

6. Силаков В. Э., Обухова Г. П., Сенаторов В. В. В кн.: Ассоциативные системы мозга. 165—171, Л., 1985.
7. Флидкович Н. П. *Arch. Psychol. und Neurol.*, 45, 69—137, 1933.
8. Хидарян Ю. В кн.: Ассоциативные системы мозга. 208—220, Л., 1985.
9. Школьник Ярнос В. Г. В кн.: Нейроны и межнейронные связи. Зрительный анализатор. 94—98, Л., 1965.
10. Ackroyd C., Humphrey N. K., Warrington E. K. *J. Exp. Psychol.*, 26, 114—124, 1974.
11. Gobbo W. G., Liles G. W. *J. Neurophysiol.*, 8, 4, 257—266, 1945.
12. Hassler R., Muks-Clement K. I. *J. Hirnforschung*, 6, 6, 377—420, 1964.
13. Katz J. H., Liu C. S., Wager E. J. *Comp. Neurol.*, 171, 3, 387—408, 1977.
14. Kawamura K. *Brain Res.*, 51, 23—40, 1973.
15. Mountcastle V. B., Lynch G., Georgopoulos A., Sakata H., Acuna C. *J. Neurophysiol.*, 38, 4, 871—908, 1975.
16. Nauta W. J. H., Gyax P. *A. Stain Technol.*, 29, 1, 91—93, 1954.
17. Olson C. K., Luxler K. L. *J. Comp. Neurol.*, 239, 1, 13—30, 1987.
18. Pandya D. N., Seltzer G. *J. Comp. Neurol.*, 204, 2, 146—210, 1982.
19. Peterson S. E., Rablerson D. L., Currie J. N. *Exp. Brain Res.*, 76, 2, 267—280, 1989.
20. Shomura K., Iton K. *Brain Res.*, 39, 2, 536—539, 1972.
21. Symonds L. L., Rosenquist J. E. *J. Comp. Neurol.*, 229, 1, 31—47, 1981.

Поступило 19.VII 1990 г.

Биолог журн. Армения, № 10—11 (43), 1990

УДК 612.467.1:612.015.31

## О ВЛИЯНИИ ИОНОВ $\text{Na}^+$ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ КАЛЬЦИЯ МОЧЕТОЧНИКА МОРСКОЙ СВИНКИ

А. С. ОГАНЕСЯН, К. В. КАЗАРЯН, Р. Р. АКОПЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Армении, Ереван

Показано, что содержание ионов  $\text{Ca}^{++}$  в мышцах, инкубируемых в безнатриевой среде в течение 45 мин, монотонно возрастает. При помещении обогащенных ионами  $\text{Ca}^{++}$  мышцы в натриевый раствор наблюдается уменьшение внутриклеточного  $\text{Ca}^{++}$  и соответствующее сопряженное увеличение концентрации ионов  $\text{Na}^+$  в клетке. Увеличение концентрации ионов  $\text{Na}^+$  в среде обуславливает эффективность выведения ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клетки. Делается вывод об участии  $\text{Na}^+$ — $\text{Ca}^{++}$  обменной системы в регуляции внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в гладкомышечных клетках мочеточника.

$\text{Na}^+$ -ի և  $\text{Ca}^{++}$ -ի ներքցումին կոնցենտրացիան որոշվել է սուսմնատիրելով միջավայրի  $\text{Na}^+$ -ի իոնների դերը միզամուրանի հարթ մկանային բջիջների  $\text{Ca}^{++}$ -ի իոնների զուրս բերելով:

Ցույց է տրված, որ մկաններում  $\text{Ca}^{++}$ -ի իոնների քանակը որոշք ինկուբացվել են ոչ նատրումական միջավայրում 45 րոպ., զանդադ անել են 8—10 անգամ: Մկաններում, որոնք հարստացվել են  $\text{Ca}^{++}$ -ի իոններով, տեղավորվելով  $\text{Na}^+$ -ի լուծույթում (120 մմոլ/լ) նկատվում է ներքցումին  $\text{Ca}^{++}$ -ի քանակի իջեցում (3 անգամ) և համապատասխանաբար  $\text{Na}^+$ -ի իոնների կոնցենտրացիայի համակապակցված մեծացում (2—3 անգամ): Ցույց է տրված, որ միջավայրում  $\text{Na}^+$ -ի իոնների կոնցենտրացիայի մեծացումը որոշում է բջիջ  $\text{Ca}^{++}$ -ի իոնների զուրս գալու էֆեկտիվությունը:

Արտազնում է, որ մկանաբանի նորը մկաններում ներքցային  $Ca^{2+}$ -ի  
իոնների կենդանության կարգավորումը ( $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -ի փոխանակման սի-  
ստեմի մասնակցությամբ):

The role of sodium ions on the calcium efflux from smooth muscle cells of the ureter has been studied by determination of intracellular concentrations of sodium and calcium ions. It is shown that in muscles incubated in sodium free medium within 45 min., intracellular calcium content was monotonously increased (8—10—times). It is obtained that the intracellular calcium content in muscles enriched in those ions is decreased (3 times) and the intracellular sodium concentration is conjugate increased (2—3 times) with entry of  $Na^+$  ions (120 mmol/l) into the sodium-free medium. It is shown that the increase of sodium ions in medium effects on the calcium from cells. It is supposed that regulation of intracellular calcium content is taking place by means of  $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -exchange system.

Мочеточник— $Na^+$ — $Ca^{2+}$  обменный механизм— $Na^+$ -помпа

Установлено, что внутриклеточная концентрация ионов  $Ca^{2+}$  в гладкомышечных клетках регулируется с помощью двух транспортных систем: АТФ-зависимого  $Ca^{2+}$ -насоса и  $Na^+$ — $Ca^{2+}$  обменного механизма, использующего энергию натриевого градиента через мембрану клеток [7, 10, 12]. Так, в исследованиях, проведенных на артериальных мышцах, обосновывается энергетическая выгодность выведения ионов  $Ca^{2+}$  из клеток с помощью  $Na^+$ — $Ca^{2+}$  обменной системы при условии превышения внутриклеточного содержания  $Ca^{2+}$  над базальным уровнем [7]. Для клеток *taenia coli* морской свинки показана необходимость присутствия ионов  $Na^+$  в среде для перехода мышцы из состояния контрактуры в состояние релаксации [9]. В то же время наличие  $Na^+$ — $Ca^{2+}$  обменной системы как основного механизма, обеспечивающего активный транспорт ионов  $Ca^{2+}$  из клеток мочеточника, остается спорным. Так, для изолированных клеток мочеточника показан малый вклад данного механизма в процессе выведения ионов  $Ca^{2+}$  из клетки при нормальных физиологических условиях [5].

Известно, что увеличение внутриклеточного содержания ионов  $Ca^{2+}$  создает условия для более эффективного выведения ионов  $Ca^{2+}$  из клеток с помощью  $Na^+$ — $Ca^{2+}$  обменной системы [7, 10]. Изучение роли ионов  $Na^+$  в поддержании  $Ca^{2+}$ -гомеостаза в клетках мочеточника нами проводилось для мышц, в которых внутриклеточное содержание ионов  $Ca^{2+}$  значительно превосходит его базальный уровень.

Материал и методика. Эксперименты проводили на изолированных мочеточниках морских свинок, извлеченных из околопочечной области. После изоляции препараты выдерживали в нормальном растворе Кребса в течение 2—3 ч, а затем переносили в экспериментальные растворы.

Нормальный раствор Кребса имел следующий состав:  $NaCl$ —120,4;  $KCl$ —5,9;  $CaCl_2$ —2,5;  $NaHCO_3$ —15,5;  $NaH_2PO_4$ —1,2;  $MgCl_2$ —1,2; глюкоза—11,5 ммоль/л. Все экспериментальные растворы pripravляли на основе раствора Кребса с замещением  $NaCl$  на эквивалентное количество сахарозы. Применяли безнатриевые растворы с концентрацией  $Ca^{2+}$  2,5 и 10 ммоль/л. pH растворов доводили до 7,4 титрованием  $KOH$  с сохранением общей концентрации  $K^+$  в среде. Растворы поддерживали при постоянной температуре 36—37°.

Оубани добавляли непосредственно в соответствующие растворы в концентрации  $10^{-4}$  моль/л.

Внутриклеточный  $^{45}\text{Ca}^{++}$  определяли методом лантана [12], внутриклеточную концентрацию ионов  $\text{Na}^{+}$  измеряли методом пламенной фотометрии [8].

**Результаты и обсуждение.** Ранее было показано, что клетки мочеточника морской свинки способны генерировать спайковую активность в безнатриевой среде [1, 3]. Известно, что потенциалы действия являются одним из основных путей входа ионов  $\text{Ca}^{++}$  в гладкомышечную клетку [4]. В этих условиях естественно ожидать увеличения внутриклеточной концентрации данного иона. При этом отмечено, что содержание ионов  $\text{Ca}^{++}$  в мышцах, инкубированных в безнатриевой среде, достигает максимальной величины за определенный промежуток времени, в зависимости от концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в наружной среде (рис. 1).

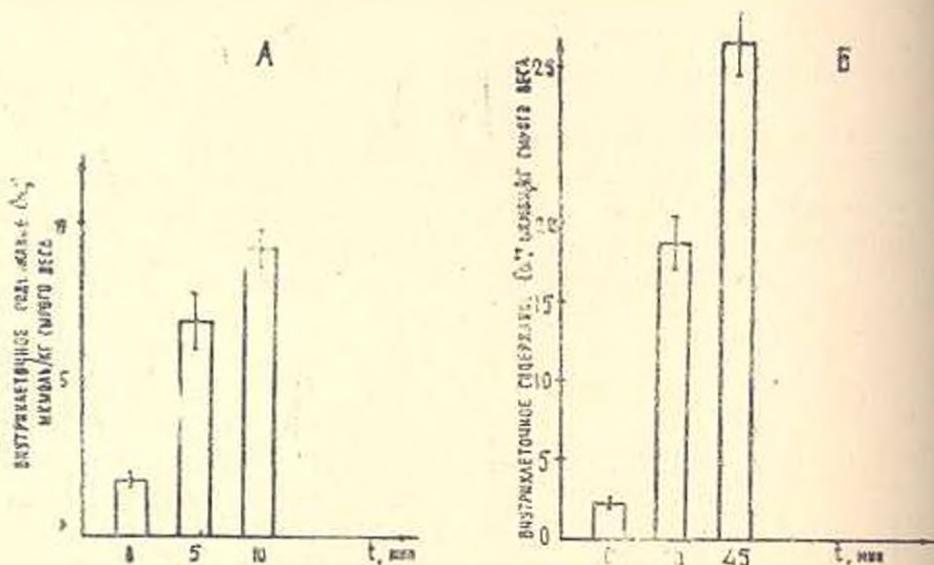


Рис. 1. Гистограммы изменения внутриклеточного содержания ионов  $\text{Ca}^{++}$  в зависимости от времени инкубации в безнатриевой среде. А—концентрация кальция в среде равна 2,5 ммоль/л, Б—10 ммоль/л. По оси ординат—внутриклеточное содержание  $\text{Ca}^{++}$ , по оси абсцисс—время инкубации. Каждый столбик представляет собой среднестатистическое для 6—8 препаратов. Вертикальными отрезками указаны стандартные ошибки.

Из рис. 1 видно, что при концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в безнатриевой среде, равной 2,5 ммоль/л, внутриклеточное содержание этого иона увеличивается до 8,5  $\mu\text{mol/kg}$  сырого веса. Изменение же концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  во внешней среде до 10 ммоль/л приводит к 8—10-кратному увеличению его.

Кроме того, нужно отметить, что с увеличением концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  во внешнем растворе увеличивается промежуток времени, за который происходит максимальное нагружение мышц кальцием.

Исследование механизмов, обеспечивающих последующее уменьшение концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в гладкомышечных клетках мочеточника, нами проводилось при введении в безнатриевый раствор ионов  $\text{Na}^{+}$  (120 ммоль/л). Действительно, для *taenia coli* морской свинки [9], а также для артериальных препаратов [7] была показана существенная фракция выхода ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клетки, активированная ионами  $\text{Na}^{+}$  наружной среды.

Следует отметить, что во всех последующих экспериментах концентрация ионов  $\text{Ca}^{++}$  в исследуемых растворах поддерживалась равной 10 ммоль/л. Это позволило исключить возможные погрешности в определении концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$ , вносимые присутствием этого иона во внешней среде.

Как видно из рис. 1Б и 2, при выдерживании мышц в безнатриевой среде внутриклеточная концентрация ионов  $\text{Ca}^{++}$  увеличивается, тогда

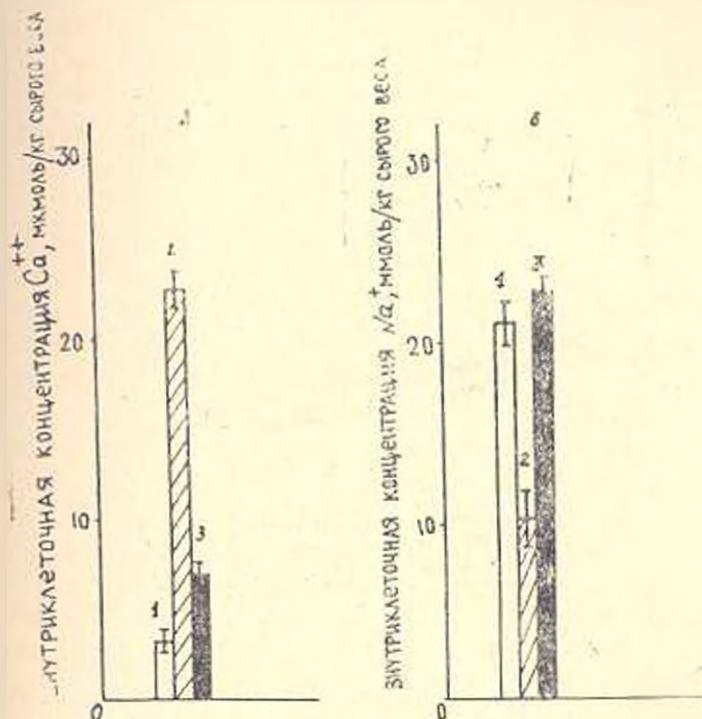


Рис. 2 Гистограммы изменения внутриклеточных концентраций ионов  $\text{Ca}^{++}$  (А) и  $\text{Na}^+$  (Б) в зависимости от присутствия иона  $\text{Na}^+$  в среде. □ — раствор Кребса, ▨ — безнатриевая среда (время инкубации 45 мин), ■ — натриевая среда (120 ммоль/л, время инкубации 45 мин). Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

как содержание ионов  $\text{Na}^+$  в этих же условиях существенно уменьшается (почти в 2 раза). При подобных условиях в сердечных волокнах Пуркинье внутриклеточная активность ионов  $\text{Na}^+$  уменьшалась почти до 0 ммоль/л [11]. Последующее введение во внешний раствор 120 ммоль/л ионов  $\text{Na}^+$  создает значительный градиент, который может обеспечить выход ионов  $\text{Ca}^{++}$ . Действительно, через 45 мин происходит уменьшение клеточного  $\text{Ca}^{++}$  почти в 3 раза и увеличение внутриклеточного  $\text{Na}^+$  почти в 2,3 раза.

Таким образом, как следует из сказанного, необходимым условием транспорта ионов  $\text{Ca}^{++}$  является наличие  $\text{Na}^+$ -градиента через мембрану гладкомышечных клеток мочеточника, при этом активный выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клетки сопровождается соответствующим определенным входом ионов  $\text{Na}^+$  в клетку.

Изучение зависимости внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  от содержания ионов  $\text{Na}^+$  в наружной среде нами проводилось при введении в безнатриевую среду двух разных концентраций ионов  $\text{Na}^+$  (60 и 120 ммоль/л). Как видно из рис. 3 (кр. 3, 4, 5), выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  в натриевые растворы значительно превосходит монотонное уменьшение этого иона в безнатриевом растворе (рис. 3, кр. 1, 2). В то же время от-

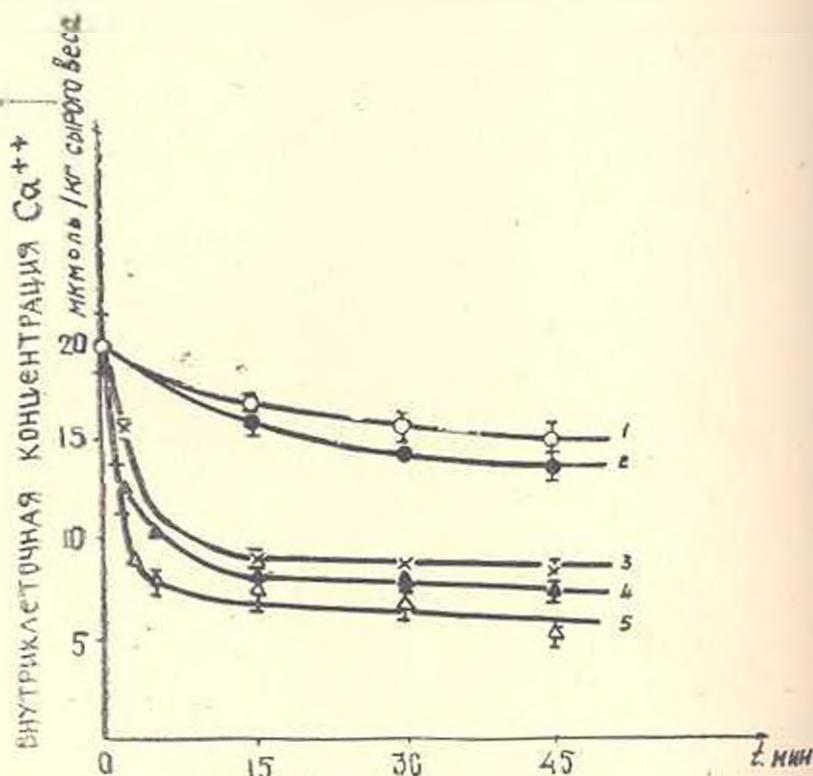


Рис. 3 Изменение внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в зависимости от времени (в присутствии и отсутствии  $10^{-4}$  моль/л оубаина). Все препараты предварительно инкубированы в безнатриевой среде с 10 ммоль/л  $\text{Ca}^{++}$  в течение 15 мин (начало оси абсцисс). 1. Безнатриевая среда без оубаина (○) 2. Безнатриевая среда с оубаином (●). 3, 4, 5. Введение в среду 60 ммоль/л  $\text{Na}^+$  и оубаина (X), 120 ммоль/л  $\text{Na}^+$  4 оубаина (Δ) и 120 ммоль/л  $\text{Na}^+$  без оубаина (△). Каждая точка представляет собой среднестатистическое для 6—8 различных препаратов. Вертикальными отрезками указаны стандартные ошибки.

мечается, что 120 ммоль/л ионов  $\text{Na}^+$  (кривые 4, 5) обеспечивает больший выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  по сравнению с 60 ммоль/л  $\text{Na}^+$  (кр. 3).

Как известно, оубаин является специфическим блокатором активного транспорта ионов  $\text{Na}^+$  через  $\text{Na}^+$ -помпу [6]. В таком случае добавление в наружную среду оубаина позволит исключить влияние отмеченного транспорта ионов  $\text{Na}^+$  на величину  $\text{Na}^+$ -электрохимического градиента. Из сравнения кривых на рис. 3 видно, что присутствие данного ингибитора в безнатриевой среде оставляет неизменным уменьшение внутриклеточного  $\text{Ca}^{++}$  (кр. 1, 2), в то время как введение оубаина в раствор с 120 ммоль/л  $\text{Na}^+$  влияет на выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  (кр. 4, 5). При этом наблюдается уменьшение транспорта ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клеток при глакти-

нированной помпе. Возможно, влияние активного потока ионов  $\text{Na}^+$  на выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  при удалении оубабина из среды (рис. 3, кр. 5) становится более ощутимым через 5 мин (кр. 4), после определенного увеличения внутриклеточного  $\text{Na}^+$ , позволяющего включить натриевую помпу.

Таким образом, приведенные данные позволяют сделать вывод, что  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  обменная транспортная система играет определяющую роль в регуляции внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$ , по крайней мере в рамках указанных в работе экспериментальных условий.

В то же время в исследованиях, проведенных на мочеточнике морской свинки, показано, что при инактивации  $\text{Na}^+$ -помпы входящий по градиенту через  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  обменный механизм поток ионов  $\text{Ca}^{++}$  обеспечивает активный выход  $\text{Na}^+$  из клетки, а сами же ионы  $\text{Ca}^{++}$  должны выводиться с помощью отличных от обменной системы механизмов [6]. Приведенные ранее расчеты показали, что энергия электрохимического градиента по ионам  $\text{Na}^+$  через мембрану клеток мочеточника достаточна, чтобы поддерживать градиент по ионам  $\text{Ca}^{++}$  с помощью электрогенного  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  обменного механизма в нормальных условиях [2]. В связи с этим возникает вопрос, способен ли данный переносчик полностью обеспечить гомеостаз ионов  $\text{Ca}^{++}$  в клетке?

В исследованиях, проведенных на изолированных клетках мочеточника морской свинки, выявлена лишь незначительная фракция выхода ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клетки с помощью  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  обменного механизма в нормальных условиях: при этом отмечается превалирующая роль других механизмов в поддержании низкой концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$  в клетке [5]. В то же время приведенные в настоящей работе результаты не оставляют сомнений в определяющей роли  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  транспортной системы в регуляции внутриклеточного  $\text{Ca}^{++}$  при условии 10-кратного превышения его над базальным уровнем, как это имеет место в мышцах сосудов [7, 10]. Действительно, введение в безнатриевую среду ионов  $\text{Na}^+$  (120 ммоль/л) обеспечивает быстрый основной выход ионов  $\text{Ca}^{++}$  из клетки за 10—15 мин (рис. 3).

Исходя из вышесказанного, можно допустить, что в нормальных условиях  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$  переносчик является малоэффективным механизмом регуляции внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{++}$ ; и его участие выявляется при соответствующих условиях, стимулирующих активность этой транспортной системы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Казарян К. В., Оганесян А. С., Тироян А. С., Акопян Р. Р., Мартиросян С. М. Физиол. журн. СССР, 75, 6, 845—850, 1989.
2. Казарян К. В., Оганесян А. С., Геворкян Г. А. Физиол. журн. СССР 76, 8, 1084—1089, 1990.
3. Казарян К. В., Тироян А. С., Оганесян А. С., Акопян Р. Р. Физиол. журн. СССР, 76, 1, 115—121, 1990.
4. Мухоморова М. Ф. Физиол. журн. СССР, 27, 4, 533—540, 1981.
5. Larsson P. I. and Benham C. D. J. Physiol., 416, 1—18, 1989.
6. Alchin C. C., Brautney A. F., Burdyga Th. V. J. Physiol., 347, 411—430, 1984.
7. Ashida T., Blaustein M. P. J. Physiol., 39, 617—635, 1987.

8. El, Starkow T. Y. and E. E. Dible. *Am. J. Physiol.*, 227, 5, 1277—1286
9. Katase T. and Tomita T. J. *Physiol.*, 224, 489—500, 1972
10. Smith J. B., T. Zheng and I. Smith. *Amer. J. Physiol.*, 56, 1, C145—C167, 1989
11. Sonn K. and Ch. O. Lee. *Amer. J. Physiol.*, 55, 3, C278—C290, 1988.
12. Van Breemen C., Farinas B. R., Casteels R., Gerbo P., Kustack F., Deth R. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, 365, 57—71, 1973.

Поступило 17.VII 1990 г.

Биолог журн. Армении, № 10—11.(43).1990

УДК 612.822.3:612.825.2.591.3

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ЛАБИЛЬНОСТИ ТРАНСКАЛЛО- ЗАЛЬНЫХ ОТВЕТОВ У КОТЯТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Л. А. ГАСПАРЯН, Л. А. МАТНИАН, Р. М. ВОСКАНЯН, Х. О. НАГАПЕГЯН

Институт физиологии им. Орбели АН Армении, Ереван

Показано, что в процессе постнатального онтогенетического развития котят происходит прогрессивное сокращение межимпульсных интервалов ТКО при парной и увеличение усваиваемости ритмов при частотной стимуляции симметричной противоположной области коры мозга.

*Ցույց է տրված, որ կառվիկների մոտ հետծննդյան օնտոգենեզի զարգացման պրոցեսում գլխուղեղի կեղևի հակառակ սիմետրիկ շրջանի զրգուման ժամանակ եկատվում է տրանսկալլոզալ պոտենցիալների զույգային զրգիտների միջխառնային փոխազդեցության պրոգրեսիվ կրճատում և ուղեղի կողմից հանահակառակային զրգիտների սիմետրիկ շրջանյան մեծացում:*

It is shown, that in the process of postnatal development of kittens a progressive reduction of interimpulse intervals transcallosal responses in pair and increasing of rhythms of comprehension in frequency stimulation of symmetric opposite sphere of the cerebral cortex are being observed.

*Транскаллозальные ответы—постнатальный онтогенез.*

Для понимания нейрофизиологических механизмов межполушарных взаимоотношений определенный интерес представляет изучение скорости функционального созревания ТКО в динамике постнатального онтогенетического развития животных. В этом аспекте представляется важным изучение лабильности этих ответов при парных и частотных раздражениях соответствующих структур коры мозга. Однако работы, касающиеся онтогенетического изучения ТКО в постнатальном онтогенезе животных, немногочисленны и часто противоречивы [2—5, 7, 9, 11, 12]. В связи с этим нами ставилась задача исследовать состояние функционального созревания ТКО у котят разного возраста с применением метода парного и частотного раздражения

Сокращения: ТКО—транскаллозальные ответы; ФМА—фокус максимальной активности