

Дослідження впливу антагоністів кальцію та калієвої деполяризації плазматичних мембран на екструзію пепсиногену диспергованими залозами шлунка

Изучали влияние бескальцевой среды, антагонистов кальция (La^{3+} , Mn^{2+} , нифедипин, нитрендипин, верапамил) и калиевой деполяризации на экструзию пепсиногена диспергированными железами желудка морских свинок. Полученные результаты не свидетельствуют в пользу потенциало-зависимого входа Ca^{2+} в клетки желудочных желез. Вероятно, вход кальция в клетки этих желез осуществляется через хемочувствительные кальцевые каналы.

Вступ

Встановлено, що стимуляція секреції клітин травних залоз нейро-медіаторами та гормонами викликає підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} , який забезпечує спряження стимул — секреція [1, 5, 9, 15]. Попередніми нашими дослідженнями встановлено [2], що в активації екструзії пепсиногену секреторними клітинами шлунка бере участь позаклітинний кальцій та кальцій внутрішньоклітинних депо.

Відомо, що вхід позаклітинного кальцію в збудливі клітини, зокрема в нервові і гладком'язові, може відбуватися через потенціалозалежні і хемочутливі кальцеві канали [3, 4, 7, 12]. Як свідчать експериментальні дані, калієва деполяризація плазматичних мембран ряду ендокринних клітин стимулює секрецію гормонів, а блокатори потенціалозалежних каналів (фенілалкіламіни, дигідропіридини) пригнічують її, а також і секрецію тиреотропного гормону гіпофіза [8], інсуліну [11, 13], соматостатину і гастрину [10].

Метою нашої роботи було вивчити вплив безкальцевого середовища, антагоністів кальцію (La^{3+} , Mn^{2+} , нифедипін, нитрендипін, верапаміл) і калієвої деполяризації на екструзію пепсиногену диспергованими залозами шлунка.

Методика

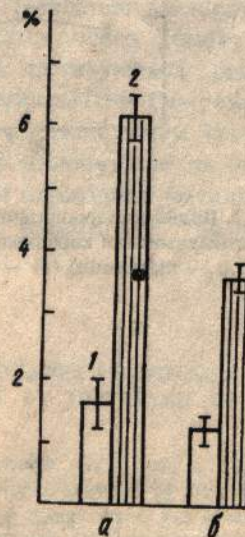
Дослідження проводили на диспергованих залозах шлунка морських свинок. Видалення залоз та оцінку їх життєздатності здійснювали, як описано нами раніше [2]. Отримані залози диспергували в середовищі інкубації в розрахунку 2—3 мг сухого залишку на 1 мл середовища. Базове середовище інкубації містило (ммоль/л): NaCl — 132,4; KCl — 5,4; Na_2HPO_4 — 5,0; NaH_2PO_4 — 1,0; MgSO_4 — 1,2; CaCl_2 — 1,0; триоксиметиламінометан (*trp*) — 5,0; альбумін — 2 мг/мл, глюкоза — 2 мг/мл; рН 7,5. Калієву деполяризацію клітин шлункових залоз викликали внесенням KCl у середовище інкубації клітин. У контрольних дослідах для підтримання одиначової осмолярності в середовище інкубації замість KCl вносили в еквімолярній кількості холінхлорид. У дослідах із катіонами металів (La^{3+} ,

Mn^{2+}) фосфати й сульфати у середовищі заміняли на еквімолярну кількість $NaCl$ і $MgCl_2$, а концентрацію *трис* збільшували до 10 ммоль/л. Вивчення екструзії пепсиногену диспергованими шлунковими залозами проводили в інкубаційних колбах, загазованих киснем за умов легкого струшування при 37°C. Інтенсивність екструзії пепсиногену оцінювали за приростом протеолітичної активності середовища інкубації, який виражали у відсотках від сумарної протеолітичної активності тритонового лізату суспензії залоз шлунка. Протеолітичну активність визначали за методом Енсона в модифікації Чернікова (цит. за [6]). Результати обробляли статистично з використанням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення

Отримані результати свідчать, що інкубація диспергованих шлункових залоз у безкальцієвому середовищі, яке містило кальцієвий хелатор — етилендіolkольдіамінотетраацетат (ЕГТА, 0,25 ммоль/л) супроводжувалася зменшенням екструзії пепсиногену, стимульованої карбохоліном (10^{-4} моль/л) у середньому на 45 % (мал. 1). Приблизно таке ж зменшення стимульованої карбохоліном екструзії пепсиногену (на 45—50 %) спостерігалася після внесення в середовище інкубації залоз неорганічних антагоністів кальцію — La^{3+} і Mn^{2+} (10^{-4} моль/л). У безкальцієвому середовищі вплив катіонів La^{3+} і Mn^{2+} на екструзію пепсиногену диспергованими залозами був значно меншим (таблиця). Слід відмітити, що пригнічення екструзії пепсиногену катіонами La^{3+} і Mn^{2+} вказаної концентрації зумовлено, в основному, блокадою входу в секреторні клітини позаклітинного кальцію.

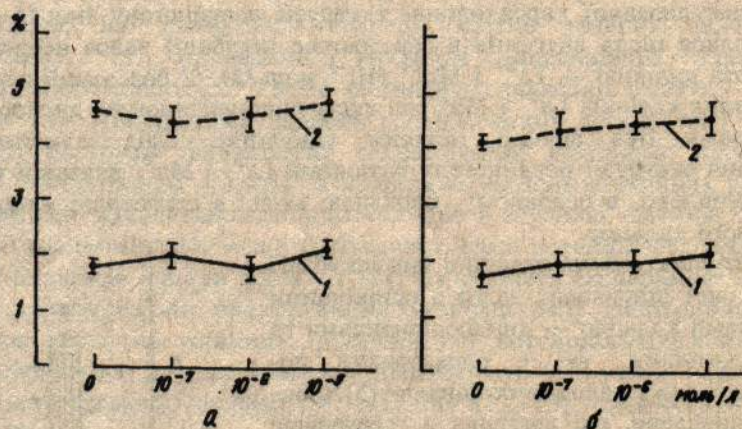
Інші результати були отримані при інкубації диспергованих шлункових залоз з органічними антагоністами кальцію — дигідропіридинами та фенілалкіламінами, які є блокаторами потенціалозалежних кальцієвих каналів [3]. Зокрема, встановлено, що внесення в середовище інкубації диспергованих залоз похідних дигідропіридину (ніфедипін, нітрендипін) у концентраціях 10^{-7} — 10^{-5} моль/л істотно не впливало на спонтанну і стимульовану карбохоліном (10^{-4} моль/л) екструзію пепсиногену (мал. 2). За умов малої концентрації (10^{-6} моль/л) верапамілу, який належить до фенілалкіламіну, також не відбувалося змін екструзії пепсиногену диспергованими залозами (мал. 3). Разом із тим при більш високих його концентраціях (10^{-5} — 10^{-4} моль/л) він викликав різке збільшення спонтанної та стимульованої карбохоліном екструзії пепсиногену. Стимулюючий ефект верапамілу спостерігався в кальцієвому, і в безкальцієвому середовищах інкубації. Це свідчить, що він не пов'язаний з активацією входу в клітини позаклітинного кальцію. Не виключено, що в основі стимулюючого ефекту верапамілу на екструзію пепсиногену лежить його здатність пригнічувати АТФазну активність у клітинах шлунка [13].



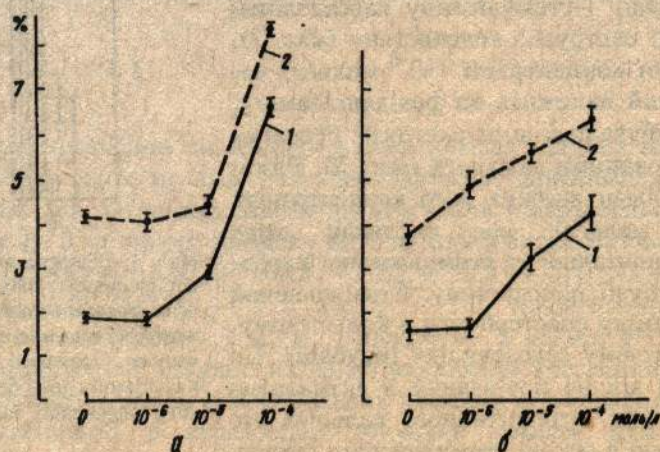
Мал. 1. Відносна активність (%) від сумарної) спонтанної (1) і стимульованої карбохоліном (2) екструзії пепсиногену диспергованими залозами шлунка в кальцієвому (а) і безкальцієвому (б) середовищах (n=6).

Вплив катіонів металів на екструзію (%) пепсиногену диспергованими залозами шлунка ($M \pm m$, $n=6$)

Умова досліду	Екструзія		Приріст стимульованої екструзії
	спонтанна	стимульована карбохоліном (10^{-4} моль/л)	
Кальцієве середовище, 10^{-3} моль/л	$1,86 \pm 0,19$	$4,14 \pm 0,17$	2,28
Кальцієве середовище, La^{3+} , 10^{-4} моль/л	$1,77 \pm 0,17$	$2,79 \pm 0,28$	1,02
Кальцієве середовище, Mn^{2+} , 10^{-4} моль/л	$1,43 \pm 0,19$	$2,76 \pm 0,28$	1,33
Безкальцієве середовище	$1,11 \pm 0,08$	$2,12 \pm 0,23$	1,01
Безкальцієве середовище, La^{3+} , 10^{-4} моль/л	$1,32 \pm 0,05$	$2,17 \pm 0,11$	0,85
Безкальцієве середовище, Mn^{2+} , 10^{-4} моль/л	$1,38 \pm 0,09$	$2,69 \pm 0,24$	1,31

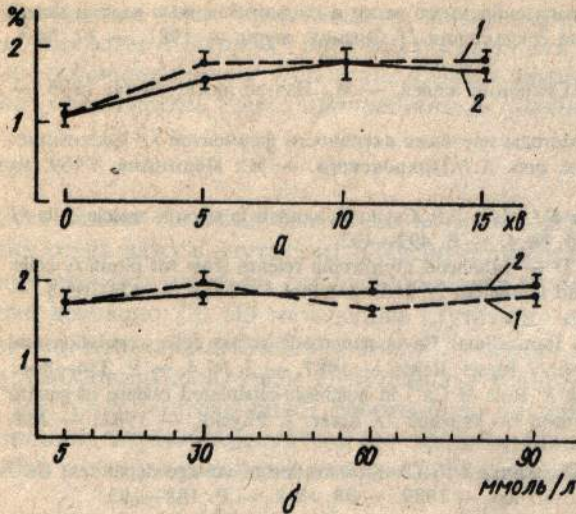


Мал. 2. Вплив дигідропіридинів (моль/л) на відносну активність (%) від сумарної спонтанної (1) і стимульованої карбохоліном (2) екструзії пепсиногену диспергованими залозами шлунка ($n=4$): а — ніфедипін, б — нітрендипін.



Мал. 3. Вплив верапамілу на відносну активність (%) від сумарної спонтанної (1) і стимульованої карбохоліном (2) екструзії пепсиногену диспергованими залозами шлунка в кальцієвому (а) і безкальцієвому (б) середовищах ($n=4$).

Деполаризація плазматичних мембран секреторних клітин за умов кінцевої концентрації 30—90 ммоль/л KCl в середовищі інкубації залоз також істотно не змінювала екструзію пепсиногену порівняно екструзією в контрольних дослідах, в яких замість KCl в середовище інкубації вносили еквімолярну кількість холінхлориду (мал. 4).



Мал. 4. Вплив гіперкалієвого середовища (1 — KCl, 2 — холінхлорид) на відносну активність (%) від сумарної екструзії пепсиногену диспергованими залозами шлунка залежно від часу інкубації (а, хв) та від концентрації K^+ у середовищі (б, ммоль/л). Концентрація KCl і холінхлориду в середовищі інкубації залоз — 90 ммоль/л, $n=4$. Час інкубації залоз 20 хв, $n=6$.

Отримані результати свідчать про відсутність потенціалозалежного входу іонів Ca^{2+} у секреторні клітини шлункових залоз. Найбільш ймовірно, що вхід Ca^{2+} у клітини шлункових залоз здійснюється через хемочутливі кальцієві канали плазматичної мембрани, які активуються різними фізіологічними стимулами, як це показано для інших клітин (зокрема для гладеньких м'язів і кардіоміоцитів [3, 4, 7]), та ацетилхоліном (клітини шлункових залоз). Як відомо [3, 7], такі канали малочутливі до фенілалкіламінів і дигідропіридинів. Разом із тим катіони перехідних металів можуть порушувати їх провідність, конкуруючи з іонами Ca^{2+} за місця зв'язування з аніонними групами каналу.

L.O.Dubitsky, G.I.Sabadash

STUDY OF THE EFFECT OF CALCIUM ANTAGONISTS AND POTASSIUM DEPOLARIZATION OF PLASMA MEMBRANES ON PEPSINOGEN EXTRUSION BY DISPERSED GASTRIC GLANDS

The effect exerted by the calcium-free medium, calcium antagonists (La^{3+} , Mn^{2+} , nifedipin, nitrendipin, verapamil) and by potassium depolarization on the pepsinogen extrusion by the dispersed gastric glands of quinea pigs has been investigated. The obtained results prove the absence of potential-dependent Ca^{2+} transport into the gastric gland cells. Apparently Ca^{2+} -transport into these cells is mediated by the chemosensitive Ca^{2+} channels.

I.Franko University of Lviv,
Ministry of Education of Ukraine

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гриньків М.Я. Роль кальція в механізмі екструзії пищеварительных ферментов клетками поджелудочной железы: Автореф. дис. ... канд.биол.наук. — Львов, 1989. — 16 с.
2. Дубицький Л.О., Шостаковська І.В. Дослідження ролі зовнішньо- і внутрішньоклітинного кальцію в екструзії пепсиногена ізольованими залозами шлунка // Физиол. журн. — 1992. — 38, № 1. — С. 46—51.
3. Костиук П.Г. Кальций и клеточная возбудимость. — М.: Наука, 1986. — 256 с.
4. Шуба М.Ф. Пути и механизмы трансмембранного входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения // Физиол. журн. — 1981. — 27, № 4. — С. 533—541.
5. Шубникова Е.А., Коротько Г.Ф. Секреция желез. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1986. — 131 с.
6. Покровский А.А., Алтекер С.Г. Методы изучения активности ферментов // Биохимические методы исследования / Под. ред. А.А.Покровского. — М.: Медицина, 1969. — С. 107—218.
7. Bolton T.B., Mackenzie I., Anrson P.I., Lim S.P. Calcium channels in smooth muscle cells // Biochem. Soc. Trans. — 1988. — 16, № 4. — P. 492—493.
8. D'Emden M.C., Wark Y.D. Vitamin D — enhanced thyrotropin release from rat pituitary cells: effects of Ca^{2+} , dihydropyridines and ionomycin // J. Endocrinol. — 1989. — 121, № 3. — P. 441—450.
9. Dormer R., Rown G., Donghney C. Intracellular Ca in pancreatic acinar cells: regulation and role in stimulation of enzyme secretion // Biosci. Repts. — 1987. — 7, № 4. — P. 334—344.
10. Guo Yau-Shi, Thompson J.C., Singh P. Role of Ca^{2+} in bombesin-stimulated release of gastrin and somatostatin from isolated perfused rat stomach // Amer. J. Physiol. — 1988. — 255, № 5, Pt 1. — P. G627—G632.
11. Kealey H.H., Rajon A.S., Boud A.E., Kunze D.J. Characterization of voltage-dependent Ca^{2+} channels channel sin β -cells line // Diabetes. — 1989. — 38, № 2. — P. 188—193.
12. Kleppisch T., Gollasch M., Lewinsohn D. et al. Spannungs — bhangige Ca-kanale: G — Protein — vermittelte Modulation durch Hormone, Transmitter und Mediatoren // Wiss. Z. Humboldt Univ. Berlin Med. R. — 1992. — 41, № 3. — P. 15—22.
13. Nandi Y., King R.L., Kaplan D.S., Levine R.A. Mechanisms of gastric proton pump inhibition by calcium channel antagonists // J. Pharmacol and Exp. Therap. — 1990. — 252, № 3. — P. 1102—1107.
14. Plant T.D. Properties and calcium-dependent inactivation of calcium currents in cultured mouse pancreatic B-cells // J. Physiol. — 1988. — 404. — P. 731—747.
15. Williams J., Burnham D. Calcium and stimulus — secretion coupling in pancreatic acinar cells // Calcium Biol. Sust. Proc. 67. th Annu. Mech. Fed. Amer. Soc. Environ. Biol. — (Chicago, Ill, 10—15 Apr., 1983). — New York, London, 1985. — P. 83—91.

Львів. ун-т ім. І.Франка
М-ва освіти України

Матеріал надійшов
до редакції 02.12.93

УДК 577.152.042:577.152.18: 616-099: 547.262

В.В.Соколовська, С.А.Петров

Активация глутатионредуктазы за умов гострої алкогольної інтоксикації

В опытах, проведенных на крысах, изучали влияние острой алкогольной интоксикации на активность цитоплазматической и митохондриальной форм глутатионредуктазы. Установлена активация этого фермента при действии алкоголя. В опытах *in vitro* данный эффект был подтвержден. При изучении флавинового статуса тканей в условиях действия острой алкогольной интоксикации наблюдали уменьшение общего содержания флавинов и, в частности, флавинадениннуклеотида (ФАД) в тканях

© В.В.СОКОЛОВСЬКА, С.А.ПЕТРОВ, 1995