

УДК 577.3+612.014.3

ФИЗИОЛОГИЯ

О. Р. КОЛЬС, Г. Е. ФЕДОРОВ, Г. В. МАКСИМОВ, Е. В. БУРЛАКОВА

ИЗМЕНЕНИЯ АТФазной АКТИВНОСТИ НЕРВА КРАБА
В СВЯЗИ С РЕЖИМОМ СТИМУЛЯЦИИ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 15 II 1974)

Исследования теплопродукции нерва и измерения поглощения им кислорода (1-4) показали, что и в покое и при проведении возбуждения в нерве происходит расход энергии. Впоследствии было установлено, что проведение возбуждения сопровождается уменьшением содержания в нерве АТФ (5-7). Доказано, что спад АТФ связан с работой АТФаз. Было обнаружено, что в нервной ткани присутствует по крайней мере три типа АТФаз, способных гидролизовать макроэргические связи АТФ (8, 9). Так как утилизация энергии АТФ становится возможной благодаря работе АТФаз, представляется целесообразным исследовать изменения уровня АТФазной активности в нерве во время проведения возбуждения.

Задачей данной работы было исследование изменений суммарной АТФазной активности при ритмическом раздражении нерва, задаваемом с разной частотой. Как известно, в условиях естественного функционирования нерв проводит не одиночные импульсы, а залпы или ритмические ряды разной конфигурации, что и обеспечивает передачу по периферическому нерву разнообразной информации. Поэтому необходимо проследить изменения физических и химических параметров, в частности уровня АТФазной активности, при различных частотах и различных длительностях ритмической стимуляции.

Настоящая работа проводилась в августе — сентябре 1972 и 1973 гг. на базе Института биологии южных морей (г. Севастополь).

Объектом исследования служили изолированные нервы конечностей травяного краба (*Carcinus maenas*). После препаратовки изолированные нервы помещали в рингеровский раствор для ракообразных и выдерживали в нем 30—40 мин., после чего проверяли ответы нервов на раздражение. В опыт отбирали нервы, дающие при внеклеточном отведении потенциалы действия приблизительно одинаковой амплитуды. Для наблюдения потенциалов действия использовали катодный осциллограф С1-19Б.

Нервы раздражали прямоугольными импульсами тока длительностью 1 мсек., амплитудой 1,5 в (физиологический максимум); использовали частоты 10, 30, 50, 80, 100, 200, 300 и 500 имп/сек. Во время раздражения нервы находились во влажной камере. Было поставлено 3 серии опытов. В первой серии раздражение наносили в течение 1,5 мин., во второй 5 и в третьей 10 мин. Контролем служили нераздраженные нервы, которые выдерживали во влажной камере столько же времени, сколько длилось раздражение опытных нервов в данной серии. В каждой серии было поставлено по 4 опыта; в каждый опыт брали по 36 нервов — по 4 для каждой частоты раздражения и для контроля.

По окончании раздражения (или выдерживания в камере контрольных нервов) нервы измельчали в охлажденной смеси, содержащей ионы калия, натрия и магния в соотношении 20:100:3. АТФазную активность измеряли по нарастанию неорганического фосфата (по методу Фиске и Субарроу в модификации Мешковой и Северина), окрашивание проводили по Соммеру. Результаты каждого из четырех опытов данной серии хорошо по-

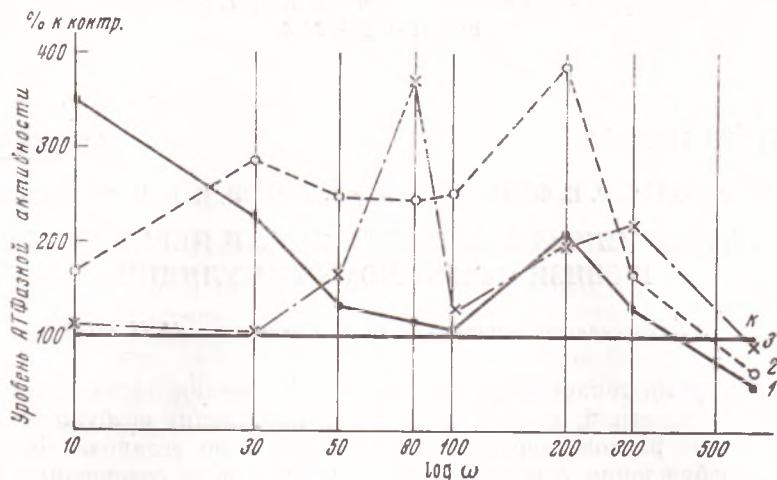


Рис. 1. Изменения АТФазной активности в зависимости от частоты стимуляции. 1 — длительность раздражения 1,5 мин., 2 — 5 мин., 3 — 10 мин. K — уровень контроля, принятый за 100%. ω — частота раздражения

вторяли общий характер зависимости АТФазной активности от частоты раздражения нерва, хотя абсолютные значения АТФазной активности варьировали от опыта к опыту. На основании усредненных значений АТФазной активности для каждой частоты стимуляции были построены кривые, приведенные на рис. 1. Во всех трех сериях было выявлено по два достаточно четко выраженных максимума АТФазной активности. При увеличении длительности тетанизации максимумы сдвигаются в сторону более высоких частот раздражения.

Так, в первой серии максимумы располагались на частотах 10 и 200 имп/сек; во второй — на 30 и 200 имп/сек; в третьей — на 80 и 300 имп/сек. Это приводило к мысли, что расположение максимумов АТФазной активности связано с количеством проходящих по нерву импульсов.

Для проверки такого предположения была поставлена специальная — четвертая — серия опытов, в которой одно и то же количество импульсов, а именно 3000, задавалось при разных частотах стимуляции. Соответственно при частоте 10 имп/сек раздражение нерва длилось 5 мин., при 30 имп/сек 1 мин. 40 сек. и т. д. В этой серии опытов максимумы АТФазной активности были выявлены при частотах раздражения 10 и 80 имп/сек (рис. 2). Следовательно, подтверждено предположение о том, что увеличение числа прошедших по нерву импульсов ведет к сдвигу максимума АТФазной активности в сторону больших частот раздражения.

По-видимому, для нерва краба, обладающего низкой лабильностью, нужны относительно большие интервалы между импульсами для того, чтобы механизм, обеспечивающий восстановление затраченной при проведении возбуждения энергии, мог быть полноценно использован. Однако при увеличении продолжительности стимуляции, очевидно, происходит пере-

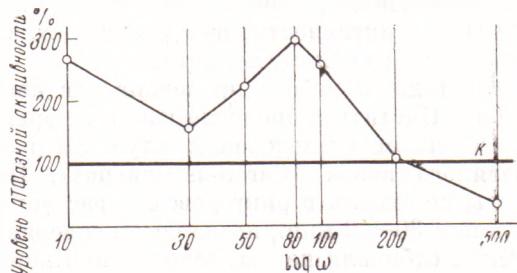


Рис. 2. Изменения АТФазной активности в зависимости от частоты раздражения при постоянном числе задаваемых импульсов (по 3000 импульсов при каждой частоте). K — уровень контроля, принятый за 100%. ω — частота раздражения

стройка биохимических процессов с выходом на новый стационарный уровень. Тогда максимально эффективная работа АТФаз оказывается возможной при более высоких частотах раздражения. Примечательно, что в четвертой серии опытов, в которой раздражение высокими частотами длилось всего секунды, второй максимум АТФазной активности пришелся на относительно низкую частоту 80 имп/сек. Видимо, с подобными перестройками может быть связан феномен усвоения ритма раздражения, широко известный в физиологии.

Надо, однако, отметить, что наличие второго — высокочастотного — максимума АТФазной активности трактовать трудно. Этот максимум может быть связан и с неоднородностью волокон, входящих в состав нерва краба (о неоднородности свидетельствует сложная форма пика потенциала действия), и с мобилизацией каких-то, еще не расшифрованных, дополнительных механизмов энергообеспечения в экстремальных условиях, каковыми являются для нерва краба высокие частоты раздражения.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
15 II 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Хилл, Сборн. Молекулярная биология, ИЛ, 1963, стр. 152. ² J. V. Howarth, R. D. Keynes, J. M. Ritchie, J. Physiol. (Engl.), v. 194, 3, 745 (1968). ³ К. Коннели, Сборн. Современные проблемы биофизики, ИЛ, т. 2, 1961, стр. 211. ⁴ J. M. Ritchie, J. Physiol. (Engl.), v. 188, 3, 309 (1967). ⁵ P. Greengard, R. W. Straub, J. Physiol. (Engl.), v. 140, 2, 18 (1957). ⁶ P. F. Baker, J. Physiol. (Engl.), v. 180, 2, 383 (1965). ⁷ Г. Е. Федоров, Г. Г. Сотников, О. Р. Колыс, Докл. МОИП за 1969. Общ. биол., 1971, стр. 27. ⁸ Н. П. Лисовская, Усп. биол. хим. (ежегодник), т. 8, 23 (1967). ⁹ Р. Н. Глебов, Биофизика мембран, Сборн. матер. симпозиума, Паланга, 24–28 IX 1971, 1972, стр. 179.