

УДК 612.33+591.132.5.577.352.315.619:616.33

Д. А. Мельничук, П. В. Усатюк, Н. И. Цвилюховский

Изменения активности щелочной фосфатазы и Na^+ , K^+ -АТФазы в мембранных фракциях эпителия тонкой кишки в норме и при диарее

Среди патологий пищеварительного канала значительное место занимает диарея — в большинстве случаев заболевание новорожденных, причем и животных [12], и человека [8]. В течение короткого промежутка времени в больном организме развиваются явления дегидратации [5], нарушения кислотно-щелочного равновесия крови [3, 4], электролитного баланса [4, 20] — в особенности по Na^+ [4]. Несомненно, что при данной патологии, в которую самым непосредственным образом вовлекаются такие физиологические и биохимические процессы, как гидролиз и транспорт, следует ожидать значительных изменений в функционировании мембран щеточной каймы и базолатеральных мембран.

Цель настоящей работы — исследование активности маркерных ферментов этих мембран: гидролитического — щелочной фосфатазы и транспортного — Na^+ , K^+ -АТФазы [18].

Методика

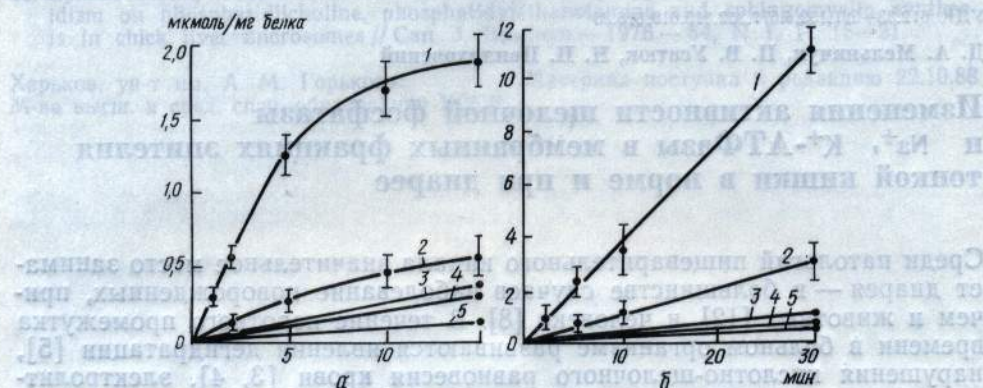
Объектом исследования служили здоровые и больные новорожденные телята в возрасте 2—3 сут черно-пестрой породы, которых использовали в остром опыте. Отбор проб кишечника и получение фракций щеточной каймы и базолатеральных мембран проводили, как описано нами ранее [9]. Количество белка в пробах определяли по методу Lowry и соавт. [16]. Активность щелочной фосфатазы определяли в соответствии с методикой, представленной Murer и соавт. [17], а Na^+ , K^+ -АТФазы — как описано в работе Ghijsen и соавт. [14]. Экспериментальные данные обработаны статистически.

Результаты и их обсуждение

Из представленных на рисунке (а и б) результатов прежде всего следует отметить достаточно высокую активность маркерных ферментов щеточной каймы и базолатеральных мембран по сравнению с таковой гомогената, а также низкое их проявление в соседних фракциях. Это указывает на достаточно высокую степень чистоты мембран, а также на то, что они не загрязнены друг другом. Несколько повышенная активность щелочной фосфатазы в базолатеральных мембранах может объясняться предполагаемым наличием этого фермента в базальной части кишечного энтероцита [13].

Анализ активности изучаемых ферментов щеточной каймы и базолатеральных мембран показывает значительные изменения ее у больных животных по сравнению со здоровыми. Так, в мембранах щеточной каймы больных новорожденных телят отмечено снижение активности щелочной фосфатазы в 3,1 раза. Этот факт можно объяснить данными физиологических экспериментов об увеличении скорости перехода щелочной фосфатазы из апикальной мембраны в просвет кишечника при диарее [10]. Однако известно, что являясь димером [11], щелочная фосфатаза гидрофобной частью белковой молекулы [2] достаточно

глубоко локализована в липидном бислое [15], и ее выход под действием папаина не ускоряется даже при наличии детергентов [17]. Поэтому можно предположить, что наблюдаемое в наших экспериментах изменение активности щелочной фосфатазы обусловлено и другими факторами — изменением химического состава мембран, липидного окружения или физического состояния липидного бислоя. Несомненно, последние могут наблюдаться при диарее и существенным образом сказываться также на проницаемости мембраны щеточной каймы.



Активность маркерных ферментов в мембранных фракциях эпителия тонкой кишки новорожденных телят:

а — активность щелочной фосфатазы (1 — в щеточной кайме здоровых телят, 2 — больных, 3 — базолатеральных мембранах здоровых телят, 4 — больных, 5 — гомогенате); **б** — активность Na^+K^+ -АТФазы (1 — в базолатеральных мембранах здоровых телят, 2 — больных, 3 — щеточной кайме здоровых телят, 4 — больных, 5 — гомогенате).

Отмеченное нами снижение активности (в 3,8 раза) Na^+ , K^+ -АТФазы базолатеральных мембран (см. рисунок, **б**) больных животных позволяет взглянуть на эту патологию с точки зрения транспортной функции мембран — взаимоотношения внешней и внутренней сред организма.

Физиологически базальная мембрана служит барьерной мембраной для воды и электролитов и основной ее функцией является транспорт этих компонентов, также как и других, в кровяное русло. Совместно с тонкой работой почечных канальцев базальной части плазматической мембраны энтероцита кишечника принадлежит важная роль в поддержании электролитного баланса жидкостей организма.

При диарее, как было отмечено выше, наблюдается значительная потеря Na^+ плазмой крови больных животных [4, 20]. Маловероятно, чтобы в этот скоротечный процесс (0,5—1 сут) вовлекалась почечная система. Отсюда следует определяющая роль базальной мембраны энтероцита кишечника (если учесть его площадь) в течении (или возникновении) диарей.

Можно предположить несколько механизмов нарушения барьерной функции базальной мембраны для Na^+ : усиление пассивной проницаемости, снижение активности Na^+ , K^+ -АТФазы, их сочетание. Для первого случая необходимы экспериментальные доказательства, а в пользу второго механизма патологии, кроме результатов, представленных в настоящей работе, свидетельствуют некоторые сообщения литературы. Так, установлено, что действие дифенольных слабительных средств опосредованно их влиянием на активность Na^+ , K^+ -АТФазы слизистой оболочки эпителия толстой кишки [19]. Кроме того, в условиях снижения активности Na^+ , K^+ -АТФазы базальной части энтероцита следует ожидать повышения концентрации K^+ в плазме крови из-за снижения скорости его откачки на фоне возрастающего поступления по концентрационному градиенту из кишечника [6, 7]. Действительно, отмечено повышенное содержание K^+ в крови больных диареей животных, хотя в терминальной стадии заболевания и происходит его снижение [1].

Таким образом, наряду с изменениями активности гидролитического фермента апикальной мембраны показаны существенные его изменения в базальной мембране, которые имеют отношение к системе транспорта натрия в тонкой кишке.

Выводы

1. Установлено снижение в 3,1 раза активности гидролитического фермента апикальной мембраны щелочной фосфатазы и в 3,8 раза — активности транспортного фермента базальной мембраны — Na^+ -, K^+ -АТФазы энтероцита тонкой кишки больных диареей новорожденных животных по сравнению с таковыми здоровых.
2. Высказано предположение об определяющей роли Na^+ -, K^+ -АТФазы базальной мембраны энтероцитов в потере организмом Na^+ при диарее.

D. A. Melnichuk, P. V. Usatyuk, N. I. Tsvilikhovsky

CHANGES IN THE ACTIVITY OF ALKALINE PHOSPHATASE AND Na^+ , K^+ -ATPase IN MEMBRANE FRACTIONS OF INTESTINAL EPITHELIUM IN NORM AND WITH DIARRHEA

Activity of alkaline phosphatase (apical membrane) and Na^+ , K^+ -ATPase (basal membrane) is determined to decrease in the membrane fractions of intestinal epithelium in the diarrheic new born cattles. It is concluded that Na^+ , K^+ -ATPase of basal membranes play a fundamental role in Na^+ loss by body with diarrhea.

The Ukrainian Agricultural Academy,
Agroindustrial Committee of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева Е. А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных.— М.: Россельхозиздат.— 1982.— 252 с.
2. Егорова В. В., Гозите И. К., Колтушкина Г. Г., Уголев А. М. Сравнительные характеристики некоторых ферментов щеточной каймы, выделенных из состава мембран с помощью детергентов и протеаз // Докл. АН СССР.— 1977.— 233, № 3.— С. 487—490.
3. Любецкая С. В. Особенности азотистого и энергетического обмена у новорожденных телят в условиях метаболического ацидоза и способы его коррекции / Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— К., 1988.— 24 с.
4. Мельничук Д. А., Засекин Д. А., Захаренко Н. А. и др. Особенности электролитного баланса крови новорожденных телят в норме и при диарее // Укр. биохим. журн.— 1987.— 59, № 6.— С. 59—63.
5. Митюшин В. В. Диспепсия новорожденных телят.— М.: Россельхозиздат, 1979.— 111 с.
6. Никольский Н. Н. Всасывание воды и одновалентных ионов / Л.: Наука, 1977.— С. 122—151.
7. Физиология всасывания.— Л.: Наука, 1977.— 668 с.
8. Фролькис А. В. Диарея и ее лечение // Клин. мед.— 1983.— № 4.— С. 98—103.
9. Цвилховский Н. И., Усатюк П. В., Мельничук Д. А. Деление плазматической мембраны клеток кишечного эпителия крупного рогатого скота на фракции щеточной каймы и базолатеральные мембраны // Доп. АН УРСР. Сер. Б.— 1988, № 9.— С. 83—85.
10. Щербаков Г. Г. Мембранное пищеварение при диспепсии новорожденных телят // Автореф. дис. ... д-ра вет. наук.— Л.: 1984.— 34 с.
11. Colbeau A., Maroux S. Integration of alkaline phosphatase in the intestinal brush border membrane // Biochim. et biophys. acta.— 1978.— 511, N 1.— P. 39—51.
12. Fondacaro J. D. Intestinal ion transport and diarrhea disease // Amer. J. Physiol. 1986.— 250, N 1.— P. 1—8.
13. Ghijsen W. E. J. M., De Long M. D., Van Os C. H. Dissociation between Ca^{2+} -ATPase and alkaline phosphatase activities in plasma membranes of rat duodenum // Biochim. et biophys. acta.— 1980.— 599, N 2.— P. 538—551.
14. Ghijsen W. E. J. M., De Long M. D., Van Os C. H. ATP-dependent calcium transport and its correlation with Ca^{2+} -ATPase activity in basolateral plasma membranes of rat duodenum // Ibid.— 1982.— 689, N 2.— P. 327—336.
15. Louvard D., Maroux S., Vannier Ch., Desnuelle P. Topological studies on the hyd-