

і, зумовленими введенням
0,925; $P < 0,001$). Коефіцієнт
збільшувався, але його
здебільшого, недостовір-

тити, що характер дії хо-
споживання кисню печін-
ного органу. Корекція по-
кислювального метаболізм
ок зміни кровотоку в пе-
і за рахунок збільшення
м холецистокініну. Мож-
міну від холецистокініну,
лячії кисневого гомеоста-
в її паренхімі на віднос-

AGASTRIN

the dilatation of mesenterial,
amplitude-expressed changes in
erm ones are observed. The am-
is different and depends on the
astrin in the same series of ex-
by the liver depending on its

of hepatocytes by the action
w in the liver artery, and under
e oxygen extraction.

экспериментальных исследова-
— № 4.— С. 76—85.

ние раздражения гипоталамуса
УССР. сер. Б.—1987.— № 3.—

ascular smooth muscle // Amer.

chnic circulation // Arch. Intern.

J. Systemic circulatory effects
418—425.

responses to infusion of gastro-
12.— Р. 65—77.

ucagon, secretin, pancreozymin
of the dog // Brit. J. Pharma-

Матеріал надійшов
до редакції 11.05.90

УДК 577.15:612.33:612.43/45

М. С. Яременко, О. М. Прокопенко,
Г. Л. Вавилова, О. М. Харламова

Секреція ендogenous регуляторів Na^+ , K^+ -АТФази ізолюваною дванадцятипалою кишкою щурів під впливом осмотичної стимуляції її слизової оболонки

Изолированную двенадцатиперстную кишку крысы инкубировали в ра-
створе Krebs-Рингера при 37°C и аэрации среды газовой смесью
(95 % CO_2 и 5 % O_2). Полость кишки перфузировали раствором NaCl
или маннита, имеющих осмоляльность 20, 300 или 500 мосмоль/л H_2O
в течение 10 мин. Затем в серозном инкубационном растворе опреде-
ляли наличие веществ, активных по отношению к Na^+ , K^+ -АТФазе.
В качестве контроля использовали раствор, в котором инкубировали
полую кишку. Установлено, что воздействие на мукозную поверхность
двенадцатиперстной кишки гипотоническим или гипертоническим ра-
створом NaCl или маннита вызывает высвобождение в серозный инку-
бационный раствор соответственно активатора (ов) или ингибитора (ов)
 Na^+ , K^+ -АТФазы энтероцитов intactных крыс. Обнаруженные эн-
догенные регуляторы фермента термостабильны: их активность по от-
ношению к Na^+ , K^+ -АТФазе сохраняется после прогрева при 100°C в
течение 20 мин.

Вступ

Раніше нами було встановлено, що введення в шлунково-кишковий
тракт (ШКТ) щурів гіпотонічної рідини викликає секрецію в кров не-
ідентифікованого ендogenous фактора (ЕФ), який здібний активува-
ти Na^+ , K^+ -АТФазу в гомогенаті ентероцитів [4]. Показано також, що
речовини, які характеризуються подібною дією, виділює й ізолювана
дванадцятипала кишка при зрошенні її порожнини гіпотонічними роз-
чинами [10].

В задачу наших досліджень входило вивчити, яким чином будуть
впливати розчини різної осмоляльності (і гіпо-, і гіпертонічні) на сек-
рецію ЕФ ізолюваною дванадцятипалою кишкою.

Методика

У щурів масою 200—250 г, наркотизованих уретаном (1,2 г на 1 кг),
вишлущували дванадцятипалу кишку з попередньо перев'язаним жовч-
ним протоком. В проксимальний та дистальний кінці кишки ув'язували
поліетиленові канюлі. Препарат вміщували в камеру, яку заповнюва-
ли розчином Krebs-Рінгера (5 мл, рН 7,4), який насичували газовою
сумішшю (95 % CO_2 та 5 % O_2) при 37°C . В цих умовах кишку ви-
тримували протягом 5 хв, потім зовнішній (серозний) розчин заміню-
вали на свіжий та одночасно починали перфузувати порожнину кишки
гіпо- (20 мосмоль/л H_2O), ізо- (300 мосмоль/л H_2O) або гіпер-
(500 мосмоль/л H_2O) тонічними розчинами NaCl або маніту за допо-
могою перистальтичного насосу зі швидкістю 0,2 мл/хв протягом 10 хв.
В контрольних дослідах кишку інкубували протягом вказаного періо-
ду часу без зрошення її мукозної поверхні. Потім серозний розчин, як
нативний, так і той, що був термічно оброблений (100°C водяної бані
протягом 10 хв), оцінювали на наявність в ньому ЕФ, який був би
активний по відношенню до Na^+ , K^+ -АТФази ентероцитів гомогенату
слизової оболонки intactних щурів. Для цього серозний розчин вно-
сили в середовище, в якому визначали активність ферменту із рахунку
10 % його об'єму. Активність Na^+ , K^+ -АТФази (мкмоль P_i /мг білка $\times$

© М. С. ЯРЕМЕНКО, О. М. ПРОКОПЕНКО, Г. Л. ВАВИЛОВА, О. М. ХАРЛАМОВА, 1992

ISSN 0201—8489. Физиол. журн. 1992. Т. 38, № 3

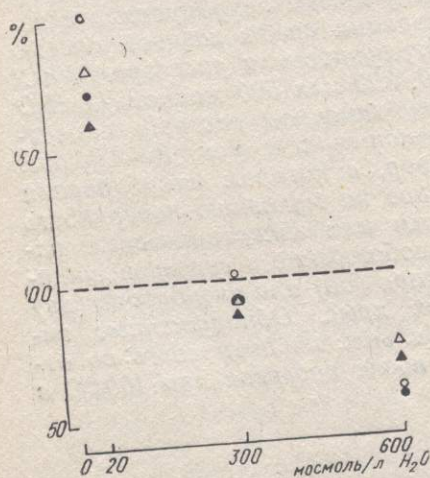
5*

67

(Хгод) визначали за раніше описаною методикою [4]. Контролем вважали активність ферменту в умовах додавання серозного розчину, в якому інкубували кишку без зрошення її мукозної поверхні.

Результати

Отримані результати дозволили встановити, що вплив анізотонічних розчинів на мукозну поверхню ізольованої дванадцятипалої кишки обумовлює секрецію у зовнішній інкубаційний розчин ЕФ, активних по відношенню до Na^+ , K^+ -АТФази. Активність ЕФ щільно залежить від осмоляльності розчину, який діє на слизову оболонку ізольованої кишки.



Відносна (%) активність ендogenous фактора після 10 хв перфузії порожнини дванадцятипалої кишки анізотонічними розчинами (мосмоль/л H_2O) NaCl (світлий кружок) або маніту (світлий трикутник) до (темний кружок) та після (темний трикутник) його термічної обробки.

ного розчину активує Na^+ , K^+ -АТФазу на 60—80 % (таблиця). Спорожнена кишка (контроль) та кишка, яка зрошена ізотонічним розчином NaCl або маніту, не секретує ЕФ. Після контакту слизової оболонки з гіпертонічним розчином кишка виділяє гальмуючий ЕФ, який пригнічує активність Na^+ , K^+ -АТФази на 30—50 %. Корелятивний аналіз показує високодостовірний зв'язок між цими параметрами ($P < 0,001$, $r = -0,94 \pm 0,11$; малюнок). Термічна обробка серозної рідини не призводить до зниження активності ЕФ, що свідчить про його небілкову природу.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволили встановити, що дванадцятипала кишка реагує диференційовано на подразнення слизової оболонки гіпо- та гіпертонічними розчинами: вона секретує відповідно активатори чи інгібітори Na^+ , K^+ -АТФази.

Зміна активності Na^+ , K^+ -АТФази ентероцитів інтактних шурів під впливом ЕФ, який секретується у серозний інкубаційний розчин ізольованою дванадцятипалою кишкою при стимуляції її слизової оболонки розчинами NaCl чи маніту різної осмоляльності ($M \pm m$)

Осмоляльність розчину	Активність ферменту, мкмоль Рн/мг білка·год		
	в умовах додавання серозного розчину після інкубації в ньому кишки без зрошення її порожнини (контроль)	в умовах додавання нативного серозного розчину	в умовах додавання серозного розчину після термічної обробки
Хлористий натрій			
20 мосмоль/л H_2O	10,2±0,5	16,4±1,4***	18,5±2,0***
300 мосмоль/л H_2O	12,9±1,3	10,6±2,8	11,7±1,6
500 мосмоль/л H_2O	13,7±0,6	9,3±1,1**	10,6±0,9*
Маніт			
20 мосмоль/л H_2O	10,5±0,6	17,9±1,3***	21,0±2,9***
300 мосмоль/л H_2O	13,6±1,0	12,4±1,9	13,8±1,1
500 мосмоль/л H_2O	13,4±0,4	6,9±0,3**	7,6±0,4**

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ порівняно з контролем.

ISSN 0201—8489. Физиол. журн. 1992. Т. 38, № 3

Обговорення

Викладені вище дані на те, що дванадцятипала кишка (зокрема, гіпотонічний розчин до Na^+ , K^+ -АТФази), є діючою до Na^+ , K^+ -АТФази середовища слизової оболонки кишки.

В роботі, проведеної в нашій лабораторії, показано, що в крові ЕФ за кошти, що ендogenous фактори кишки до зовнішнього середовища оболонки вано секретуються.

Раніше було показано, що зрошення гіпотонічним розчином ряди K^+ -АТФази [2] марну активність в нашій роботі пає в контакт з ватор Na^+ , K^+ ні гіпертонічний речовин, які метом подальшої роботи, можна.

Механізм дії торів Na^+ , K^+ тичне подразнення ряди го реднена дія було показати гастрину [1].

Висновки

1. Зрошення дванадцятипалої ки щурів гіпотонічним розчином протягом 10 хв призводить до секретування речовини (а).

2. Вплив 500 мосмоль/л H_2O на активність гіпертонічного розчину (аб).

3. Після додавання NaCl а не відбувається секретування речовини (а).

4. Кишка секретує свої активатори чи інгібітори Na^+ , K^+ -АТФази.

M. S. Yaremchuk

SECRETION BY THE ISC OF OSMOTIC

The experiments were performed on rats by hypotonic NaCl and mannitol or inhibitors

ISSN 0201—

кою [4]. Контролем вва-
ня серозного розчину, в
ної поверхні.

що вплив анізотонічних
дванадцятипалої кишки
й розчин ЕФ, активних
ть ЕФ щільно залежить
ості розчину, який діє на
нку ізольованої кишки.

зрошення кишки гіпото-
ом NaCl або маніту сти-
креція у зовнішній роз-
активує фермент. Ефект
ить від хімічного складу
й вступає в контакт зі
лонкою, а тільки від йо-
рості. Після 10 хв дії на
ічної рідини ЕФ сеамин-

тивність ендogenous фактора
узії порожнини дванадцятипа-
отонічними розчинами (мос-
Cl (світлий кружок) або ма-
кутник) до (темний кружок)
й трикутник) його термічної

—80 % (таблиця). Спо-
шена ізотонічним розчи-
нтакту слизової оболон-
ьмуючий ЕФ, який при-
%. Корелятивний аналіз
параметрами ($P < 0,001$,
серозної рідини не при-
ить про його небілкову

іджень дозволили вста-
еренційовано на подраз-
и розчинами: вона сек-
K⁺-АТФази.

щурів під впливом ЕФ, який
но дванадцятиполю кишкою
ніту різної

Ри/мг білка-год	
додавання серозного ину	в умовах додавання серозного розчину після термічної обробки
4***	18,5±2,0***
8	11,7±1,6
1**	10,6±0,9*
3***	21,0±2,9***
9	13,8±1,1
3**	7,6±0,4**

ем.
ол. журн. 1992. Т. 38, № 3

Обговорення

Викладені вище результати експериментальних досліджень вказують на те, що дванадцятипала кишка, подібно до інших органів і тканин (зокрема, гіпоталамуса [5], еритроцитів [3], плазми крові [6], тонкої кишки [7]), є джерелом ендogenous речовин, які активні по відношенню до Na⁺, K⁺-АТФази. Вказані речовини виділюються кишкою у внутрішнє середовище організму у відповідь на осмотичну стимуляцію її слизової оболонки. При цьому гіпотонічні розчини стимулюють секрецію кишкою активатора ферменту, а гіпертонічні — інгібітора.

В роботі, яка провадилася на ненаркотизованих щурах, було показано, що введення гіпотонічних рідин в ШКТ викликає секрецію в кров ЕФ за короткий інтервал часу — 2 хв [4]. Це дозволяє припустити, що ендogenous регулятори активності ферменту знаходяться в тканині кишки до її осмотичного подразнення. Анізотонічні впливи на слизову оболонку є тими стимулами, у відповідь на які ЕФ диференційовано секретується із кишкових «депо».

Раніше було показано, що ізольована дванадцятипала кишка, яку зрошували гіпотонічною рідиною, виділює у зовнішній інкубаційний розчин ряд речовин і в тому числі низькомолекулярний інгібітор Na⁺, K⁺-АТФази [2]. Але в цитованій роботі не представлені дані про сумарну активність інших виділених фракцій речовин. Результати, одержані в нашій роботі, свідчать про те, що ізольована кишка, яка вступає в контакт із гіпотонічною рідиною, виділює, головним чином, активатор Na⁺, K⁺-АТФази, а інгібітор — при зрошуванні слизової поверхні гіпертонічним розчином. Питання про активність окремих фракцій речовин, які виділюються кишкою, та їх хімічну природу буде предметом подальших досліджень. На основі результатів, наведених в цій роботі, можна судити лише про небілкову природу ЕФ.

Механізм осмотичної стимуляції секреції кишкою речовин-регуляторів Na⁺, K⁺-АТФази поки що не з'ясований. Відомо, що пряме осмотичне подразнення слизової оболонки викликає посилення секреції в кров ряду гормонів ШКТ [8, 9]. Можливо також, що має місце опосередкована дія за участю інтрамурального нервового механізму, як це було показано для осмотичної стимуляції секреції інтестинального гастрину [1].

Висновки

1. Зрошення внутрішньої порожнини ізольованої дванадцятипалої кишки щурів гіпотонічним (20 мосмоль/л H₂O) розчином NaCl або маніту протягом 10 хв супроводжується виділенням в інкубаційний розчин речовини (або речовин), яка активує Na⁺, K⁺-АТФазу ентероцитів.

2. Вплив на слизову оболонку кишки гіпертонічним розчином (500 мосмоль/л H₂O) NaCl або маніту стимулює секрецію кишкою інгібітора (або інгібіторів) Na⁺, K⁺-АТФази.

3. Після контакту слизової оболонки кишки з ізотонічним розчином NaCl або маніту секреції ендogenous регуляторів Na⁺, K⁺-АТФази не відбувається.

4. Кишкові активатор та інгібітор Na⁺, K⁺-АТФази не змінюють своєї активності після термічної обробки при 100 °C протягом 10 хв.

M. S. Yaremenko, O. N. Prokopenko, G. L. Vavilova, O. N. Kharlamova

SECRETION OF ENDOGENIC REGULATORS OF Na⁺, K⁺-ATPase BY THE ISOLATED DUODENUM IN RATS UNDER EFFECT OF OSMOTIC STIMULATION OF ITS MUCOUS MEMBRANE

The experiments in vitro have shown that perfusion of the isolated duodenum cavity in rats by hypotonic (20 mosmol/l H₂O) or hypertonic (500 mosmol/l H₂O) solutions of NaCl and mannitol during 10 min stimulates secretion of endogenous factors (activators or inhibitors of enterocytes of Na⁺, K⁺-ATPase) into the serous incubation solution.

Contact of the duodenum mucose surface with isotonic (300 mosmol/l H₂O) solutions does not stimulate the secretion of this enzyme regulators.

Endogenic substance are thermostable: they retain activity relative to Na⁺, K⁺ ATPase of enterocytes after heating (100 °C, 10 min duration) of serous incubation solutions.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бутусова И. А., Яременко М. С. К механизму осмотической стимуляции секреции гастрин изолированной двенадцатиперстной кишки крысы // Тр. IV Всесоюз. съезда гастроэнтерологов.— М.-Л. 1990.— С. 164—165.
2. Кастрикина Т. Ф., Вавилова Г. Л. Эндокринный интестинальный низкомолекулярный фактор ингибирует Na⁺, K-АТФазную активность энтероцитов // Укр. биохим. журн.—1989.—61, № 5.— С. 96—98.
3. Петруняк В. В., Панюшкина Е. А., Северина Е. П. Активация и ингибирование Na, K-АТФазы мембран эритроцитов эндогенными Ca⁺⁺-зависимыми регуляторами. Ca⁺⁺-зависимое действие оубаина на Ca⁺⁺-АТФазу // Биол. мембраны.—1990.— 7, № 4.— Ц. 352—358.
4. Прокопенко О. Н., Харламова О. Н., Яременко М. С. Прямое и опосредованное действие минеральной воды нафтуса и ее компонентов на натрий-калиевый насос эпителии тонкой кишки крысы // Физиол. журн.—1990.—36, № 2.— С. 56—63.
5. Cantiello H. F., Chen E., Ray S., Haupt G. T. Na⁺ pump in renal tubular cells is regulated by endogenous Na⁺, K-ATPase inhibitor from hypothalamus // Amer. J. Physiol.—1988.—255.— P. F574—F580.
6. Cloix J.-F. Endogenous digitalis like Compounds a tantative update of chemical and biological studies // Hypertension 10(suppl. 1).—1987.— P. 1—67, 1—70.
7. Goncharevskaya O. A., Monin Yu. G., Kramarova L. I., Kolaeva S. G. Electrolyte and water transport in the newt renal tubule due to the action of low-molecular fraction isolated from the intestine of the hibernating groud squirrel // Physiol. Bohemoslova.—1990.—39.— P. 425—434.
8. Matsujama T., Nambe M., Shima K. et al. Release of gut GLI by luminal hypotonicity // Hormone and Metab. Res.—1981.—13.— P. 471—472.
9. Teichmann K. K., Swierezek G. S., Rayford P. Z. et al. Effect of duodenal osmolality on gastrin and secretin release and on gastric and pancreatic secretion // World J. Med.—1979.—3, N 8.— P. 623—630.
10. Yaremenko M., Kharlamova O., Vavilova G., Prokopenko O. Osmotic regulation of Na⁺, K⁺-ATPase activity in rat enterocytes // Comptes Rendus. Réunion Commune. Association Des Physiol.—Praha. 1990.— P. 180.

Ин-т фізіології ім. О. О. Богомольця
АН України, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 14.11.91

УДК 612.014.42:612.31

М. Ю. Клевець, В. В. Манько

Характеристика потенціалозалежного кальцієвого струму мембрани секреторних клітин

Исследованы параметры потенциалозависимого кальциевого тока мембраны клеток верхней и нижней долей слюнной железы личинки хирономуса. Порог активации тока обоих типов клеток находится в области —60 мВ, однако ток клеток верхней доли достигает максимума при —20 мВ, а нижней доли — при —10 мВ. Плотность тока клеток верхней доли железы примерно в 1,3 раза выше, а постоянная времени инактивации в 1,62 раза меньше. Кальциевые каналы клеток верхней и нижней долей железы различаются и по метаболической зависимости: введение в клетки нижней доли цАМФ, АТФ и Mg²⁺ вызывает значительное увеличение амплитуды тока, тогда как в клетках верхней доли он уменьшается.

© М. Ю. КЛЕВЕЦЬ, В. В. МАНЬКО, 1992

Вступ

Потенціалозалежний більш інтенсивний тільки в сивчення якого

Методика

Досліди проводили личинки Chironomidів внутрішньоклітинної (ммоль/л): трирістували та 136,9, KCl—Na₂HPO₄—0,3 шукання найбільш струму в окремих зовнішньоклітинних лідів використано ЕГТА (1 ммоль/л) жінки метаболічного розчині цАМФ (10⁻⁴ вували метод дифузії [2]. Мембрани контролювали деполаризаційні позитивні прями у відповідь на електрокардіом

Результати та їх

Попередні виміри тинах нижньої перфузії триріст на триріст-SO₄. В майже в 3 рази розчинів. Якщо повідною кількості ньому в 2 рази NaCl на триріст-SO₄ літуди кальцієвого струму використовували ковою як при його заміні на не вносять вкл

Одну із сівцієвого струму кальцію. Виявлено (1 ммоль/л), достовірним (клітин нижньої лої його інактиві необхідно розвації.

В наступні струму клітин 3 метою одер