

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЦЕСТОДЫ *BOTHRIOCEPHALUS GOWKONGENSIS*

О. Н. Давыдов

Институт гидробиологии АН УССР, Киев

При помощи нового метода регистрации двигательной активности на цестодах впервые исследовалось влияние ионов натрия, калия и кальция. Установлено, что ионы натрия и калия играют существенную роль в регуляции тонических сокращений гельминта, тогда как ионы кальция ответственны за образование фазных сокращений.

Доля каждого из исследованных ионов в регуляции двигательной активности, очевидно, определяется главным образом проницаемостью мембран их мышечных клеток и внутриклеточным содержанием каждого из них. Незначительное нарушение соотношения ионов натрия, калия и кальция от нормального состава Рингера в окружающей среде цестоды заметно проявляется на характере их двигательной активности.

Известно, что ионы внутренней и наружной среды (в частности, ионы Na, K и Ca) играют важную роль в регуляции клеточных процессов, протекающих в организме. Однако до настоящего времени нам удалось найти всего лишь несколько работ (Кротов, 1961; Castillo, Mello and Morales, 1964; Brading and Caldwell, 1971), в которых исследовалось влияние ряда ионов на сократительную активность мышц аскарид.

В то же время действие ионной среды того или иного состава на двигательную активность цестод теплокровных и холоднокровных животных вообще не подвергалось исследованию. Между тем именно в отношении цестод, учитывая их своеобразные двигательные реакции и способы потребления веществ из окружающей среды, подобные исследования имеют важное теоретическое и практическое значение для понимания их физиологии с целью выяснения механизма действия известных антгельминтиков и изыскания новых препаратов.

Возможно, что могут быть «проводники», как полагает Кротов (1962), т. е. вещества, не обладающие выраженными антгельминтными свойствами, но повышающие возбудимость тканей для специфически действующих препаратов. Кроме того, ряд антгельминтиков и некоторые ионы в определенных концентрациях могут явиться синергистами по своему действию на паразитических червей, тем самым усиливая терапевтический эффект.

Задачей исследования явилось изучение роли некоторых ионов окружающей среды в регуляции двигательной активности *B. gowkongensis*.

Приношу глубокую благодарность за ценные замечания проф. А. И. Кротову и проф. М. Ф. Шуба.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования были хорошо подвижные цестоды *B. gowkongensis*, извлеченные из кишечника сеголеток карповых рыб. Схема установки для отведения и регистрации сократительной активности мышечных клеток цестод описана (Давыдов, 1972) и здесь не приводится.

Исходный нормальный раствор Рингера (НР) для фрагментов цестод был следующего состава: NaCl — 101.02, KCl — 3.35, CaCl — 1.27, NaHCO₃ — 2.5, KH₂PO₄ — 11.67, MgSO₄ — 2.4 мМ на 1 л дистиллированной воды.

Безнатриевый раствор Рингера (ONa) приготавливали путем замены в НР всего NaCl соответствующим количеством (202.04 мМ) сахарозы, а NaHCO₃ — (2.5 мМ) KHCO₃. Бескальциевый раствор Рингера (ОСа) готовили путем замены в НР CaCl₂ изотоническим количеством (1.27 мМ) NaCl. Исследование влияния бескальциевого раствора на активность фрагмента цестоды проводилось при добавлении ЭДТЛ (этилендиаминтетрауксусная кислота) из расчета 5 мМ на 1 л раствора. В бескальциевом растворе Рингера (ОК) весь KCl и KH₂PO₄ заменялся изотоническим количеством (3.35 мМ) NaCl и (11.67 мМ) NaN₂PO₄.

В части опытов весь НР заменялся соответствующим количеством (235 мМ) сахарозы (сп). Увеличение концентрации исследуемых ионов Na, K и Ca в НР производилось добавлением к нему желаемого количества сухой соли этих ионов. Изменение осмотичности наружной среды при увеличении концентрации солей определялось молярным количеством сахарозы добавлением в НР. Температура нормального и исследуемых растворов составляла +18—20°, pH растворов находилось в пределах 7.

Исследуемые изменения в двигательной активности цестоды под влиянием тех или иных ионов измерялись частотой и амплитудой сокращений. В части опытов полученные результаты обрабатывались методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Предварительные опыты показали, что в физиологическом растворе (ФР) двигательная активность фрагментов цестод значительно изменялась по сравнению в НР в течение всего эксперимента. На 240 мин. опыта ампли-

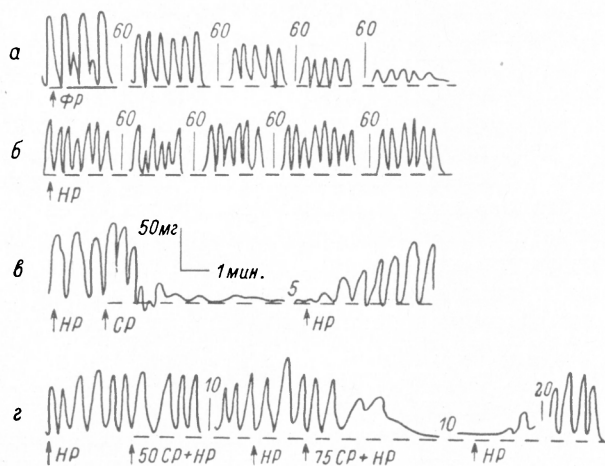


Рис. 1. Влияние ряда веществ на двигательную активность фрагментов цестод. Объяснение в тексте.

На данном и последующих рисунках стрелка и рядом с ней буква или цифра обозначают начало действия данного раствора или концентрации. Цифры в промежутках микрограмм — время остановки регистрации (в мин.).

туда сокращения мышечных клеток фрагмента в ФР была в 2.5 раза меньше, чем в НР (рис. 1а, б).

Замена всего НР изотоническим раствором СР вызывала быстрое угнетение спонтанной активности. Последующее действие на мышцу НР приводило к постепенному восстановлению двигательной активности цестоды (рис. 1, в).

Опытами установлено, что добавление 75 мМ СР к исходному НР вызывало угнетение двигательной активности фрагментов цестод (рис. 1, г).

Влияние ионов натрия на двигательную активность фрагментов цестод. Как было отмечено выше, в качестве заменителя ионов натрия в окружающей среде гельминта мы использовали соответствующее количество сахарозы, в химическом отношении мало активной.

Характерные изменения, вызываемые действием сахарозы-рингера без NaCl и NaHCO₃ (ONa) на мышечные клетки гельминта, показаны на рис. 2. До действия этого раствора на фрагмент цестоды наблюдалась спонтанная активность. Амплитуда отдельных сокращений равнялась в среднем 1.5 см, частота 2—3 в мин. Под влиянием ONa произошло повышение тонуса, учащение сократительной ритмики и уменьшение амплитуды.

Через 14 мин. после действия ONa наблюдалось уменьшение частоты сокращения и постепенное угнетение активности фрагмента. Отмывание НР сопровождалось понижением тонуса и в ряде случаев более значительным усилением частоты и амплитуды сокращения по сравнению с нормой (рис. 2, а).

Обнаружив значительное изменение спонтанной активности фрагмента гельминта под влиянием сахарозы-рингера (без ионов натрия), возник вопрос о том, какая будет связь между концентрацией ионов натрия в наружном растворе Рингера и сократительной ритмикой.

В серии опытов исследовалось влияние повышенных концентраций ионов натрия (150, 202, 240 мМ) на двигательную активность мышц путем добавления сухой соли NaCl к НР. Результаты одного из таких опытов приведены на рис. 2. Действие на фрагмент гельминта раствора Рингера с 150 мМ NaCl приводило к небольшому угнетению сократительной активности. Амплитуда отдельных сокращений была ниже (в среднем 0.7 см), чем в исходном состоянии (рис. 2, б). Увеличение концентрации натрия в

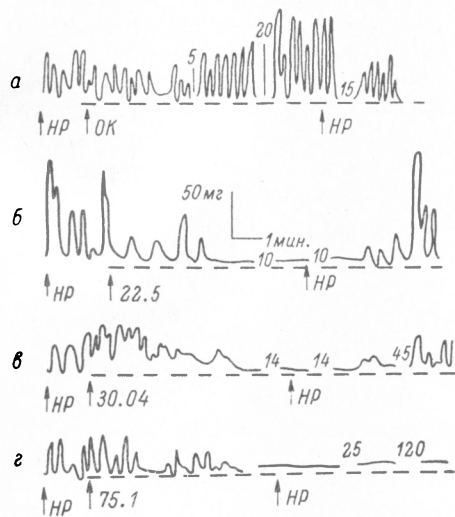


Рис. 3. Влияние различных концентраций ионов калия (а—г — соответственно 0, 22.5, 30.04, 75.1 мМ) в нормальном растворе Рингера (НР) на двигательную активность фрагментов цестод. Объяснение в тексте.

растворе Рингера до 202 мМ сопровождалось постепенным угнетением спонтанной активности с редкими неравномерными сокращениями с различной амплитудой и частотой. Восстановление двигательной активности под влиянием НР происходило через 20 мин. (рис. 2, в).

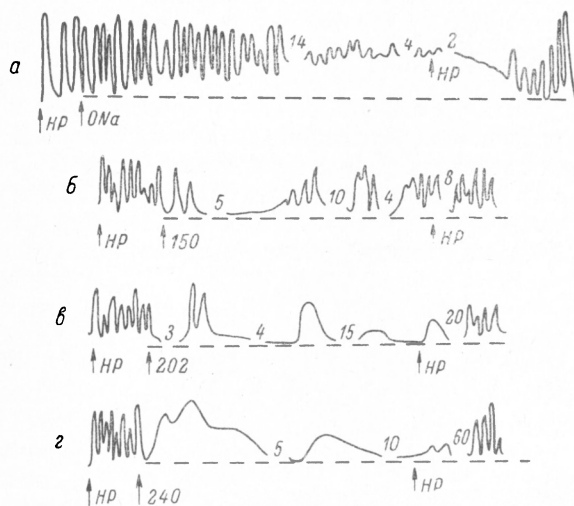


Рис. 2. Влияние различных концентраций ионов натрия (а—г — соответственно 0, 150, 202, 240 мМ) в нормальном растворе Рингера (НР) на двигательную активность фрагментов цестод. Объяснение в тексте.

При увеличении концентрации натрия в растворе Рингера до 240 мМ наблюдались медленные тонические сокращения. Через 15 мин. происходило угнетение активности фрагмента гельминта. Восстановление ритмики в НР происходило значительно медленнее, в среднем 60 мин. (рис. 2, з).

Влияние ионов калия на двигательную активность фрагментов цестод. На рис. 3, а приведена запись сократительной активности фрагмента цестоды в растворе Рингера без ионов калия (OK). Оказалось, что, вопреки нашим ожиданиям, действие на исследуемый фрагмент гельминта бескальциевым раствором Рингера (OK) в подавляющем большинстве случаев сопровождалось значительным повышением частоты и амплитуды сокращения ($t=8$). Статистическая обработка данных по амплитуде сокращений дала удовлетворительную достоверность этой величины. Через 30 мин. после начала действия бескальциевого раствора на мышцу фрагмента вновь подействовали НР. Это привело, как

видим, к довольно медленному восстановлению спонтанной активности.

Интересно было узнать, как изменяется спонтанная активность мышц фрагмента в противоположных условиях, т. е. в среде с повышенной концентрацией ионов калия. Было показано, что увеличение концентрации калия в 1.5—2 раза (соответственно 22.5 и 30.04 мМ) в окружающей среде вызывало быстрое угнетение сократительной активности фрагмента гельминта и через 5—10 мин. прекращение ритмики. Восстановление спонтанной активности мышцы наблюдалось только после длительного отмывания НР (рис. 3, б, в). В зависимости от исследуемых концентраций ионов калия изменялось время восстановления двигательной активности гельминта.

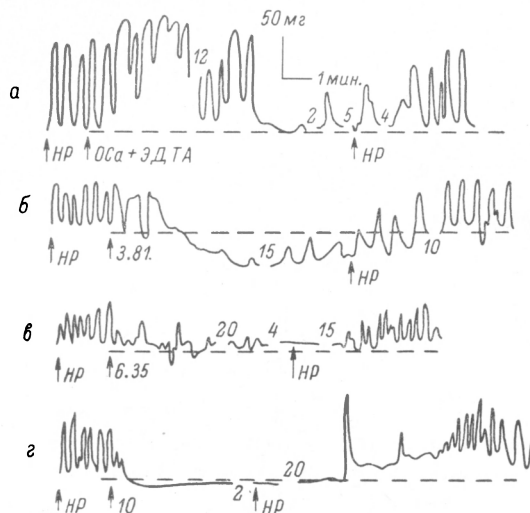


Рис. 4. Влияние различных концентраций ионов кальция (а—г — соответственно 0, 3.81, 6.35, 10 мМ) в нормальном растворе Рингера (НР) на двигательную активность цестод. Объяснение в тексте.

Ни в одном из проведенных опытов не наблюдалось восстановление активности фрагмента при увеличении концентрации ионов калия в 5 раз (75.1 мМ) (рис. 3, з).

Влияние ионов кальция на двигательную активность фрагментов цестод. Исследовали влияние бескальциевого раствора, а также раствора с повышенной в нем концентрацией кальция на спонтанную активность мышц фрагмента гельминта.

Как видно на рис. 4, а, в нормальных условиях у исследуемого фрагмента была хорошо выраженная спонтанная активность. Амплитуда отдельных сокращений достигала 1.2 см, частота до двух колебаний в минуту. Действие на цестоду бескальциевого раствора (OK+ЭДТА) приводило через 20 мин. к уменьшению амплитуды фазных сокращений и снижению тонуса до исходной. Достоверность результатов в этих опытах составляла $t=5$. Последующее промывание мышц фрагмента НР вызывало через 10 мин. восстановление двигательной активности.

В серии опытов исследовали также влияние повышенных концентраций ионов кальция (3.81, 6.35, 10 мМ) на двигательную активность фрагмента цестоды. Действие на мышцы гельминта избытка ионов кальция (3.81 мМ) в НР вызывало заметные изменения в спонтанной активности фрагмента (рис. 4, б). Начало действия исследуемого раствора сопровождалось уменьшением частоты сокращения и понижением тонуса гельминта.

Последующее действие на фрагмент НР приводило через 10—12 мин. к восстановлению спонтанной активности.

Увеличение концентрации ионов кальция в 5 раз и более (6.35 и 10 мМ) вызывало уже в первые секунды уменьшение частоты и амплитуды сокращения, а затем и угнетение сократительной активности. Необходимо отметить, что время восстановления активности при отмывании мышц фрагмента гельминта НР зависит от концентрации ионов кальция в наружном растворе (рис. 4, в, г).

Влияние одновременного удаления ионов натрия, калия и кальция на двигательную активность фрагментов цестод. В данной серии опытов исследовали влияние одновременного и полного удаления из нормального раствора Рингера (НР) ионов натрия, калия и кальция на спонтанную активность мышц гельминта.

На рис. 5 приведены миограммы одного из подобных опытов. При нормальном ионном состоянии раствора Рингера двигательная активность фрагмента была хорошо выражена. Удаление из окружающего раствора Рингера ионов натрия и кальция (и одновременное добавление 5 мМ ЭДТА) вызывало через 2—3 мин. угнетение спонтанной активности. Последующее отмывание НР приводило на 20—25 мин. к постепенному восстановлению ритмики фрагмента (рис. 5, а).

В то же время одновременное удаление из окружающей среды ионов натрия и калия вызывало уже через 20—30 сек. полное прекращение спонтанной активности фрагмента паразита. Восстановление сократительной ритмики при отмывании мышцы цестоды НР наблюдалось на 8—10 мин. (рис. 5, б).

Дальнейшие исследования показали, что одновременное удаление ионов К и Са из раствора Рингера вызывало в первые 5 мин. некоторое повышение тонуса и частоты сокращения, а затем снижение до исходного уровня тонуса и спонтанной активности гельминта. Последующее добавление ионов кальция к окружающей среде вызывало уже через 1—2 мин. восстановление спонтанной активности с частотой и амплитудой сокращения, сходной с НР (рис. 5, в).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Необходимо отметить, что при помощи метода регистрации двигательной активности гельминтов нами впервые изучено влияние ряда ионов окружающей среды на жизнедеятельность цестод. Небольшой объем камеры свидетельствует о том, что раствор Рингера при скорости протекания 5 мл в мин. полностью замещался исследуемым раствором вокруг фрагмента гельминта на протяжении пяти секунд.

Уже в первых опытах было отмечено, что состав окружающей среды не безразличен для двигательной активности гельминта. Так, помещение фрагмента в физиологический раствор вызывало постепенное угнетение спонтанной активности. В то же время характер сократительной ритмики фрагмента в растворе Рингера практически не изменился (рис. 1, а, б). Как мы видим, определенный состав ионов окружающей среды является необходимым условием для нормальной двигательной активности цестоды. В наших исследованиях замена нормального раствора Рингера сахарозным раствором сопровождалась во всех случаях временным повышением тони-

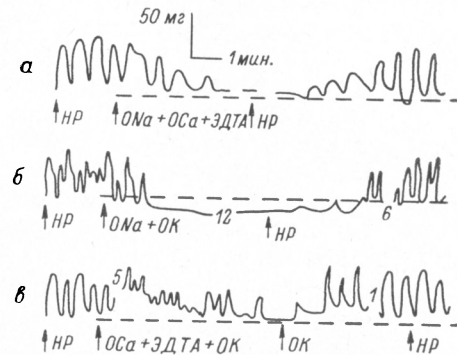


Рис. 5. Влияние одновременного удаления ионов натрия, калия и кальция в нормальном растворе Рингера (НР) на двигательную активность цестод. Объяснение в тексте.

ческих сокращений с последующим прекращением всех спонтанных реакций (рис. 1, *в*). Можно предположить, что наблюдаемая картина при таких условиях (временное усиление ритмики) связана в первую очередь с раздражением мышцы цестоды самым фактом удаления натрия из окружающей среды. Следует предположить, что в безнатриевой среде первоначальное усиление ритмики и повышение тонуса может возникать преимущественно за счет ионов кальция (рис. 2, *а*). В самом деле, как показали наши исследования, только дополнительное удаление из безнатриевого раствора ионов кальция приводит к быстрому угнетению спонтанной активности фрагмента гельминта (рис. 5, *а*).

Увеличение концентрации ионов натрия в 1.5 раза от исходного в НР заметно не влияло на сократительную ритмику гельминта (рис. 2, *б*). Дальнейшее увеличение ионов натрия в 2—2.5 раза приводило к соответствующему угнетению спонтанной активности и прекращению ритмики (рис. 2, *в*, *г*). Можно было предположить, что это связано с непосредственным действием повышенных концентраций ионов натрия на мышечные клетки гельминта. Проведенные в этом отношении опыты с сахарозой, как мало активным в химическом отношении веществом, подтвердили наше предположение.

Как и в случае с повышенной концентрацией ионов натрия в окружающей среде, отмывание мышцы гельминта НР после предварительного добавления к нему 75 мМ сахарозы происходило весьма медленно, что, очевидно, связано с влиянием сахарозы на мышцы фрагмента цестоды (рис. 1, *г*).

Одним из доказательств того, что ионы натрия активно участвуют в регуляции тонических сокращений гельминта явились эксперименты, проведенные с удалением ионов калия. Так, в опытах обнаружено значительное усиление сократительной активности гельминта в бескальциевом растворе Рингера, что, возможно, связано с повышением проницаемости мышц фрагмента для ионов натрия (рис. 3, *а*). В самом деле, одновременное удаление ионов натрия и калия из НР вызывало через 2—3 мин. полное прекращение всех двигательных реакций (рис. 5, *б*). Увеличение же концентрации ионов калия в растворе Рингера в 1.5—2 раза сопровождалось резким расслаблением фрагмента и угнетением двигательной активности и медленным восстановлением ритмики мышц гельминта после длительного промывания их НР (рис. 3, *б*, *в*). Следует отметить, что токсическое влияние ионов калия проявляется необратимостью восстановления спонтанной активности в НР при увеличении концентрации его в окружающей среде в 4—5 раза.

Что касается участия ионов кальция в регуляции двигательной активности гельминта, то роль его несколько иная, чем остальных ионов окружающей среды. Так, удаление ионов кальция из окружающего раствора вызывает кратковременное повышение тонуса и снижение спонтанной активности гельминта (рис. 4, *а*). Вместе с тем увеличение концентрации кальция в наружной среде вызывало снижение тонуса и прекращение ритмики, что связано, видимо, с уменьшением проницаемости мышц фрагмента для ионов натрия (рис. 4, *б—г*).

Можно думать, что ионы кальция принимают непосредственное участие в возникновении сократительной ритмики. Как показали исследования, добавление ионов кальция к раствору с ионами натрия вызывало восстановление двигательной активности фрагмента цестоды (рис. 5, *в*). Таким образом, можно заключить, что в нормальных условиях ионы натрия и калия по характеру действия на спонтанную активность гельминта резко отличаются от ионов кальция. Ионы натрия и калия играют существенную роль в регуляции тонических сокращений цестоды, тогда как ионы кальция ответственны за образование фазных сокращений. Приведенные исследования дают основание считать, что доля каждого из этих ионов в регуляции двигательной активности гельминта (как и во многих гладких мышцах других объектов) определяется главным образом проницаемостью мембран их мышечных клеток и внутриклеточным содержанием каждого из них.

В то же время незначительное нарушение соотношений ионов натрия, калия и кальция от нормального состава Рингера в окружающей среде цестоды заметно проявляется на характере их двигательной активности.

Л и т е р а т у р а

- Д а в ы д о в О. Н. 1972. Методика регистрации сократительной активности паразитических червей. Мед. паразитол. и паразитарн. бол., 4 : 421—423.
- К р о т о в А. И. 1961. Экспериментальная терапия гельминтозов. Медгиз : 1—150.
- К р о т о в А. И. 1962. Пути исследования физиологии гельминтов в связи с проблемой терапии гельминтозов. В сб.: Гельминты человека, животных и растений и борьба с ними : 29—32.
- B r a d i n g A. F. and C a l d w e l l P. C. 1974. The resting membrane potential of the somatic cells of *Ascaris lumbricoides*. J. Physiol., 217 (3) : 605—624.
- C a s t i l l o J., M e l l o W. C. and M o r a l e s T. 1964. Mechanism of the paralyzing action of piperazine on *Ascaris* muscle. Brit. J. Pharmacol., 22 (3) : 463—477.

THE EFFECT OF IONS OF THE ENVIRONMENT ON THE LOCOMOTOR ACTIVITY OF CESTODES OF *BOTHRIOCEPHALUS GOWKONGENSIS*

O. N. Davydov

S U M M A R Y

The effect of ions of sodium, potassium and calcium on cestodes was first studied by a new method of locomotor activity registration.

It was established that ions of sodium and potassium play an important part in the regulation of tonic contractions of helminths while ions of calcium are responsible for the formation of phase contractions. A part of each ion in the regulation of the locomotor activity depends, apparently, on the permeability of the membrane of their muscular cells and their intracellular content. A small deviation in the proportion of the ions from that of the normal Ringer's solution affects the character of the locomotor activity of cestodes.