

7. Гительсон И. И., Гомзякова Н. В. Накопление метгемоглобина и возраст эритроцитов.— В кн.: Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. М.: Наука, 1967, с. 132—134.
8. Иржак Л. И. Эритроциты как объект воздействия измененной газовой среды на живой организм.— В кн.: Действие измененной газовой среды на живой организм. Сыктывкар, 1981, с. 8—10.
9. Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации.— Новосибирск: Наука, 1980.— 202 с.
10. Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения.— М.: Мир, 1981.— 625 с.
11. Лауэр Н. В., Колчинская А. З. О кислородном режиме организма.— В кн.: Кислородный режим организма и его регулирование. Киев, 1966, с. 3.
12. Мешалкин Е. Н., Власов Ю. А., Окунева Г. Н. Хроническая артериальная гипоксемия человека.— Новосибирск: Наука, 1982.— 281 с.
13. Ненашев А. А. Участие системы крови в поддержании газового гомеостаза.— В кн.: Физиологические и клинические проблемы адаптации к гипоксии, гиподинамии и гипертермии. М., 1981, т. 2, с. 86.
14. Ненашев А. А. Способ исследования механической резистентности эритроцитов / А. с. 1012887 (СССР).— Оpubл. в Б. И., 1983, № 15.
15. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция.— М.: Медицина, 1984.— 426 с.
16. Чижевский А. Л. Структурный анализ движущейся крови.— М.: Изд-во АН СССР, 1959.— 484 с.
17. Щерба М. М. Физиология эритропоэза.— В кн.: Физиология системы крови. Л.: Наука, 1968, с. 52—92.
18. Янушевская Э. Б. Состояние процессов активного транспорта электролитов у животных при адаптации к гипоксии.— В кн.: Физиологические и клинические проблемы адаптации к гипоксии, гиподинамии и гипертермии. М., 1981, т. 2, с. 133—134.
19. Arturson G. Changes in blood oxygen affinity during anaemia and cardiac and pulmonary insufficiency.— Acta anaesth. scand. 1971, suppl. 45, p. 39—44.
20. Bessis M., Brecher L. A second look at stress erythropoiesis-unanswered questions.— Blood Cells, 1975, 1, N 3, p. 409—414.
21. Bessis M., Mohandas N. Deformability of normal shape-altered and pathological red cells.— Ibid., N 1, p. 315—321.
22. Bentler E. Hemolytic anaemia in disorders of red cell metabolism.— New York: Plenum med. book cop., 1978.— 264 p.
23. Feo C., Phillips W. M. The influence of suspension osmolality and erythrocyte volume on cell deformability.— Nouv. rev. franc. hematol., 1982, 24, N 5, p. 295—300.
24. Foster R. Respiration.— Washington, 1964.— 827 p.— (Handbook of physiology / Amer. Physiol. Soc.; Vol. 1).
25. Garby G. The Balance equation for tissue oxygen tension.— Acta anaesth. scand., 1971, suppl. 45, p. 14—16.
26. Nathon D. C. Regulation of erythropoiesis.— N. Engl. J. Med., 1977, 296, N 12, p. 685—687.
27. Ponder E. Red cell cytochemistry and architecture.— New York: Acad. Sci., 1947.— 557 p.
28. Scott E. M. Congenital methemoglobinemia due to DPNH-diaphorase deficiency.— In: Hereditary disorders of erythrocyte metabolism. New York, 1968, p. 102—113.
29. Sullivan S. F. Oxygen transport.— Anesthesiology, 1972, 37, N 1, p. 140—147.

Кабардино-Балк. ун-т

Поступила 16.05.84

УДК 612.33+612.386

Э. Г. Гурман

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЛЮКОЗНЫХ ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ ТОНКОЙ КИШКИ, ОПОСРЕДОВАННАЯ ИОНАМИ КАЛЬЦИЯ

Кальций участвует в регуляции различных клеточных функций, выполняя роль вторичного посредника [15]. Он оказывает стабилизирующее воздействие на мембраны [7, 18], влияет на активность мембранных ферментов [20], участвует в энергетических и контрактильных процессах [14, 17]. Градиент Ca^{++} между средой и цитоплазмой поддерживается на уровне $10^{-4} \div 10^{-6}$ [3, 14, 19], что во много раз выше, чем для других ионов и указывает на важную роль Ca^{++} в клетке.

Ca^{++} образует мостиковые связи между различными лигандами нерегулярной структуры, стабилизируя четвертичную структуру субъединичных агрегатов [12]. Аналогичным образом, по-видимому, Ca^{++} стабилизирует межклеточные контакты в эпителиальных пластах [16, 21].

Первоначально цель настоящей работы ограничивалась контролем изменения свойств транспортных систем энтероцитов для глюкозы при деэпителизации кишки. Известно, что в мышечной ткани базальный транспорт сахаров не зависит от наличия кальция [6]. Однако обнаруженные эффекты Ca^{++} на транспорт глюкозы в тонкой кишке крыс вызвали потребность самостоятельного исследования роли Ca^{++} в функционировании интестинальных глюкозных транспортных систем.

Методика

Опыты выполнены на крысах-самцах линии Вистар массой около 180 г. Некормленных в день опыта крыс декапитировали и извлекали тонкую кишку, которую отмывали охлажденным раствором Рингера pH 7,4. В гипотермических условиях из тонкой кишки (без двенадцатиперстной) готовили 12—15 канюлированных вывернутых мешков (КВМ) по [2]. КВМ является модификацией классического метода вывернутого мешка с тем отличием, что гидростатическое давление внутри КВМ стабилизируется оттоком жидкости из внутренней полости. Для приготовления КВМ использовали 4—4,5 см отрезки кишки, которые выворачивали, завязывали на одном конце, а на другом фиксировали канюлю с отверстием для оттока избытка жидкости на высоте 1,5 см над уровнем инкубационной среды. Во внутреннюю полость КВМ, ограниченную серозной поверхностью кишки, вводили раствор Рингера или бескальциевый раствор, в ммоль/л (145,7, NaCl, 1,8 NaHCO_3 и 5,6 KCl) изотонический раствор Рингера, или раствор с изомолярной заменой кальция магнием (143,6 NaCl, 1,8 NaHCO_3 , 5,6 KCl и 2,1 MgCl_2). КВМ, приготовленные из проксимального, медиального и дистального отделов тонкой кишки инкубировали по три в термостатируемой при 37 °C среде (мукозный раствор). Через мукозный раствор пропускали пузырьки кислорода или азота, что обеспечивало требуемый газовый состав среды и ее перемешивание. Объем мукозного раствора составлял 150 мл, а серозного — 0,3—0,4 мл. Такое соотношение объемов обеспечивает стабильность начальной концентрации субстрата в мукозном растворе. В качестве субстрата использовали 10 ммоль/л Д-глюкозу в растворе Рингера (pH 7,4) в бескальциевом растворе или в солевых растворах, в которых CaCl_2 эквимолярно заменен MgCl_2 или его концентрация увеличена в три раза по сравнению с раствором Рингера (6,3 вместо 2,1 ммоль/л). В части опытов для декальцинации кишки КВМ помещали перед инкубацией на 60 с в раствор Рингера (pH 7,4, 20 °C), в котором 50 ммоль/л NaCl заменили 50 ммоль/л ЭДТА.

После 60 мин инкубации из КВМ отбирали навески ткани и пробы серозного раствора для определения концентрации всосавшейся глюкозы модифицированным методом Нельсона [10]. Данные по 3 КВМ одной группы усредняли и полученные величины для 4—6 опытов подвергали статистической обработке по Фишеру и Стьюденту.

Результаты

Представленные на рис. 1 данные показывают, что в отсутствие Ca^{++} аккумуляция глюкозы в стенке тонкой кишки и поступление глюкозы в серозный раствор снижаются на 30 %.

В следующей серии экспериментов, отличающейся более полной декальцинацией препарата кишки за счет предварительного отмывания КВМ в растворе ЭДТА, кальций эквимолярно заменяли магнием. Предполагали, что, если ингибиторный эффект декальцинации реализуется на уровне энергетизации транспорта, в частности за счет АТФазных реакций, то замена кальция его антагонистом магнием должна усиливать ингибиторный эффект декальцинации. В то же время сравнение этих данных с результатами первой серии экспериментов позволяет выявить необусловленные декальцинацией эффекты ЭДТА

на транспорт. Как видно, вводится практически глюкозы, как и отсутствие отмывание двухвалентных катионов усиливает ингибиторный

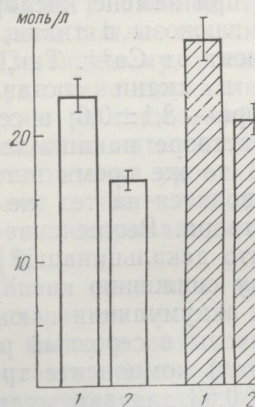


Рис. 1. Аккумуляция глюкозы при инкубации канюлированных мешков (1) и поступление в серозный раствор (2).

По вертикали — концентрация Ca^{++} , 2 — без Ca^{++} . Незаштрихованные — контроль, заштрихованные — после декальцинации.

Рис. 2. Аккумуляция глюкозы в стенке тонкой кишки (1) и поступление в серозный раствор (2) в контроле (1) и после декальцинации (2).

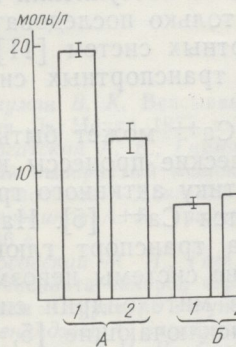


Рис. 3. Влияние декальцинации на аккумуляцию глюкозы в стенке тонкой кишки (1) и поступление в серозный раствор (2).

А — в условиях оксигенации, Б — без оксигенации.

Рис. 4. Аккумуляция глюкозы в стенке тонкой кишки (1) и поступление в серозный раствор (2) в контроле (1) и после декальцинации (2).

* Некоторое статистическое различие показателей в первом эксперименте с использованием различных концентраций Ca^{++} незначительно.

ами нере-
субъеди-
ому, Ca^{++}
пластах

ь контро-
ля глюко-
ткани ба-
[6]. Одна-
в тонкой
ания роли
спортных

т. Некорм-
которую от-
ных из тон-
вывернутых
а выверну-
стабилизи-
ВМ исполь-
ном конце,
ости на вы-
ВМ, огра-
кальцевый
створ Рин-
8 NaHCO_3 ,
ого и дис-
при 37°C .
кислорода
мешивание.
какое соот-
тата в му-
в раство-
в которых
и раза по
для декаль-
а (рН 7,4,
серозного
анным ме-
нные вели-
студенту.

сутствие
ние глю-

полной
отмыва-
магнием.
реали-
за счет
ем дол-
е время
иментов
ЭДТА

31, № 6

на транспорт. Как видно из рис. 2*, замена кальция магнием сопровождается практически таким же снижением (30—35 %) транспорта глюкозы, как и отсутствие Ca^{++} . Из рис. 2 видно также, что предварительное отмывание кишки от ассоциированных с ее поверхностью двухвалентных катионов с помощью хелатирующего агента ЭДТА не усиливает ингибиторный эффект отсутствия Ca^{++} . Восстановление

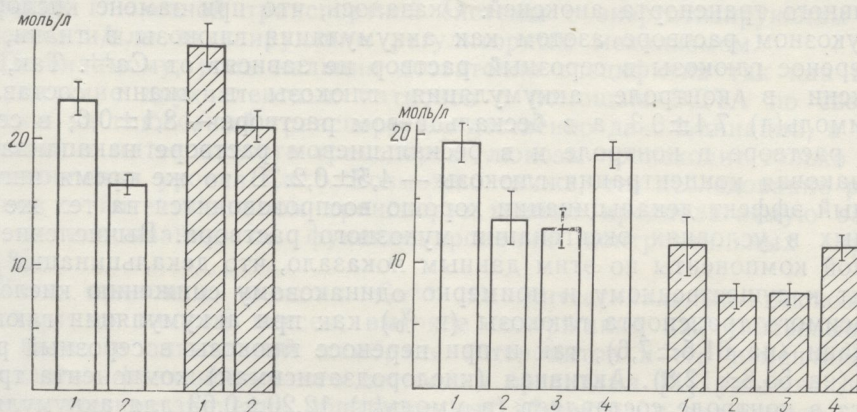


Рис. 1. Аккумуляция глюкозы в тканях кишки и перенос глюкозы в серозный раствор при инкубации канюлированных вывернутых мешков в оксигенируемых 10 ммоль/л растворах глюкозы без и при наличии Ca^{++} .

По вертикали — концентрация глюкозы в ммоль/л; по горизонтали — 1 — контроль (при наличии Ca^{++}), 2 — без Ca^{++} . Незаштрихованные столбики — аккумуляция в ткани, заштрихованные — накопление глюкозы в серозном растворе. ($n=5$, $M \pm m$).

Рис. 2. Аккумуляция глюкозы в тканях кишечной стенки и накопление глюкозы в серозном растворе в контроле (1), при замене кальция магнием (2), при полном удалении двухвалентных катионов прединкубацией в ЭДТА (3) и при восстановлении уровня кальция после прединкубации в ЭДТА (4).

Обозначения см. рис. 1.

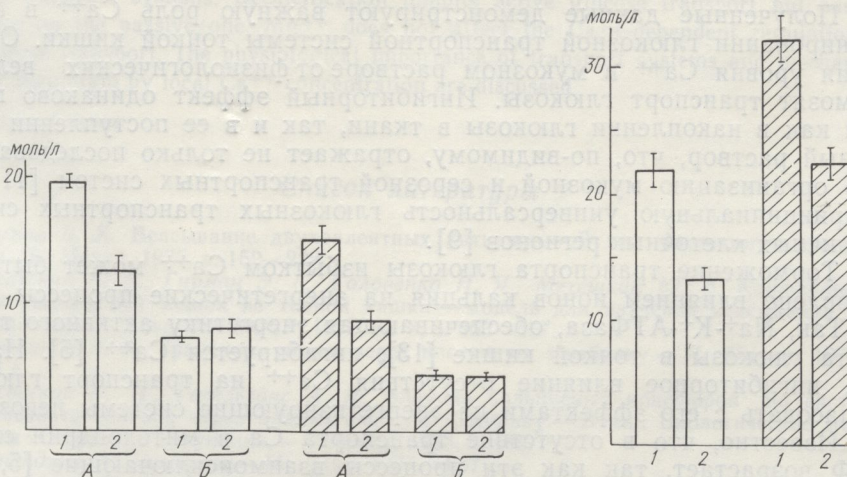


Рис. 3. Влияние декальцинации на активный и пассивный транспорт глюкозы в канюлированных вывернутых мешках.

A — в условиях оксигенации мукозного раствора, B — в условиях аноксии. $n=4$, $M \pm m$. Остальные обозначения см. рис. 1.

Рис. 4. Аккумуляция глюкозы в тканях кишечной стенки и накопление глюкозы в серозном растворе при инкубации канюлированных вывернутых мешков в 10 ммоль/л растворах глюкозы при физиологической концентрации Ca^{++} , 2,1 ммоль/л (1) и при трехкратном избытке Ca^{++} 6,3 ммоль/л (2). $n=6$, $M \pm m$.

Обозначения см. рис. 1.

* Некоторое статистически недостоверное отличие абсолютных величин контрольных показателей в первой и второй сериях экспериментов, по-видимому, связано с использованием различных партий животных из различных питомников. Эффекты экспериментального воздействия в обоих случаях аналогичны, а относительные величины тождественны.

ионного состава мукозного раствора после декальцинации кишки приводит к полному восстановлению активности систем, транспортирующих глюкозу как в случае тканевой аккумуляции, так и для переноса глюкозы в серозный раствор.

Данные, представленные на рис. 3, отражают влияние декальцинации на глюкозный транспорт в условиях энергетической лимитации активного транспорта аноксией. Оказалось, что при замене кислорода в мукозном растворе азотом как аккумуляция глюкозы в ткани, так и перенос глюкозы в серозный раствор не зависят от Ca^{++} . Так, при аноксии в контроле аккумуляция глюкозы в ткани составляет (в ммоль/л) $7,4 \pm 0,3$, а в бескальциевом растворе — $8,1 \pm 0,6$; в серозном растворе в контроле и в бескальциевом растворе накапливается одинаковая концентрация глюкозы — $4,5 \pm 0,2$. В то же время ингибиторный эффект декальцинации хорошо воспроизводится на тех же животных в условиях оксигенации мукозного раствора. Вычисление активной компоненты по этим данным показало, что декальцинация приводит к существенному и примерно одинаковому снижению кислород-зависимого транспорта глюкозы (в %) как при аккумуляции глюкозы в ткани (на $61,5 \pm 7,6$), так и при переносе глюкозы в серозный раствор (на $55,8 \pm 12,8$). Активная (кислородзависимая) компонента транспорта в контроле составляет (в ммоль/л) $12,20 \pm 0,63$ для аккумуляции в ткани и $10,53 \pm 1,27$ для переноса глюкозы в серозный раствор, в без Ca^{++} — $4,59 \pm 0,78$ и $4,28 \pm 0,83$ соответственно.

На рис. 4 представлены данные о влиянии трехкратного (по сравнению с обычным раствором Рингера), избытка Ca^{++} на активность глюкозных транспортных систем. Из рис. 4 видно, что избыток Ca^{++} существенно угнетает как аккумуляцию в ткани, так и транзит глюкозы в серозный раствор.

Обсуждение результатов

Полученные данные демонстрируют важную роль Ca^{++} в функционировании глюкозной транспортной системы тонкой кишки. Отклонения уровня Ca^{++} в мукозном растворе от физиологических величин тормозят транспорт глюкозы. Ингибиторный эффект одинаково выражен как в накоплении глюкозы в ткани, так и в ее поступлении в серозный раствор, что, по-видимому, отражает не только последовательную организацию мукозной и серозной транспортных систем [11], но и принципиальную универсальность глюкозных транспортных систем различных клеточных регионов [9].

Торможение транспорта глюкозы избытком Ca^{++} может быть обусловлено влиянием ионов кальция на энергетические процессы клетки. Так, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ аза, обеспечивающая энергетику активного транспорта глюкозы в тонкой кишке [13], ингибируется Ca^{++} [5]. Напротив, ингибиторное влияние отсутствия Ca^{++} на транспорт глюкозы согласовать с его эффектами на энергетизирующие системы невозможно. Известно, что в отсутствие транспорта Са в митохондриях синтез АТФ возрастает, так как эти процессы взаимоисключающие [5, 14]. Устранение ингибиторных эффектов Са на $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ азу и увеличение резервов АТФ в клетке при декальцинации должно было бы увеличить энергетическую базу систем активного транспорта глюкозы, однако эксперимент выявил противоположный феномен. Этот неожиданный эффект отсутствия Ca^{++} на интестинальный глюкозный транспорт регулярно воспроизводится в каждом опыте в различных сериях экспериментов. Он находит косвенное подтверждение в недавних исследованиях, выполненных на мышечной ткани [4], показавших необходимость наличия Ca^{++} для проявления максимальной активности глюкозных транспортных систем.

Незаменимость кальция магнием косвенно указывает на структурную роль Ca^{++} в механизме глюкозного транспорта, так как магний в отличие от кальция не способен образовывать мостиковые

связи с лигандами не декальцинация кишки, не влияя на кинетику, маловероятным предположением является предположение о предпочтительном протекании глюконозного транспорта в присутствии кальция и/или активного транспорта.

По-видимому, ро- ное удаление двухва- влиянию на глюконоз- влиянию на глюконоз- восстановление интен- восстановлении уровн- кальция в интестина- симость всасывания- тур [8].

Хотя механизм транспорта во многом- щего белка в апикал- при сдвигах функцио- физиологическое знач- гуляции транспорта- ция в кишке.

CALCIUM ION OF GLUCOSE TRA

Experiments in vitro glucose transport systems. influence on the passive of the glucose transport. The of their regulation by local

University, Odessa

1. Бауман В. К. Всасыва- ния. Л.: Наука, 1977, с.
2. Богатский А. В., Гурм- ный вывернутый мешо- нобитиков. — Докл. АН
3. Веренинов А. А. Транс- 286 с.
4. Косовский М. И., Гаг- транспорта сахаров чер- раны: Структура и фун-
5. Ленинджер А. Биохими-
6. Никольский Н. Н., Ско- ции транспорта сахара- 360.
7. Ташмухамедов Б. А. А- Укр. биохим. журн., 197
8. Уголев А. М. Мембран- Л.: Наука, 1972. — 356 с.
9. Уголев А. М. Гипотеза- нове рекомбинации и- Журн. эволюц. биохими-
10. Уголев А. М., Незуито- ного аппарата у челове-
11. Уголев А. М., Рощина- тонкой кишке, основан- СССР, 1982, 68, № 7, с.
12. Уильямс Р. Дж. Связь- В кн.: Биологические ме-

связи с лигандами нерегулярной структуры [12]. Однако тот факт, что декальцинация кишки ингибирует именно активный транспорт глюкозы, не влияя на кислороднезависимый пассивный транспорт, делает маловероятным предположение об участии Ca^{++} в поддержании определенной четвертичной структуры собственно глюкозного канала. Предпочтительным представляется предположение о роли Ca^{++} в сопряжении глюкозной транспортной системы с энергитизирующим механизмом и/или активирующим регуляторным механизмом.

По-видимому, роль кальция достаточно специфична так как полное удаление двухвалентных катионов с помощью ЭДТА по своему влиянию на глюкозный транспорт тождественно декальцинации, а восстановление интенсивности транспорта глюкозы происходит только при восстановлении уровня Ca^{++} . Возможно также, что исследование роли кальция в интестинальном транспорте выявит предполагаемую зависимость всасывания от функционирования контрактильных структур [8].

Хотя механизм влияния Ca^{++} на интестинальный глюкозный транспорт во многом неясен, высокое содержание кальцийсвязывающего белка в апикальной мембране энтероцитов и его изменчивость при сдвигах функционального состояния организма [1] указывают на физиологическое значение обнаруженных эффектов и возможность регуляции транспорта глюкозы изменениями локального уровня кальция в кишке.

E. G. Gurman

CALCIUM IONS-DEFINED REGULATION OF THE ACTIVITY OF GLUCOSE TRANSPORT SYSTEMS IN THE SMALL INTENSTINE

Experiments in vitro have shown the Ca^{++} dependence of the activity of intestinal glucose transport systems. Decalcification inhibits active glucose transport but has no influence on the passive one. Mg^{++} does not affect the Ca^{++} -dependent regulation of the glucose transport. The physiological importance of transport systems and mechanism of their regulation by local Ca^{++} concentration are discussed.

University, Odessa

Список литературы

1. Бауман В. К. Всасывание двухвалентных катионов.— В кн.: Физиология всасывания. Л.: Наука, 1977, с. 152—222.
2. Богатский А. В., Гурман Э. Г., Головенко Н. Я., Метешкин Ю. В. Канюлированный вывернутый мешок из тонкой кишки — модель для изучения всасывания ксенобиотиков.— Докл. АН УССР, 1978, № 8, с. 453—457.
3. Веренинов А. А. Транспорт ионов через клеточную мембрану.— Л.: Наука, 1978.— 286 с.
4. Косовский М. И., Гавельганс А. И. Влияние кальциевых ионофоров на систему транспорта сахаров через плазматическую мембрану.— В кн.: Биологические мембраны: Структура и функция.— Ташкент, 1983, с. 192.
5. Ленинджер А. Биохимия.— М.: Мир, 1974.— 957 с.
6. Никольский Н. Н., Скопичева В. И., Трошин А. С. Роль ионов кальция в регуляции транспорта сахаров в мышечной ткани.— Цитология, 19, № 4, 1977, с. 356—360.
7. Ташмухамедов Б. А. Активный транспорт кальция через биологические мембраны.— Укр. биохим. журн., 1971, 43, № 1, с. 78—87.
8. Уголев А. М. Мембранное пищеварение: Полисубстрат. процессы, орг. регуляция.— Л.: Наука, 1972.— 356 с.
9. Уголев А. М. Гипотеза о возможности эволюции и специализации функции на основе рекомбинации и транспозиции элементарных функциональных блоков.— Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1982, 18, № 1, с. 11—26.
10. Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г. и др. Исследование пищеварительного аппарата у человека.— Л.: Наука, 1969.— 216 с.
11. Уголев А. М., Рощина Г. М. Новые данные о механизмах транспорта глюкозы в тонкой кишке, основанные на анализе серозно-мукозных потоков.— Физиол. журн. СССР, 1982, 68, № 7, с. 936—947.
12. Уильямс Р. Дж. Связывание ионов металлов с мембранами и его последствия.— В кн.: Биологические мембраны. М.: Атомиздат, 1978, с. 118—136.