

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1990

Volume 36 issue 2

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

17. Ilyas M. S., Iglesia F. A. D., Feuer G. // Toxicol. appl. Pharmacol.— 1978.— Vol. 45, N 1.— P. 69—77.
18. Kato R., Takanaka A., Onoda K. // Biochem. Pharmacol.— 1971.— Vol. 20.— P. 447—458.
19. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem.— 1951.— Vol. 193, N 1.— P. 265—275.
20. Marshall W. J., McLean A. E. M. // Biochem. J.— 1971.— Vol. 122, N 4.— P. 569—573.
21. McCauley R., Couri D. // Biochim. biophys. Acta.— 1971.— Vol. 238, N 2.— P. 233—244.
22. Omura T., Sato R. // J. biol. Chem.— 1964.— Vol. 239, N 7.— P. 2370—2378.
23. Orrenius S., Ericsson J. L. E., Ernster L. // J. Cell. Biol.— 1965.— Vol. 25, N 3.— P. 627—633.
24. Pelkonen O., Karki N. T. // Chem.-Biol. Interact.— 1973.— Vol. 7, N 1.— P. 93—99.
25. Saito R., Estes L. W., Lombardi B. // Biochim. biophys. Acta.— 1975.— Vol. 381, N 1.— P. 185—194.
26. Schenkman J. B., Remmer H., Estabrook R. W. // Molec. Pharmacol.— 1967.— Vol. 3.— P. 113—123.

Поступила 06.02.89

# EFFECT OF $\alpha$ -TOCOPHEROL AND LIDOCAINE ON STRUCTURE-FUNCTIONAL ALTERATIONS IN LIVER TISSUE ENDOPLASMIC RETICULUM MEMBRANES AFTER INDUCTION WITH PHENOBARBITAL DURING POSTISCHEMIC PERIOD

V. I. Sharapov, O. R. Grek, A. A. Zykov

Institute of Physiology, Siberian Branch of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Medical School, Novosibirsk

Inhibition of an increase in total content of unsaturated fatty acids in microsomal lipids induced by phenobarbital, alterations of parameters of the fluorescent probe 1,8-ANS-binding with membranes as well as restrictions in induction of liver microsomal monooxygenase enzymatic system were detected during postischemic period after total liver tissue ischemia. Preadministration of  $\alpha$ -tocopherol and lidocaine prevented distinctly the structure-functional alterations induced by phenobarbital in liver microsomal membranes during postischemic period. Possible factors responsible for limitations of the phenobarbital inducing effect during postischemic period are discussed.

© Л. С. ДОЛМАТОВА, 1990

УДК 615.276.3.015.2:615.919:579.843.11.015.4:616.344-018.73-008.94:577.175.859].076.9

Л. С. Долматова

## ВЛИЯНИЕ ИНДОМЕТАЦИНА НА АКТИВНОСТЬ $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ - И $\text{HCO}_3^-$ -АТФаз И СОДЕРЖАНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХОЛЕРНОГО ЭКЗОТОКСИНА

Горнотаежная станция Дальневосточного научного центра АН СССР, Владивосток

Важными регуляторами процессов транспорта электролитов и воды в кишечнике являются простагландины (ПГ) [13]. Попытки исследования их роли в диареогенном действии холерного экзотоксина (ХТ) с использованием ингибиторов биосинтеза ПГ привели к противоречивым результатам [4, 6]. Показано, что индометацин снижает секрецию, вызываемую ХТ, примерно на 80 % [15], увеличивает всасывание жидкости в контрольной петле [15]. Когда индометацин подавляет эффекты ХТ, снижения уровня цАМФ не происходит [9, 15]. Предполагают, что либо индометацин ингибирует ПГ-зависимое звено в секреторном про-

цессе, по времени следующее за синтезом цАМФ, либо оказывает свое влияние на другие механизмы, вовлеченные в секреторный процесс, не зависящие от ПГ-синтеза [9, 15]. Так, полагают [5], что ингибиторы биосинтеза ПГ могут действовать непосредственно на мембрану или ион-транспортные насосы.

Цель настоящей работы — изучение действия ХТ на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - и  $\text{HCO}_3^-$ -АТФаз в сопоставлении с уровнями ПГ в ткани слизистой оболочки подвздошной кишки крыс на фоне предварительного введенного индометацина.

## Методика

Опыты проводили на беспородных крысах-самцах массой 180—220 г. Холерную диарею вызывали по ранее описанному методу [2] без перевязки кишки. ХТ («Schwarzmann», ФРГ) вводили в дозе 100 мкг на животное внутрикнишно. Операцию производили под тиопенталовым наркозом (60 мг/кг). Контрольные животные получали внутрикнишно физиологический раствор. В отдельной группе опытов за 1 ч до введения ХТ животные получали индометацин («Sigma», США) в дозе 10 мг/кг. Животных забивали путем деканитации через 1 ч после введения токсина или физиологического раствора. Дальнейшую работу проводили при 4 °С. Для определения активности ферментов слизистую оболочку подвздошной кишки соскребали и гомогенизировали в 5 мМ растворе ЭДТА (рН 7,4) с использованием механического гомогенизатора Поттера с тефлоновым пестиком («Вгауп», ФРГ). Активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы измеряли на основе метода [7],  $\text{HCO}_3^-$ -АТФазы — по модифицированному методу [8] с использованием 50 мМ  $\text{HCO}_3^-$ . Содержание неорганического фосфата ( $\text{P}_i$ ) определяли по методу [12], белка — по [10].

Для определения содержания ПГ часть подвздошной кишки вырезали и опускали в сосуд Дьюара с жидким азотом. Замороженный таким образом материал хранили при —40 °С до проведения анализа. Затем ткань растирали в фарфоровой ступке в жидком азоте, быстро взвешивали определенное количество (200 мг) и помещали в пробирку с 2 мл охлажденной смеси этанол — вода в соотношении 1:2 (вес:объем). Пробу подкисляли муравьиной кислотой до рН 3,5 [2]. После центрифугирования объединенные органические фракции выпаривали в вакууме при температуре 55 °С до полного исчезновения запаха. К осадку добавляли 0,2 мл 2,5 % раствора метанола в хлороформе. Для разделения суммарного экстракта ПГ на группы использовали колоночную хроматографию на кремниевой кислоте, как описано в работе [3]. Определение содержания ПГ в пробах осуществляли радиоиммунным методом с использованием наборов «Clinical Assays» и «New England Nuclear» (США). Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием критерия *t*-Стьюдента.

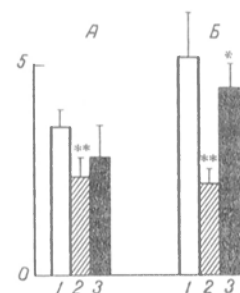
## Результаты и обсуждение

На рисунке показано, что ХТ через 1 ч опыта ингибирует активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы на 29 % ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. Премедикация же индометацином полностью предотвращает этот эффект ХТ.

ХТ вызывает также ингибирование активности  $\text{HCO}_3^-$ -АТФазы на 57 % ( $p < 0,01$ ; см. рисунок), на фоне индометацина — только на 23 % по сравнению с контролем. Эффект индометацина по сниже-

Активность АТФаз у контрольных оперированных крыс (1), при действии ХТ (2) и ХТ на фоне индометацина (3).

По оси ординат — активность АТФаз (в мкмоль  $\text{P}_i$ /ч на 1 мг белка). а —  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза, б —  $\text{HCO}_3^-$ -АТФаза. Одна звездочка —  $p < 0,05$ , две —  $p < 0,01$  по сравнению с контролем.



| Вводимое вещество | Содержание ПГ, нг/мг ткани |                      |                          |                      |
|-------------------|----------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
|                   | ПГF <sub>2α</sub>          | ПГЕ                  | 6-кето-ПГF <sub>1α</sub> | ТхВ <sub>2</sub>     |
| Контроль          | 7,81±0,81<br>(8)           | 37,59±0,88<br>(8)    | 18,72±1,27<br>(8)        | 6,26±0,29<br>(8)     |
| ХТ                | 65,60±15,30*,**<br>(8)     | 9,41±0,46<br>(8)     | 21,33±1,43<br>(5)        | 4,04±0,40<br>(7)     |
| ХТ+индометацин    | 24,19±2,37*,**<br>(9)      | 9,60±0,49*,**<br>(7) | 5,03±0,32*,**<br>(8)     | 0,94±0,01*,**<br>(9) |

Примечание. В скобках — число опытов. Одна звездочка —  $p < 0,01$  по сравнению с контролем, две — по сравнению с показателями после введения ХТ.

нию ингибирующего действия ХТ является достоверным ( $p < 0,05$ ).

При исследовании влияния индометацина на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы было показано, что *in vitro* индометацин в ряде тканей ингибирует активность фермента [14]. Поскольку в наших опытах индометацин, наоборот, предотвращал вызываемое ХТ снижение активности ферментов, то более вероятно, что индометацин в этих условиях действует на ферменты опосредованно. Ранее было показано, что на фоне индометацина ХТ не только не активирует биосинтез ПГ, но уровень последнего даже снижается в среднем на 80 % по сравнению с контролем [2]. Однако из литературы известно, что различные типы ПГ оказывают различное влияние на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы [1]. В связи с этим представляло интерес выявить изменения содержания отдельных типов ПГ в слизистой оболочке подвздошной кишки крыс при действии ХТ на фоне индометацина и без него.

Выяснилось, что степень снижения содержания ПГ была различной (см. таблицу). Так, концентрации ПГЕ, 6-кето-ПГF<sub>1α</sub> и ТхВ<sub>2</sub> снижаются не только по сравнению с действием одного ХТ, но и значительно ниже контрольных значений: соответственно на 76, 73 и 85 %. Содержание же ПГF<sub>2α</sub> хотя и снижается на 63 % по сравнению с действием одного ХТ, остается достоверно выше контрольного уровня. Можно предположить, что индометацин не предотвращает полностью ингибирование ХТ активности  $\text{HCO}_3^-$ -АТФазы в связи с тем, что в данный экспериментальный срок он только частично уменьшает концентрацию ПГF<sub>2α</sub>. Ранее нами показано, что данный ПГ может снижать активность  $\text{HCO}_3^-$ , но не  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы [1]. Отсутствие же влияния ХТ на активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы на фоне премедикации индометацином может быть объяснено снижением содержания всех остальных ПГ по сравнению с действием одного ХТ.

Сопоставление данных о действии индометацина на активность АТФаз и уровень ПГ в слизистой оболочке подвздошной кишки крыс в условиях действия ХТ приводит к заключению, что антисекреторное действие индометацина осуществляется, по-видимому, через ПГ-зависимое звено.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Долматова Л. С., Помойнецкий В. Д. // Синтез и исследования простагландинов. — Таллинн, 1985. — С. 166.
- Золотухин С. В., Павельский К. Э., Помойнецкий В. Д. и др. // Бюл. exper. биол. — 1983. — № 8. — С. 37—39.
- Помойнецкий В. Д., Некрасова А. А., Панфилов В. Г., Косых В. Г. // Вопр. мед. химии. — 1979. — № 5. — С. 580—584.

4. Dlugolecka M. J. // Pol. J. Pharmacol. Pharm. — 1974. — Vol. 26, N 1. — P. 93—100.
5. Farris R. K., Tapper E. J., Powell D. W., Morris S. M. // J. clin. Invest. — 1976. — Vol. 57, N 4. — P. 916—924.
6. Fink A. D., Katz R. L. // Nature. — 1972. — Vol. 238, N 5362. — P. 273—274.
7. Fujita M., Malsui H., Nagano K., Nakao M. // Biochim. biophys. Acta. — 1971. — Vol. 233, N 2. — P. 404—408.
8. Humphreys M. H., Chon L. Y. N. // Amer. J. Physiol. — 1979. — Vol. 236, N 1. — P. 70—76.
9. Kaura Y. K., Sharma V. K. // Zbl. Bakt. Abt. A. — 1982. — Bd 252, N 1. — S. 35—42.
10. Lowry O. H., Rosebrough W. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, N 1. — P. 265—275.
11. Matsukawa R., Terao N., Hayakawa M., Takiguchi H. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1981. — Vol. 101, N 4. — P. 1305—1310.
12. Rathbun W. B., Bellach M. V. // Analyt. Biochem. — 1969. — Vol. 28, N 1—3. — P. 436—446.
13. Robert A. // Advanc. Prostagland. Thromboxane Res. — 1980. — Vol. 8. — P. 1533—1541.
14. Takahashi H., Terao N., Hayakawa M., Takiguchi H. // Gen. Pharmacol. — 1982. — Vol. 13, N 4. — P. 375—379.
15. Wald A., Gotterer G. S., Rajenda G. R. et al. // Gastroenterology. — 1977. — Vol. 72, N 1. — P. 106—110.

Поступила 16.05.89

#### EFFECT OF INDOMETACIN ON ACTIVITY OF $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -AND $\text{HCO}_3^-$ -ATPASES AND CONTENT OF PROSTAGLANDINS IN RAT ILEUM MUCOSAL MEMBRANE IMPAIRED WITH CHOLERAIC EXOTOXIN

L. S. Dolmatova

Mountain-Taiga Station, Far Eastern Research Centre, Academy of Sciences of the USSR, Vladivostok.

Preadministration of indometacin (10 mg/kg of rat body mass), 1 hr before choleraic toxin injection, removed the toxin inhibitory effect on activity of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase and decreased distinctly its inhibitory action on  $\text{HCO}_3^-$ -ATPase. At the same time, the indometacin premedication caused a decrease in content of prostaglandins ПГЕ, 6-кето-ПГF<sub>1α</sub> and of thromboxane В<sub>2</sub> as compared with the choleraic toxin effect and controls. The data obtained corroborate the hypothesis on antisecretory effect of indometacin occurring via ПГ-dependent mechanism.