, 48, № 8, 989, 1962.
- Подорожная Р. П., В. М. Коновец, Тези доповідей, VI з'їзда Українськ. фізіол. товариства, 356, Київ, 1961.
- Рубель В. М., М. П. Апанасюк, Г. В. Чернышева, Научн. совещ. по пробл. физиолог. и патолог. пищевар., посвящ. 40 годовщ. Октябрьской революции, Тез. докл., 149, Тарту, 1957.
- Сукманский О. И., Физиолог. журн. СССР, 44, № 6, 541, 1958; В кн.: Гистогематические барьеры, 82, М., 1961.
- Edwards D. A. W., K. Fletcher, E. N. Rowlands, Lancet, 1, № 10, 498, 1954.
- Ferguson M., A. Naimark, J. Hildes, Canad. Journ. Biochem. a. Physiol., 35, № 6, 333, 1957.
- Fritz J., J. Beresch, Journ. dent. res., 34, № 6, 435, 1955.
- Hokin L. E., A. L. Sherwin, Journ. Physiol., 135, № 1, 18, 1957.
- Miwa T., Tokyo Journ. Med. Sci., 67, № 3B, 654, 1959, цит. по: Реф. журн. Биохимия № 13, реф. № 18549, 1960.
- Rabinovitch M., H. A. Rothschild, L. C. U. Junqueira, Journ. biol. Chem., 194, 835, 1952.
- Schneider R. M., Ph. Person, Ann. N. Y. Acad. Sci., 85, 1, 201, 1960.
- Strömblad V. C. R., Exper. cell. research, 23, № 1, 9, 1961.

Поступило 15 VIII 1963

SECRETION OF CHLORIDE, ORTHOPHOSPHATE, SULPHATE, SODIUM
AND THIAMINE BY THE PAROTID SALIVARY GLAND

By Yu. A. Petrovich

From the Ukrainian Research Institute of Stomatology, Odessa

МЕТОДИКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 612.014.423

ПРОСТОЕ УСТРОЙСТВО ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ ПО АМПЛИТУДЕ И ДЛЯ ИХ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ

А. Д. Ноздрачев и В. Л. Фельчер

Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград

Трудность, с которой приходится сталкиваться при обработке осциллограмм афферентной и эфферентной импульсации в периферических нервах, известна каждому электрофизиологу. Для облегчения этого процесса были предложены специальные

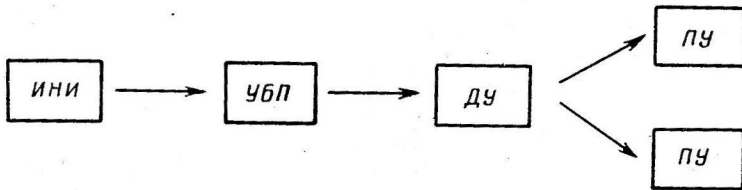


Рис. 1. Блок-схема устройства. Объяснения в тексте.

установки (Stark, Hermann, 1961a, 1961b; Hermann, Stark, Wills, 1962). Однако они сравнительно сложны и для их монтажа требуются дефицитные и дорогостоящие детали. Мы предлагаем устройство, простое по выполнению, дешевое, удобное и надежное в работе. На рис. 1 приводится его блок-схема.

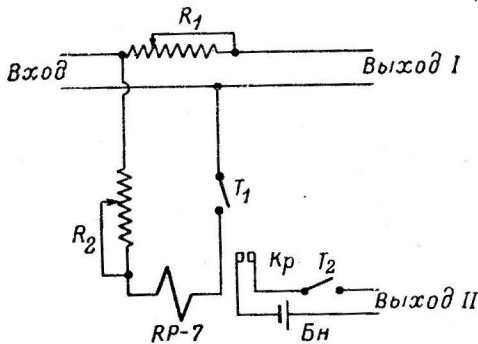


Рис. 2. Электрическая схема делительного устройства.

R_1 — первый потенциометр, R_2 — второй потенциометр, $RP-7$ — поляризованное реле, Kp — контакты реле, Bn — накальная батарея, T_1 — T_2 — тумблеры.

сов по амплитуде, т. е. отделения высоковольтных потенциалов от низковольтных. Для этого в схему вводится второй потенциометр R_2 и поляризованное реле $RP-7$. С помощью R_2 уровень разделения может быть установлен самим экспериментатором в зависимости от объекта исследования и характера опыта. Выделенные импульсы (рис. 3, В) подаются на вход второго пересчетного устройства. Таким образом, на первое пересчетное устройство поступают все импульсы, амплитуда

Первый блок — источник первого импульса, вегетативный или соматический нерв. Второй блок — это одноканальный серийный усилитель УБП-01 с полосой пропускания от 10 гц до 10 кгц, максимальной амплитудой напряжения на выходе 150 в, максимальным коэффициентом усиления по напряжению $5 \cdot 10^6$, частотой калибровочного сигнала 350 гц.

Третий блок — делительное устройство (ДУ), являющееся главной частью нашей установки. Его электрическая схема показана на рис. 2. С помощью потенциометра R_1 выделяются импульсы, величина которых превышает собственный шум усилителя (рис. 3, В). Эти импульсы поступают дальше на пересчетное устройство. Однако этот общий счет не всегда может удовлетворить запросы экспериментатора, возникает необходимость разделения импуль-

которых выше амплитуды собственного шума усилителя, а на второе лишь те из них, амплитуда которых выше уровня, заданного с помощью потенциометра R_2 .

Четвертый блок представляет собой пересчетное устройство (ПУ) от стандартной установки для измерения радиоактивности Б-2. Оно может регистрировать

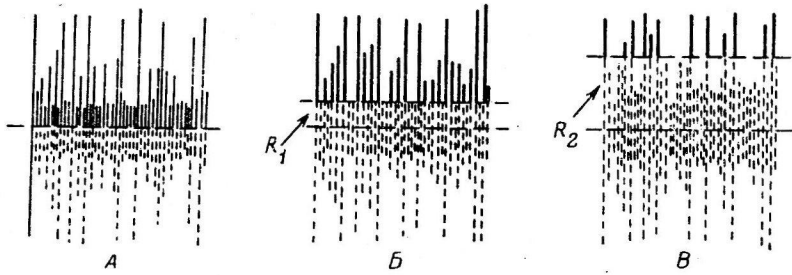


Рис. 3. Схема разделения импульсов по амплитуде с помощью делительного устройства.

А — общий поток импульсов, включая шум установки; Б — выделение импульсов с помощью первого потенциометра; В — выделение импульсов с помощью второго потенциометра.

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

импульсы любой амплитуды от 0.4 до 100 в, разделенные интервалом не менее 50 мксек. при среднем числе импульсов до 6400 в 1 сек. В нашей схеме таких блоков два (рис. 1).

Порядок работы. К выходу усилителя, соединенного с катодным и шлейфным осциллографами, подключается описанное выше делительное и пересчетное устройство. При рабочем усилении подается калибровочный сигнал (20 мкв, 350 гц); амплитуда его замеряется на экране катодного осциллографа, а частота на ПУ. Далее замеряется величина собственного шума усилителя, после чего вновь подается калибровочный сигнал и по показанию осциллографа усиление снижается до величины, соответствующей величине собственного шума. С помощью потенциометра R_1 и включенной пересчетной установки система настраивается так, чтобы считывались только импульсы, которые

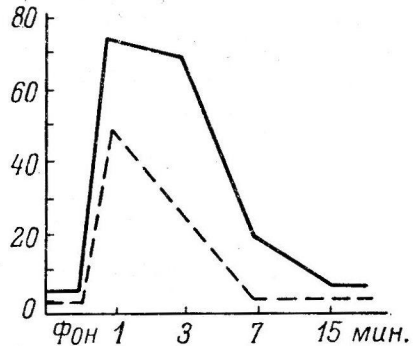
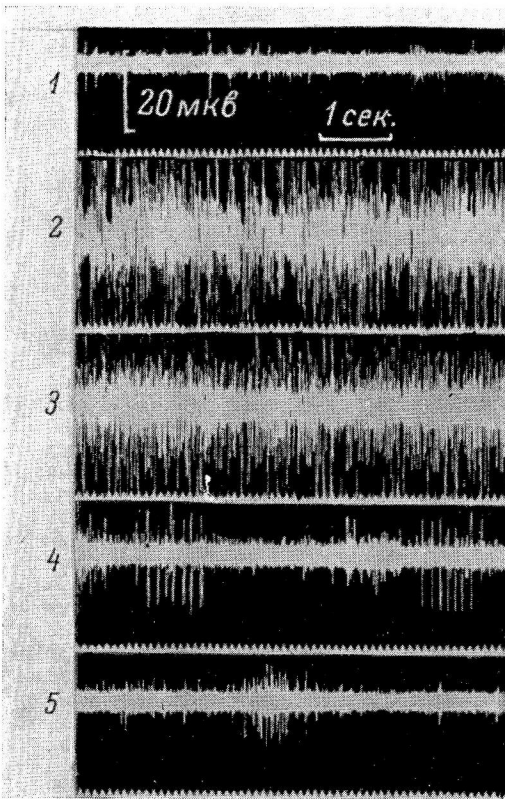


Рис. 4. Пример одновременной регистрации и обработки по амплитуде потенциалов действия в большом чревном нерве собаки (бодрствующее животное, хронический опыт) при внутривенном введении 0.1 мг ацетилхолина.

1 — фон; 2 — в 1-ю мин. после введения; 3 — через 3 мин.; 4 — через 7 мин.; 5 — через 15 мин.; 6 — показание пересчетных устройств (сплошная линия — количество импульсов амплитудой до 10 мкв, пунктирная — выше 10 мкв).

превышают по амплитуде шум усилителя. Далее приступают к разделению полученной импульсации с помощью потенциометра R_2 . Для этого еще раз пода-

ется калибровочный сигнал и ручкой плавного усиления при контроле на экране осциллографа устанавливается требуемый уровень разделения. Потенциометр R_2 при включенном втором ПУ устанавливается в соответствующее положение, при котором устройство отмечает лишь импульсы, превышающие заданный уровень. После такой простой подготовки установка готова к работе.

Тумблер включения ПУ соединяется вместе с тумблером включения записи осциллографа. Это позволяет вести одновременно и фоторегистрацию и обработку получаемых осциллограмм. На рис. 4 приведен пример такой обработки импульсации в большом чревном нерве бодрствующей собаки в условиях хронического эксперимента при введении в вену 0.1 мг ацетилхолина.

ЛИТЕРАТУРА

- Stark L., N. T. Hermann, Nature (London), 191, 1173, 1961a; Kybernetik, 1, № 3, 124, 1961b.
Hermann N. T., L. Stark, P. A. Wills, EEG a. Clin. Neurophysiol., 15, № 4, 557, 1962.

Поступило 4 XII 1963

SIMPLE APPLIANCE FOR DIFFERENTIAL AMPLITUDE ANALYSIS
AND QUANTITATIVE EVALUATION OF NERVE IMPULSES

By A. D. Nozdrachev and V. L. Filcher

From the I. P. Pavlov Institute of Physiology, Leningrad

УДК 612.357

К ВОПРОСУ О МЕТОДИКЕ ИЗУЧЕНИЯ ВЫХОДА ЖЕЛЧИ

Г. Б. Мзитарова

Кафедра нормальной физиологии Медицинского института, Орджоникидзе

В эксперименте на животных для изучения желчевыделения обычно применяется павловский метод выведения общего желчного протока или его модификации (Горшкова, 1938, 1939; Бакурадзе, 1941; Ларин, 1947; Робинсон, 1954, и др.).

Все эти методы имеют существенный недостаток: при изоляции сегмента двенадцатиперстной кишки нарушается парасимпатическая и симпатическая иннервация желчевыводящих путей и выключается рецепторное поле иссекаемого сегмента двенадцатиперстной кишки (Максименков, 1953; Бугулов, 1955; Соловьев, 1959; Елькина, Плакудина, 1960; Тальман, 1963).

Поэтому ряд авторов пытался изучать выход желчи или панкреатического сока через басовскую фистулу, вшитую в двенадцатиперстную кишку напротив рар. Vateri или устья протока поджелудочной железы; при этом в области устья открывающегося протока или укреплялась фистула-воронка, или же производилось зондирование протока через фистулу двенадцатиперстной кишки (Прокопенко, 1935; Thomas, 1941; Меликсетян, 1955). Но эти методы не получили распространения в физиологии вследствие ряда недостатков, к которым следует отнести трудность центрирования басовской фистулы против рар. Vateri вследствие перистальтического движения кишки; образование пролежней в кишке при подшивании к ней фистулы-воронки; короткий срок рабочего состояния собак, так как нитки, на которых держится воронка, прорезаются и она отделяется от кишки и, наконец, подтекание других соков между воронкой и фистулой.

Все эти недостатки нам удалось устранить в разработанной нами модификации фистулы общего желчного протока. Приводим ее описание.

Производится разрез, идущий параллельно правому реберному краю, рассекаются кожа и мышцы, вскрывается брюшная полость, извлекается двенадцатиперстная кишка и перевязывается дополнительный проток поджелудочной железы. Затем накладываются два кишечных дома. Первый на 3—4 см выше места впадения общего желчного протока в двенадцатиперстную кишку, а второй на 3—4 см ниже. Между жомами делается продольный разрез кишки, в который видна рар. Vateri. На участок с рар. Vateri накладывается маленькая воронка-фистула (рис. 1), расширенная часть

которой имеет форму овала (3×2 см, а по высоте 1 см). Воронка-фистула накладывается так, чтобы больший диаметр совпадал с продольным направлением кишечника.

Наблюдения на 5 собаках показали, что такие размеры воронки-фистулы не препятствуют прохождению пищевого химуса.

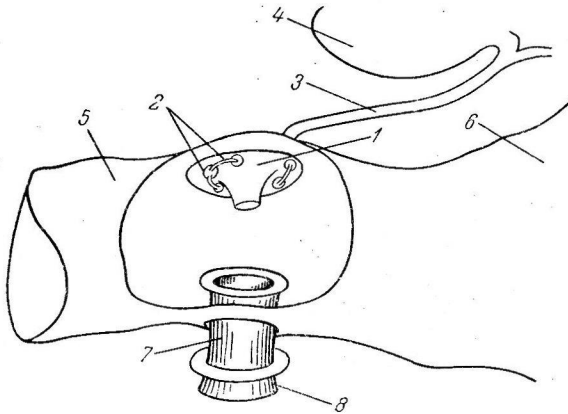


Рис. 1. Внутренний вид воронки над pap. Vateri и басовской фистулой.

1 — воронка; 2 — швы; 3 — общий желчный проток; 4 — желчный пузырь; 5 — двенадцатиперстная кишка; 6 — желудок; 7 — басовская фистула; 8 — пробка.

Воронка и кишка прошиваются 4—5 узловатыми швами, нити которых не завязываются, а свободно свисают на наружной поверхности кишки. В отверстие воронки виден сосочек. В имеющийся разрез двенадцатиперстной кишки вводится басовская фистула и укрепляется кисетным швом так, чтобы воронка точно проектировалась над нею. После этого выведенными на поверхность кишки нитками воронка привязывается к пластмассовой подкове, от которой отходит дугообразный стержень с полукольцом.

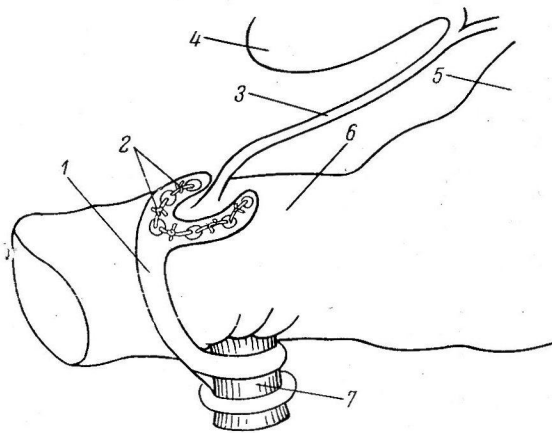


Рис. 2. Расположение стержня, фиксирующего воронку над басовской фистулой.

1 — фиксирующий стержень; 2 — швы; 3 — общий желчный проток; 4 — желчный пузырь; 5 — желудок; 6 — двенадцатиперстная кишка; 7 — басовская фистула.

Полукольцо охватывает басовскую фистулу (рис. 2). Таким образом воронка, подвешенная к подкове, фиксируется против отверстия басовской фистулы и плотно прилегает к кишке. При этом кишка не сдавливается, так как расстояние между прошитыми отверстиями подковы и воронки не совпадают, диаметр подковы немного больше, чем у воронки, — это исключает пролежни на кишке. Брюшная рана послойно зашивается и в нее выводится наружный конец басовской фистулы.

На 6-й день после операции швы снимаются, осторожно вынимается пробка из басовской фистулы и под контролем глаза на воронку надевается резиновая трубка (рис. 3). Басовская фистула закрывается пробкой с отверстием, через которое пропу-

скается конец трубки от воронки. Таким образом, кишечный сок не может мешать сбору желчи. Удобнее надевать резиновую трубку на фистулу-воронку на собаке, лежащей на левом боку.

На рис. 3 показано расположение пар. Vateri, воронки, резиновой трубки и басовской фистулы в период опыта.

Вытекающую из резиновой трубки желчь собирают в подвешенную пробирку.

После опыта резиновая трубка снимается, а басовская фистула закрывается пробкой. Желчь поступает в кишку. Таким образом, желчь не теряется вне опыта, пище-

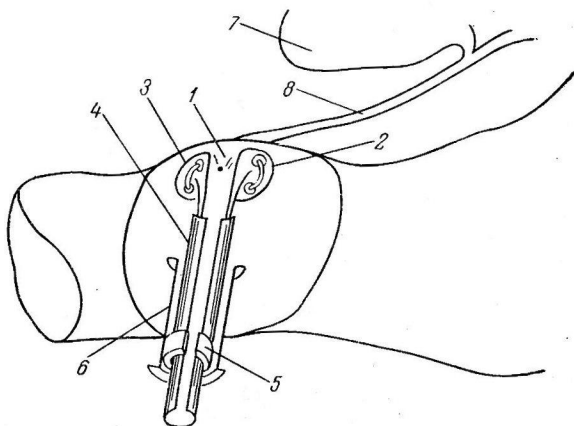


Рис. 3. Расположение пар. Vateri, воронки, резиновой трубки и басовской фистулы в период опыта.

1 — пар. Vateri; 2 — воронка; 3 — шов; 4 — резиновая трубка; 5 — басовская фистула; 6 — пробка, через которую продета резиновая трубка; 7 — желчный пузырь; 8 — общий желчный проток.

варение и общее состояние организма животного не нарушаются (Ларин, 1947; Гаврилова, 1956; Иванова, 1956).

Наблюдения в течение года за 5 собаками, оперированными по этому методу, показали пригодность их для длительных опытов.

ЛИТЕРАТУРА

- Бакурдзе А. Н., Физиолог. журн. СССР, 30, № 6, 791, 1941.
 Бугулов Е. Д. О функциональной связи желудочно-кишечного тракта и печени в норме и патологии. Дисс. 1955.
 Гаврилова К. К., 5-й Павловский сборник, 105, Томск, 1956.
 Горшкова С. М., Бюлл. exper. биол. и мед., 5, № 3, 244, 1938; Арх. биол. наук, 5, № 2, 23, 1939.
 Елькина А. В. Гистофизиология стенки желудка при хронической потере желчи у собак (exper. исслед.). Дисс. Томск, 1950.
 Елькина А. В. и Т. В. Плакидина, Тр. Научн. конф. по пробл. физиол. и патол. пищеварения, посвящ. пам. К. М. Быкова, 258, Иваново, 1960.
 Иванова Р. К., 5-й Павловский сборник, 105, Томск, 1956.
 Ларин Е. Ф., Бюлл. exper. биол. и мед., 4, № 10, 315, 1947.
 Максименков А. Н. Краткое пособие к операции на животных по курсу топографической анатомии и оперативной хирургии. Медгиз, 1953.
 Меликсетян С. Г., Физиолог. журн. СССР, 41, № 2, 287, 1955.
 Проккопенко В. Г., Тр. Узб. отд. Всесоюзн. общ. физиол., фармакол. и биохим., 1, 41, Ташкент, 1935.
 Робинсон В. Е., Физиолог. журн. СССР, 40, № 1, 98, 1954.
 Соловьев А. В. Новые данные о секреторной функции желудка и поджелудочной железы. Медгиз, 1959.
 Тальман И. М. Хирургия желчного пузыря и желчных протоков. Медгиз, 1963.
 Thomas J. E. Proceed. Soc. Experim. Biol. Med., 46, 260, 1941.

Поступило 8 VIII 1963

CONTRIBUTION TO TECHNIQUES FOR INVESTIGATING OUTPUT OF BILE

By G. B. Mkhitarova

From the Department of Physiology, Medical Institute, Ordzhonikidze

НЕКРОЛОГ

ФЕДОР ПЕТРОВИЧ МАЙОРОВ

30 августа на 64-м году жизни после продолжительной тяжелой болезни скончался один из старейших учеников и сотрудников академика И. П. Павлова, заведующий лабораторией физиологии и патологии высшей нервной деятельности Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, доктор медицинских наук, профессор Федор Петрович Майоров.

Федор Петрович начал работать у И. П. Павлова в 1925 г., еще будучи слушателем Военно-медицинской академии, и проработал у него в качестве ассистента и сотрудника до 1936 г.

В 1928 г. по предложению И. П. Павлова он участвовал в организации физиологической лаборатории в Колтушах на Биологической станции (ныне Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР) и с некоторыми перерывами работал там до последних дней жизни.

В 1931 г. по указанию И. П. Павлова Ф. П. Майоров вместе с другими товарищами организовал нервную и психиатрическую клиники при физиологической лаборатории и в течение ряда лет был заместителем директора этих клиник.

В 1935 г. Ф. П. Майоров возглавил лабораторию физиологии и патологии высшей нервной деятельности человека в Институте эволюционной физиологии и патологии высшей нервной деятельности, а с 1950 г. — лабораторию физиологии и патологии высшей нервной деятельности Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, которой заведовал до последних дней.

Во время Великой Отечественной войны Федор Петрович выполнял обязанности начальника медицинской части нейрохирургического эвакогоспиталя в г. Казани.

Ф. П. Майоровым написано более 100 печатных работ по физиологии и патологии высшей нервной деятельности человека и животных.

Научные интересы Федора Петровича в области изучения высшей нервной деятельности были весьма широки. Особенно большое внимание он уделял проблемам коркового торможения во всех его видах, а также вопросам взаимоотношений различных форм торможения, проблемам типологической характеристики нервной системы человека и животных, вопросам нарушения и восстановления высшей нервной деятельности человека после черепно-мозговых травм, контузий и т. п., вопросам влияния различных факторов (рентгеновские лучи и т. п.) на условнорефлекторную деятельность и т. д.

Много труда было затрачено Ф. П. Майоровым на редактирование трех томов «Павловских клинических сред», вышедших из печати в 1954 и 1955 гг. и представляющих большой интерес для невропатологов, психиатров, физиологов и психологов.

Опубликованная Ф. П. Майоровым в 1948 г. капитальная работа «История учения об условных рефлексах» является настольной книгой и справочником для всех работающих в области изучения высшей нервной деятельности и в особенности для молодых научных работников и аспирантов.

Федор Петрович много времени уделял также педагогической работе и лекционной пропаганде Павловского учения. В течение ряда лет он читал лекции и заведовал кафедрой физиологии высшей нервной деятельности Института усовершенствования врачей. Под его руководством многие научные сотрудники и аспиранты как нашей страны, так и стран народной демократии успешно защитили кандидатские и докторские диссертации.

За большую организационную и научную деятельность Ф. П. Майоров был награжден орденом В. И. Ленина и другими правительственными наградами.

В 1925 г. Ф. П. Майоров вступил в ряды КПСС. Будучи философски эрудированным и методологически подготовленным, Федор Петрович в течение ряда лет руководил философским семинаром Ученого совета Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР и выступал в печати с работами методологического характера.

Большую работу проводил Ф. П. Майоров в обществе физиологов. В течение многих лет он был активным членом Правления, а затем заместителем председателя правления Ленинградского Общества физиологов, биохимиков и фармакологов имени И. М. Се-

ченова и членом Центрального Совета Всесоюзного физиологического общества. Несколько лет подряд он был председателем физиологической секции Ленинградского Общества физиологов.

Личные качества Федора Петровича Майорова как человека и гражданина — его простота, скромность, доброжелательность, большая принципиальность в отстаивании материалистических позиций павловского физиологического учения — создали ему заслуженный авторитет и глубокое уважение всех знавших его лиц.

Светлая память о Федоре Петровиче Майорове — верном последователе и продолжателе дела великого физиолога И. П. Павлова навсегда сохранится у его друзей и товарищей по работе.

Группа товарищей

OBITUARY

F. P. Maiorov

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Л. А. Вихрева, Ю. П. Лиманский и Н. Н. Преображенский. Влияние адреналина и ацетилхолина на деятельность отдельных нейронов ретикулярной формации продолговатого мозга	1313
В. Д. Герасимов, П. Г. Костюк, Б. А. Майский. Особенности генерации потенциалов действия в гигантских нейронах моллюсков	1321
Я. А. Винников, И. Л. Жинкин и С. А. Щуколюков. Активность ферментов сукциноксидазной системы в митохондриях нейронов слуховой и зрительной коры и мозжечка в условиях относительного покоя и адекватного стимулирования	1329
Н. Ф. Скоробовичук и Н. А. Чиждова. Дальнейшее исследование медленных и быстрых мышечных систем у лягушки	1335
Г. А. Наследов. Сопоставление некоторых морфологических и функциональных характеристик мышечных волокон	1342
И. И. Лебединская. О механизме длительного поддержания мышечного сокращения у черепахи	1350
И. А. Владимиров. Исследование химической чувствительности концевой пластинки поперечнополосатого мышечного волокна лягушки в ходе ее ритмической активации	1358
С. И. Хрусталева. О сравнительной реактивности нервно-мышечных синапсов у различных животных	1364
Р. С. Орлов. Изменение мембранного потенциала и напряжения гладкомышечных клеток в ответ на растяжение	1373
А. А. Генкин и Т. Д. Дзидзигури. О соотношении длительности сокращения и расслабления гладкой мускулатуры тонкого кишечника	1377
З. И. Барбашова. К вопросу о механизме повышения осмотической резистентности эритроцитов адаптированных к гипоксии крыс	1385
Ю. А. Петрович. О секретировании хлора, ортофосфата, сульфата, натрия, цинка и тиамина околушной слюнной железой	1393

Методика физиологических исследований

А. Д. Ноздрачев и В. Л. Фельчер. Простое устройство для разделения нервных импульсов по амплитуде и для их количественной оценки	1400
Г. Б. Мхитарова. К вопросу о методике изучения выхода желчи	1402

Некролог

Группа товарищей. Федор Петрович Майоров	1405
--	------

CONTENTS

	Page
L. A. Vikhрева, Yu. P. Limanski and N. N. Preobrazhenski. Effects of adrenaline and acetylcholine on the activity of individual neurones in the bulbar reticular formation	1313
V. D. Gerasimov, P. G. Kostyuk and V. A. Maiski. Peculiarities in generation of action potentials in the giant neurones of Molluscs	1321
J. A. Vinnikov, I. L. Zhinkin and S. A. Shukoliukov. Enzymatic activity of succineoxydase system in mitochondria from neurones of auditory and visual cortex and cerebellum under conditions of relative rest and adequate stimulation	1329
N. F. Skorobovichuk and N. A. Tchizhova. Further studies on slow and fast muscle systems in the frog	1335
G. A. Nasledov. Confrontation of certain morphological and functional characteristics of muscle fibers	1342
I. I. Lebedinskaiа. Mechanism of sustained muscle contraction in the turtle	1350
I. A. Vladimirova. Investigation of end-plate chemo-sensitivity in striate muscle fiber of the frog during its rhythmical activity	1358
S. I. Khrustalev. Comparative data on reactivity of nerve-muscle synapses in different animals	1364
R. S. Orlov. Changes in membrane potential and tension of smooth muscle cells in response to stretch	1373
A. A. Genkin and T. D. Dzidzigury. Relationship between duration of contraction and relaxation in smooth muscle of the small bowel	1377
Z. I. Barbashova. Mechanism of increasing osmotic resistance of rats erythrocytes with to adaption hypoxia	1385
Yu. A. Petrovich. Secretion of chloride, orthophosphate, sulphate, sodium and thiamine by the parotid salivary gland	1393

Techniques of physiological investigation

A. D. Nozdrachev and V. L. Filcher. Simple appliance for differential amplitude analysis and quantitative evaluation of nerve impulses	1400
G. B. Mkhitarova. Contribution to techniques for investigating output of bile	1402

Obituary

A group of friends: F. P. Maiorov	1405
---	------



К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

В «Физиологическом журнале СССР им. И. М. Сеченова» публикуются экспериментальные исследования по актуальным вопросам физиологии человека и животных (преимущественно — общей и сравнительной физиологии нервной системы, физиологии двигательного аппарата, физиологии систем пищеварения, кровообращения, дыхания, экскреции эндокринных желез), новые методические приемы исследования; статьи по общим вопросам истории физиологической науки, рецензии на новые учебники и монографии по физиологии, краткие отчеты о научных конференциях и съездах.

В журнале печатаются только статьи, нигде не опубликованные. Рукопись должна иметь визу научного руководителя и направление от учреждения, где выполнялась работа. Название учреждения и город должны быть указаны в заголовке статьи после фамилии автора.

Размер статьи не должен превышать (с таблицами и списком литературы) 12 машинописных страниц. Для методических сообщений — не более 6 страниц. Рукописи большего размера будут возвращаться авторам.

Число рисунков не должно превышать 6, а число таблиц — 4. Фотоснимки должны быть присланы в 2 экземплярах. Один из них без надписей и цифр. На обороте рисунков должна быть четкая подпись автора и название статьи. Подписи к рисункам должны быть даны на отдельном листе. Каждый рисунок должен иметь свой заголовок и объяснение значений букв, цифр и кривых на рисунках. Все графы в таблицах и сами таблицы должны иметь заголовки; сокращение слов в таблицах не допускается.

К рукописи должен быть приложен список литературы, включающий только цитируемых авторов. В список включаются в алфавитном порядке сначала русские авторы, а затем иностранные. После названия журнала указываются том, №, страница, год. Например: Петрова Н. И., Физиолог. журн. СССР, 39, № 1, 144, 1953. Номер тома подчеркивается. После названия книги и диссертации указать стр., место издания и год. При ссылке на работы классиков необходимо еще указать первоначальный год издания трудов.

Рукописи направляются в Редакцию в 2 экземплярах. Один из них — первым машинописным экземпляром. Фамилии иностранных авторов в тексте статей должны даваться в русской, а при первом упоминании и в иностранной транскрипции. Работа русского автора, опубликованная на иностранном языке, включается в русский алфавит, причем пишется по-русски в круглых скобках перед иностранным написанием фамилии автора.

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. При отклонении статьи один экземпляр возвращается автору.

После принятия статьи к печати вместе с корректурой автор должен прислать реферат статьи, согласно требованиям инструкции ВИНТИ (см. № 1 журнала за 1964 г.).

В конце статьи необходимо указать имя, отчество и фамилию автора, домашний и служебный адрес и телефоны.

Рукопись следует направлять по адресу: Ленинград, В-164, Менделеевская линия, д. 1, издательство «Наука», Редакция «Физиологического журнала СССР». Телефон А-2-79-72.