

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ім. О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

На правах рукопису

ГРИЦЕНКО ІРИНА ІВАНІВНА

**ПОТЕНЦІАЛЗАЛЕЖНИЙ МЕХАНІЗМ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО
ЗАЛУЖУВАННЯ ТА ПОЗАКЛІТИННОГО ЗАКИСЛЕННЯ В
АСТРОЦИТАХ ГІПОКАМПА ЩУРА**

03.00.13 — фізіологія людини і тварин

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового
ступеня кандидата біологічних наук

Київ — 1994



00778536 (-)

Роботу виконано в науковій лабораторії факультету нейрохірургії Медичного центру Університету в Нью-Йорку (США)

Науковий керівник: професор, доктор Мітчелл Чеслер

Офіційні опоненти:

член-кор. НАН України доктор біол. наук О. А. Кришталь;
академік НАН України доктор біол. наук В. К. Лішко

Провідна організація:

Інститут фізіології Київського Національного Університету
ім. Т. Г. Шевченка

Захист відбудеться " 31. янв 199 5 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої ради Д-01.13.01 при Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України за адресою: 252024, Київ, вул. Богомольця, 4.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України.

Автореферат розісланий " 9. декабр 199 4 р.

М/
П/ Вчений секретар спеціалізованої ради
доктор біологічних наук

З.О. Сорокіна-Маріна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність і ступінь дослідженості теми. Відомо, що активність нервових клітин в ЦНС супроводжується істотними змінами рН_o. В різних областях нервової системи існують два типи зрушень рН_o, зв'язані з гальмівними ГАМК-ергічними та зі збуджуючими глутаматергічними постсинаптичними ефектами. Дані зрушення, що являють собою швидкі лужні переходи рН_o, індуються запуском нейронної активності. ГАМК-залежні позаклітинні варіації рН_o є наслідком виходу іонів HCO₃⁻ через ГАМК_A-керовані іонні канали. Рівень таких зрушень зумовлюється швидкістю оборотної реакції гідратації CO₂, котра каталізується КА. В результаті цієї реакції продукуються іони H⁺ та HCO₃⁻ (Kaila et al., 1990). Залежне від глутаматних рецепторів позаклітинне залужування обумовлюється сумарним входом іонів H⁺ в нейрони через трансмембранні шляхи, які донині достатньо не вивчені (Chen, Chesler, 1992), і обмежується (буферується) реакцією гідратації CO₂, котру каталізує КА.

Кислотні зрушення рН_o, котрі так само залежать від рівня нейронної активності, можуть мати різну природу. Метаболічна продукція CO₂ або молочної кислоти здатна викликати закислення позаклітинного простору, яке повільно зменшується (Kraig, 1983; Spuler, 1987; Walz, 1989; Ransom, 1992). Посилення метаболічної активності нещодавно було продемонстровано Voipio & Kaila (1993), котрі в своїх експериментах використовували модифікований CO₂-селективний мікроелектрод. Аналогічні результати отримали Chesler & Chen (1993), використовуючи одночасно карбонат- та рН-селективні мікроелектроди. Згадані автори в своїх дослідженнях на зрізах гіпокампа щура виявили повільно зростаюче підвищення тиску CO₂, що призводило до закислення міжклітинного простору. Після вимикання стимуляції відбувався спад тиску CO₂. Швидкі позаклітинні кислотні зрушення рН_o

Скорочення, які використовуються в тексті: рН_o — рН позаклітинного простору; рН_i — рН внутрішньоклітинного вмісту астроцитів; [K⁺]_o — концентрація іонів K⁺ у позаклітинному просторі; ЦНС — центральна нервова система; КА — карбоангідраза, NEPES — N-2-гідроксиетилпіперазин-N'-2-етанолсульфонатна кислота; ГАМК — γ-аміномасляна кислота; НМДА — N-метил-D-аспартат; ДІДС — 4,4'-диізотіоціаностілбен-2,2'-дисульфонатна кислота; ДНДС — 4,4'-динітростилбен-2,2'-дисульфонатна кислота; ДЗСА — декстранзв'язуючий сульфоамід; ЕПА — етилпропіл амлорид; ГФБ — гліальний фібрилярний білок.

в ЦНС ссавців, як вважають (Carlini, Ransom, 1986; Chesler, Kraig, 1987, 1989; Sykova, Svoboda, 1990; Boyarsky et al., 1993), обумовлені транспортними механізмами гліальних клітин.

Останнім часом особлива увага звертається на те, що гліальні клітини відіграють кардинальну роль в регуляції і підтриманні нормального кислотно-лужного гомеостазу в ЦНС. Як відомо, кількість гліальних клітин в ЦНС приблизно в 10 разів перевищує кількість нейронів; гліальні клітини складають майже половину об'єму мозку (Pore, 1978). До того ж мембрани гліальних клітин мають унікальні електрофізіологічні властивості. Характерним для них є висока провідність для іонів K^+ , котра істотно перевищує (в 5 разів і більше) провідність для іонів Na^+ (Orland et al., 1966). Отже, мембранний потенціал гліальних клітин має високу чутливість до змін концентрації позаклітинного K^+ і тому швидке підвищення концентрації іонів K^+ в міжклітинному просторі внаслідок викиду K^+ із нейронів призводить до значної деполяризації мембран гліальних клітин (Kuffler, Nicholls, 1966).

Підвищення концентрації позаклітинного K^+ , викликане нейронною активністю, і деполяризація мембран гліальних клітин (Orland et al., 1966; Ransom, Golgring, 1973) дають підстави для побудови цілого ряду гіпотез щодо нейронно-гліальної взаємодії. Зміни мембранного потенціалу гліальних клітин можуть правити за «сигнали» в системі нейронно-гліальної взаємодії. Проте досі невідомо, яким насправді є взаємозв'язок внутрішньоклітинної функції глії і обумовленої нейронною активністю деполяризації мембрани (Orland et al., 1966; Baylor, Nicholls, 1969). Результати експериментів *in vivo* (Chesler, Kraig, 1987, 1989), а також *in vitro* (Boyarsky et al., 1988) довели, що в гліальних клітинах спостерігається швидке внутрішньоклітинне залужування, викликане деполяризацією мембрани. В зв'язку з цим важливо з'ясувати, який саме механізм зумовлює ці внутрішньоклітинні лужні зрушення: трансмембранний (сумарна секреція кислотних елементів через плазматичну мембрану) чи зміни безпосередньо в цитоплазмі гліальних клітин?

На гліальних клітинах п'явки було показано (Boron, Boulpaer, 1983; Dittmer, Schlue, 1989; Deitmer, Szatkowski, 1990), що лужний зсув рН_i, викликаний деполяризацією, генерується електрогенним мембранним котранспортом одього іона Na^+ і двох іонів HCO_3^- . Одержано також докази на користь існування електрогенного Na^+/HCO_3^- -залежного котранспорту в гліальних клітинах хребетних (Astion, Orland, 1988; Kettenmann, Schlue, 1988; Newman, Astion, 1991). Проте донині не ясно, яку роль відіграє цей Na^+/HCO_3^- -залежний котранспорт у лужному зсуві

pH_i, котрий зумовлюється деполяризацією мембрани, в астроцитах ссавців. Так, наприклад, в культурі астроцитів ссавців було показано (Boyersky et al., 1993), що лужний зсув pH_i, викликаний деполяризацією мембрани, виявлявся в клітинах, котрі знаходилися в середовищі, із якого іони бікарбонату були повністю вилучені. Але результати інших досліджень, проведених також на культурі астроцитів ссавців, свідчать про те, що такий лужний зсув є виключно бікарбонатзалежним (Waltz, 1991; Brookes, Turner, 1993). В експериментах *in vivo* було продемонстровано (Chesler, Kraig, 1987), що часовий перебіг викликаного стимуляцією кори головного мозку кислотного зсуву pH в позаклітинному просторі і часовий перебіг обумовленого деполяризацією мембрани залужування астроцитів кори досить близькі. Цей факт може бути лише непрямим доказом трансмембранної природи даного явища. Ефекти іонів Ba²⁺, виявлені після їх додавання у позаклітинне середовище під час стимуляції кори головного мозку щура, дали підстави вважати, що пусковим механізмом для внутрішньоклітинного залужування глії є саме деполяризація гліальної мембрани (Chesler, Kraig, 1989).

На препаратах нормальної тканини гіпокампа щура взаємозв'язок між кислотним зсувом в позаклітинному просторі та секрецією кислотних елементів глією важко дослідити, через те що з зміни pH_o може брати участь низка різних механізмів (Chesler, 1990; Chesler, Kaila, 1992). До того ж в даній структурі мозку компактність гліальних клітин і (або) рівень експресії транспортера можуть бути недостатніми для забезпечення значного кислотного зсуву. Але відомо (Nadler et al., 1978; Murabe et al., 1981; Kimelberg et al., 1987; MacVicar et al., 1989; Burnart et al., 1990; Bowman et al., 1992), що попередні ін'єкції кайнової кислоти в гіпокамп щура дозволяють одержати препарат, в котрому нейрони області СА3 заміщені щільно розташованими проліферуючими реактивними гліальними клітинами (гліолізований гіпокамп). Використання саме такого препарату дало нам можливість вивчити в нервовій тканині ссавців в умовах *in vitro* взаємозв'язок кислотного зрушення pH у внутрішньоклітинному просторі і калійзалежного лужного зсуву pH в цитоплазмі астроцитів. Слід зазначити, що раніше, згідно з даними літератури, такий взаємозв'язок не вивчали. Провести аналогічні дослідження в умовах культури тканин не уявляється можливим.

Мета і завдання дослідження. Мета даної роботи полягала в тому, щоб з'ясувати такі питання: чи беруть участь астроцити гіпокампа щура в регуляції pH міжклітинного простору і одночасно з цим регуляції pH

їх цитоплазми; яка іонна природа механізму трансмембранних змін рН і чи активується цей механізм деполяризацією плазматичної мембрани глії.

Відповідно меті були поставлені такі завдання.

1. Відпрацювати методику, використання якої давало б можливість стабільно одержувати експериментальну модель — зрізи області САЗ гліолізованого гіпокампа щура.

2. Вивчити природу взаємозв'язку швидких значних лужних зсувів рН в цитоплазмі астроцитів і їх зміщення мембранного потенціалу, що виникають у відповідь на швидке збільшення рівня $[K^+]_o$ в області САЗ зрізу гліолізованого гіпокампа.

3. Вивчити природу швидких кислотних зрушень рН у міжклітинному просторі, котрі з'являються в тих самих експериментальних умовах.

4. З'ясувати, яку роль відіграє Na^+/HCO_3^- -залежний котранспорт мембран реактивних астроцитів у зрушеннях рН_i та рН_o.

5. З'ясувати, які саме кислотно-лужні одиниці транспортуються, використовуючи інгібітори КА.

6. Вивчити мембранні механізми аналогічних швидких кислотних зсувів рН_o, які обумовлюються збільшенням $[K^+]_o$ в області САЗ нормального гіпокампа щура.

Наукова новизна роботи. Вперше на препаратах *in vitro* показано, що в астроцитах мозку ссавців існує натрій-бікарбонатзалежний механізм секреції кислотних елементів, котрий активується деполяризацією мембран. Активний транспорт іонів карбонату всередину гліальних клітин призводить до значного швидкого кислотного зрушення рН в міжклітинному просторі, так званої секреції кислотних елементів. Цей механізм частково зумовлює швидкий внутрішньоклітинний лужний зсув рН у цитоплазмі астроцитів. Вперше на основі даних, отриманих в експериментах з використанням інгібіторів позаклітинної КА, висловлено припущення про те, що гліальний мембранний котранспортер переносить іони карбонату і іони натрію всередину астроцита з таким стехіометричним співвідношенням: один іон натрію і один іон карбонату.

Вперше на препаратах *in vitro* показано, що деполяризація астроцитів ссавців активує також додатковий натрійнезалежний механізм, котрий, ймовірно, зумовлює лужний зсув в цитоплазмі астроцита, але не бере участі в секреції кислотних елементів через плазматичну мембрану. В області САЗ зрізу нормального гіпокампа щура продемонстровано наявність в мембранах нормальних астроцитів такого

самого натрій-бікарбонатзалежного транспортера, активація якого в умовах швидкого підвищення рівня $[K^+]_o$ також призводить до кислотного зсуву рН в міжклітинному просторі, але меншого, ніж в гліолізованому препараті.

Теоретична і практична цінність роботи. Репрезентовані дані щодо функціонування натрій-бікарбонатзалежного котранспортера є важливими для розуміння функціональних зв'язків в системі передачі сигналу від нейрону до глії і в зворотному напрямі, коли глія, завдяки тонкій регуляції рН_o, генерує сигнал оборотного зв'язку для стабілізації нейронної збудливості. Так, паприклад, відома висока чутливість НМДА-рецепторів і потенціалзалежних кальцієвих каналів навіть до невеликих змін рН_o. Мембранні транспортні механізми гліальних клітин можуть відігравати певну роль, з одного боку, в стабілізації нейронної активності (за допомогою регуляції рН_o), а з другого, — в регуляції метаболізму самих гліальних клітин (за допомогою регуляції рН_i). Показано, що препарат, котрий ми використовували в своїх дослідженнях, — унікальна модель, на якій можна вивчати значення астроцитів ссавців для підтримання гомеостазу міжклітинного простору мозку, тому що в області СА3 зрізу гліолізованого гіпокампа практично всі нейрони деградовані і, отже, саме транспортні механізми мембран астроцитів відіграють основну роль в підтриманні гомеостазу іонів і рН_o. В зв'язку з цим слід відзначити, що реактивні астроцити цього препарату за своїми властивостями більш близькі до нормальних, ніж астроцити в культурі (Ransom, Sontheimer, 1992). Результати, отримані нами на препараті гліолізованого гіпокампа, свідчать про те, що у ссавців гліальні клітини відіграють суттєву роль при таких патологіях, як гіпоксія, ішемія, інсульт або «повзуча» депресія, коли спостерігається сильне зниження рН мозку (Kraig et al., 1983, 1985; Mutch, Hansen, 1984; Somjen, 1984; Siesjo et al., 1985). Процес швидкої і значної секреції кислотних елементів із гліальних клітин, може бути важливим компонентом нейроннопротекторної дії при гіпоксії (Giffard et al., 1990; Tombaugh, Sapolsky, 1990).

Апробація роботи. Результати роботи доповідалися на 23-му щорічному з'їзді Товариства з нейронаук (Вашінгтон, США, листопад, 1993).

Публікації. З теми дисертації опубліковано 1 тези і 2 статті.

Особистий внесок пошукувача. Експериментальна частина дослідження в повному обсязі виконана пошукувачем під керівництвом доктора Мітчелла Чеслера.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається із вступу, огляду літератури, експериментальної частини, котра містить в собі опис методів та результатів дослідження, обговорення, висновків та списку літератури, який включає в себе 220 джерел. Матеріал ілюстровано 21 рисунком. Обсяг дисертації — 133 друковані сторінки.

ЗМІСТ РОБОТИ

Об'єкт та методи дослідження.

Ідентифікація препарату гліолізованого гіпокампа. Проліферація гліальних клітин і деградація нейронів в області CA3 гіпокампа щурів лінії *Long Evans* викликалися *in vivo*. В умовах анестезії і стерильності тварині вприскували 1 мкл розчину каїнової кислоти (4.0 мМ) в область CA3 гіпокампа, використовуючи широко відому методику (Paxinos, Watson, 1986; MacVicar et al., 1989; Burnard et al., 1990; Bowman et al., 1992).

Виготовлення зрізів гіпокампа. Через 10-28 днів після вищезгаданої операції тварину в умовах анестезії декапітували. Мозок швидко виймали, переносили у розчин Рінгера при 0 °С і за допомогою вібратора виготовляли зрізи гіпокампа завтовшки 300-400 мкм.

Виготовлення іонселективних мікроелектродів для позаклітинного вимірювання. Двоствольні рН-, калій- та натрійселективні мікроелектроди для позаклітинного вимірювання з діаметром кінчика 3-5 мкм виготовляли із тонкосітчастих скляних боросилікатних трубочок (AM Systems 6170). Стопчик рН-селективного (Fluka 95291), калійселективного (Fluka 60398), або натрійселективного коктейлів (Fluka 71178) вводили в кінчики мікроелектродів шляхом всмоктування. Крутизна характеристики іонселективних електродів становила 57-59 мВ на декаду зміни активності іонів. Абсолютні величини pH_o , $[K^+]_o$ і $[Na^+]_o$ в тканині розраховували відносно їх значень у фізіологічному розчині. Референтні стовпи заповнювали розчином NaCl (150 мМ).

Виготовлення рН-селективного мікроелектроду для внутрішньоклітинного вимірювання. Двоствольні внутрішньоклітинні рН-селективні мікроелектроди з діаметром кінчика менше 1 мкм також виготовляли із скляних боросилікатних трубочок (AM Systems 6170).

Селективний ствол заповнювали під мікроскопом шляхом проштовхування розігрітого коктейлю (Fluka 95291). Крутизна характеристики становила 56 мВ на декаду зміни активності H^+ . Референтний ствол заповнювали розчином каліюметанолсульфонату (2.0 М). Опір референтного ствола становив 15-30 МОм.

Мікропіпетки для іонофорезу іонів K^+ з діаметром кінчика 5-10 мкм заповнювали розчином, в склад якого входили KCl (1.0 М) и NEPES-NaCl (5 мМ); рН розчину дорівнював рН тканини.

Розташування мікроелектродів в зрізі гіпокампа для вимірювання рН_o. Орієнтуючись на область CA1 і *fascia dentata*, які правили за референтні структури, рН- і калійселективні мікроелектроди закріплювали на подвійному мікроманіпуляторі, а потім вводили в зону зрізу гліолізованого гіпокампа, котра відповідала *stratum radiatum* області CA3 інтактного гіпокампа. Відстань між кінчиками електродів становила 10-20 мкм. Мікропіпетку для іонофорезу K^+ закріплювали на іншому мікроманіпуляторі і вводили на відстані 50-100 мкм від першої електродної пари (Рис. 1).

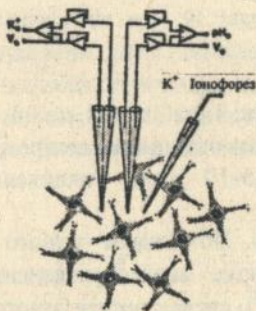


Рис 1. Схема розташування позаклітинних мікроелектродів. Рівень позаклітинного K^+ та рН вимірювали з використанням двох двоствольних іонселективних мікроелектродів. Позаклітинне зміщення нульового рівня потенціалу (V_0) віднімалось від іонних сигналів.

Розташування мікроелектродів в зрізі гіпокампа для вимірювання рН_i. У подвійному маніпуляторі (Narashige MD-4) закріплювали

двоствольний внутрішньоклітинний рН-селективний мікроелектрод і мікропіпетку для іонофорезу таким чином, щоб відстань між їхніми кінчиками дорівнювала 10 мкм, а потім мікроелектроди сумісно вводили в зону гліозису області СА3 (Рис. 2).

Клітини глії ідентифікували за такими ознаками: реєстрація стабільного негативного (від -70 мВ до -90 мВ) мембранного потенціалу,

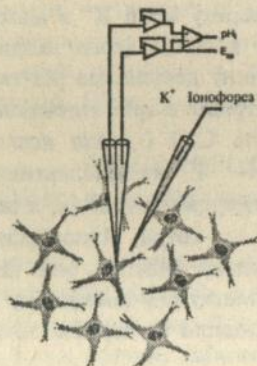


Рис. 2. Схема розташування внутрішньоклітинних мікроелектродів. Двоствольний рН-селективний мікроелектрод з діаметром кінчика менше 1 мкм закріплювали в подвійному мікроманіпуляторі таким чином, щоб кінчик мікроелектрода знаходився на відстані 10 мкм від кінчика мікропіпетки для іонофорезу.

відсутність спонтанної активності і стабільний рівень рН_i. Після цього шляхом іонофорезу K⁺ через позаклітинний електрод, використовуючи позитивні імпульси струму (0.5-10 мкА), викликали деполяризацію мембрани астроцита.

Реєстрація та вимірювання. Потенціали іонного та референтного стволів реєстрували за допомогою високоімпедансного підсилювача. Щоб визначити рівень рН_o і [K⁺], сигнал референтного ствола постійно віднімався від сигналів іонселективних стволів. Іонні і референтні сигнали після фільтрації з верхніми межами 5 і 200 Гц відповідно подавали на самописець. Іонофоретичні струми подавали через контур моста підсилювача (Axoprobe 1 A, Axon Instruments). Дані аналізували безпосередньо з самописця, потім сканіювали і за допомогою комерційного графічного програмного забезпечення виготовляли рисунки. Вимірювання здійснювали в камері для зрізів субімерсійного типу з термостатично керованим нагрівачем. Всі вимірювання здійснювали при температурі 31-32 °С.

Гістологічний контроль. Після закінчення експерименту зрізи фіксували в 10%-вому розчині формаліна для подальшого гістологічного контролю, тобто підтвердження наявності значної за розміром зони проліферації гліальних клітин в області САЗ гіпокампа. Застосовували забарвлення крезил-віолетом або імуногістохімічну реакцію на наявність ГФБ з використанням моноклональних антитіл (Boehringer Mannheim Biochemica, No. 814369, титр 1:2000), а також за допомогою пероксидазно-антипероксидазної методики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати гістологічного контролю довели, що, в області САЗ зрізу гліолізованого гіпокампа щура переважну більшість клітинних елементів складала гліальні астроцитарні клітини, оскільки практично всі нейрони деградували. Отже, очевидно, що саме транспортні механізми мембран астроцитів мають практично цілком обумовлювати зміни pH_o . Завдяки дії цих механізмів амплітуда кислотних зрушень pH_o , які викликаються $[K^+]_o$ -залежною деполаризацією мембран, значно збільшується у порівнянні з тою, яка спостерігається в інтактному гіпокампі, що є ідеальною умовою для вивчення цих зрушень на даному препараті.

Кислотні зрушення pH_o . Іонофорез K^+ в область САЗ зрізу гліолізованого гіпокампа призводив до досить значного кислотного зрушення позаклітинного pH_o , причому швидкість зростання цього зрушення була дуже близькою до швидкості підвищення рівня $[K^+]_o$ (Рис. 3).

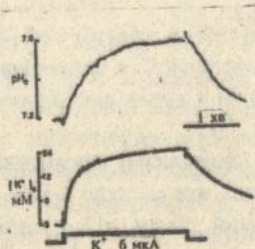


Рис. 3. Записи pH_o та $[K^+]_o$ під час іонофорезу K^+ . Підтримуваний іонофоретичний струм (показано під записами, 6 мкА) викликає підвищення рівня $[K^+]_o$, який швидко наростає до плато і супроводжується трохи повільнішим позаклітинним закисленням.

Після вимикання іонофоретичного імпульсу відбувався повільний спад обох компонентів. Результати контрольних експериментів показали, що іонофорез K^+ в модельну безклітинну структуру (зріз агарози з ідентичною іонною композицією) ніколи не викликав зрушення pH_o .

Порівняння кислотних зрушень pH_o в області САЗ зрізів нормального і гліюлізованого гіпокампа. При використанні однакових за величиною іонофоретичних імпульсів, котрі викликали ідентичне збільшення рівня $[K^+]_o$, ми порівнювали амплітуди кислотних зрушень pH_o в області САЗ зрізів нормального та гліюлізованого гіпокампа щура. Із Рис. 4 видно, що кислотні зсуви в зрізі гліюлізованого гіпокампа порівняно з кислотними зсувами в зрізі нормального гіпокампа нарастають швидше і їх амплітуда більше в 2-3 рази. Така сама відмінність спостерігалася при широкому варіюванні концентрації K^+ .

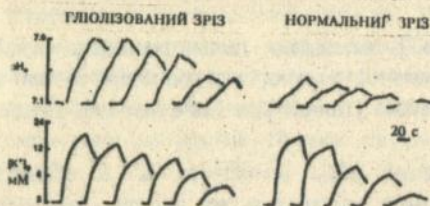


Рис. 4. Кислотні зрушення pH в області САЗ зрізів гліюлізованого та нормального гіпокампа. При використанні K^+ в ідентичних концентраціях кислотні зрушення pH в гліюлізованому зрізі в кілька разів більші, ніж в нормальному.

Лужні зрушення pH_i в цитоплазмі астроцитів. В 56 астроцитах, котрі знаходилися в середовищі, яке містило в собі бікарбонатний буфер (35 мМ), середній стаціонарний рівень pH_i становив 7.03 ± 0.02 при середньому трансмембранному потенціалі -82 ± 0.9 мВ. Іонофорез K^+ викликав деполіризацію мембрани астроцита, яка корелювала з внутрішньоклітинним лужним зсувом. Із Рис. 5 видно, що, чим більшою була деполіризація, яка індукувалася K^+ , тим більшим був лужний зсув pH_i .

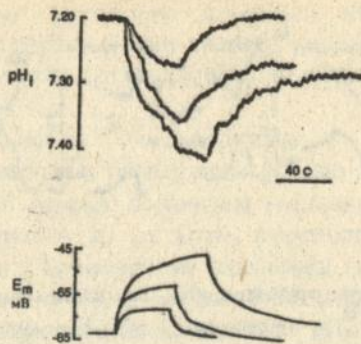


Рис. 5. Внутрішньоклітинні лужні зрушення pH_i , викликані іонофорезом K^+ . Коли ми використовували іонофоретичні струми, сила яких зростала (1, 2, 3 мкА), деполаризація мембрани та лужні зміщення pH_i збільшувались. Після вимкнення струму рівень pH_i наближався до свого першого рівня, але його відновлення не було повним.

В деяких випадках після вимкнення іонофоретичного імпульсу рівень pH_i не повертався до свого першочасного значення, але виходив на деякий новий більш лужний стаціонарний рівень. При цьому мембранний потенціал повністю відновлювався.

Вплив іонів Ba^{2+} на кислотні зрушення pH_o та лужні зрушення pH_i в цитоплазмі астроцитів. Іони Ba^{2+} , блокуючи калієву провідність, інгібували калійіндуковану деполаризацію мембрани астроцитів. Це призводило до повного усунення як кислотних зрушень pH_o , так і лужних зрушень pH_i у відповідь на збільшення $[K^+]_o$ (Рис. 6, А, Б). Короточасна суперфузія іонами Ba^{2+} викликала деполаризаційне зміщення трансмембранного потенціалу, котре супроводжувалося повільними змінами стаціонарних рівней pH_o та pH_i (тобто відбувалося зниження першого та підвищення другого) (Рис. 6, А, Б). Отже, і кислотні зрушення в позаклітинному середовищі, і лужні зсуви всередині клітини обумовлюються не підвищенням $[K^+]_o$, а саме збільшенням деполаризації мембрани астроцита, індукованої відповідним рівнем підвищення $[K^+]_o$.

Натрійзалежне кислотне зрушення pH_o в зрізах гліолізованого гіпокампа. Як видно із Рис. 7, А, коли замість розчину Рінгера використовували безнатрієвий розчин, в котрому Na^+ замінювали на N-метилглюкомін та холін, кислотне зрушення в позаклітинному просторі блокувалося повністю.

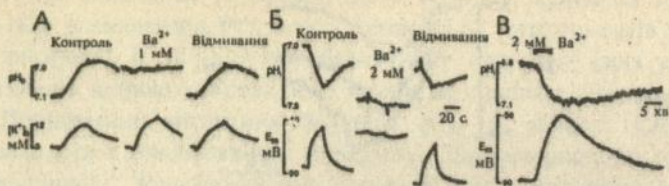


Рис. 6. А - кислотне зрушення рН_o, викликане підвищенням рівня К⁺, оборотно усувається Ва²⁺ в концентрації 1 мМ. Б - лужне зрушення рН_o та деполяризація мембрани, викликані підвищенням рівня К⁺, оборотно усуваються Ва²⁺ в концентрації 2 мМ. В - вплив Ва²⁺ на рН_i. Короткочасне прикладання Ва²⁺ з концентрації 2 мМ викликає деполяризацію мембрани на 40 мВ та стаціонарне залужування внутрішньоклітинного вмісту на 0.3 одиниці рН. Після відмивання препарату рівень мембранного потенціалу та рН_i відновлювалися.

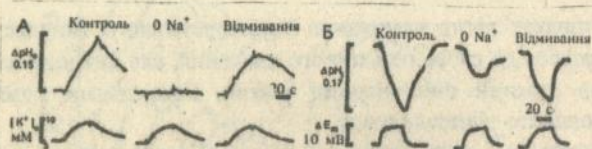


Рис. 7. А - вплив безнатрієвого розчину на калійзалежні кислотні зрушення рН_o. Кислотні зрушення рН_o у відсутності Na⁺ повністю і оборотно інгібувалися. Б - вплив безнатрієвого розчину на калійзалежні лужні зрушення рН_o. В умовах 20-хвилинної експозиції препарату в безнатрієвому розчині спостерігали інгібування лужного зрушення рН_o на 63%. Через 6 хв після відмивання амплітуда повністю не відновлювалась.

Цей ефект був оборотним. Стаціонарний рівень рН_o практично не змінювався.

Натрійзалежне лужне зрушення рН_i в цитоплазмі астроцитів. В умовах 20-хвилинної експозиції препарату в безнатрієвому середовищі відбувалося оборотне часткове блокування викликаного деполяризацією лужного зсуву рН_i в астроцитах (Рис. 7, Б).

В середньому інгібування становило $40 \pm 9\%$ ($n=7$). В безнатрієвому середовищі ми ніколи не спостерігали повного блокування викликаних деполяризацією мембрани лужних зрушень рН_i в астроцитах.

Згідно з нашими вимірюваннями з використанням Na⁺-селективного електрода в умовах, коли Na⁺ вимивали протягом 2 хв із експериментальної камери, порівнянне виснаження позаклітинного K⁺ відбувалося на протязі 20 лв. Отже, відсутність повного інгібування лужних зсувів рН_i у безнатрієвому середовищі не можна пояснити тим фактом, що вилучення Na⁺ із розчину було неповним.

Бікарбонатзалежне кислотне зрушення рН_o в зрізах гліолізованого гіпокампа. Коли ми замілювали стандартний бікарбонатний розчин на насичений киснем розчин з HEPES-буфером, відбувалося оборотне достатньо сильне інгібування (на $75 \pm 5\%$, $n=8$) викликаного деполяризацією мембрани кислотного зсуву рН_o (Рис. 8, А).

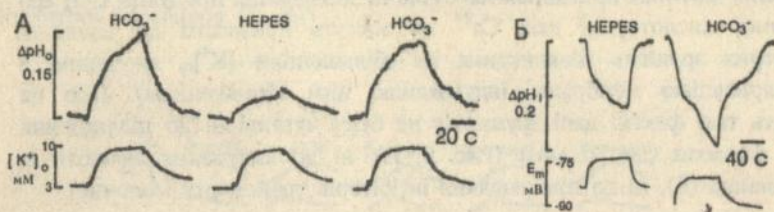


Рис. 8. А - вплив розчину, котрий містив в собі HEPES-буфер, на калійзалежні кислотні зрушення рН_o. HEPES викликає оборотне зменшення амплітуди кислотного зрушення рН_o. Б - препарат спочатку інкубували в розчині з HEPES-буфером, а потім переносили в розчин з HCO₃ на 12 хв. Лужний зсув рН_i в розчині з HCO₃ був більше на 61%.

Навіть при тривалій (до 30 хв) суперфузії розчином, котрий містив в собі HEPES-буфер, ми ніколи не спостерігали повного інгібування кислотного зсуву, викликаного деполяризацією. Очевидно, це пов'язано з тим фактом, що в умовах використання даного препарату повністю вилучити іони бікарбонату із розчину неможливо.

Відомо (Chesler, Chen, 1993; Voipio, Kaila, 1993), що в тканині зрізу відбувається метаболічне утворення CO₂. Отже, можна припустити, що навіть у разі використання розчину з HEPES-буфером у позаклітинному просторі, очевидно, присутня залишкова концентрація бікарбонату (декілька мМ).

Бікарбонатзалежні лужні зрушення рН_i в цитоплазмі астроцитів. Перехід від HEPES-буфера до HCO₃⁻-буферного розчину завжди супроводжувався незначною (2-4 мВ) гіперполяризацією мембрани, а зворотний перехід (від HCO₃⁻-буфера до HEPES-буферного розчину) — її депольаризацією (також на 2-4 мВ) (Рис. 8, Б). Викликані депольаризацією лужні зсуви рН_i в розчині з HEPES-буфером були або меншими, або ідентичними, хоча ніколи не перевищували рівня зсувів рН_i у HCO₃⁻-буферному середовищі. Відомо (Thomas, 1984), що у розчині з HEPES внутрішньоклітинна буферна ємкість завжди зменшується. Однак наші дані свідчать про зменшення (причому це спостерігалось завжди) сумарної секреції кислотних еквівалентів в HEPES-буферному розчині.

Чи мають калійзалежні кислотні зрушення рН_o, виявлені зрізах гліолізованого гіпокампа метаболічну природу? Раніше було показано (Orkland et al., 1973), що внаслідок підвищення [K⁺]_o метаболізм в гліальних клітинах прискорюється. Але ні збільшення продукції CO₂ або молочної кислоти, ні вхід Ca²⁺ не можуть призвести до швидких кислотних зрушень (викликаних не збільшенням [K⁺]_o, як таким, а депольаризацією мембрани, індукованою цим збільшенням). Про це свідчать такі факти: дані зрушення не були чутливі ні до підвищення рівня глюкози (до 30 мМ) (Рис. 9, А), ні до вилучення глюкози із середовища (Б), ні до прикладання інгібіторів транспорту молочної

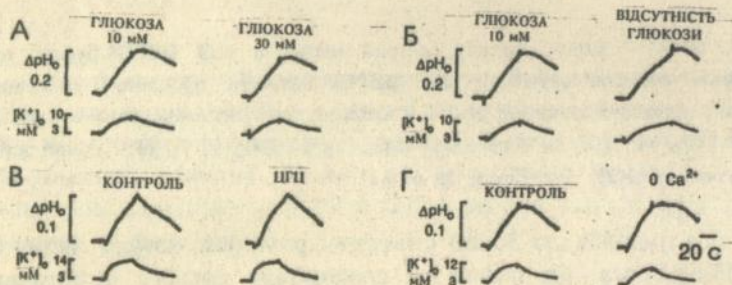


Рис. 9. Факти, що свідчать проти метаболічної природи калійзалежних кислотних зрушень рН_o. А - збільшення концентрації глюкози (від 10 до 30 мМ) не впливало на кислотні зрушення рН_o. Б - в умовах 35-хвилинної експозиції препарату в розчині без глюкози кислотні зрушення рН_o не усувалися. В - інгібітор транспорту молочної кислоти ЦГЦ не блокував кислотних зрушень рН_o. Г - в умовах 22-хвилинної експозиції препарату в безкальцієвому середовищі кислотні зрушення рН_o не усувалися.

кислоти α -ціано-3-гідроксиціннамата ЦГЦ (5-8 мМ) (В) або DL-р-гідроксифеніллактата (8 мМ), ні до прикладання блокатора кальцієвих каналів Cd^{2+} (100 мкМ), ні до номінального усунення Ca^{2+} із розчину (Г).

Чи є механізм калійзалежних кислотних зрушень pH_o і лужних зрушень pH_i «класичним» механізмом секреції кислотних елементів? Найбільш широко описані механізми секреції кислотних елементів в мембрані гліальних клітин такі: 1) натрійзалежний $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмін, який блокується ДДС (Russel, Boron, 1976; Thomas, 1977; Schlue, 1992); 2) Na^+/H^+ обмін, котрий інгібується амілоридом та його аналогами (Thomas, 1984; Ransom et al., 1992). Виявлені нами кислотні зрушення pH_o , котрі викликалися деполяризацією, не можна віднести до жодного із цих транспортних механізмів. Вони не блокувалися ні у разі прикладання ДДС (500 мкМ) (Рис. 10, А), ні у разі тривалої (до 75 хв) суперфузії безхлорним розчином (Б), ні у разі прикладання амілориду (2 мМ) або його аналога ЕІПА (100 мкМ) (В), або ж менш специфічного інгібітора хармаліна (2 мМ).

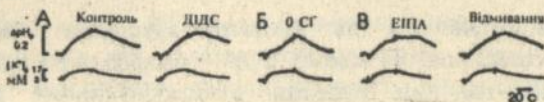


Рис. 10. Факти, що свідчать проти «класичного» механізму секреції кислотних елементів. А - калійзалежні кислотні зрушення pH_o не блокувалися ДДС в концентрації 500 мкМ. Б - в умовах тривалої (до 60 хв) експозиції препарату в безхлорному розчині калійзалежні кислотні зрушення pH_o не есувалися. В - інгібітор амілоридчутливого натрій-водневого обміну ЕІПА не блокував калійзалежних кислотних зрушень pH_o .

Із Рис. 11, А видно, що тривала суперфузія безхлорним розчином також зовсім не впливала на викликані деполяризацією лужні зсуви в цитоплазмі астроцитів. До того ж лужні зсуви були нечутливі ні до ДДС, ні до його аналога ДНДС (2 мМ) (Рис. 11, Б).

Не на користь «класичного» механізму секреції кислотних елементів свідчить і той факт, що в реактивних астроцитах внутрішньоклітинний лужний зсув зумовлюється калійіндукованою деполяризацією їх

мембран, тоді як Na^+/H^+ обмін або натрійзалежний $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ обмін звичайно активують закислення внутрішньоклітинного середовища (Roos, Boron, 1981; Thomas, 1984).

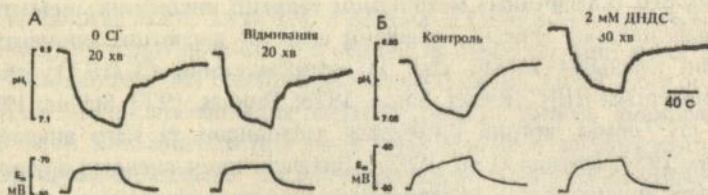


Рис. 11. А - залежний від деполаризації лужний зсув pH_i не є чутливим до усунення хлору із розчину: він виникав після 20-хвилинного перебування препарату в безхлорному розчині. Б - вплив ДНДС на залежний від деполаризації мембрани лужний зсув pH_i . Рівень лужного зсуву pH_i після прикладання ДНДС (2 мМ) протягом 30 хв не змінювався

Вплив інгібіторів КА на кислотні зрушення в зрізах гліолізованого гіпокампа. Як відомо, CO_2 — бікарбонатна рівновага є головним фізико-хімічним буфером в міжклітинному просторі. Гідратація CO_2 з формуванням бікарбонату відбувається порівняно повільно. КА каталізує оборотну гідратацію CO_2 і бере участь в регуляції позаклітинних змін pH_o (Chesler, Kaila, 1992). Присутність КА у позаклітинному просторі тканини зрізу гіпокампа щура була показана раніше (Chen, Chesler, 1992). Як відомо (Chen, Chesler, 1992; Kaila et al., 1992), інгібування позаклітинної КА має певний вплив на ряд механізмів зміни pH_o , в тому числі і на кислотні зрушення pH_o , викликані виходом CO_2 або входом HCO_3^- . Ці зрушення повинні зменшуватися, оскільки вони зумовлюються швидкою гідратацією CO_2 . Навпаки, кислотні зрушення, пов'язані з сумарним протонним балансом, повинні збільшуватися, тому що ці зсуви pH_o пригнічуються реакцією гідратації CO_2 . Як видно із рис. 11, А, погано проникаючий інгібітор КА бензоламід (1-10 мкМ), як і інгібітор позаклітинної КА ДЗСА (Рис. 12, Б), викликає значне підсилення індукованих деполаризацією мембрани кислотних зрушень pH_o . В середньому збільшення кислотних зрушень pH_o , викликаних бензоламідом, становило $182 \pm 27\%$ ($n=6$), викликаних ДЗСА — $125 \pm 45\%$ ($n=10$).

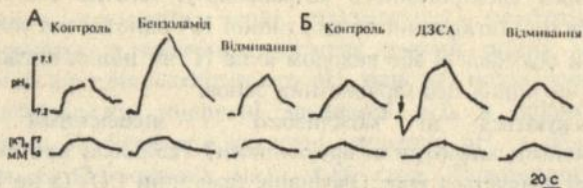


Рис. 12. Вплив інгібіторів КА на калійзалежні кислотні зрушення. А - бензоламід (1 - 10 мкМ) - погано дифундуючий інгібітор КА, викликає оборотне збільшення кислотних зрушень. Б - декстрансв'язуючий сульфамід (ДЗСА) — інгібітор КА, вприскували під тиском локально у позаклітинний простір. Оскільки ДЗСА був розчинений у відносно лужному середовищі, він викликав перехідне залужування (показано стрілкою). Після повернення рівня pH_o до первинної величини калійзалежний кислотний зсув pH_i у порівнянні з контролем збульшувався. З віддаленням дифузії інгібітора від місця його вприскування цей ефект зникав зовсім.

Механізм, котрий обумовлює одночасно і кислотні зрушення pH_o і лужні зрушення pH_i в астроцитах гіпокампа щура. В реактивних астроцитах властивості калійіндукованого кислотного зрушення оптимально узгоджені з активацією електрогенного Na^+/HCO_3^- -залежного котранспорту, котрий переносить всередину клітини один іон Na^+ разом з двома або більше іонами бікарбонату. На користь цього свідчать такі факти: 1) кислотні зрушення оборотно усувалися в безнатрієвому середовищі, 2) оборотно зменшувалися у номінально безбікарбонатному розчині, 3) були нечутливі до тривалої інкубації в безхлорному розчині. До того ж кислотні зрушення не блокувалися ДІДС, котра може інгібувати такий механізм (Boron, Boulpaer, 1989), але ж відомо, що не всі Na^+/HCO_3^- -залежні котранспортери чутливі до стілбенових (Aickin, 1988; Kettenmann, Schlue, 1988; Korbmacher et al., 1988). Калійіндуковане закислення позаклітинного простору блокувалося Ba^{2+} . Крім того ж Ba^{2+} сам по собі викликав кислотний зсув від первинного рівня pH_o . Ці результати говорять про те, що секреція кислотних елементів обумовлювалась деполаризацією, очевидно, завдяки дії електрогенного Na^+/HCO_3^- -залежного котранспортера. Невелика гіперполяризація мембрани астроцита, виявлена при заміні розчину з

HEPES-буфером на розчин з HCO_3^- -буфером, також свідчить про наявність вхідного електрогенного котранспорту. Істотне збільшення кислотних зсувів при інгібуванні позаклітинної КА однозначно говорить про те, що вони обумовлені або виходом іонів H^+ чи інших кислот, або ж вхідом OH^- чи інших небікарбонатних основ.

Як узгоджуються ці можливості з виявленими нами бікарбонатзалежними кислотними зрушеннями? Найбільш прийнятним поясненням нам уявляється таке. Очевидно, саме іони CO_3^{2-} (а не HCO_3^-) є одиницями, які транспортуються. Збільшення концентрації іонів H^+ у міжклітинному просторі, викликане дією такого механізму, обмежується в основному залежною від КА дегідратацією іонів HCO_3^- і тому мусить підсилюватись інгібіторами КА. В даному контексті вхід CO_3^{2-} або CO_3^- -аніонних кон'югатів може призводити до кислотного зсуву в позаклітинному просторі, і цей ефект підсилюється інгібуванням КА.

В гліолізованих зрізах гіпокампа характеристики викликаних деполяризацією лужних зсувів pH_i добре узгоджуються з характеристиками супутних кислотних зрушень pH_o . І позаклітинні, і внутрішньоклітинні зміни pH імітувалися барійіндукованою деполяризацією. До того ж обидві калійіндуковані відповіді блокувалися Ba^{2+} . Така подібність характеристик pH_i та pH_o свідчить про те, що ці зрушення pH зумовлені деполяризацією мембрани. Трансмембранна симетрія вказаних властивостей відбиває той факт, що позаклітинний кислотний і внутрішньоклітинний лужний зсуви є складовими одного і того ж самого механізму секреції кислотних елементів. Як ми вже відмічали, позаклітинні кислотні зсуви можна пояснити наявністю вхідного $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -залежного котранспортера. Іонна залежність внутрішньоклітинного залуження підтверджує подібність цих трансмембранних зрушень pH . Викликаний деполяризацією мембрани лужний зсув pH_i , як і кислотний зсув pH_o , котрий його супроводжує, активуються іонами HCO_3^- (Grichtchenko, Chesler, 1994a).

Підсумовуючи дані, отримані за допомогою поза- та внутрішньоклітинних вимірювань, можна зробити висновок, що реактивні астроцити мають $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -залежний механізм секреції кислотних елементів, котрий активується деполяризацією мембрани. Описані нами характеристики цього механізму дозволяють зробити висновок, що ним є $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -залежний котранспортер. Одиницями, які транспортуються, є, очевидно, аніони CO_3^{2-} (або CO_3^- -аніонні кон'югати) та катіони Na^+ .

Результати проведеного нами дослідження вказують на існування додаткового натрійнезалежного механізму, котрий бере участь у

викликаному деполяризацією мембрани залужуванні цитоплазми реактивних астроцитів. Оскільки цей механізм не пов'язаний з викидом кислотних елементів через плазматичну мембрану, він може забезпечувати в гліальних клітинах деякий рівень незалежності в модуляції внутрішньоклітинного pH_i відносно позаклітинного pH_o .

Калійзалежні кислотні зрушення pH_o в зрізах нормального гіпокампа. Калійзалежні кислотні зрушення pH_o в області СА3 зрізу нормального гіпокампа мали таку саму фармакологічну та іонну чутливість, як і калійзалежні кислотні зсуви pH_o в області СА3 зрізу гліолізованого гіпокампа, хоча і менші за амплітудою в 2-3 рази. Такі зсуви оборотньо інгібувалися іонами Ba^{2+} у разі їх зовнішнього прикладання, оборотньо усувалися в безнатрієвому середовищі та оборотньо підсилювалися під впливом погано проникаючого інгібітора КА бензоламід. Все це дозволяє припустити, що в мембранах нормальних астроцитів, як і в умовах нашої моделі, існує такий самий Na^+/HCO_3^- -залежний механізм секреції кислотних елементів, котрий активується деполяризацією мембрани.

Значення секреції кислотних елементів глією для стабілізації нейронної активності. Наші дані свідчать про те, що в глії ссавців існує потенційна можливість для функціонування механізму секреції кислотних елементів, котрий активується деполяризацією мембрани. Оскільки гліальні мембрани можуть значно деполяризуватися під час фізіологічного підсилення нейронної активності (Kelly et al. 1974), цей механізм може істотно визначати величину і напрям індукованих нейронною активністю зрушень pH_o (Chesler, 1990). В деяких областях нервової системи ефект секреції кислотних елементів глією може маскуватися позаклітинними лужними зрушеннями внаслідок синаптичної активації нейронів. Швидкість зростання і спаду цих варіацій дорівнює швидкості збільшення і зниження концентрації зовнішніх іонів K^+ (Kraig et al., 1983; Chesler, Chan, 1988). Підсилення лужних зрушень, виявлене в цих умовах, в разі прикладання Ba^{2+} може зумовлюватися селективним інгібуванням секреції кислотних елементів глією (Chesler, Kraig, 1989; Sykova et al., 1992). В інших областях нервової системи, навпаки, секреція кислотних елементів глією може бути домінуючим фактором у позаклітинному зсуві pH . Так, наприклад, в препараті спинного мозку стимуляція дорсальних корінців призводила до швидких кислотних зрушень pH_o , котрі підсилювалися інгібіторами КА (Sykova, 1989; Sykova, Svoboda, 1990). Цей ефект є дуже подібним до ефекту підсилення кислотних зрушень в гліолізованих зрізах.

Функціональну роль секреції кислоти можна розглянути в контексті

нейронної збудливості, котра може значно підвищуватися в умовах невеликого лужного зсуву рН_o (Krishtal, Pidoplichko, 1980; Iijima et al., 1986; Krishtal et al., 1987; Tang et al., 1990; Tranelis, Cull-Candy, 1990; Barnes, Bui, 1991). Відомо (Kraig et al., 1983; Chesler, Chan, 1988; Chan, Chesler, 1990; 1992a, 1992b, 1992c; Kaila et al., 1992), що в ЦНС залужування міжклітинного простору є типовим наслідком процесів синаптичної передачі. Вельми переконливим уявляється той факт, що секреція кислотних елементів близько розташованими гліальними мембранами, котра супроводжує згаданий процес, може бути компонентом механізму обмеження вказаних лужних переходів і, отже, брати участь в стабілізації нейронної збудливості (Chesler, 1990; Deitmer, 1992; Ransom, 1992; Sykova et al., 1992).

ВИСНОВКИ

1. Вперше на зрізах мозку ссавців (препарати області CA3 гліолізованого гіпокампа щура) показано, що в мембранах реактивних астроцитів існує активований деполяризацією мембрани $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -залежний механізм так званої секреції кислотних елементів.

2. Даний котранспорт переносить всередину гліальної клітини разом з іонами натрію іони карбонату (але не бікарбонату), що було продемонстровано за допомогою інгібіторів позаклітинної карбоангідрази.

3. Активний транспорт іонів карбонату всередину астроцита призводить до швидкого кислотного зрушення в міжклітинному просторі («секреції кислотних елементів») і одночасно з цим зумовлює викликане деполяризацією мембрани швидке залужування цитоплазми реактивного астроцита.

4. Показано, що в астроцитах області CA3 нормального гіпокампа існує такий самий тип $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -залежного котранспорту, котрий обумовлює менше за амплітудою потенціалзалежне кислотне зрушення рН в міжклітинному просторі.

5. Висловлюється припущення про те, що деполяризація мембран астроцитів гіпокампа ссавців активує додатковий натрійнезалежний механізм, котрий робить певний внесок саме у внутрішньоклітинне залужування астроцитів, а не в «секрецію кислотних елементів» через плазматичну мембрану.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ З ТЕМИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Crichtchenko I. I., Chesler M. Depolarization-evoked alkalization and extracellular acid secretion by astrocytes of gliotic hippocampal slices // Abstracts of the 23rd annual Society for Neuroscience Meeting (Washington, D. C., USA, November 7-12).-Washington, 1993.-Part 1.-No. 285.14, P. 687.
2. Grichtchenko I. I., Chesler M. Depolarization-induced acid secretion in gliotic hippocampal slices // Neuroscience.-1994.-62, No. 4.-P. 1057-1070.
3. Grichtchenko I. I., Chesler M. Depolarization-induced alkalization of astrocytes in gliotic hippocampal slices // Neuroscience.- 1994.-62, No. 4.-P. 1071-1078.

Grichtchenko Irina I. Depolarization-evoked alkalization and extracellular acid secretion by astrocytes of gliotic hippocampal slices.

Dissertation on candidate degree (Ph. D.) in Biological Sciences, 03.00.13 - physiology of human and animals, Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, 1995.

A depolarization-induced rise in astrocyte pH_i may reflect the rapid secretion of acid into the extracellular space during neuronal activity. To further evaluate this process, we studied K^+ -induced shifts of pH_i and pH_o in CA3 region of rat hippocampal slices made gliotic by kainate. K^+ was iontophoresed while recording either pH_i from astrocytes or pH_o from extracellular space. The data are consistent with inward, electrogenic, Na^+/HCO_3^- -dependent transport. Results from using inhibitors of extracellular carbonic anhydrase showed that the inward transported species are likely to be CO_3^{2-} and Na^+ . These results further indicate that rapid acid secretion and cytosolic alkalization of astrocytes arise from the same process.

Грищенко Ирина Ивановна «Потенциалзависимый механизм внутриклеточного защелачивания и внеклеточного закисления в астроцитах гиппокампа крысы».

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13. - физиология человека и животных, Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, г. Киев, 1995.

Изучались сдвиги кислотно-щелочного равновесия межклеточного пространства (изменение наружного pH_o) и цитоплазмы (изменение pH_i) глиальных клеток гиппокампа крысы при повышении $[K^+]_o$. Работа выполнена на глиолизированных срезах, полученных в результате инъекции каиново́й кислоты в область CA3 гиппокампа крысы. Показано наличие глиального Na^+/HCO_3^- -зависимого кислотно-транспортного механизма, который в ответ на деполяризацию мембраны астроцита (при повышении K^+) активируется и вызывает кислотный сдвиг в межклеточном пространстве (pH_o) и одновременно с этим щелочной сдвиг в цитоплазме астроцита (pH_i). На основании изучения кинетики этого котранспорта в условиях ингибирования внеклеточной карбоангидразы в данной работе показано, что ионы карбоната переносятся внутрь астроцита вместе с ионами натрия. Представленные в работе данные показывают возможность того, что данный Na^+/HCO_3^- -зависимый глиальный «механизм секреции кислотных элементов» может принимать активное участие в стабилизации кислотно-щелочного равновесия ЦНС млекопитающих.

Ключові слова: pH, астроцит, Na^+/HCO_3^- котранспорт, гіпокамп щура.

456826

AB 31.605