

13. Файтельберг Р. О., Нгуен-Тай-Лыонг. Дыхательная активность митохондрий клеток слизистой оболочки кишечника во время всасывания глюкозы.— В кн.: Физиология и патология пищеварения: Материалы науч. конф. физиологов, патофизиологов, биохимиков, фармакологов и клиницистов Украины и Молдавии. Одесса—Кишинев. Одесса, 1972, с. 121—122.
14. Akerman K. E. O. Ca^{++} -transport and cell activation.— *Med. Biol.*, 1982, 60, N 4, p. 168—182.
15. Feinstein M. B., Rodan G. A., Gutter L. S. Cyclic AMP and calcium in platelet function.— In: *Platelets biology and pathology*. Amsterdam etc., 1981, p. 437—472.
16. Pitelka D. R., Faggart B. N., Hamamoto S. L. Effect of extracellular calcium depletion on membrane topography and occluding junctions of mammary epithelial cells in culture.— *J. Cell. Biol.*, 1983, 96, N 3, p. 613—624.
17. Potter J. D., Robertson S. P., Collins J. H., Johnson J. D. The role of the Ca^{++} and Mg^{++} binding sites on troponin and other myofibrillar proteins in the regulation of muscle contraction. Calcium-binding proteins: structure and function.— In: *Proc. Intern. Symp.*, Madison. New York etc., 1980, p. 279—298.
18. Renfeld S. J., Hansen L. D., Lewis E. A., Eatough D. J. Alkaline earth cation binding to large and small bilayer phosphatidylserine vesicles: A calorimetric and potentiometric study.— *Biochim. et biophys. acta*, 1982, 691, N 1, p. 1—12.
19. Rojas H., Vergara L., Dipolo R., Caputo C. Measurements of intracellular ionized calcium in squid giant axons using calcium-selective electrodes.— *Ibid.*, 1983, 728, N 3, p. 311—318.
20. Storch G., Schachter D., Inoue M., Wolkoff A. M. Lipid fluidity of hepatocyte plasma membrane subfractions and their differential regulation by calcium.— *Ibid.*, 1983, 727, N 1, p. 209—212.
21. Tai C.-Y., Jacson M. J. Weak-acid transport in the small intestine: discrimination in the Lamina propria.— *Membran. Biol.*, 1981, 59, p. 35—43.

Поступила 11.05.84

Одес. ун-т

УДК 612.33

Е. А. Багирова, В. В. Сурмак, Э. Г. Гурман

ВЛИЯНИЕ ДВУХВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ НА ПОГЛОЩЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ ПРЕПАРАТАМИ ТОНКОЙ КИШКИ

Регуляторная роль кальций-связывающих белков и локальной концентрации кальция доказана для ряда клеточных функций [10, 12, 17, 21]. В то же время относительно роли этих факторов в процессах транспорта глюкозы в кишечнике имеются лишь косвенные данные [15, 20]. Отечена также определенная корреляция уровня кальций-связывающих белков в кишечнике и интенсивности всасывания углеводов [1, 13, 16]. Кроме того, показано влияние связанных с регуляцией уровня Ca^{++} витамина D и его производных на транспорт сахаров в кишечнике [14, 18].

В немышечных клетках основную роль в связывании Ca^{++} играют белки типа кальмодулина, имеющие по 4 Ca^{++} -связывающих домена, первичная структура и физико-химические свойства которых практически идентичны у большинства кальций-связывающих белков [17]. Ca^{++} -связывающий домен функционирует как хелатирующий комплексобразователь, моделями которого могут служить ЭГТА, ЭДТА [1, 4, 10, 11], антибиотик A23187 [19, 20], некоторые краун-эфиры [3] и др. Многие из них обладают сродством к Ca^{++} , сопоставимым с наблюдаемым у нативных кальций-связывающих доменов [17] и способны проникать через биомембраны (кальциевые ионофоры) [1, 3, 11]. С помощью ЭДТА и краун-эфиров было показано участие Ca^{++} в активации инсулином систем, транспортирующих глюкозу, а также способность внутриклеточного Ca^{++} играть роль положительного фактора транспорта глюкозы в мышечной ткани [3, 4].

В настоящей работе исследовали влияние двухвалентных катионов и хелатирующих агентов на поглощение глюкозы препаратами тонкой кишки.

Опыты выполнены на 200 г, голодавших 18—24 ч. надцатиперстной) и промытых в течение всей инкубации канюлированных мукозных раствора над м. Д-глюкозу. Солевой состав Рингера (рН 7,4) в контроле отсутствием Ca^{++} или эквивалентом того, в опыте в мукозный 20 ммоль/л или краун-эфир рН поддерживали на уровне прединкубировали при 0° риды натрия были эквивалентны.

После инкубации из которых определяли концентрацию новым методом [8]. Результаты КВМ, сгруппированным и средними и величины, по статистически по методу Фишера.

На рис. 1 виден транспорт глюкозы в присутствии ЭДТА — почти на 50%.

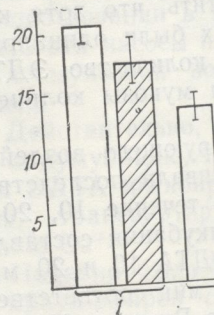


Рис. 1. Транспорт глюкозы в присутствии ЭДТА. Белые столбики — контроль, заштрихованные — ЭДТА, черные — контроль.

Рис. 2. Зависимость скорости транспорта глюкозы от концентрации ЭДТА. Экспозиция 10 мин. Сплошная линия — контроль, пунктирная — ЭДТА. По горизонтальной оси — концентрация ЭДТА (ммоль/л).

глюкозы в серозный слой. Влияние хелатирующих агентов более выражено, чем в слизистой оболочке. Поглощение глюкозы в кумуляция — в д.

Методика

Опыты выполнены на крысах породы Вистар. Использовали самцов массой 150—200 г, голодавших 18—24 ч. Крыс декапитировали, извлекали тонкую кишку (без двенадцатиперстной) и промывали охлажденным раствором Рингера, pH 7,4. В гипотермических условиях кишку разрезали на участки длиной 4—4,5 см, выворачивали, накладывали лигатуру на один конец, а в другом фиксировали канюлю. Детали приготовления канюлированных вывернутых мешков (КВМ), характеризующихся стабильным гидростатическим давлением, описаны ранее [2].

КВМ заполняли солевым раствором (серозный раствор), помещали в оксигенируемые растворы субстрата (мукозный раствор) и инкубировали 60 мин при 37°C. Объем серозного раствора в КВМ составлял 0,3—0,4 мл, а мукозного — 150 мл. Начальная концентрация субстрата в мукозном растворе практически оставалась постоянной в течение всей инкубации, благодаря более чем стократному превышению массы мукозного раствора над массой КВМ. В качестве субстрата использовали 10 ммоль/л Д-глюкозу. Солевой состав мукозного и серозного растворов соответствовал раствору Рингера (pH 7,4) в контрольных экспериментах, а в опытных отличался от него отсутствием Ca^{++} или эквимольной заменой хлорида кальция хлоридом магния. Кроме того, в опыте в мукозный или серозный раствор вносили ЭДТА в концентрации 2 и 20 ммоль/л или краун-эфир 18-краун-6 в концентрации 100 мг %. Во всех случаях pH поддерживали на уровне 7,4. В части опытов для декальцинации кишки КВМ предынкубировали при 0°C в растворе Рингера (pH 7,4), в котором 50 ммоль/л хлорида натрия были эквимольно заменены ЭДТА.

После инкубации из КВМ отбирали навески ткани и пробы серозного раствора, в которых определяли концентрацию глюкозы модифицированным мышьяково-молибденовым методом [8]. Результаты, полученные по трем параллельно инкубируемым КВМ, сгруппированным в порядке, нивелирующем проксимодистальный градиент, усредняли и величины, полученные в четырех-шести экспериментах, обрабатывали статистически по методу Фишера и Стьюденту.

Результаты

На рис. 1 видно, что 18-краун-6 и ЭДТА ингибируют активный транспорт глюкозы в КВМ. Так, аккумуляция глюкозы в тканях кишки в присутствии 18-краун-6 снижается на 30 %, а в присутствии ЭДТА — почти на 50 % по сравнению с контролем. Поступление глю-

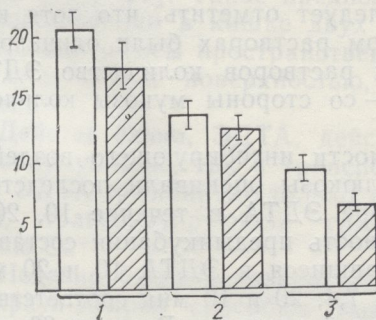


Рис. 1. Транспорт глюкозы в тонкой кишке в присутствии 18-краун-6 и ЭДТА. Белые столбики — концентрация глюкозы в ткани; заштрихованные — концентрация глюкозы в серозном растворе, 1 — контроль, 2 — в присутствии 18-краун-6, 3 — в присутствии ЭДТА. По вертикали — концентрация глюкозы в ммоль/л ($M \pm m$, $n=5$).

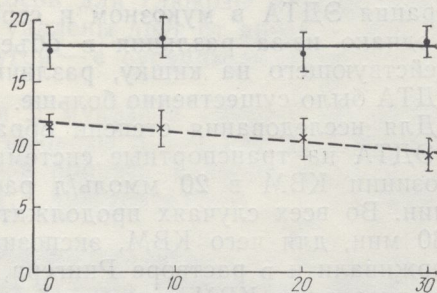
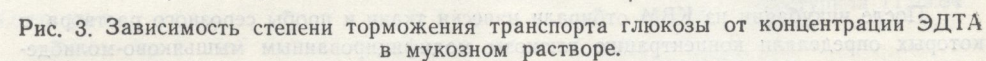


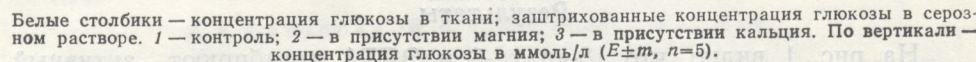
Рис. 2. Зависимость активности транспортных систем глюкозы от продолжительности экспозиции препаратов кишки в 20 ммоль/л растворе ЭДТА.

Сплошная линия — концентрация глюкозы в ткани; пунктирная — концентрация глюкозы в серозном растворе. По горизонтали — продолжительность экспозиции в минутах; по вертикали — концентрация глюкозы в ммоль/л ($M \pm m$, $n=6$).

козы в серозный раствор также снижается в присутствии каждого из хелатирующих агентов, причем это снижение в присутствии ЭДТА более выражено, чем снижение аккумуляции глюкозы в тканях — поступление глюкозы в серозный раствор снижается почти в три раза, а аккумуляция — в два раза.



Сплошная линия — концентрация глюкозы в ткани; пунктирная — концентрация глюкозы в серозном растворе. По горизонтальной концентрации ЭДТА в ммоль/л; по вертикали — степень торможения в % ($M \pm m$, $n=4$). На А — то же в координатах обратных величин.



Белые столбики — концентрация глюкозы в ткани; заштрихованные — концентрация глюкозы в серозном растворе. 1 — контроль; 2 — в присутствии магния; 3 — в присутствии кальция. По вертикали — концентрация глюкозы в ммоль/л ($E \pm m$, $n=5$).

Для исследования степени обратимости ингибирующего воздейст-

Была исследована также концентрационная зависимость ингиби-

В следующей сер

Акумуляція гли

Действительно, э

Недавно было по

83 %, K_1 в случае аккумуляции составляет около 0,9 ммоль/л, а в случае транспорта — в серозный раствор — 1,6 ммоль/л ЭДТА.

В следующей серии экспериментов сравнивали способность ионов кальция и магния восстанавливать функцию систем, транспортирующих глюкозу после обработки кишки 20 ммоль/л ЭДТА. Как видно из рис. 4, Mg^{++} (2,25 ммоль/л) не восстанавливает уровень транспорта глюкозы, тогда как Ca^{++} (2,25 ммоль/л) полностью восстанавливает исходный уровень активности систем, транспортирующих глюкозу в кишке. Роль Ca^{++} в реализации ингибиторного эффекта ЭДТА на глюкозные транспортные системы подтверждается также опытами, показавшими, что в отсутствие Ca^{++} ЭДТА не влияет на аккумуляцию глюкозы в ткани кишки и недостоверно снижает ее поступление в серозный раствор.

Обсуждение результатов

Полученные данные указывают на то, что 18-краун-6 и ЭДТА *in vitro* существенно снижают активный транспорт глюкозы в тонкой кишке. Ингибиторный эффект ЭДТА и подобных ему хелатирующих соединений на транспорт глюкозы опосредуется изменениями уровня кальция в мукозном растворе и, возможно, в клеточных компартментах. Так, восстановление концентрации Ca^{++} после длительной обработки кишки ЭДТА полностью восстанавливает транспорт глюкозы. Отсутствие ингибиторного эффекта ЭДТА в бескальциевой среде также свидетельствует об опосредованности эффекта ЭДТА уровнем Ca^{++} . Эти данные позволяют исключить роль экстрагируемых с помощью ЭДТА мембранных белков [5] в транспорте глюкозы.

Аккумуляция глюкозы в ткани после предынкубации КВМ в ЭДТА практически идентична для всех сроков экспозиции в ЭДТА, тогда как поступление глюкозы в серозный раствор проявляет тенденцию к усилению торможения при увеличении срока экспозиции от 10 до 30 мин. В бескальциевой среде присутствие ЭДТА не влияет на аккумуляцию, но несколько снижает поступление глюкозы в серозный раствор. Это различие, по-видимому, обусловлено особенностями проникновения хелатирующего агента в субэпителиальные слои мышечной стенки [1, 4, 11]. Такое предположение согласуется с данными [6, 9] о существовании в кишке двух насосов для глюкозы и указывает на то, что эти насосы пространственно удалены друг от друга — один связан с мукозной поверхностью, другой — с субэпителиальными структурами.

Действительно, ЭДТА, действуя с мукозной стороны, ингибирует как аккумуляцию, так и транспорт глюкозы, тогда как со стороны серозы ЭДТА ингибирует только второй процесс. По-видимому, обе системы, транспортирующие глюкозу, чувствительны к локальному уровню Ca^{++} .

Недавно было показано, что мембраноактивные комплексоны типа краун-эфиров способны выполнять роль кальциевых ионофоров, примерно одинаково увеличивая проницаемость биомембран для Ca^{++} [3]. Роль ЭДТА в качестве кальциевого ионофора также известна [1, 4, 11]. В отношении роли Ca^{++} в углеводном транспорте имеются данные о том, что внеклеточный Ca^{++} не влияет на уровень базального транспорта, тогда как внутриклеточный Ca^{++} является положительным эффектором систем, транспортирующих глюкозу [3, 4]. Эти данные получены в опытах на мышечной ткани — изолированной портняжной мышце лягушек в одном случае и диафрагме крыс в другом. В обоих случаях оказалось, что в бескальциевой среде резко снижается транспорт глюкозы при инсулиновой стимуляции. Для того чтобы согласовать результаты наших исследований об ингибировании транспорта глюкозы агентами, связывающими кальций, с литературными данными [4], не привлекая гипотезу о тканевой специфичности транспортных систем, следует предположить, что контрольный уровень

транспорта глюкозы, регистрируемый в опытах с КВМ, обусловлен действием стимуляторов, эффект которых (как и эффект инсулина в опытах на мышцах) опосредуется Ca^{++} . Существование в кишке специфических модуляторов активности систем, транспортирующих глюкозу, показано в ряде работ [7, 9], а роль Ca^{++} в реализации различных регуляторных действий на уровне клетки хорошо обоснована [13, 18].

Рассматривая ЭДТА и краун-эфиры в качестве моделей нативных клеточных лигандов кальция, широко распространенных во всасывательном эпителии [1, 11], можно предположить, что этот механизм клеточной саморегуляции транспортных функций имеет важное значение в естественных условиях.

E. A. Bagirova, V. V. Surmak, E. G. Gurman

INFLUENCE OF BIVALENT CATIONS ON GLUCOSE ADSORPTION BY SMALL-INTESTINE PREPARATIONS

The inhibition of glucose adsorption in the rat small intestine in the presence of EDTA and 18-crown-6 is shown. Glucose accumulation in the tissue of cannulated everted sac and glucose supply to the serous solution are reversibly inhibited in the presence of EDTA. Ca^{++} but not Mg^{++} is needed to restore the activity of transport systems. The inhibitory effect depends on EDTA concentration, being the highest at the concentration of about 2 mM/l. When EDTA influences mucosa surface the inhibitory effect is more pronounced than in the case with serose. In the Ca^{++} -free media the effect of EDTA on glucose transport is not realized. The physiological importance of glucose absorption regulation by calcium-binding proteins is 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. 683.
3. Косовский М. И., Гавельганс А. И. Влияние кальциевых ионофоров на систему транспорта сахаров через плазматическую мембрану.— В кн.: Биологические мембраны: Структура и функции. Ташкент, 1983, с. 192.
4. Никольский Н. Н., Скопичева В. И., Трошин А. С. Роль ионов кальция в регуляции транспорта сахаров в мышечной ткани.— Цитология, 1977, 19, № 4, с. 356—360.
5. Робинсон Дж. Б. Выделение и состав мембран.— В кн.: Биологические мембраны. М.: Атомиздат, 1978, с. 13—37.
6. Смирнова Л. Ф., Уголев А. М. Некоторые особенности транзита и аккумуляции глюкозы в слизистой тонкой кишки.— Докл. АН СССР, 1974, 215, № 1, с. 230—233.
7. Уголев А. М. Энтеринная (кишечная гормональная) система: Трофол. очерки.— Л.: Наука, 1978.—314 с.
8. Уголев А. М., Иезуитова Н. Н., Масевич Ц. Г. и др. Исследование пищеварительного аппарата у человека.— Л.: Наука, 1969.—216 с.
9. Уголев А. М., Рощина Г. М. Новые данные о механизмах транспорта глюкозы потоков.— Физиол. журн., СССР, 68, № 7, с. 936—947.
10. Уильямс Р. Дж. Связывание ионов металлов с мембранами и его последствия.— В кн.: Биологические мембраны. М.: Атомиздат, 1978, с. 118—136.
11. Щерба М. М. Всасывание железа.— В кн.: Физиология всасывания. Л.: Наука, 1977, с. 223—248.
12. Akerman K. E. O. Ca^{++} -transport and cell activation.— Med. Biol., 1982, 60, N 4, p. 168—182.
13. Goldstone A. O., Koenig H., Lu Chung. Androgenic stimulation of endocytosis, amino acid and hexose transport in mouse kidney cortex involves increased calcium fluxes.— Biochim. et biophys. acta, 1983, 762, N 2, p. 366—371.
14. Gross H. S., Peterlik M. Differential response of enterocytes to vitamin D during embryonic development: induction of intestinal inorganic phosphate, D-glucose and calcium uptake.— Hormone and Metab. Res., 1982, 14, N 12, p. 649—652.
15. Kimmich G. A., Randles L. An ATP and Ca^{++} regulated Na^{+} channel in isolated intestinal epithelial cells.— Amer. J. Physiol., 1982, 243, N 3, p. 116—123.
16. Miller A., Shu-Tung L. I., Bronner F. Characterization of calcium binding to brush-border membranes from rat duodenum.— Biochim. J., 1982, 208, N 3, p. 773—781.

Физиол. журн., 1985, т. 31, № 6

17. Moore P. B., Dedman J. Sci., 1982, 31, N 26, p. 293
18. Nemere J., Dunlap C. S. graphy. Effects of vitamin N 1, p. 35—43.
19. Scharff O., Foder B., S by calcium transients in
20. Simons F. J. B. The role blood cell.— J. Physiol.,
21. Storch G., Schachter D., ma membrane subfraction et biophys. acta, 1983, 72,

Одес. ун-т

УДК 612.46.015:612.116—019

А. И. Го

ФУНКЦИЯ И ЭН ПРИ ИЗМЕНЕНИ

Почки являются и осморегуляции. Вы путем регуляции вывеществ (ОАВ). Почечных функций, яв. реабсорбция. Однако люморегуляторных р. Особенно противоречек при увеличении с. ет мнение о том, что, внеклеточной жидкост, бо увеличением клубс. абсорбции в канальцую роль угнетения. о том, в каком отделрия: по данным одр [11], другие доказывстальных канальцах. ложение о секреции. туре нет единого мн. ется — активный или.

Мы сравнивали энергетического обмене объема циркулирующ

Опыты проведены на пы под нембуталовым н. У крыс II группы увелисиной плазмы в яремнук. рез 24 ч после изменени (5 % от массы тела) вв. декапитировали под легк. активность АТФаз [16]. ляли концентрацию нат. рассчитывали клубочков. затели, характеризующие

Физиол. журн., 1985, т. 3.