

Исследование влияния папаверина на транспорт моносахаридов и глицина в тонкой кишке *in vitro*

Э. Г. Гурман, Е. А. Багирова

Папаверин широко применяется в качестве спазмолитического средства в медицине, чем обусловлен интерес исследователей к его кардиотропному, миотропному, вазотропному эффектам [4, 11, 12]. Мы случайно обнаружили мощный ингибиторный эффект папаверина на транспорт глюкозы в тонкой кишке *in vitro*. В литературе имеются данные о том, что папаверин не влияет на всасывание ксилитозы у человека [9]. Настоящая работа посвящена исследованию селективности эффектов папаверина на транспорт мономерных субстратов в тонкой кишке.

Методика

В экспериментах использовали крыс-самцов породы Вистар, массой около 180 г. Опыты *in vitro* выполнены на аккумулярующем препарате слизистой (АПС) и канюлированном вывернутом мешке (КВМ), которые готовили в соответствии с оригинальными методическими указаниями [1, 8].

Препараты кишки каждого животного, сгруппированные по три в порядке, нивелирующем проксимо-дистальный градиент, инкубировали в течение 60 мин при температуре 37 °С в газлируемых средах (объем 100 мл, рН 7,4), приготовленных на растворе Рингера. Пузырьки газа кислорода или азота в зависимости от задач эксперимента пропускали через инкубационную среду, что обеспечивало ее перемешивание. Концентрацию моносахаридов в ткани и серозном растворе определяли методом Нельсона [6], концентрацию глицина — хромотропным методом [7]. Результаты обрабатывали статистически с использованием критериев Фишера и Стьюдента.

Результаты

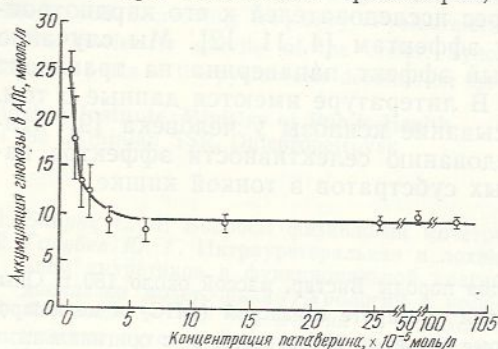
Исследование зависимости транспорта глюкозы из ее оксигенируемых растворов от концентрации папаверина показало (рисунок), что при микромолярной концентрации последнего транспорт глюкозы в АПС резко снижен. Минимальное остаточное содержание глюкозы, не превышающее ее концентрацию в инкубационной среде, достигается при

Таблица 1. Влияние папаверина на аккумуляцию некоторых гексоз и глицина препаратами слизистой оболочки кишки в условиях оксигенации за 60 мин инкубации ($M \pm m$)

Мономерный субстрат	Число опытов	Концентрация глюкозы, ммоль/л	
		без папаверина	с папаверином ($3,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л)
Глюкоза	6	$25,98 \pm 2,08$	$9,32 \pm 1,35$
Фруктоза	6	$9,00 \pm 0,32$	$7,67 \pm 0,85$
Галактоза	4	$19,88 \pm 2,11$	$13,50 \pm 0,81$
Глицин	4	$22,36 \pm 2,78$	$13,70 \pm 1,61$

концентрации папаверина $3-5 \cdot 10^{-5}$ моль/л и не изменяется при дальнейшем увеличении концентрации на 1—2 порядка. В анаэробных условиях (газификация мукозного раствора азотом) папаверин в концентрации $6,4 \cdot 10^{-5}$ моль/л не оказывал влияния на транспорт глюкозы в течение 20- и 60-минутной инкубации. Так, концентрация аккумулярованной глюкозы при 20-минутной инкубации в среде без папаверина в контроле составляла ($7,10 \pm 0,71$) ммоль/л, а в среде папаверина — ($7,76 \pm 0,61$) ммоль/л; при 60-минутной — ($8,22 \pm 0,43$) и ($8,58 \pm 0,63$) ммоль/л соответственно (табл. 1). Сравнение эффектов папа-

верина на аккумуляцию в АПС трех гексоз: глюкозы, фруктозы и галактозы (по 10 ммоль/л), а также на транспорт аминокислоты глицина (10 ммоль/л) показало (см. табл. 1), что при оксигенации папаверин ($3,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) резко снижает транспорт глюкозы (на 62 %), достаточно существенно, хотя и меньше, чем транспорт глюкозы, ингибирует транспорт галактозы (на 32 %), глицина (на 38 %) и не влияет на транспорт фруктозы. При этом аккумуляция глюкозы при наличии $3,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л папаверина снижается до значения, наблюдаемого при пассивном транспорте, тогда как аккумулируемая кон-



центрация галактозы и глицина в аналогичных условиях, хотя и снижается, но остается выше концентрации этих субстратов в инкубационной среде.

Зависимость поступления глюкозы из ее 10 ммоль/л раствора в аккумулирующие препараты слизистой от концентрации папаверина в инкубационной среде ($M \pm m$; $n=6$).

Проверка роли кальция в опосредовании действия папаверина на транспорт глюкозы не обнаружила влияния Ca^{2+} , содержащихся в мукозном растворе: без Ca^{2+} папаверин ($4 \cdot 10^{-5}$ моль/л) ингибировал транспорт глюкозы на 37 %, что лишь немного больше ингибирующего эффекта такой же концентрации папаверина в растворе, содержащем Ca^{2+} , — 30 %. Одновременно, ингибирующий эффект бескальциевой инкубационной среды при наличии $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л папаверина составлял около 40 %, тогда как без него — около 25 %, что соответствует ранее опубликованным данным [3]. На фоне действия ЭДТА (2,5 ммоль/л) эффект папаверина не наблюдался, а аккумуляция как при наличии, так и без папаверина не превышала уровня пассивного транспорта. Некоторые цифровые различия, по-видимому, связаны с различием абсолютных значений, принимаемых за 100 %.

Исследование действия папаверина на мукозную и серозную поверхности кишечной стенки, выполненное на КВМ, показало (табл. 2), что папаверин достоверно (на 27 %) снижает транспорт глюкозы в КВМ со стороны мукозной поверхности, хотя эффект в этом случае меньше, чем в синхронном опыте на АПС (56 %), в котором папаверин ($4 \cdot 10^{-5}$ моль/л) снижает аккумуляцию глюкозы с $39,17 \pm 4,09$ до $17,12$ ммоль/л $\pm 1,75$ ммоль/л ($n=6$). Действуя со стороны серозной поверхности КВМ, папаверин в той же концентрации, что и в мукозной

Таблица 2. Аккумуляция глюкозы из ее раствора (10 ммоль/л) канюлированным вывернутым мешком и поступление глюкозы в серозную жидкость при действии папаверина со стороны серозной и мукозной поверхностей ($M \pm m$)

Показатель	Условие инкубации			
	Без папаверина (контроль)	Папаверин в мукозном растворе ($4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л)	Папаверин в серозном растворе	
			$4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л	$4,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л
Аккумуляция, ммоль/л	$29,11 \pm 2,72$	$21,20 \pm 2,40^*$	$26,76 \pm 2,39$	$21,93 \pm 2,22^*$
Транспорт, ммоль/л	$22,70 \pm 2,46$	$18,36 \pm 2,79^{**}$	$23,42 \pm 2,33$	$20,97 \pm 2,87$
	15	15	15	9

Примечание. Достоверность отличий экспериментальных результатов от контрольных определяли: * с применением критерия t Стьюдента ($P < 0,05$), ** разностным методом.

среде ($6,4 \cdot 10^{-5}$ моль/л) не снижает аккумуляцию глюкозы в ткани и несколько снижает ее при увеличении концентрации на порядок. В то же время поступление глюкозы непосредственно в серозный раствор при наличии в нем папаверина не только не снижалось при этих концентрациях папаверина, но в ряде опытов даже усиливалось.

Влияние папаверина на транспорт глюкозы, по-видимому, обратимо. Так, при 15-минутной предынкубации АПС в оксигенируемом, термостатируемом при 37°C растворе папаверина (без глюкозы) аккумуляция глюкозы из ее 10 ммоль/л раствора за последующие 60 мин составила ($12,76 \pm 0,80$) ммоль/л. Контрольное значение аккумуляции (отличающееся от опытного тем, что в предынкубационной среде не было папаверина) в том же эксперименте составляло ($13,12 \pm 1,10$) ммоль/л.

Обсуждение

Результаты экспериментов выявили ингибирующий эффект папаверина на транспорт глюкозы в энтероцитах. Максимальный расчетный ингибирующий эффект на аккумуляцию глюкозы, который может быть достигнут с помощью папаверина, составляет более 77 %, что превышает возможную долю активного компонента аккумуляции глюкозы в АПС из 10 ммоль/л раствора. Ингибирующий эффект папаверина полумаксимален при концентрации папаверина $6 \cdot 10^{-6}$ моль/л, что на два порядка меньше эффективной концентрации признанного ингибитора глюкозного транспорта — флоридина [2]. Это позволяет предположить рецепторный механизм действия папаверина на энтероциты. Папаверин угнетает функцию трех натрий-зависимых транспортных систем (для глюкозы, галактозы и глицина) и не влияет на натрий-независимую фруктозную транспортную систему. По-видимому, мишенью действия папаверина в клетке является опосредуемый натрием энергетизирующий механизм транспорта. Это согласуется с данными о том, что папаверин не влияет на транспорт глюкозы при выключении активного компонента аноксией. Для анализа механизма действия папаверина на транспортные системы энтероцитов представляет существенный интерес сопоставление полученных результатов с данными литературы о стимулирующем влиянии опиатов на транспорт натрия в кишке при их действии со стороны серозной поверхности [14]. В опытах на КВМ обнаружено (см. табл. 2), что транспортные системы серозной поверхности, обеспечивающие транссерозный выход глюкозы [5], не угнетаются или даже несколько стимулируются папаверином. Транспортные системы мукозной поверхности ингибируются папаверином при его действии как со стороны мукозной, так и серозной поверхностей. В последнем случае угнетение мукозных транспортных систем меньше, что может быть вызвано особенностями доставки папаверина к месту действия. Учитывая последовательную организацию мукозных и серозных транспортных систем, следует признать, что для обеспечения одинакового с контролем поступления глюкозы в серозный раствор на фоне угнетения мукозных транспортных систем папаверином требуется более эффективная работа серозных транспортных систем. По-видимому, это повышение эффективности достигается за счет стимулирующего действия папаверина на серозные транспортные системы.

В настоящее время рано детализировать механизм действия папаверина на транспортные системы энтероцитов. Нам не удалось выявить роли Ca^{2+} во внутриклеточном опосредовании рецепторного сигнала от папаверина. В то же время отсутствие влияния папаверина на транспорт глюкозы в условиях аноксии, по-видимому, указывает на то, что свойства собственно глюкозного канала не изменяются папаверином. Возможно, в передаче влияния папаверина на транспортную систему клетки играют роль цАМФ или другие вторичные посредники, как это показано для ряда опиатных регуляторных контуров [13—15].

В свете полученных результатов представляет интерес возможность объяснить некоторые известные кардиотропные эффекты папаверина. Так, показано [15] снижение функциональных возможностей кардиоцитов под действием папаверина. Поскольку в этих опытах кардиоциты инкубировали в среде Тирода, которая содержит 2 ммоль/л глюкозы для энергетического обеспечения клеток, эффект папаверина на деятельность кардиоцитов может опосредоваться не только воздействием на потоки натрия, но и торможением транспорта глюкозы.

Таким образом, обнаружен существенный эффект папаверина на активный транспорт глюкозы, галактозы и глицина, но не фруктозы. Этот эффект является стимулирующим при действии папаверина со стороны серозной поверхности и ингибирующим — со стороны мукозной поверхности. Папаверин угнетает активный транспорт глюкозы и не влияет на пассивный.

THE PAPAVERIN EFFECT ON THE MONOSACCHARIDE AND GLYCINE TRANSPORT IN THE SMALL INTESTINE IN VITRO

E. G. Gurman, E. A. Bagirova

Papaverin is shown to have a significant inhibitory effect on the intestinal transport systems for glucose, galactose and glycine but not for fructose. In vitro experiments have revealed that the inhibitory effect of papaverin on the glucose transport take place under mucosal application, nevertheless the serosal one is of a stimulatory character. Papaverin inhibits only the active component of the glucose transport.

I. I. Mechnikov State University, Odessa

1. Богатский А. В., Гурман Э. Г., Головенко Н. Я., Метешкин Ю. В. Канюлированный вывернутый мешок — метод исследования ксенобиотиков // Докл. АН УССР. — 1978. — 243, № 8. — С. 453—458.
2. Гурман Э. Г. Характеристика ферментативно-транспортного конвейера в тонкой кишке (на примере всасывания углеводов): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л.: Наука, 1978. — 26 с.
3. Гурман Э. Г. Регуляция активности глюкозных транспортных систем тонкой кишки, опосредованная ионами кальция // Физиол. журн. — 1985. — 31, № 6. — С. 657—662.
4. Марков И. И., Березовская С. Э., Галахов Б. Б. Морфометрическая оценка влияния вазоактивных препаратов на перистальтику кишечника в эксперименте // Информативность количественных методов в морфологии. — Куйбышев. — 1987. — С. 79—83.
5. Уголев А. М. Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы, организация и регуляция // Л.: Наука. — 1972. — 358 с.
6. Уголев А. М., Иезуитова Н. Н. Определение активности инвертазы и других дисахаридаз // Исследование пищеварительного аппарата у человека. — Л.: Наука, 1969. — С. 192—196.
7. Уголев А. М., Тимофеева Н. М. Определение пептидазной активности // Там же. — С. 178—183.
8. Уголев А. М., Жигуре Д. Р., Нуркс Е. Е. Аккумулирующий препарат слизистой — новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку // Физиол. журн. СССР. — 1970. — 56, № 11. — С. 1638—1641.
9. Уголев А. М. Эволюция пищеварения и принципы эволюций // Элементы современного функционализма. — Л.: Наука, 1985. — 544 с.
10. Фролькис А. В. Фармакологическая регуляция кишечника. — Л.: Наука, 1981. — 204 с.
11. Coulson R., Trimble M. E. Effects of papaverine and theophylline on renal adenosine transport // J. Pharmacol. and Exp. Therap. — 1986. — 239, N 3. — P. 748—753.
12. Csete K., Kovacs G. L., Szekers L. Disturbance of motoric function as behavioral measure of impaired cerebral circulation in mice // Physiol. and Behav. — 1986. — 36, N 3. — P. 177—192.
13. Fondacoro G. D. Intestinal ion transport and diarrheal disease // Amer. J. Physiol. — 1986. — 250, N 13. — P. G1—G8.
14. Hautefeuille M., Brantl V., Dumontier A. M., Desjeux G. P. Effect of a β -casomorphin analog on ion transport in rabbit ileum: evidence for cholinergic mediation // Regul. Peptides. — 1985. — 11, Suppl. N 4. — P. 219—220.
15. Zonta F., D'Agostino G., Grana E. The influence of verapamil and papaverine on the calcium- and epinephrine-induced responses of isolated guinea pig atria // Pharmacol. Res. Commun. — 1986. — 18, N 11. — P. 1031—1041.

Одес. ун-т им. И. И. Мечникова
М-ва высш. и сред. спец. образования УССР

Поступила 10.02.88