

Б. П. УШАКОВ

**ИЗМЕНЕНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ НЕРВА КРАБА
HYAS ARANEUS ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 3 I 1950)

Неспецифическую контрактуру скелетной мускулатуры можно рассматривать как физиологическую модель стойкого местного возбуждения. Д. Н. Насонову и его сотрудникам⁽¹⁾ удалось собрать большой фактический материал, доказывающий единство возбуждения и паранекроза, и построить денатурационную теорию возбуждения. Последняя рассматривает денатурацию клеточных протеинов как пусковой механизм процесса возбуждения. Одновременно с работой на физиологической модели, М. Б. Киро⁽²⁾ и С. М. Верещагиным⁽³⁾ сделана успешная попытка найти признаки паранекроза и при нормально протекающем процессе возбуждения поперечно-полосатой мускулатуры (тоническое и тетаническое сокращение).

Приложимость денатурационной теории к нервному проводнику была исследована Н. В. Головиной⁽⁴⁾. Изящными опытами она показала не только сам факт повышения сорбционного уровня нерва беззубки (*Aponota sugnea*) при раздражении, но и установила декремент окраски, соответствующий декременту распространяющихся по нерву волн возбуждения. К иным результатам привели исследования тинкториальных свойств раздражаемого нерва лягушки (*Rana temporaria*). Так, Н. А. Смиттен⁽⁵⁾ и Д. Н. Насонов и И. П. Суздальская (цит. по⁽⁴⁾) не получили статистически достоверных изменений по сравнению с контролем.

Считая опыты на нервном проводнике принципиальными и решающими для денатурационной теории возбуждения, мы решили продолжить эти исследования.

При выборе объекта мы остановились на нерве ходильных конечностей краба *Hyas araneus*. По своим физиологическим характеристикам (подчинение правилу «все или ничего», ряд электрофизиологических констант) нерв краба близок таковому позвоночных, но существенно отличается от него наличием развитых следовых потенциалов, указывающих на относительную медленность процессов репарации в нем⁽⁶⁾. Замедленная репарация дала нам основание предполагать, что при известной частоте раздражения будет происходить образование некомпенсированного возбуждения (парабиоза) в нервном проводнике. Так как увеличение сродства к витальным красителям является основным и неотъемлемым свойством уже самых ранних стадий денатурации белка⁽⁷⁾, мы поставили перед собой задачу изучить изменение сорбционных свойств нерва под влиянием проходящих по нему волн возбуждения и установить соотношение между частотой импульсов и сте-

пению окраски. Опыты были поставлены на Мурманской биологической станции АН СССР в июле. Уже в первых опытах выяснилось, что крабы *Hyas aganeus* при комнатной температуре 17—20° погибают через несколько часов. Поэтому животные приносились в лабораторию незадолго до постановки опыта и сохранялись при температуре 7—10°, соответствовавшей температуре воды в бухте, в которой вылавливались крабы. Эта же температура поддерживалась во всех рабочих растворах во время эксперимента.

Нами использовались 2-я, 3-я и 4-я пары ходильных конечностей крупных экземпляров краба. Приготовленный нервно-мышечный препарат помещался в морскую воду на 15—20 мин. После этого определялся порог возбудимости, подопытная пара нервов отрезалась от остатка конечности и погружалась в раствор с красителем, причем конец одного из нервов укладывался на электроды (рис. 1) для одновременного раздражения. Раздражение и окраска производились в 0,005% растворе нейтрального красного на морской воде.

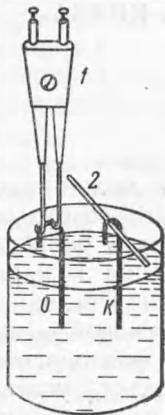


Рис. 1. Схема постановки опыта. 1 — электроды, 2 — стеклянная палочка, о — опытный нерв, к — контрольный нерв

После окраски и раздражения нервы споласкивались в морской воде, и из них вырезались равные по длине участки опытного и контрольного нерва (1,5—2 см) для количественного определения сорбированного красителя колориметрическим методом. Для колориметрии избирался участок нерва, отстоящий от электродов на 1—1,5 см. Такой выбор кусочка нерва дал возможность изучать изменение сорбционной способности нерва, вызванное действием на него пробегающих импульсов возбуждения, а не электрического тока как раздражителя. Краситель экстрагировался подкисленным спиртом (2% серная кислота на 70° этиловом спирте). Само определение производилось с помощью микродекали колориметра Дюбоска. При всех расчетах окраска контрольного нерва принята за 100%.

Для раздражения служили серебряные электроды, соединенные с санним аппаратом Дюбуа Реймона с невыравненными индукционными ударами. В первичную цепь были включены сухие элементы (4,5 в) и проградуированный при помощи катодного осциллографа прерыватель Бернштейна, позволявший менять частоту раздражения от 5 до 177 в секунду. Так как возбудимость нерва краба колеблется в среднем от 22 до 19 см, то мы остановились на силе 18 см, которой придерживались во всех опытах (кроме 3 опытов серии I, см. табл. 1). Такая большая сила раздражителя позволила увеличить продолжительность опыта до 15 мин. Всего проведено 62 опыта, разбитых на 6 серий: пять опытных с раздражением частотами 5, 17, 45, 88 и 177 в секунду, и одна контрольная, с перевязкой. Результаты экспериментов сведены в табл. 1.

В соответствии с теоретическими ожиданиями при определенной частоте пробегающих импульсов наблюдается увеличение сорбционного уровня нерва. При частоте 88 в секунду оно достигает статистически достоверного значения 15,5%, при средней квадратичной ошибке $\pm 3,4\%$. Прижизненное микроскопическое изучение раздраженного и нераздраженного нерва не устанавливает каких-либо морфологических отличий между ними. Отсутствие в обоих нервах гранул красителя, наличие гомогенной диффузной окраски волокон убеждает нас в том, что это усиление окрашиваемости раздражаемого нерва действительно связано с денатурационным изменением нейроплазмы. При повышении частоты раздражения (до 117 в секунду) сорбционный уровень сни-

жается: результат опыта $+11,4\%$ меньше утроенной ошибки ($\pm 5,3\%$) и должен рассматриваться как статистически недостоверный. Уменьшение эффекта при увеличении частоты может быть объяснено «блоком» импульсов в месте раздражения. Е. К. Жуков (6) получал это явление на нерве краба при более высокой частоте (250—300 в секунду при температуре 27—29°), но если учесть наши температурные условия (8—10°) это различие нельзя считать существенным.

В контрольной серии подопытный нерв дважды перевязывался ниткой на расстоянии 8—10 мм от электродов. Эффективность перевязки контролировалась отсутствием сокращения лапки при фарадическом раздражении. Опыты проведены при частоте раздражения 88 в секунду и в остальном методически повторяли описанные серии. Полученные данные (см. табл. 1, $+3,7\%$ при ошибке $\pm 6,4\%$) говорят об отсутствии заметного физического влияния на окраску со стороны электродов.

Применяемый нами метод витальной окраски обнаруживает паранекротические изменения, соответствующие образованию стойкого некомпенсированного возбуждения (парабиоза); поэтому можно предположить, что частота 88 в секунду является чрезмерной и «нефизиологической».

Выяснению этого вопроса могло бы помочь сопоставление этой частоты с частотой спонтанной ритмической активности, которая, по опытам Д. Н. Насонова и М. С. Авербах, колеблется у нерва краба (*Neas agapeus*) от 20 до 100 в секунду. Так как частота 88 в секунду, при которой обнаруживается отчетливое повышение сорбционных свойств нервного проводника, лежит в пределах адекватных для этого субстрата частот, нашими опытами устанавливается, что нормальное физиологическое возбуждение нерва краба сопровождается денатурационным изменением клеточных белков.

Если на нерве краба статистически достоверное повышение окра-

Таблица 1

Сорбция нейтрального красного нервом краба при фарадическом раздражении различной частоты

Серия опытов	Частота раздражения в секунду	Результаты опытов в % к сорбции в контрольном нерве											Средняя квадратич. ошибка в %		
		№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8	№ 9	№ 10	№ 11		№ 12	Среднеарифметич.
I	5	-15,3	0	-10,3	-2,0	-8,0	-13,0	+7,9	-1,0	+15,4	-14,3	—	—	-2	$\pm 3,3$
II	47	-14,0	+7,1	+25,0	+7,9	+4,9	-19,4	+15,4	-7,5	+18,0	+18,0	—	—	+4,2	$\pm 4,4$
III	45	+8,7	-5,0	+14,4	+3,0	-12,3	+12,8	+24,0	+16,3	+17,2	+10,3	—	—	+8,9	$\pm 3,4$
IV	88	+27,1	+7,1	+12,0	+16,3	+26,1	+23,0	+13,7	+7,1	-7,4	+39,0	+10,0	+12,0	+15,5	$\pm 3,4$
V	117	-11,8	+18,0	-14,8	+22,0	-5,0	+39,0	+12,0	+13,6	+18,0	+23,0	—	—	+11,4	$\pm 5,3$
Контроль	88	-6,8	+51,5	+18,0	0	-10,0	-8,5	+2,0	-15,0	+16,3	-11,8	—	—	+3,7	$\pm 6,4$

Примечание. В серии I в опытах 3, 8 и 10 раздражение силой 17 см.

шиваемости обнаруживается только у верхней границы физиологически адекватных частот, то на нервном проводнике беззубки Н. В. Головиной⁽⁴⁾ получен положительный результат при частоте в несколько раз более низкой (1 в секунду), чем его спонтанная активность*.

Мысль о том, что в филогенетически древних образованиях с небольшими скоростями процессов возбуждения стойкие паранекротические изменения должны быть выражены ярче, находит подтверждение и в работах со скелетной мускулатурой. Так, по данным М. Б. Киро⁽²⁾, при тоническом сокращении (филогенетически более древней форме возбуждения) происходит усиление окрашиваемости на 51,4%, а при тетаническом только на 21,9%. Совершенно однозначные результаты получены при раздражении с нерва С. М. Верещагиным⁽³⁾ (для тонического сокращения 15,1, 11,4 и 14,0%, а для тетанического 8,7 и 5,6%). Сопоставление собственных экспериментов с литературными данными приводит к выводу, согласно которому по мере эволюции при физиологической деятельности нервно-мышечного прибора происходит параллельное затруднение возникновения некомпенсированного возбуждения (парабиоза) и связанных с ним стойких паранекротических изменений.

Описанные факты служат несомненным доказательством единства процессов паранекроза и парабиоза, с одной стороны, и филогенетического родства возбуждения и паранекроза, с другой⁽⁹⁾.

Считаю своим долгом выразить благодарность директору Мурманской биологической станции тов. Н. В. Кузнецову и его заместителю тов. А. Ф. Брюханову, предоставившим мне возможность выполнить настоящую работу.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Поступило
17 XII 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Д. Н. Насонов, ДАН, 64, № 4 (1949). ² М. Б. Киро, Изв. АН СССР, сер. биол., № 4 (1948). ³ С. М. Верещагин, Бюлл. эксп. биол. и мед., 27, № 4 (1949). ⁴ Н. В. Головина, Диссертация, ИЭМ, Л., 1949. ⁵ Н. А. Смитген, Сборн. работ памяти акад. А. А. Заварзина, стр. 482, 1948. ⁶ Е. К. Жуков, Уч. зап. ЛГУ, сер. биол., в. 10 (1939). ⁷ А. Д. Браун, Диссертация, ИЭМ, Л., 1949. ⁸ В. В. Артемьев, Тр. Физиол. ин-та им. И. П. Павлова, 4, 1949. ⁹ Е. К. Жуков, Журн. общ. биол., 7, № 6 (1946). ¹⁰ Д. Н. Насонов и И. П. Суздальская, Изв. АН СССР, сер. биол., № 4 (1948).

* В настоящее время мы не располагаем точными сведениями о частоте ритмической активности нервных проводников анодонты. Однако представление о ней мы получаем из работы В. В. Артемьева⁽⁸⁾, устанавливающей частоту спонтанных рядов нервного ганглия анодонты равной 6—18 в секунду. По всем имеющимся в литературе данным, частота его в нерве может быть только выше.

Последнее объясняется, по нашему мнению, незначительными скоростями процессов возбуждения в нерве беззубки⁽⁹⁾ по сравнению с таковыми у нервного проводника краба. Следовательно, нервное волокно лягушки, характеризующееся еще большими скоростями процессов репарации, при этих же частотах не должно давать статистически достоверных увеличений сорбционных свойств, что и было установлено упомянутыми выше работами.