

13. Onarheim J., Helle K. B., Jorgensen G. Neurotensin-induced increase in intestinal blood flow in the anesthetized rat // *Ibid.*— 1982.— 114.— P. 505—511.
14. Osumi Y., Nagasaka Y., Fu W. L. H., Fujiwara M. Inhibition of gastric acid secretion and mucosal blood flow induced by intraventricularly applied neurotensin in rats // *Life Sci.*— 1978.— 23, N 23.— P. 2275—2280.
15. Pawlik W. W., Fondocaro J. D., Jacobson E. D. Metabolic hyperemia in the canine gut // *Amer. J. Physiol.*— 1980.— 239, N 2.— P. G12—G17.
16. Pawlik W. W., Mailman D., Shanbour et al. Dopamine effects on intestinal circulation // *Amer. Heart J.*— 1976.— 91.— P. 325—331.
17. Quirion R., Rioux F., Regoli D. et al. Compound 48/80 inhibits neurotensin-induced hypotension in rats // *Life Sci.*— 1980.— 27, N 20.— P. 1889—1895.
18. Quirion R., Rioux F., Regoli D. et al. Neurotensin-induced coronary vessels constriction in perfused rat hearts // *Europ. J. Pharmacol.*— 1979.— 55.— P. 221—223.
19. Quirion R., Rioux R., Regoli D. et al. Pharmacological studies of neurotensin several fragments and analogues in the isolated perfused rat heart // *Ibid.*— 1980.— 66.— P. 257—266.
20. Rioux F., Quirion R., Serge St. Pierre D. et al. The hypotensive effect of centrally administered neurotensin in rats // *Ibid.*— 1981.— 69.— P. 241—247.
21. Rosell S. E., Burcher D., Chang D. et al. Cardiovascular and metabolic actions of neurotensin and (Gln⁴)-neurotensin // *Acta physiol. scand.*— 1976.— 98.— P. 484—491.
22. Shepherd A. P., Burgar F. A solid-state arteriovenous oxygen difference analyzed for flowing whole blood // *Amer. J. Physiol.*— 1977.— 232, N 1.— P. H437—H440.
23. Thor K., Røkaeus A., Kager L. et al. (Gln⁴)-neurotensin and gastrointestinal motility in man // *Acta physiol. scand.*— 1980.— 110.— P. 327—328.
24. Walus K. M., Jacobson E. D. Relation between small intestinal motility and circulation // *Amer. J. Physiol.*— 1981.— 241, N 4.— P. G1—G15.
25. Weisbrodt N. W., Wiley I. N., Overhoff et al. A relation between gastroduodenal muscle contraction and gastric emptying // *Gut.*— 1969.— 10.— P. 543—548.

Ин-т физиологии Мед. акад., Краков

Поступила 15.03.88

УДК 612.332.7:546.16

Влияние энтерально введенного фторида на трансэпителиальные потоки натрия и кальция и на накопление этих катионов в ткани кишки

В. К. Григоренко, И. П. Герелюк

Результаты наших более ранних работ показали, что энтеральное введение NaF вызывает существенное изменение в трансэпителиальном переносе электролитов и воды в тонкой кишке [1]. Наличие фторида в полости кишки усиливает серозо-мукозный поток до такой степени, что нетто-поток проявляется в виде секреции. Этот секреторный процесс может протекать против концентрационного градиента, подавляется азидом, ингибитором кальмодулина — трифлазином и антагонистом кальция — магнием [2, 3]. Анализ полученных данных позволил высказать предположение о значении Ca²⁺ в секреторном ответе энтероцитов. Однако оставались неясными вопросы, за счет чего наступают изменения в трансэпителиальном переносе электролитов при наличии фторида: блокирует ли он мукозо-серозный поток Na⁺ или стимулирует при этом только его серозо-мукозное направление, и какова возможность участия кальция в реализации последнего, поскольку известно, что Ca²⁺ необходим для проявления кишечной секреции [6, 7, 9].

В связи с этим целью настоящей работы явилось дальнейшее исследование с помощью радиоизотопных меток трансэпителиальных потоков натрия и кальция, а также их накопление в ткани тонкой кишки под влиянием энтерально введенного фторида. Актуальность работы определяется остротой проблемы загрязнения окружающей среды соединениями фтора.

В эксперименте использовали крыс-самцов массой 200—250 г, голодавших в течение суток. Наркоз осуществляли внутрибрюшинным введением 1 %-ного раствора тиопентала натрия (0,5 мл на 100 г массы тела). Исследования проводили на ограниченном участке проксимального отдела тонкой кишки, которую оставляли в брюшной полости с сохранением нервно-гуморальных связей с организмом на все время опыта. Для этого брюшную полость вскрывали и лигатурами отграничивали участок тонкой кишки, длиной 10—12 см, соседний с двенадцатиперстной кишкой. В полость отграниченного участка кишки с помощью шприца вводили 1 мл исследуемого раствора и прокол изолировали лигатурой для обеспечения герметичности [1]. При определении односторонних трансэпителиальных потоков следовали рекомендациям, согласно которым исследуемый изотоп вводили в просвет кишки или в кровь [5].

Эксперимент проводили в следующих двух вариантах: 1-й вариант — изотоп вводили в состав растворов, которыми нагружали участки кишки и по скорости убыли радиоактивной метки из участка судили об интенсивности мукозо-серозного потока; 2-й вариант — изотоп вводили в кровь, а участки кишки нагружали исследуемым раствором и по нарастанию радиоактивности в содержимом участков оценивали скорость серозо-мукозного потока.

Было поставлено четыре серии опытов: 1-я серия — изотоп $^{22}\text{Na}^+$ вводили в состав исследуемых растворов, которыми нагружали участки кишечника (в 1 мл такого раствора было 2 мкКи $^{22}\text{Na}^+$); 2-я серия — изотоп натрия в составе физиологического раствора, содержащего 20 мкКи $^{22}\text{Na}^+$ в 1 мл, вводили животному внутривенно из расчета 1 мл/кг, а участки кишки нагружали исследуемыми растворами; 3-я серия — изотоп кальция вводили в участки кишки в составе исследуемого раствора, содержащего 10 мкКи $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в 1 мл, что соответствует 4,5 мг Ca^{2+} в 1 л (при этой концентрации осаждения кальция ионами фтора не происходит, поскольку растворимость CaF_2 составляет 16 мг/л, т. е. 8,2 мг Ca^{2+}); 4-я серия — изотоп кальция в составе физиологического раствора, содержащего в 1 мл 100 мкКи $^{45}\text{Ca}^{2+}$, вводили животному в кровь из расчета 1 мл/кг, а участки кишки нагружали исследуемыми растворами. В 1-й и 3-й сериях опыта выясняли влияние F^- на мукозо-серозный поток натрия и кальция, а во 2-й и 4-й — влияние F^- на серозо-мукозный поток этих катионов. Каждая серия опыта осуществлялась на контрольной и опытной группах животных. В качестве исследуемых растворов (1 мл), вводимых в участки кишки животным контрольной группы, был изотонический раствор хлорида натрия, а для животных опытной группы — изотонический раствор хлорида натрия, содержащий 30 мкмоль F^- в 1 мл. Во 2-й и 4-й сериях опыта растворы в кишечник вводили через 10 мин после внутривенной инъекции изотопа. Время экспозиции растворов в участках кишки — 30 мин. После истечения указанного времени участки вырезали. Проводили взятие крови из сердца. Содержимое участков сливали в мерные пробирки, участки промывали 5,0 мл воды, собирая промывную жидкость в те же пробирки. Доводили общий объем в каждой из них водой до 10 мл. Производили замеры длины и ширины участков кишечника, необходимых для определения площади слизистой оболочки. Радиоактивность определяли в содержимом участков, собранном в пробирки, а также в слизистой оболочке кишки и крови ($^{22}\text{Na}^+$ определяли непосредственно в навеске кишки). Для определения $^{22}\text{Na}^+$ использовали блок детектирования γ -излучения БД БСЗ-1 еМ в комплексе с пересчетной установкой ПСО-2-2еМ. На анализаторе Бета-1 для радиохимических и радиоиммунологических исследований определяли $^{45}\text{Ca}^{2+}$ с использованием сцинтилляционной жидкости ЖС-8. Об интенсивности мукозо-серозного потока судили по убыли изотопа из участка. По приросту изотопа в содержимом участков оценивали интенсивность серозо-мукозного потока. Интенсивность потоков выражали числом импульсов, рассчитанным на 1 см² слизистой за 1 мин. Полученные результаты статистически обрабатывали на ЭВМ с использованием критерия *t* Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Влияние энтерально введенного фторида на мукозо-серозный и серозо-мукозный потоки натрия. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что энтеральное введение фторида оказывает существенное влияние на мукозо-серозный поток натрия (табл. 1). Трансэпителиальный поток Na^+ из физиологического раствора, введенного в ки-

шечник, не прекращается, вполне согласуется с условиями Na^+ , K^+ -АТФ из клетки через базолатеральное [4]. Ингибированное и обнаруженное нами $^{22}\text{Na}^+$ в ткань кишки (в контрольной группе) не энтероцитов Na^+ при его поступлении, не $^{22}\text{Na}^+$ в клетке. В полноте трансэпителиального обнаруженная меньшая, вотных. В контрольной выше, чем в опытной.

Для выяснения влияния эпителиальный поток мы п внутривенно, а участки лученные результаты п номерностей сводится опытных и контрольных верных различий, по нально массе подопытных внутренней сред ральное введение фто в ткани кишки $^{22}\text{Na}^+$ Различие между ними это связано как с ин изменением проницаем аниона [2—4], что в внутрь клеток и накоп

Наличие F^- в по эпителиальный поток

Таблица 1. Влияние энтерального введения фторида на мукозо-серозный поток $^{22}\text{Na}^+$ (в импульсах за 1 мин) в участках кишки (в импульсах за 1 мин в изотоп в участок кишки)

Условие эксперимента	Статистическая обработка
Контроль	
Опыт (F^-)	

Таблица 2. Влияние энтерального введения фторида на серозо-мукозный поток $^{22}\text{Na}^+$ (в импульсах за 1 мин) в участках кишки (в импульсах за 1 мин в изотоп в участок кишки)

Условие эксперимента	Статистическая обработка
Контроль	
Опыт (F^-)	

сечник, не прекращается, но замедляется в 1,81 раза. Его снижение вполне согласуется с отмеченным нами ранее ингибированием в этих условиях Na^+ , K^+ -АТФазы — натриевого насоса, откачивающего Na^+ из клетки через базо-латеральные мембраны в межклеточное пространство [4]. Ингибированием Na^+ , K^+ -АТФазы фторидом можно объяснить и обнаруженное нами в эксперименте более значительное включение $^{22}\text{Na}^+$ в ткань кишки опытных животных: оно в 1,81 раза больше, чем в контрольной группе животных. Через Na -каналы апикальной мембраны энтероцитов Na^+ проникает пассивно и F^- , очевидно, не препятствует его поступлению, но ингибируя Na -насос, способствует накоплению $^{22}\text{Na}^+$ в клетке. В полном соответствии с выявленным снижением скорости трансэпителиального мукозо-серозного потока находится также обнаруженная меньшая радиоактивность плазмы крови опытных животных. В контрольной группе животных радиоактивность в 1,47 раза выше, чем в опытной. Выявленные отличия статистически достоверны.

Для выяснения влияния фторида на серозо-мукозный трансэпителиальный поток мы проводили 2-ю серию опытов, где $^{22}\text{Na}^+$ вводили внутривенно, а участок кишки нагружали исследуемым раствором. Полученные результаты представлены в табл. 2. Анализ выявленных закономерностей сводится к следующему. Радиоактивность плазмы крови опытных и контрольных групп животных не имеет статистически достоверных различий, поскольку количество изотопа вводили пропорционально массе подопытного животного. Таким образом, фон радиоактивности внутренней среды и в контроле, и опыте был одинаковым. Энтеральное введение фторида вызывало более существенное накопление в ткани кишки $^{22}\text{Na}^+$ — в опыте в 1,27 раза выше, чем в контроле. Различие между ними статистически достоверно. Можно полагать, что это связано как с ингибированием фторидом Na^+ , K^+ -АТФазы, так и изменением проницаемости мембраны энтероцитов под влиянием этого аниона [2—4], что в совокупности приводит к проникновению $^{22}\text{Na}^+$ внутрь клеток и накоплению его в тканях.

Наличие F^- в полости кишки усиливает серозо-мукозный трансэпителиальный поток — радиоактивность содержимого участков кишки

Таблица 1. Влияние энтерально введенного фторида на скорость мукозо-серозного потока $^{22}\text{Na}^+$ (в импульсах за 1 мин на 1 cm^2 кишки), накопление $^{22}\text{Na}^+$ в ткани кишки (в импульсах за 1 мин на 1 мг ткани) и появление $^{22}\text{Na}^+$ в плазме крови (в импульсах за 1 мин в 1 мл, рассчитанное на 1 cm^2 участка кишки) при введении изотопа в участок кишки

Условие эксперимента	Статистический показатель	Мукозо-серозный поток	Ткань кишечника	Плазма крови
Контроль	$M \pm m$ п	6303 ± 256 10	$4,98 \pm 0,18$ 10	$143 \pm 4,2$ 5
Опыт (F^-)	$M \pm m$ п Р	3487 ± 61 10 <0,001	$9,01 \pm 0,61$ 10 <0,001	$97 \pm 9,3$ 5 <0,002

Таблица 2. Влияние энтерально введенного фторида на скорость серозо-мукозного потока $^{22}\text{Na}^+$ (в импульсах за 1 мин на 1 cm^2 кишки), накопление $^{22}\text{Na}^+$ в ткани кишки (в импульсах за 1 мин на 1 мг ткани) и содержание $^{22}\text{Na}^+$ в плазме крови (в тысячах импульсов за 1 мин в 1 мл) при внутривенном введении изотопа

Условие эксперимента	Статистический показатель	Серозо-мукозный поток	Ткань кишечника	Плазма крови
Контроль	$M \pm m$ п	$248 \pm 14,5$ 8	$0,81 \pm 0,014$ 8	$135 \pm 1,35$ 4
Опыт (F^-)	$M \pm m$ п Р	$435 \pm 5,0$ 8 <0,001	$1,03 \pm 0,024$ 8 <0,001	$137 \pm 0,85$ 4 >0,5

в опыте увеличивается в 1,75 раза по сравнению с контролем. Вполне возможно, что выявленное усиление находит частичное объяснение в повышении проводимости плотного соединения — одного из основных элементов апикального соединительного комплекса между энтероцитами, которое повреждается F^- и вследствие чего возрастает парацеллюлярный поток, направленный в полость кишки. Однако серозо-мукозный поток, стимулируемый F^- , имеет не пассивный, а активный характер и зависит от энергии метаболизма, поскольку, как было показано в наших более ранних работах, он блокируется в условиях *in situ* энтерально введенным азидом и протекает против концентрационного градиента [2—4]. Поэтому более вероятно, что происходит он за счет активной секреции, процесса, который, согласно гипотезе Фильда, пространственно отделен от всасывания и обеспечивается клетками крипт [8]. Это означает, что, не исключая «утечки» Na^+ через поврежденные межклеточные контакты, все же стоит отдать предпочтение при объяснении природы наблюдаемого серозо-мукозного потока Na^+ , трансклеточному его происхождению за счет активной секреции.

Таким образом, подводя итоги по результатам первых двух серий опытов, можно отметить, что энтеральное введение фторида снижает интенсивность мукозо-серозного потока Na^+ и стимулирует его серозо-мукозное направление, вследствие чего результирующий трансэпителиальный поток (нетто-поток) будет направлен в полость кишки и проявится секрецией. При этом не исключается рециркуляция Na^+ через плотные соединения межклеточных контактов, однако вклад ее в суммарный процесс остается не ясным.

Влияние энтерально введенного фторида на мукозо-серозный и серозо-мукозный потоки Ca^{2+} . Анализ полученных результатов 3-й серии опыта выявляет снижение интенсивности мукозо-серозного потока $^{45}Ca^{2+}$ при наличии фторида в полости кишечника (табл. 3). Это снижение составляет 19,8 % в опыте, если сравнивать с контролем. Одновременно наблюдаем более значительное накопление $^{45}Ca^{2+}$ в слизистой оболочке кишки опытной группы крыс, у животных которой его накапливается на 31,7 % больше, чем у животных контрольной группы. Выявленные отличия статистически достоверны.

В 4-й серии опыта (табл. 4), где $^{45}Ca^{2+}$ вводили в кровь, радиоактивность крови животных опытной и контрольной групп статистически не различается, поскольку и тем, и другим вводили количество изотопа, пропорциональное массе тела. В то же время воздействие фторидом на слизистую оболочку вследствие нагрузки участка кишки животных опытной группы фторсодержащим раствором приводит к более чем двухкратному накоплению $^{45}Ca^{2+}$ в слизистой оболочке кишки и увеличению в 2,6 раза серозо-мукозного потока этого катиона. Полученные результаты согласуются с литературными данными, в которых было выявлено, что F^- стимулирует накопление кальция в ткани почек [10] и приводит к увеличению внутриклеточного содержания Ca^{2+} [11]. Известно, что повышение внутриклеточного Ca^{2+} снижает активную абсорбцию Na^+ и Cl^- и стимулирует активную секрецию ионов в тонкой

Таблица 3. Влияние энтерально введенного фторида на скорость мукозо-серозного потока $^{45}Ca^{2+}$ (в тысячах импульсов за 1 мин на 1 см² кишки) и накопление $^{45}Ca^{2+}$ в слизистой оболочке кишки (в тысячах импульсов за 1 мин в 1 мг слизистой оболочки) при введении изотопа в участок кишки

Условия эксперимента	Статистический показатель	Мукозо-серозный поток	Слизистая оболочка кишки
Контроль	$M \pm m$ n	$30,3 \pm 0,38$ 3	$3,34 \pm 0,19$ 6
Опыт (F^-)	$M \pm m$ n P	$24,3 \pm 0,38$ 3 <0,05	$4,40 \pm 0,34$ 6 >0,02

Таблица 4. Влияние энтерального введения $^{45}Ca^{2+}$ (в импульсах за 1 мин в 1 мг слизистой оболочки кишки) и накопление $^{45}Ca^{2+}$ в крови (в импульсах за 1 мин в 1 мл крови)

Условие эксперимента	Статистический показатель
Контроль	M
Опыт (F^-)	M

кишке млекопитающих [1]. Накопления кальция, происходящие в результате энтерального введения $^{45}Ca^{2+}$, можно объяснить наблюдаемое резкое усиление серозо-мукозного потока. Они локализованы преимущественно в слизистой оболочке кишки. Особенно большой перепончатый характерен для Ca^{2+} . В слизистой оболочке, очевидно, происходит проникновение фторидом, что приводит к изменению активности мембранного ионного гомеостазиса. Клеточное накопление Ca^{2+} в первичном увеличении в глубоком ингибировании является одним из универсальных механизмов и с его участием регулируется опосредованно катионный транспорт, что именно Ca^{2+} является антагонистом кальция — на — трифтазином [3]. То, что кишечная секреция Ca^{2+} [7].

Выводы

1. Энтеральное введение $^{45}Ca^{2+}$ в ткани кишечника при их внутривенной инъекции он введен в участок кишки.
2. Наличие фторида стимулирует мукозо-серозный поток $^{45}Ca^{2+}$ и увеличивает его в 2,6 раза. В то же время серозо-мукозный поток $^{45}Ca^{2+}$ проявляется в виде секреции.

THE EFFECT OF ENTERAL ADMINISTRATION OF FLUORIDE ON THE TRANSEPITHELIAL FLUX OF $^{45}Ca^{2+}$ AND ON ACCUMULATION OF $^{45}Ca^{2+}$ IN THE MUCOSA OF THE SMALL INTESTINE

V. K. Grigorenko, I. P. Gerelyuk

Acute experiments conducted on rats showed that enteral administration of $^{45}Ca^{2+}$ leads to accumulation of both sodium and calcium more efficiently when Na^+ is also administered intravenously. At the same time, the accumulation of $^{45}Ca^{2+}$ in the mucosa of the small intestine is increased.

Физиол. журн.— 1988.— 34, № 6

Таблица 4. Влияние энтерально введенного фторида на скорость серозо-мукозного потока $^{45}\text{Ca}^{2+}$ (в импульсах за 1 мин на 1 см² кишки), накопление $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в слизистой оболочке кишки (в импульсах за 1 мин на 1 мг слизистой оболочки) и содержание $^{45}\text{Ca}^{2+}$ в крови (в импульсах за 1 мин на 1 мг) при внутривенном введении изотопа

Условие эксперимента	Статистический показатель	Серозо-мукозный поток	Слизистая оболочка кишки	Кровь
Контроль	$M \pm m$ п	216 ± 23 6	$55,4 \pm 1,6$ 6	$67,6 \pm 2,1$ 6
Опыт (F ⁻)	$M \pm m$ п P	557 ± 22 6 <0,001	$112 \pm 3,0$ 6 <0,001	$69,9 \pm 2,8$ 6 >0,5

кишке млекопитающих [6, 7]. Поэтому, по-видимому, именно за счет накопления кальция, происходящего под влиянием фторида, и можно объяснить наблюдаемое нами ослабление мукозо-серозных потоков и резкое усиление серозо-мукозных как Na^+ , так и Ca^{2+} . В интра- и экстраклеточной жидкости Na^+ и Ca^{2+} распределены неравномерно. Они локализуются преимущественно во внеклеточном пространстве. Особенно большой перепад концентрации по обе стороны плазмолеммы характерен для Ca^{2+} . Выявленное нами накопление Na^+ и Ca^{2+} в слизистой оболочке, очевидно, происходит как вследствие модификации проницаемости фторидом плазматических мембран энтероцитов, так и изменения активности мембранных ферментов, участвующих в обеспечении ионного гомеостаза клетки [2—4]. Не исключено, что внутриклеточное накопление Ca^{2+} может идти и за счет $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмена при первичном увеличении внутриклеточной концентрации Na^+ вследствие глубокого ингибирования фторидом Na^+ , K^+ -АТФазы. Однако Ca^{2+} является одним из универсальных регуляторов клеточного метаболизма и с его участием реализуется сам секреторный процесс. Действие кальция опосредовано кальмодулином. В связи с этим, можно полагать, что именно Ca^{2+} является основной причиной стимуляции фторидом серозо-мукозного потока, поскольку этот поток удается подавить антагонистом кальция — магнием, а также ингибитором кальмодулина — трифтазином [3]. Такое объяснение согласуется с данными о том, что кишечная секреция требует для своего проявления обязательного наличия Ca^{2+} [7].

Выводы

1. Энтеральное введение фторида вызывает накопление натрия и кальция в ткани кишечника как при их введении в участок кишки, так и при их внутривенной инъекции. Натрий больше накапливается, когда он введен в участок кишки, кальций — при введении его в кровь.
2. Наличие фторида в полости тонкой кишки частично подавляет мукозо-серозный поток натрия и кальция и одновременно стимулирует их серозо-мукозный поток. Результирующий трансэпителиальный поток проявляется в виде секреции.

THE EFFECT OF ENTERALLY ADMINISTERED FLUORIDE ON THE TRANSEPITHELIAL SODIUM AND CALCIUM FLOWS AND ON ACCUMULATION OF THESE CATIONS IN THE INTESTINE TISSUE

V. K. Grigorenko, I. P. Gerelyuk

Acute experiments conducted on rats *in situ* using $^{22}\text{Na}^+$ and $^{45}\text{Ca}^{2+}$ isotopes have shown that enteral administration of NaF (30 μmol per ~ 10 cm intestine area) induces accumulation of both sodium and calcium in the intestine tissue. $^{22}\text{Na}^+$ is accumulated more efficiently when Na^+ isotope is administered into the intestine area as against its intravenous injection. At the same time greater amount of $^{45}\text{Ca}^{2+}$ is accumulated when