

18. Прибыльская Т.Т. Влияние слабуминерализованной воды скв. № 21 Шкловского месторождения на выделительную функцию почек // Физические и курортные факторы и их лечебное применение. — Вып. 9: Здоров'я, 1975. — С. 107-110.
19. Флюнт И.С. Влияние минеральной воды «Нафтуса» на процессы водного обмена в организме (экспериментальное исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1991. — 13 с.
20. Флюнт И.С. Вода «Нафтуса» и водный обмен организма // Тез. докл. У съезда физиотерапевтов и курортологов УССР, Окт. 1991. — Одесса, 1991. — С. 211.
21. Хохлов Б.А., Шимонко І.Т. Лікування захворювань сечових органів на курорті Трускавець. — К.: Здоров'я, 1974. — 80 с.
22. Шухтина И.Л. Влияние Трускавецкой минеральной воды «Нафтуса» на величину диуреза и выведения с мочой некоторых продуктов обмена веществ // Науч.-практ. конф. по вопр. санатор. лечения больных на курортах Украины с питьевыми минеральными водами: Тез. и реф. докл. — Трускавец, 1960. — С7 120-121.
23. Wilder J.F. Stimulus and response: the law of initial value. — Bristol: Wright and Sons Ltd., 1967. — 352 p.

Львів. мед. ін-т
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 17.03.92

УДК 577.15:612.33:612.43/45

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

Вплив гіпосмотичної стимуляції слизової поверхні шлунково-кишкового тракту на активність Na^+ , K^+ -АТФази в клітинах епітелію тонкої кишки та нирок щурів

*В опытах на бодрствующих крысах установлено, что внутригастральная нагрузка животных гипотонической жидкостью (раствор маннита, 20 ммоль/л) в объеме, составляющем 1,5 % массы, вызывает в последующие 10 мин повышение активности Na^+ , K^+ -АТФазы в клетках эпителия проксимального и дистального участков тонкой кишки и коры почки на 78, 61 и 56 % соответственно, но не влияет на Na^+ , K^+ -АТФазу клеток коры головного мозга. Одновременно в кровь крысы поступает активатор фермента (АФ), активность которого определяется по действию сыворотки крови на Na^+ , K^+ -АТФазу гомогенатов тканей контрольных животных. Так, сыворотка крови нагруженных животных активирует Na^+ , K^+ -АТФазу эпителиоцитов проксимального и дистального участков тонкой кишки и нейронов головного мозга на 108, 119 и 133 % соответственно. Чувствительность фермента нейронов головного мозга к АФ в условиях *in vitro* дает основание допустить, что гематоэнцефалический барьер недостаточно проницаем для этого вещества. Предполагается, что АФ образуется в слизистой оболочке проксимального участка тонкой кишки, высвобождается в кровь при осмотическом раздражении ее мукозной поверхности и включается в осморегуляцию на уровне Na^+ , K^+ -АТФазы.*

Вступ

Осмотичне подразнення слизової поверхні шлунково-кишкового тракту (ШКТ) викликає, як правило, чіткі реакції з боку різних ланцюгів системи регуляції водно-солевого обміну [1, 3, 8]. Зокрема, вплив анізотонічних

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

розчинів на слизову оболонку проксимальної ділянки інтактної тонкої кишки або ізольованої дванадцятипалої кишки обумовлює вивільнення в кров та в середовище інкубації фізіологічно активних речовин [2, 11, 13]. Виявлено, що в спектрі вказаних речовин є й ендогенні регулятори Na^+ , K^+ -АТФази, зокрема активатори і інгібітори ферменту (АФ та ІФ відповідно). При цьому АФ вивільнюються внаслідок контакту слизової поверхні ШКТ з гіпотонічною рідиною, а ІФ — з гіпертонічною [6, 14].

Виходячи з викладеного вище, можна припустити, що вказані речовини беруть участь у фізіологічному регулюванні активності Na^+ , K^+ -АТФази. З метою перевірки цього припущення визначали активність Na^+ , K^+ -АТФази в клітинах різних тканин під впливом гіпоосмотичної стимуляції слизової поверхні ШКТ за умов цілісного організму, а також виявляли чутливість цієї ферментної системи тих самих клітин до АФ в дослідах *in vitro*.

Методика

В експериментах використовували щурів лінії Вістар масою 200-250 г. Протягом 10-12 год тварин утримували за умов голодування, але вільного питтєвого режиму. За 3 год до початку досліду тваринам переставали давати воду. Щурам дослідної групи за допомогою зонда вводили в шлунок гіпотонічний розчин маніту (20 ммоль/л, рН 7,0) у об'ємі, який складав 1,5 % маси. Щурам контрольної групи нагодували тільки введенням зонда. Через 2,5 та 10 хв тварин обох груп декапітували, забирали кров і одержували сироватку. З порожнини шлунка та дванадцятипалої кишки збирали залишки рідини, замірювали її об'єм та визначали осмоляльність (осмометр типу ОМКА ІЦ-01). Із слизової оболонки проксимальної та дистальної ділянок тонкої кишки, кори нирок та сірої речовини головного мозку готували гомогенати і визначали в них активність Na^+ , K^+ -АТФази [5-7].

Активність АФ в крові оцінювали за його дією на Na^+ , K^+ -АТФазу. Для цього сироватку крові контрольних та дослідних тварин додавали до середовища визначення активності ферменту гомогенатів тканин інтактних щурів у кількості 0,1 % його об'єму [6].

Результати та їх обговорення

Відомо, що у інтактних щурів в порожнині шлунка та дванадцятипалої кишки завжди є невелика кількість рідини. Нами було показано, що у щурів, яких утримували за умов голодування протягом 10-12 год до початку експерименту, в шлунку міститься $0,41 \pm 0,02$ мл рідини, а у дванадцятипалої кишці — $0,12 \pm 0,02$ мл. При цьому осмоляльність рідини складає $193 \pm 0,3$ і $274 \text{ мосм/л} \pm 6,7 \text{ мосм/л}$ відповідно. Після введення в шлунок гіпотонічного розчину маніту осмоляльність внутрішньопорожнинної рідини зменшується у шлунку на 64, 56 та 48 %, а дванадцятипалої кишки — на 36, 45 та 3 % через 2, 5 та 10 хв відповідно (табл. 1).

В табл. 2 наведені результати, які характеризують зміну активності Na^+ , K^+ -АТФази в гомогенатах різних тканин після вказаних змін осмоляльності рідини в порожнині ШКТ. Показано, що активність Na^+ , K^+ -АТФази епітеліоцитів верхньої ділянки тонкої кишки, які вступають безпосередньо в контакт з гіпотонічною рідиною, підвищується на 78 % в перші 2 хв. Через 5 хв активність ферменту залишається вище її контрольного значення на 61, а через 10 хв — на 27 %. В клітинах, які не контактують з осмотичним подразником, також відбувається підвищення активності ферменту, але тільки через 5 хв після введення гіпотонічної рідини. Зокрема, в епітеліоцитах дистальної ділянки тонкої кишки активність Na^+ , K^+ -АТФази

підвищується на 61 %, а активність ферменту знижується. В клітинах сірої K^+ -АТФази не змінюється.

Таблиця 1. Осмоляльність рідини в порожнині ШКТ щурів після одноразового введення маніту (20 ммоль/л)

Об'єкт дослідження	До навантаження
Шлунок	193
Дванадцятипала кишка	274

* $P < 0,001$.

В дослідах *in vitro* були використані тварин, яку додавали до середовища визначення активності ферменту. Однак, коли в крові виявляється активність Na^+ , K^+ -АТФази, то сироватку крові дослідних тварин додавали до середовища визначення активності ферменту. Сироватка крові активує Na^+ , K^+ -АТФазу та дистальної ділянок тонкої кишки на 34, 38 та 46 % відповідно. Фермент досягає максимуму на 108, 119 та 133 %. Через 5 хв активність ферменту в сироватці крові дослідних тварин підвищується на 61 %, а активність ферменту в сироватці крові контрольних тварин знижується на 27 %.

Таблиця 2. Динаміка активності Na^+ , K^+ -АТФази в гомогенатах внутрішньогастральних навантажень

Об'єкт дослідження	до навантаження
Слизова поверхня тонкої кишки:	
проксимальна ділянка	$15,0 \pm 1,7$
дистальна ділянка	$7,6 \pm 0,8$
Кора нирок	$13,0 \pm 1,8$
Сіра речовина головного мозку	$13,9 \pm 1,2$

Примітки: число визначень в кожному експерименті — 5.

Таким чином, результати досліджень показують, що гіпотонічною рідиною в порожнині ШКТ активується Na^+ , K^+ -АТФазу в клітинах епітеліоцитів тонкої кишки, а фермент нейронів головного мозку. Активацію Na^+ , K^+ -АТФази в клітинах епітеліоцитів тонкої кишки з анізотонічною рідиною можна пояснити тим, що в порожнині ШКТ змінюється осмоляльність рідини, а осмоляльність рідини в порожнині ШКТ впливає на активність ферменту (клітини не контактують з осмотичним подразником).

підвищується на 61 %, а в корі нирок — на 56 %. Через 10 хв активність ферменту знижується до контрольного значення в обох тканинах. В клітинах сірої речовини головного мозку активність Na^+ , K^+ -АТФази не змінюється протягом всього вказаного періоду часу.

Таблиця 1. Осмоляльність рідини (мосм/л) в порожнині шлунка та дванадцятипалої кишки щурів після одноразового внутрішньогастрального навантаження тварин розчином маніту (20 ммоль/л)

Об'єкт дослідження	До навантаження тварин (контроль)	Після навантаження тварин (дослід)		
		через 2 хв	через 5 хв	через 10 хв
Шлунок	193,0±3,1	68,6±4,9*	84,6±6,9*	99,6±5,3*
Дванадцятипала кишка	274,0±6,7	176,5±13,9*	150,5±5,2*	265,5±10,0

* $P < 0,001$.

В дослідах *in vitro* було виявлено, що сироватка крові контрольних тварин, яку додавали до гомогенатів різних тканин, не впливає на активність ферменту. Однак після навантаження щурів гіпотонічною рідиною в крові виявляється АФ. Про це можна судити за зміною активності Na^+ , K^+ -АТФази в гомогенатах ряду тканин, до яких додавали сироватку крові дослідних тварин. Так, на малюнку видно, що АФ має мінімальну активність протягом перших 2 хв після впливу на слизову поверхню ШКТ гіпотонічною рідиною. За цей інтервал часу сироватка крові активує Na^+ , K^+ -АТФазу епітеліоцитів проксимальної та дистальної ділянок тонкої кишки та нейронів головного мозку на 34, 38 та 46 % відповідно. Через 5 хв активуюча дія сироватки на фермент досягає максимального значення: приріст активності складає 108, 119 та 133 %. Через 10 хв ефекту вже не було.

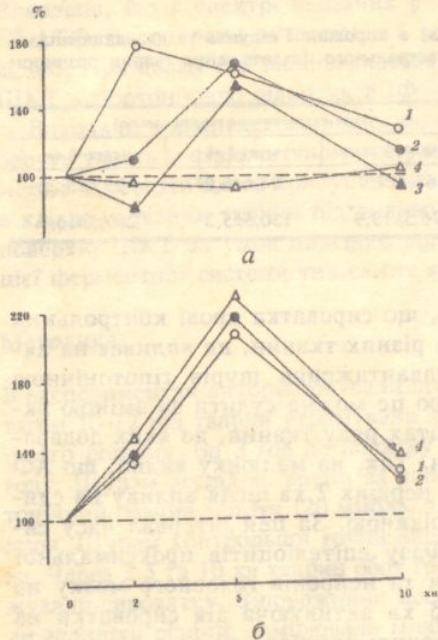
Таблиця 2. Динаміка активності Na^+ , K^+ -АТФази в клітинах різних тканин під впливом внутрішньогастрального навантаження щурів розчином маніту (20 ммоль/л)

Об'єкт дослідження	Активність ферменту, $\mu\text{моль Р}_i \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{год}^{-1}$					
	до навантаження	через 2 хв після навантаження	до навантаження	через 5 хв після навантаження	до навантаження	через 10 хв після навантаження
Слизова поверхня тонкої кишки:						
проксимальна ділянка	15,0±1,7	26,7±2,8**	15,7±1,3	25,3±1,6**	14,1±0,8	17,9±1,4*
дистальна ділянка	7,6±0,8	8,4±1,1	9,6±1,1	15,5±1,8*	6,5±0,5	7,5±0,5
Кора нирок	13,0±1,8	10,5±0,6**	14,8±1,1**	23,0±1,4	10,9±2,2	10,1±1,1
Сіра речовина головного мозку	13,9±1,2	13,3±0,9	14,2±1,4	12,3±1,1	12,8±1,3	13,2±1,1

Примітки: число визначень в кожній серії експериментів не менше 10; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що діяння гіпотонічною рідиною на ШКТ викликає підвищення активності Na^+ , K^+ -АТФази в клітинах слизової оболонки тонкої кишки та нирок, а фермент нейронів головного мозку в цій реакції участі не приймає. Активацію Na^+ , K^+ -АТФази ентероцитів, які безпосередньо контактують з анізотонічною рідиною (клітини проксимальної ділянки тонкої кишки), можна пояснити тим, що фермент, який вивчали бере участь у механізмі об'ємної регуляції клітини [4, 9, 10, 12]. Непряма активація Na^+ , K^+ -АТФази (клітини не контактують з осмотичним подразником)

відбувається, вірогідно, за участю АФ, який з'являється в крові у відповідь на гіпоосмотичну стимуляцію слизової поверхні ШКТ. Факт чутливості Na^+ , K^+ -АТФаза клітин сірої речовини головного мозку до



АФ за умов *in vitro* наводить на думку, що АФ за умов цілісного організму не може досягти нервових клітин внаслідок недостатньої проникності гематоенцефалічного бар'єру для даної речовини. Поява АФ в сироватці крові щурів у відповідь на гіпоосмотичне подразнення слизової поверхні ШКТ дає підставу припустити, що кишечник може включатися в осморегуляцію не тільки як ре-

Динаміка активності Na^+ , K^+ -АТФази (а, %) в клітинах слизової оболонки дванадцятипалої кишки (1), дистальної ділянки тонкої кишки (2), кори нирок (3) та мозку (4) протягом 10 хв після внутрішньогастрального введення щурам гіпотонічної розчину маніту (а) та чутливість цього ферменту (б) до його активатора в клітинах тих самих тканин в досліді *in vitro*.

флексогенна зона [1, 3, 8], але й як продуцент фізіологічно активних речовин, які контролюють водно-електролітний обмін клітин на рівні Na^+ , K^+ -АТФазної ферментної системи.

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

EFFECT OF HYPOOSMOTIC STIMULATION OF THE GASTROENTERIC TRACT MUCOSA ON THE ACTIVITY OF Na^+ , K^+ -ATPASE OF INTWSTINAL AND KIDNEY CORTEX EPITHELIAL CELLS IN RATS

The experiments on Wistar rats have shown that intragastral injection with mannitol hypotonic solution (20 mmol/l) causes the significant activation of Na^+ , K^+ -ATPase of duodenum and distal intestine epithelial cells, kidney cortex cells, but does not affect the brain cortex of Na^+ , K^+ -ATPase activity. Simultaneously the activator of enzyme (AE) enters blood serum of rats, its activity is revealed by duodenal and intestinal mucosa released to blood after stimulation of mucosal surface by hypotonic solutions and included into the osmoregulation processes on the Na^+ , K^+ -ATPase level.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Берхин Е.Б. Фармакология почек и ее физиологические основы. — М., 1979. — 243 с.
2. Бутусова И.А., Яременко М.С. К механизму осмотической стимуляции секреции гастринна изолированной двенадцатиперстной кишки крысы // Тр. IV Всесоюз. съезда гастроэнтерологов. — М.-Л., 1990. — С. 164-165.
3. Великанова Л.К. Осморцепторы. — Новосибирск, — 1985. — 156 с.
4. Орлов С.Н., Покудин Н.И., Ряжский Г.Г. и др. О механизме регуляции транспорта ионов через плазматическую мембрану при изменении объема клетки // Биол. мембраны. — 1988. — 5, № 10. — С. 1030-1041.
5. Палладин А.В., Кирсенко О.В., Вавилова Г.Л. Na^+ - K^+ -активируемая. — АТФаза мозга и извлечение ее с помощью детергентов // Биохимия. — 1970. — 35, вып. 2. — С. 404-411.

6. Прокопенко О.Н., Харламова минеральной воды нафтуса и кишки крысы // Физиол. журн. — 1992. — 38, № 6.
7. Резник Л.В., Мязина Е.М. Утилизация каналов // Вопр. мед. химии. — 1988. — 5, № 10. — С. 1030-1041.
8. Яременко М.С. О рефлекторной регуляции секреции гастринна. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Киев, 1990.
9. Aghajanian A.S., Sulejmanian Biochem. and Physiol. — 1971. — 10, № 1. — С. 1-10.
10. Macknight A.D., Leaf A. Regul. — P. 510-573.
11. Matsujama T., Namba M., S. Hormone and Metab. Res. — 1971. — 1, № 1. — С. 1-10.
12. Proverbio F., Proverbio T., Me its relationship with the cell vol. — 1988. — 5, № 10. — С. 1030-1041.
13. Teichmann R.K., Swieresek G. and secretin release and on gas. — 1988. — 5, № 10. — С. 1030-1041.
14. Yaremenko M., Kharlamova G. ATPase activity in rat enteroc. Physiol. — Praha. — 1990. — 10, № 1. — С. 1-10.

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

6. Прокопенко О.Н., Харламова О.Н., Яременко М.С. Прямое и опосредованное действие минеральной воды нафтуса и ее компонентов на натрий-калиевый насос эпителия тонкой кишки крысы // Физиол. журн. — 1990. — 36, № 2. — С. 56-63.
7. Резник Л.В., Мязина Е.М. Угнетение активности Na^+ , K^+ -АТФазы блокаторами натриевых каналов // Вопр. мед. химии. — 1985. — № 4. — С. 122-124.
8. Яременко М.С. О рефлекторных связях между желудочно-кишечным трактом и почками: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Киев, 1962. — 24 с.
9. Ayrarayan S.N., Sulejmanian M.A. On the pump-induced cell volume changes // Comp. Biochem. and Physiol. — 1979. — 64, № 2. — P. 571-579.
10. Macknight A.D., Leaf A. Regulation of cellular volume // Physiol. Rev. — 1977. — 57, № 3. — P. 510-573.
11. Matsujama T., Namba M., Shima K. et al. Release of gut GLI by luminal hypotonicity // Hormone and Metab. Res. — 1981. — 13, P. 471-472.
12. Proverbio F., Proverbio T., Metteo R.G. et al. Na-pump activity in rat kidney cortex cells and its relationship with the cell volume // FEBS Lett. — 1988. — 236, № 2. — P. 318-320.
13. Teichmann R.K., Swieresek G.S., Rayford P.L. et al. Effect of duodenal osmolality on gastrin and secretin release and on gastric and pancreatic secretion // World J. Med. — 1979. — 3, № 8. — P. 623-630.
14. Yaremenko M., Kharlamova O., Vavilova G., Prokopenko O. Osmotic regulation of Na^+ , K^+ -ATPase activity in rat enterocytes // Comptes Rendus. Reunion Commune. Association des Physiol. — Praha. — 1990. — P. 180.

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

Матеріал надійшов
до редакції 03.03.92