

Список литературы

1. Доминик К. Пародонтопатии.— Варшава: Пол. гос. мед. изд-во, 1967.—379 с.
2. Матвеева А. И. Полярнографическое исследование напряжения кислорода в тканях пародонта в норме и при пародонтозе: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1969.—18 с.
3. Новик О. И. Пародонтоз.— Киев: Здоров'я, 1964.—323 с.
4. Петрович Ю. А., Подорожная Р. П. Тканевое дыхание десны при нарушении ее иннервации.—Пробл. терапевт. стоматологии, 1967, вып. 2. с. 107—109.
5. Шольц К. Ф., Соловьева Н. А. Энергозависимый «неионофорный» транспорт ионов в митохондриях.— В кн.: Митохондрии. Аккумуляция энергии и регуляция ферментативных процессов. М.: Наука, 1977, с. 88—100.
6. Юнусов А. Ю. Высокая температура и водно-солевой обмен.— Ташкент: Фан, 1969.—176 с.

Лаборатория биохимии и биофизики
Одесского института стоматологии

Поступила в редакцию
30.12.80

УДК 612.015.1:612.357.71

М. С. Яременко, О. Н. Харламова

УЧАСТИЕ HCO_3 -АТФазы В МЕХАНИЗМЕ ТРАНСПОРТА ИЗОТОНИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ЭПИТЕЛИЕМ ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ КРОЛИКА

Известно, что эпителий, выстилающий в один слой клеток внутреннюю поверхность стенки желчного пузыря, осуществляет активный транспорт ионов натрия вместе с хлором и водой в виде изотонического солевого раствора из полости органа наружу. Показано, что присутствие в транспортируемом растворе ионов HCO_3 резко активизирует этот процесс [3, 4]. Имеются данные, что ионы HCO_3 участвуют также в образовании макроэргических соединений [4] и активации HCO_3 -АТФазы [2, 8], которая по-видимому, входит в систему активного транспорта изотонической жидкости через эпителиальные ткани. Представляло интерес изучить влияние ионов HCO_3 одновременно на всасывательную функцию желчного пузыря и активность Na, K-АТФазы и HCO_3 -АТФазы эпителиальных клеток.

Методика исследований

Изолированные желчные пузыри кролика увязывали на тонкой полиэтиленовой канюле, введенной в пузырный проток. Полость пузыря промывали несколько раз, затем заполняли бикарбонатным раствором Рингера. Приготовленный таким способом препарат быстро взвешивали на аналитических весах и помещали для инкубации в сосуд с аналогичным раствором. Некоторые опыты проведены на пузырях, которые предварительно выворачивали слизистой наружу и инкубировали в таком положении [3, 5]. Ионы HCO_3 в инкубационном растворе заменяли эквивалентным количеством ионов Cl. Наружный инкубационный раствор термостатировали при $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$; через раствор, содержащий ионы HCO_3 , пропускали газовую смесь ($95\% \text{O}_2 \pm 5\% \text{CO}_2$), а раствор без HCO_3 насыщали $100\% \text{O}_2$; pH наружного раствора поддерживали на уровне 7,4 в течение всего инкубационного периода. Через каждые 15 мин инкубации пузыри взвешивали на аналитических весах и по изменению их веса судили о скорости переноса жидкости через стенку, выражая ее в $\text{мкл/ч} \cdot \text{см}^2$ поверхности органа. После инкубации пузыри разрезали, с поверхности убирали остатки жидкости плотной фильтровальной бумагой, измеряли площадь стенки и производили соскоб эпителиального слоя на холоду ($+2^\circ\text{C}$). Соскоб гомогенизировали в соответствующей среде и затем определяли активность в нем HCO_3 -АТФазы и Na, K-АТФазы, как описано нами ранее [1, 2]. Состав бикарбонатного раствора Рингера для инкубации желчных пузырей был следующим (в ммольях): NaCl—15,5; KCl—5,9; CaCl_2 —2,5; MgSO_4 —1,2; NaH_2PO_4 —1,2; глюкоза—11,5; pH 7,4. Раствор для гомогенизации эпителия (в ммольях): Na—дезоксиколат—2,4; ЭДТА—2,5; трис-HCl—40,0; гистидин—30,0; сахара—250,0; pH 7,4.

Отсутствие ионов стенки изолированного пузыря не влияло на активность HCO_3 -АТФазы. Так, при отсчете скорости транспорта за 15 мин на 13%, снижение активности HCO_3 -АТФазы не только не наблюдалось, но и увеличилась на 39,2% (см.

Регрессивная зависимость активности HCO_3 -АТФазы от активности Na, K-АТФазы

По вертикали — скорость транспорта ионов HCO_3 через поверхность стенки пузыря. По горизонтали — скорость транспорта ионов Na, K-АТФазы. Квадраты — без HCO_3 в растворе, круги — с HCO_3 . $p < 0,05$.

При отсутствии ионов HCO_3 наблюдалось снижение скорости транспорта жидкости на 62%, при этом активность Na, K-АТФазы не менялась. Наиболее выражено снижение скорости транспорта жидкости наблюдалось при отсутствии ионов HCO_3 в растворе. При этом активность HCO_3 -АТФазы снижалась на 32%.

Скорость транспорта жидкости через стенку пузыря кролика и активность ионов HCO_3 в серозной полости

Исследуемые показатели

$J_{\text{H}_2\text{O}}$ (в $\text{мкл/ч} \cdot \text{см}^2$)

Na, K-АТФаза (в $\text{мкмоль} \cdot \text{P}_i / \text{ч} \cdot \text{мг}$)

HCO_3 -АТФаза (в $\text{мкмоль} \cdot \text{P}_i / \text{ч} \cdot \text{мг}$)

Примечание: а, б — дозы HCO_3 в растворе 0,01 и 0,001; цифры в скобках — стандартная ошибка

Из данных приведенной таблицы видно, что скорость транспорта жидкости через стенку пузыря кролика хорошо выражена. Коэффициент транспорта равен 0,876 $\text{мкл/ч} \cdot \text{см}^2$. Активность HCO_3 -АТФазы и скоростью транспорта жидкости

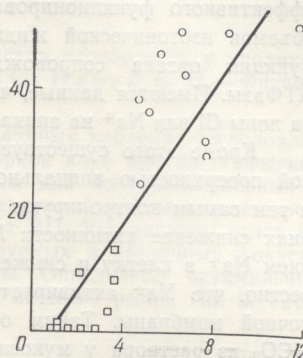
Таким образом, результаты наших исследований подтверждают участие HCO_3 -АТФазы в механизме транспорта жидкости через стенку пузыря кролика.

Результаты исследований

Отсутствие ионов HCO_3 в инкубационном растворе с одной или по обе стороны стенки изолированного желчного пузыря приводило к закономерному снижению всасывательной активности органа. Эффект удаления ионов наблюдался уже в первые 15 мин. Так, при отсутствии HCO_3^- в растворе со стороны серозной поверхности пузыря скорость транспорта жидкости из полости органа наружу уменьшалась в первые 15 мин на 13 %, а в последующие 45 мин — на 40 %. Примерно такое же (44,5 %) снижение активности HCO_3 -АТФазы наблюдали в клетках эпителия. Следует подчеркнуть, что активность Na , K -АТФазы не только не уменьшалась, но даже увеличилась на 39,2 % (см. таблицу).

Регрессивная зависимость между скоростью транспорта жидкости и активностью HCO_3 -АТФазы клеток эпителия желчного пузыря кролика.

По вертикали — скорость всасывания жидкости, в $\text{мкл/1 ч} \cdot 1 \text{ см}^2$ поверхности стенки пузыря; по горизонтали: активность HCO_3 -АТФазы (в $\text{мкмоль } P_i / 1 \text{ мг белка} \cdot \text{ч}$). Круги — контроль, квадраты — без HCO_3 у мукозной поверхности пузыря ($r=0,876$, $p<0,001$, $y=5,832x-4,598$).



При отсутствии ионов HCO_3 в растворе по обе стороны стенки пузыря происходило снижение скорости всасывания жидкости в течение последующего часа в среднем на 62 %, при этом активность HCO_3 -АТФазы уменьшалась в клетках на 34 %, а активность Na , K -АТФазы не изменялась.

Наиболее выраженное торможение процесса всасывания жидкости из полости желчного пузыря наблюдали при отсутствии ионов в растворе у мукозной поверхности изолированного органа. За первые 15 мин инкубации в этих условиях скорость всасывания жидкости уменьшилась на 48 %, а в последующие 45 мин — на 93 %. Одновременно активность HCO_3 -АТФазы и Na , K -АТФазы уменьшались соответственно на 75 и 32 %.

Скорость транспорта изотонической жидкости через стенку изолированного желчного пузыря кролика и активность АТФаз в клетках эпителия в контроле и при отсутствии ионов HCO_3 в серозном, мукозном или в обоих растворах одновременно в течение 1 ч ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль	В серозном растворе без HCO_3	Контроль	В мукозном и серозном растворах без HCO_3	В мукозном растворе без HCO_3
$\text{J}_{\text{H}_2\text{O}}$ (в $\text{мкл/ч} \cdot \text{см}^2$)	$38,0 \pm 0,9$ (11)	$22,8 \pm 1,6$ (11)	$48,4 \pm 2,6^b$ (12)	$14,8 \pm 1,8^b$ (7)	$3,4 \pm 0,3^b$ (11)
Na , K -АТФаза (в $\text{мкмоль } P_i / \text{ч} \cdot \text{мг}$)	$6,3 \pm 0,6$ (11)	$8,2 \pm 0,7^a$ (11)	$8, \pm 0,8$ (12)	$8,0 \pm 1,6$ (6)	$5,4 \pm 0,8^a$ (11)
HCO_3 -АТФаза (в $\text{мкмоль } P_i / \text{ч} \cdot \text{мг}$)	$7,2 \pm 0,6$ (11)	$4,0 \pm 0,4^b$ (11)	$6,8 \pm 0,5$ (11)	$4,5 \pm 0,5^b$ (6)	$1,7 \pm 0,3^b$ (11)

Примечание: a , b — достоверность различий между контролем и опытом, соответственно 0,01 и 0,001; цифры в скобках — количество определений каждого показателя.

Из данных приведенных на рисунке, видно, что между скоростью переноса жидкости через стенку пузыря и активностью HCO_3 -АТФазы клеток эпителия существует хорошо выраженная положительная коррелятивная зависимость: коэффициент корреляции равен 0,876 при $p<0,001$. Коррелятивная связь между активностью Na , K -АТФазы и скоростью всасывания жидкости в этих условиях отсутствует.

Таким образом, результаты исследований дают основание считать, что в работе транспортного механизма, обеспечивающего трансэпителиальный перенос изотонической

жидкости через стенку желчного пузыря, участвует HCO_3 -АТФаза клеток эпителия, активируемая ионами HCO_3 , главным образом, со стороны апикальных клеточных мембран (мукозная поверхность пузыря).

Обсуждение результатов исследований

Анализ полученных данных убеждает в том, что наличие ионов HCO_3 в растворе у мукозной поверхности стенки желчного пузыря является необходимым условием эффективного функционирования транспортного механизма, обеспечивающего перенос объемов изотонической жидкости из полости органа наружу. Падение транспортной функции органа сопровождается одновременно и угнетением активности HCO_3 -АТФазы. Имеются данные, что этот фермент принимает участие в обмене ионов HCO_3 на ионы Cl или Na^+ на апикальной мембране эпителиоцитов [4, 7].

Кроме этого существует предположение, что ионы HCO_3 , контактируя с наружной поверхностью апикальной мембраны, повышают ее проницаемость для ионов Na и тем самым контролируют поступление Na^+ в клетку [8]. Наблюдаемое в этих условиях снижение активности Na , К-АТФазы можно объяснить недостаточным поступлением Na^+ в клетку и снижением его активирующего влияния на фермент, так как известно, что Na^+ активирует Na , К-АТФазу со стороны внутренней поверхности клеточной мембраны. Таким образом можно объяснить тот факт, что удаление ионов HCO_3 из раствора у мукозной поверхности пузыря вызывает угнетение активности не только HCO_3 -АТФазы, но и Na , К-АТФазы, локализованной на противоположной (базальной) мембране клетки [6].

Удаление ионов HCO_3 со стороны серозной поверхности желчного пузыря, к которой прилегают базальные мембраны эпителиоцитов, не вызывает снижения активности Na , К-АТФазы. Это обусловлено, по-видимому, тем, что ионы HCO_3 не участвуют в ионообменных процессах на этой мембране и, следовательно, не влияют на внутриклеточный фонд натрия.

Таким образом, анализ результатов проведенных исследований позволяет заключить, что HCO_3 -АТФаза клеток эпителия желчного пузыря принимает участие в работе всасывающего механизма органа. При этом активность фермента зависит от наличия ионов HCO_3 во внеклеточной среде.

Список литературы

1. Яременко М. С., Бутусова И. А., Харламова О. Н. Участие Na , К-зависимой АТФазы в механизме действия окситоцина на транспорт изотонической жидкости эпителием желчного пузыря.— Физиол. журн. СССР, 1974, 60, № 10, с. 1592—1596.
2. Яременко М. С., Харламова О. Н. HCO_3 -АТФаза клеток эпителия желчного пузыря кролика.— Физиол. журн., 1978, 24, № 1, с. 67—71.
3. Diamond J. M. The mechanism of isotonic water transport.— J. Gen. Physiol., 1964, 48, N 1, p. 15—42.
4. Heintze K., Petersen K., Olles P. et al. Effects of bicarbonate on fluid and electrolyte transport by the guinea pig gall-bladder: a bicarbonate-chloride exchange.— J. Membrane Biol., 1979, 45, N 1/2, p. 43—59.
5. Machen T., Diamond J. M. An estimate of the salt concentration in the lateral intercellular spaces of rabbit gall-bladder during maximal fluid transport.— Ibid, 1969, 1, N 2, p. 194—213.
6. Mills J. M., Di Bona D. R. Distribution of Na^+ -pump sites in the frog gall-bladder.— Nature (London), 1978, 271, N 5642, p. 273—275.
7. Podesta R. B., Mettrik D. F. HCO_3 -transport in rat jejunum: relationship to NaCl and H_2O transport in vivo.— Amer. J. Physiol., 1977, 232, N 1, E 62—E 68.
8. Simon B., Kather H. Neue Aspekte des Bikarbonat—Transportes im exokrinen Pankreas.— Verh. Dtsch. Ges. inn. Med., 1975, 81, S, 1271—1273.

Институт физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
20.04.81

УДК 612.82
Вызванные
при стиму
журн., 198

В оп
локализ
стимуляц
один испи
ца фокус
в конфигу
максимал
параметр
1. Библио

УДК 612.82
Вызванные
некоторые
1983, т. 29,

Предс
в минда
в ответ на
и альвеол
областей с
са. Показа
ВП в МК
контралате
10 мс. По
Разрушени
редней лап
нервов оста
ВП делает
пульсации

УДК 612.73:6
О механиз
гладкомыш
ба М. Ф.—

С помо
ствие вера
ческие и со
ных артери
базальный
ческие свой
верапамила
увеличением
гиперполяри
ление полос
ла и бескал
радреналино
как внутри-
ного кальци
браны: поте
каналов и г
лов. Ил. 3. Б