

УДК 612.822.014.46

ЗАВИСИМОСТЬ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙРОНОВ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ ОТ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИКЛИЧЕСКОГО ГУАНОЗИНМОНОФОСФАТА

Хусаинов Д.Р., Кат юшина О.В., Хусаинова К.Р., Коренюк И.И.

Приведены результаты исследования зависимости быстрых электрических процессов от внутриклеточной концентрации цГМФ на нейронах ППа1, ППа2 и неидентифицированных клетках ВГ виноградной улитки. Выяснено, что активация гуанилатциклазы нитропруссидом натрия оказывает влияние на электрические процессы нервной клетки, в результате чего изменяется кинетика быстрых трансмембранных ионных токов, а также затрагивается система поддержания мембранного потенциала. Кроме того, выявлено, что влияние цГМФ зависит от специфических особенностей метаболизма различных клеток

Ключевые слова: нейрон, нитропруссид натрия, цГМФ, трансмембранные ионные токи.

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему моменту не остается сомнений в важной роли циклических нуклеотидов в обеспечении электрической активности нервных клеток. Наиболее изученным является цАМФ. При этом практически не исследована зависимость электрической активности от концентрации цГМФ, а результаты других исследователей достаточно противоречивы. Так, например, по мнению некоторых авторов [1] цГМФ, вообще, не является классическим вторичным посредником, поскольку увеличение его концентрации может происходить после возникновения биологического ответа или регистрируется одновременно с ним, что не типично для нейротрансмиттера, концентрация которого должна изменяться до наблюдаемого эффекта. Однако, В. А. Дятлов (1989) показал, что при инъекции цГМФ или аппликации нитропруссида натрия наблюдается имитация модулирующего влияния серотонина на ацетилхолин-индуцируемый хлорный ток [2]. Это расценивается как свидетельство воздействия серотонина посредством увеличения концентрации цГМФ. Кроме того, по мнению некоторых авторов, данный нуклеотид принимает участие в функционировании ионных каналов, регулирующих мембранный потенциал (МП). В частности полагают, что цГМФ вызывает гиперполяризационную фазу во время развития медленноволновых колебаний МП [3–11]. В тоже время, в литературе встречаются сведения, которые ставят под сомнение участие цГМФ в этом процессе [12, 13]. Поэтому в настоящей работе мы попытались выяснить зависимость быстрых электрических процессов от изменения внутриклеточной концентрации цГМФ и проследить возможные изменения МП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на нейронах дорсальной поверхности подглоточного комплекса ганглиев брюхоногого легочного моллюска *Helix albescens* Rossm. Для исследования зависимости электрической активности от концентрации в клетке цГМФ мы использовали нитропруссид натрия – активатор гуанилатциклазы, увеличивающий внутриклеточную концентрацию цГМФ. Исследование проведено на нейронах ППа1, ППа2 и неидентифицированных клетках ВГ.

Внутриклеточное отведение биопотенциалов осуществлялось при комнатной температуре с использованием стандартных методических приемов, которые более подробно были описаны ранее [3–5].

Исследуемое вещество (нитропруссид натрия), разводилось до нужных концентраций стандартным раствором Рингера для холоднокровных. Для выяснения и описания изменений скорости нарастания трансмембранных ионных токов нервных клеток моллюска, при действии нитропрussa натрия, мы проводили анализ первой производной ПД.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Путем активации гуанилатциклазы нитропруссидом натрия, мы попытались выяснить, как зависит электрическая активность исследованных нейронов от увеличения внутриклеточной концентрации цГМФ. Обнаружено, что при аппликации нитропрussa натрия в концентрации 10^{-5} М у всех исследованных нейронов наблюдалось увеличение амплитуды ПД (рис. 1). Так у ППа1 (n=12) она возрастала в среднем на $12,16 \pm 4,31$ мВ ($p < 0,05$) (рис. 1 - А), у ППа2 (n=10) на $5,2 \pm 1,56$ мВ ($p < 0,05$) (рис. 1 - Б), а у клеток ВГ (n=10) на $7,55 \pm 2,57$ мВ ($p < 0,05$) (рис. 1 - В). Кроме того, у нейронов ППа1 и ППа2 увеличивалась амплитуда следовой гиперполяризации на $3,8 \pm 1,31$ мВ и на $1,76 \pm 0,14$ мВ соответственно ($p < 0,05$) (рис. 1 - А, 2- Б). Следует отметить, что у ППа2 также наблюдалось достоверное увеличение МП на $7,00 \pm 2,02$ мВ ($p < 0,05$) (рис. 1 - Б, 3). При увеличении концентрации нитропрussa натрия до 10^{-4} М (а мы полагаем, что это приводит к усилению активирующего влияния нитропрussa натрия на гуанилатциклазу и, следовательно, происходит более интенсивный синтез цГМФ) у исследованных нейронов наблюдается достоверное изменение нескольких параметров электрической активности. Так у клетки ППа1 (n=10) наблюдается увеличение амплитуды ПД на $18,3 \pm 6,07$ мВ (рис. 1, 2 - А), следовой гиперполяризации на $3,20 \pm 0,62$ мВ (рис. 2- А), а также увеличивается МП на $7,40 \pm 1,8$ мВ (рис. 2 - А, 3) ($p < 0,05$); у ППа2 (n=10) данные показатели составили – $4,80 \pm 0,73$; $1,13 \pm 0,25$ и $15,08 \pm 5,37$ мВ соответственно ($p < 0,05$) (рис. 1, 2, 3). Для всех нейронов ВГ (n=10) было характерным увеличение амплитуды и продолжительности ПД в среднем на $3,85 \pm 1,37$ мВ и на $1,87 \pm 0,69$ мс ($p < 0,05$) (рис. 1, 2), а остальные показатели электрической активности нейронов изменялись недостоверно.

Учитывая то, что в присутствии активатора гуанилатциклазы нитропрussa натрия изменяются параметры ПД можно считать, что цГМФ принимает участие в протекании быстрых электрических процессов нервной клетки и, вероятно, оказывает влияние на быстрые потенциалозависимые каналы. А изменение МП у

некоторых исследованных нейронов указывает на то, что этот нуклеотид может затрагивать функционирование систем дестабилизирующих МП.

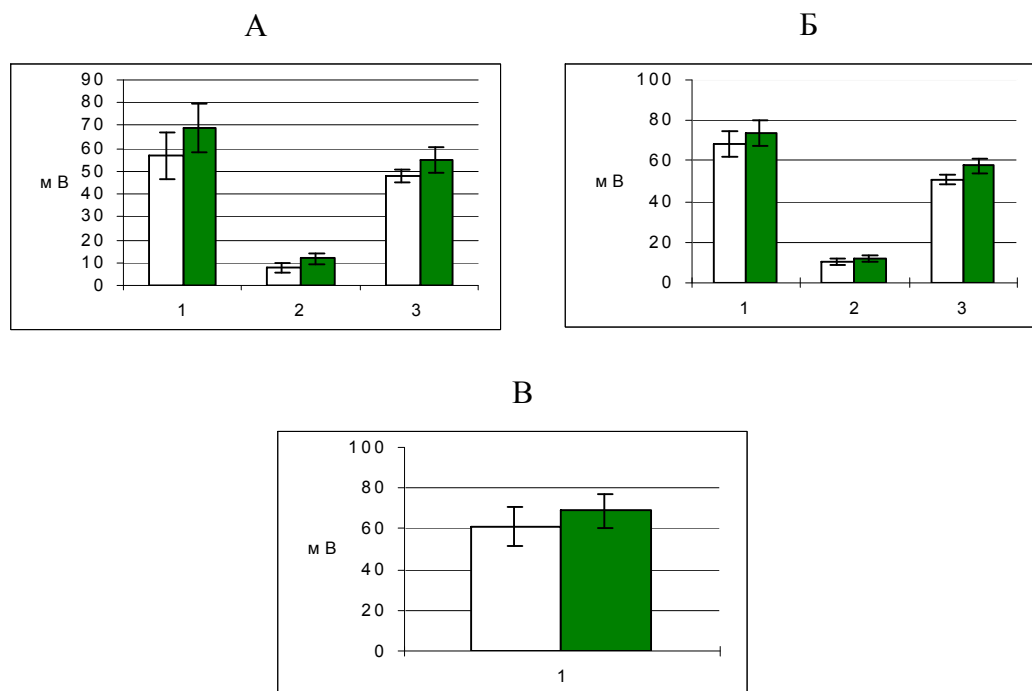


Рис. 1. Эффекты увеличения внутриклеточной концентрации цГМФ при активации гуанилатциклазы нитропруссидом натрия 10^{-5} М, где А – реакция нейрона ППа1, Б – нейрона ППа2, В – нейронов ВГ. 1 – величина амплитуды ПД, 2 – амплитуды следовой гиперполяризации и 3 – значения МП. Фоновые показатели (□), в присутствии нитропруссиды натрия (■).

В связи с этим для выяснения и описания изменений скорости нарастания трансмембранных ионных токов нервных клеток моллюска, при действии нитропруссиды натрия, мы проводили анализ первой производной ПД. В результате было выяснено, что в присутствии нитропруссиды натрия (10^{-5} М) в растворе, омывающем препарат нервной системы улитки, у всех исследованных нейронов наблюдается достоверное увеличение как входящего, так и выходящего суммарных ионных токов (рис. 3, А). Величина этого усиления была следующей: у клетки ППа1 входящий и выходящий ионные токи возрастали на $3,6 \pm 1,09$ В/с и на $2,33 \pm 0,78$ В/с ($p < 0,05$), у ППа2 на $2,07 \pm 0,61$ В/с и на $1,34 \pm 0,29$ В/с ($p < 0,05$), а у нейронов ВГ на $7,52 \pm 1,94$ В/с и на $5,61 \pm 1,97$ В/с соответственно ($p < 0,05$). При увеличении концентрации нитропруссиды натрия до 10^{-4} М (Б) входящие и выходящие ионные токи увеличивались у ППа1 на $3,55 \pm 0,8$ В/с и на $4,62 \pm 2,93$ В/с ($p < 0,05$), у ППа2 на $2,94 \pm$ В/с и на $2,77 \pm 0,92$ В/с ($p < 0,05$), а у клеток ВГ на $3,18 \pm 1,00$ и на $3,5 \pm 1,48$ В/с соответственно ($p < 0,05$). При отмывании нитропруссиды натрия в обеих

концентрациях, через 30 минут от его начала, параметры электрической активности нейронов достоверно отличались от фоновых.

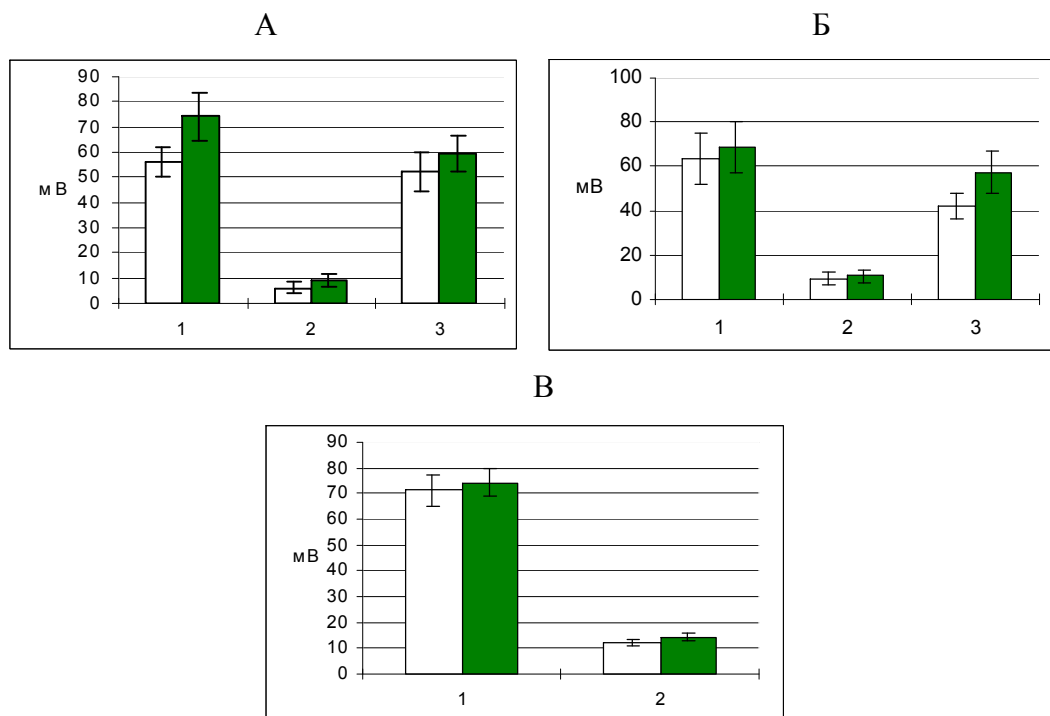


Рис. 2. Эффекты увеличения внутриклеточной концентрации цГМФ при активации гуанилатциклазы нитропруссидом натрия 10^{-4} М.

Обозначения те же, что и на рис. 1, кроме В, где 2 – длительность ПД.

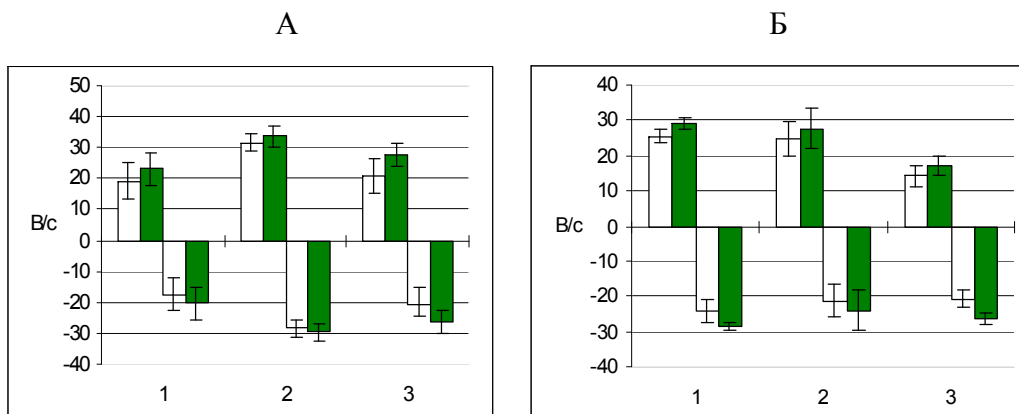


Рис. 3. Увеличение входящих и выходящих трансмембранных ионных токов нейронов при активации гуанилатциклазы нитропруссидом натрия (А – 10^{-5} М, Б – 10^{-4} М)

Фоновые показатели (□), в присутствии нитропрусида натрия (■). 1 – величина ионных токов у нейрона ППа1, 2 – у ППа2 и 3 – у неидентифицированных клеток ВГ. На условно отрицательной шкале показано изменение выходящих ионных токов.

Исходя из полученных результатов можно заключить, что наблюдаемые, при активации гуанилатциклазы, увеличение амплитуды ПД и следовой гиперполяризации связаны с усилением трансмембранных ионных токов. А развивающаяся у отдельных нейронов гиперполяризация мембраны указывает на то, что цГМФ оказывает влияние не только на быстрые процессы, но также затрагивает и медленные ионные токи, участвующие в поддержании МП. На наш взгляд наиболее вероятной причиной увеличения МП является то, что цГМФ стимулирует выход калия из клетки.

Однако, у некоторых нейронов ВГ увеличение внутриклеточной концентрации цГМФ (3 нейрона при действии нитропруссидом натрия в концентрации 10^{-5} М и 2 клетки – в концентрации 10^{-4} М) не вызывало достоверного изменения параметров ПД и скорости нарастания трансмембранных ионных токов. Мы склонны думать, что это связано с индивидуальной чувствительностью нервных клеток к цГМФ и с различным уровнем вовлеченности его молекулы в многообразные внутриклеточные процессы.

В целом мы выяснили, что активация гуанилатциклазы нитропруссидом натрия оказывает влияние на электрические процессы нервной клетки, в результате этого изменяется кинетика быстрых трансмембранных ионных токов, а также затрагивается система поддержания МП. Следовательно, можно полагать, что цГМФ в действительности оказывает влияние на развитие ПД и у некоторых клеток может вызывать гиперполяризацию мембраны. Необходимо отметить, что, в данном случае, цГМФ действует антагонистически по отношению к цАМФ, который приводит к деполяризации мембраны. И, кроме того, полученные результаты свидетельствуют о том, что влияние цГМФ зависит от специфических особенностей метаболизма различных клеток.

ВЫВОДЫ

1. Активация гуанилатциклазы нитропруссидом натрия оказывает влияние на электрические процессы нервной клетки, в результате этого изменяется кинетика быстрых трансмембранных ионных токов, а также затрагивается система поддержания МП.
2. цГМФ является антагонистом цАМФ, вызывая в отличие от него гиперполяризацию мембраны.
3. Влияние цГМФ зависит от специфических особенностей метаболизма различных клеток.

Список литературы

1. Теппермен Дж., Тепперман Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы.– Москва: «Мир», 1989.– 653 с.
2. Кононенко Н. И. Модуляция эндогенной активности пачечного нейрона виноградной улитки // Нейрофизиология. -1977. - Т.9, №6. - С. 606-6
3. Дятлов В. А. Модуляция серотонином ацетилхолин-индуцируемых токов в нейронах моллюска, зависящая от циклического гуанозинмонофосфата // Нейрофизиология. – 1989 – Т. 21, № 6 – С. 845-849

4. Коваль Л.М., Кононенко Н.И. Новые идентифицируемые нервные клетки виноградной улитки *Helix pomatia*, связанные с генерацией ритмоводящей активности. // Журнал высш. нерв. деят. – 1992. – Т. 42. – Вып. 6. – С. 1124–1131.
5. Кононенко Н.И., Костюченко О.В. Механизмы генерации ритмоводящей активности в идентифицированных нейронах виноградной улитки // Нейрофизиология. –2001. –Т.33, №1. –С.46-54.
6. Костюченко О.В., Коренюк И.И. Эндогенная пейсмекерная активность изолированных нейронов моллюска // Ученые записки ТНУ. -2000. -Т.2, №13.-С. 35-42.
7. Комендантов А.О., Кононенко Н.И. Кофеининдуцированные осцилляции мембранного потенциала в нейронах апализии // Нейрофизиология / Neurophysiology –2000. –Т.32, №2. –С.102-111.
8. Кононенко Н. И. Влияние теофеллина на электрическую активность идентифицированных нейронов виноградной улитки // Нейрофизиология. –1981. – Т.13, №1. – С. 70-76
9. Кононенко Н. И. Влияние теофеллина на электрическую активность нейрона ППа2 виноградной улитки // Нейрофизиология. -1981. -Т. 13, №6-С. 655-658
10. Кононенко Н. И., Осипенко О. Н. Влияние ионов кадмия на пачечную электрическую активность идентифицированного нейрона виноградной улитки // Нейрофизиология. – 1983. –Т.15, №3. – С. 307-313.
11. Кононенко Н.И. Влияние теофиллина на электрическую активность пачечного типа в идентифицированном нейроне виноградной улитки // Нейрофизиология. -1981. – Т. 13, №1.-С.75-79.
12. Костюк П. Г. Исследование метаболической зависимости функции ионных каналов в мембране нервной клетки // Нейрофизиология. -1984.– Т. 16, №3. -С. 286-296
13. Либерман Е. А., Минина С. В., Шкловский-Корди Н. Е. Ионные токи через мембрану нейрона при инъекции циклических нуклеотидов // Биофизика. - 1982 - Т.27 - №3 - С. 542 – 545

Хусаинов Д.Р., Коренюк И.И., Кат юшина О.В., Хусаинова К.Р. Залежність електричної активності нейронів виноградного равлика від внутріклітинної концентрації циклічного гуанозинмонофосфата // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2008. – Т. 21 (60). – № 1. – С. 117-121.

Приведені результати дослідження залежності швидких електричних процесів від внутрішньоклітинної концентрації цГМФ у нейронів ППа1, ППа2 і неідентифікованих клітин ВГ виноградного равлика. З'ясовано, що активація гуанілатциклази нітропруссидом натрію впливає на електричні процеси нервової клітини, внаслідок цього змінюється кінетика швидких трансмембранних іонних струмів, а також система підтримки МП. Крім того виявлено, що вплив цГМФ залежить від специфічних особливостей метаболізму різних клітин.

Ключові слова: нейрон, нітропруссид натрію, цГМФ, трансмембранні іонні струми.

Husainov D.R., Korenyuk I.I., Katyushina O.V., Husainova K.R. Dependence of electric activity of neurons snail from incell concentration of cyclic guanozinmonofosfat // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2008. – V.21 (60). – № 1. – P. 117-121.

The articles is about of dependence fast electrical processes from incell concentration cGMF of neurons RPa1, RPa2 and not identified cell of VG. Was found, that the increase of concentration cGMF renders influence on electrical processes of a nervous cell, therefore changes kinetic fast transmembrane currents, and also the system of maintenance MP is mentioned. Also is revealed, that the influence cGMF depends on specific metabolism of various cells.

Keywords: neuron, nitroprussid sodium, cGMF, transmembrane currents.

Пост упила в редакцию 20.02.2008 г.