

## Лабораторна робота № 2.

### ВИВЧЕННЯ ПРОНИКНОСТІ ТКАНИН

**Мета роботи:** вивчити проникність жаб'ячої шкіри для розчину барвника.

**Матеріали, обладнання, реактиви:** фотоколориметр, набір препаратувальних інструментів: скляні циліндри, гумові кільця, нитки, склянки; 0,05 % розчин метиленового синього на фізіологічному розчині, 0,125М розчин KCl, 0,05% розчин NaCl, спирт 70°, жаб'яча шкіра.

### Основні відомості

Проблема проникності (можливості клітин та тканин пропускати воду та розчинені в ній речовини) має велике значення в фізіології обміну речовин; у питаннях розподілу речовин між клітинами та тканинними рідинами; виникнення біопотенціалів та фармакології.

Для вивчення проникності клітин та тканин розроблено цілий ряд методів. Ступінь проникності оцінювалась за зменшенням об'єму клітини при дії на неї гіпертонічного розчину досліджуваної речовини та за наступною швидкістю зворотного деплазмолізу. Однак у його основі лежав надійний метод – застосування гіпертонічних розчинів, які, без сумніву, пошкоджують клітини.

Деякі дані про проникність клітин були одержані шляхом хімічного аналізу вмісту клітинної вакуолі великих рослинних клітин. Результати цих досліджень більш надійні, хоча в них для одержання достовірних даних автори використовували високі концентрації.

Ряд даних про проникність були одержані при вивченні проникності до клітини барвників. Однак, в цьому разі вивчалась звичайно не проникність, а адсорбція, констатувалось проникнення барвника тільки тоді, коли він накопичувався у великій кількості, інакше його присутність важко було встановити.

З відкриттям ізотопів та розробкою методів мічених атомів відкрились більш широкі можливості вивчення проникності в значно більш нормальних фізіологічних умовах.

Основним механізмом переносу розчинених речовин через клітинні мембрани є дифузія. Швидкість дифузії визначається за **законом Фіка**, згідно якого швидкість потоку речовини із області з однієї концентрації в область з іншою концентрацією пропорційна градієнту концентрацій:

$$dm / dt = - DS * dc / dx \quad \text{де:}$$

m – кількість розчиненої речовини (г);

t – час (сек.);

S – площа поверхні розділу (см<sup>2</sup>);

$D$  – коефіцієнт дифузії ( $\text{см}^2 \cdot \text{сек.}$ );

$c$  – концентрація речовини в  $\text{г} \cdot \text{см}^3$ .

$x$  – відстань від початкової точки дифузії в  $\text{см}$ .

Константа дифузії залежить від в'язкості середовища та розміру молекул. Для вираження проникності клітин у **формулі Фіка** градієнт концентрації звичайно замінюють різницею концентрацій в зовнішньому середовищі і в клітинах, а коефіцієнт  $D$  замінюють коефіцієнтом проникності  $P$ , який характеризує окрім  $D$  також опір, який клітини чинять проникненню до них речовин завдяки своїм біологічним особливостям. У такому разі проникність виражається формулою:

$$Dm/dt = PS (C_1 - C_2), \text{ де:}$$

$C_1 - C_2$  - концентрації речовини, що вивчається з обох боків мембрани.

Необхідно відмітити, що в клітині у великій кількості нагромаджуються іони білків, фосфоліпідів, аніони амінокислот й інших органічних речовин, що нездатні дифундувати, вміст яких у рідині, що оточує клітину незначний.

У той же час у протоплазмі еритроцитів, м'язових та нервових волокон у 8 – 10 разів менше, а іонів хлору в 50 разів менше, ніж у позаклітинній рідині.

Таке нерівномірне розподілення іонів між клітиною та позаклітинною рідиною обумовлене, вочевидь, не тільки дифузією під впливом різних градієнтів, але й іншими силами.

Для пояснення причин нерівномірного розподілу іонів у клітині та середовищі були запропоновані різні теорії.

Прибічники **мембранної теорії** проникності приписували головну роль у розподіленні речовин між клітиною та середовищем клітинній мембрані, проникній для одних речовин і непроникній для інших.

**Фазова теорія** стверджує, що в основі розподілу речовин між живим організмом та зовнішнім середовищем лежать процеси сорбції на внутрішньоклітинних структурах. Однак, ця теорія не пояснює механізму проникності, а тільки допомагає зрозуміти механізм перерозподілу речовин, мається на увазі кінцевий результат.

В останні роки обидві ці теорії розвивалися в цілому ряді робіт. Окрім цього, накопичено великий експериментальний матеріал з питання проникності. Все це дало можливість зробити висновки відносно механізму проникності цілого ряду речовин з оточуючого середовища в клітину. •

## ХІД РОБОТИ

**Завдання 1.** Вивчити проникність шкіри жаби для метиленового синього у фізіологічному розчині.

Мішечки із шкіри жаби закріпити за допомогою гумових кілець на кінчиках скляних циліндрів у двох положеннях: епітелієм у середину, та ззовні (рис. 1).

Наповнити шкіряні мішки фіз. розчином, щоб впевнитися в їх герметичності. Замінити фіз. розчин 0,05% розчином барвника. Налити в склянку рівну кількість фіз. розчину. Помістити в склянки шкіряні мішки. При цьому слідкувати, щоб рівень барвника в циліндрі та фіз. розчину в склянці співпадав. Через 1 годину із склянок видалити шкіряні мішки, а розчин, що знаходиться в склянках, виміряти за допомогою ФЕКу.

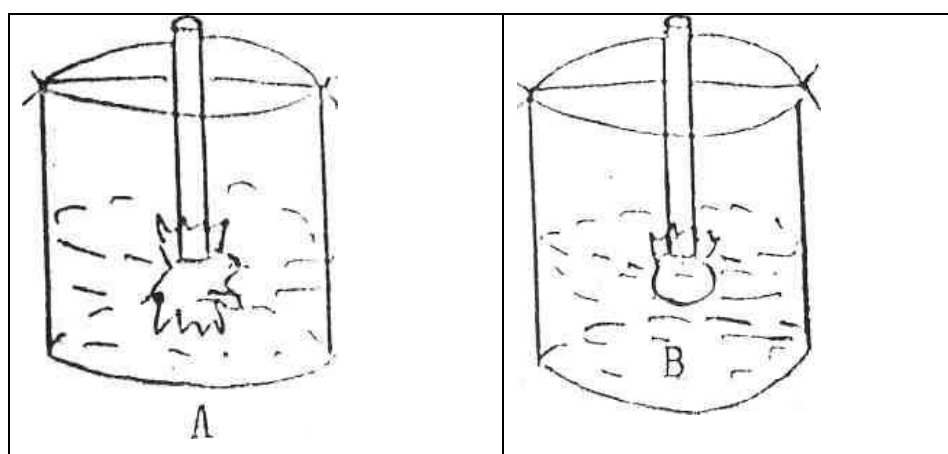


Рис. 1. Мішечки із шкіри жаби: А - епітелієм у середину; Б – епітелієм назовні.

**Завдання 2.** Вивчити проникність шкіри жаби для метиленового синього у дистильованій воді, у 0,125 М розчині КСІ та 70° спирті.

Аналогічні досліди провести зі шкіряними мішками, які попередньо знаходилися протягом 30 і 60 хвилин у дистильованій воді, 0,125 М розчині КСІ, 70° спирті. Результати дослідів занести до таблиці.

### Кількість барвника за показниками ФЕКу

| Досліджуваний об'єкт | Оптична щільність, D |           |           |           |
|----------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|
|                      | 0,125 М розчин КСІ   |           | спирт     |           |
|                      | 30 хвилин            | 60 хвилин | 30 хвилин | 60 хвилин |
| Нормальний мішок     |                      |           |           |           |
| Вивернутий мішок     |                      |           |           |           |

***Питання для самоконтролю.***

1. Що таке дифузія.
2. Методи вивчення проникності клітин та тканин.
3. Мембранна теорія проникності.
4. Фазова теорія проникності.
5. Закон Фіка.
6. Формула Фіка.
7. Області застосування проникності тканин.