

Н. М. МИТЮШОВА, член-корреспондент АН СССР А. М. УГОЛЕВ

ОБРАЗОВАНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ КИШЕЧНЫМИ КЛЕТКАМИ И ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЭТОГО ПРОЦЕССА В ГОМЕОСТАТИРОВАНИИ ЛОКАЛЬНОГО pH

Установлено, что при всасывании глюкозы значительные количества ее трансформируются кишечной стенкой в молочную кислоту (¹⁻³). Этот процесс протекает в аэробных условиях (^{4,5}). В последнее время аэробный гликолиз продемонстрирован и на взвеси эритроцитов (⁶), однако значение его остается неясным.

В двух сериях экспериментов, проведенных ранее в нашей лаборатории, были обнаружены факты, позволившие предположить, что аэробная продукция молочной кислоты кишечными клетками может быть связана с регулированием локального pH. В частности, было установлено, что: 1) при инкубации кишечных клеток в растворах Рингера с кислыми или щелочными значениями pH наблюдается закономерное смещение pH растворов в область нейтральных значений; 2) инвертазная активность слизистой в меньшей степени зависит от pH среды, чем активность солибилизованного фермента, где зона оптимальных значений сужена (⁷).

Однако приведенные данные являются лишь косвенным свидетельством возможности существования механизма, обеспечивающего гомеостатирование околоклеточной среды эритроцитов. В настоящей работе было предпринято прямое исследование влияния pH среды на образование молочной кислоты суспензией изолированных кишечных клеток и гомогенатами, полученными из этой суспензии. Кроме того, сопоставлено образование молочной кислоты при различных значениях pH с инвертазной активностью кишечных клеток при этих же условиях.

Опыты были проведены на белых крысах линии Вистар весом 180—200 г. Для изоляции клеток использовалась вся тонкая кишка за исключением двенадцатиперстной. Техника изоляции кишечных клеток была описана нами ранее (⁸). Осадок клеток, полученный от одного животного, доводился раствором Рингера до 5 мл. Для опыта объединялись суспензии клеток от нескольких животных. Часть суспензии гомогенизировалась в стеклянном поршневом гомогенизаторе. К 1 мл суспензии эритроцитов добавлялось 3 мл 1-процентного раствора сахарозы, приготовленного на цитратно-фосфатном буфере с pH от 3 до 7,9. Инкубация продолжалась 30 мин. при температуре 37° в условиях аэрации и постоянном перемешивании. Молочная кислота определялась несколько модифицированным методом Баркера и Саммерсона (⁹), инвертазная активность — методом Нельсона в модификации А. М. Уголева (¹⁰), белок — методом Лоури (¹¹).

На рис. 1 приведены результаты типичного опыта в абсолютных величинах, а на рис. 2 — результаты серии опытов (5 опытов) в относительных величинах.

Как видно на рис. 1, кишечные клетки до инкубации содержали 13,7 μ г молочной кислоты на 1 мг белка. После инкубации максимальное количество молочной кислоты в суспензии клеток было обнаружено при pH 7 (33,8 μ г на мг белка). Максимальная скорость образования молочной кислоты составляла при этом 0,67 μ г (0,0074 μ моля) в 1 мин. на 1 мг белка. По данным Иемгоффа с соавторами (⁶), эта величина в зависимости от метода изоляции клеток колебалась от 0,002 до 0,021 μ мол./мин на 1 мг.

Следует указать, что при инкубации эритроцитов в цитратно-фосфатном буфере без сахарозы мы также наблюдали незначительное, но достоверное увеличение молочной кислоты в суспензии (на $24,4 \pm 6,7\%$).

На рис. 2 показана продукция молочной кислоты кишечными клетками и их инвертазная активность при разных значениях pH среды, а также образование молочной кислоты гомогенатами клеток при этих условиях. В каждом опыте этой серии за 100% принимались максимальные приросты молочной кислоты и гексоз. Как можно видеть на рис. 2, прирост молочной кислоты в инкубационной среде начинается с pH 5,3. Между pH 6

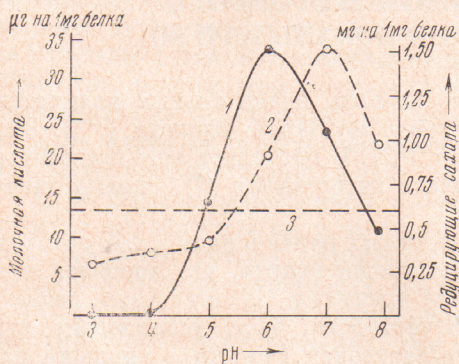


Рис. 1

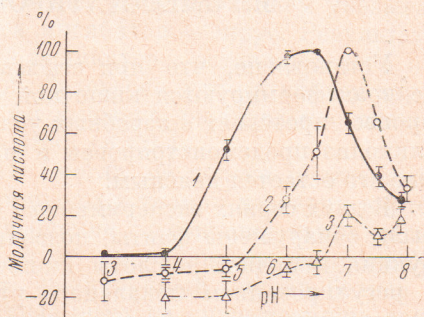


Рис. 2

Рис. 1. Влияние pH среды на продукцию молочной кислоты кишечными клетками и их инвертазную активность. Инкубация 30 мин. 1 — инвертазная активность, 2 — молочная кислота, 3 — количество молочной кислоты в клетках до инкубации

Рис. 2. Влияние pH среды на продукцию молочной кислоты кишечными клетками и их инвертазную активность. 1 — инвертазная активность интактных клеток; 2 — прирост молочной кислоты в суспензии интактных клеток; 3 — прирост молочной кислоты в гомогенате. За 100% приняты максимальные величины для интактных клеток

и 7 имеет место резкое усиление процессов аэробного гликолиза, которое достигает максимума при значениях pH, близких к 7. При щелочных pH продукция молочной кислоты резко уменьшается и при pH 7,9 составляет лишь 33% от максимальной. Таким образом, стимуляция продукции молочной кислоты происходит в сравнительно узком диапазоне pH (от 5,3 до 7). При кислых pH (между 3 и 5) имеет место незначительное, но достоверное уменьшение количества молочной кислоты в суспензии.

При исследовании гомогенатов кишечных клеток были обнаружены следующие особенности влияния pH на продукцию молочной кислоты по сравнению с интактными клетками: максимальная продукция снижена в 5 раз; утилизация молочной кислоты происходит более интенсивно и в более широком диапазоне pH (до 6—6,5); не наблюдается достоверного уменьшения продукции молочной кислоты при щелочных значениях pH.

На рис. 1 и 2 представлены также кривые, характеризующие pH-функцию инвертазы. Как можно видеть, оптимум pH для гидролиза сахарозы находится в интервале 6—6,5 что совпадает с зоной резкой интенсификации аэробного гликолиза в кишечных клетках. Максимум продукции молочной кислоты соответствует нисходящей ветви кривой инвертазной активности.

При рассмотрении основных результатов работы обращает на себя внимание следующее обстоятельство. Аэробный гликолиз в кишечных клетках является pH-зависимым процессом, который обнаруживается в сравнительно узком диапазоне значений pH, приближающихся к физиологическим условиям. Следует учитывать, что pH энтеральной среды близок к 6,5, pH крови и внутриклеточной жидкости 7,3. Характер зависимости продукции молочной кислоты от pH таков, что сдвиг pH околочлеточной

среды вправо приводит к интенсификации аэробного гликолиза и, следовательно, к ацидификации околоклеточной среды. При уменьшении рН продукция молочной кислоты быстро ослабляется, а затем прекращается. При дальнейшем подкислении среды количество молочной кислоты в суспензии уменьшается, что, очевидно, также способствует гомеостатированию рН.

В настоящее время установлено, что инвертаза локализована на внешней поверхности мембраны щеточной каймы (¹). То обстоятельство, что кривая, характеризующая рН-функцию образования молочной кислоты, сдвинута несколько вправо по сравнению с аналогичной кривой инвертазной активности, дает основание предположить, что аэробный гликолиз может быть использован клеткой как механизм, благоприятствующий поддержанию оптимальных условий рН в непосредственной близости от клеточной мембраны путем изменения концентрации молочной кислоты в области щеточной каймы.

Таким образом, условия для осуществления мембранного гидролиза и транспорта в области клеточных поверхностей могут оптимизироваться с помощью рН-зависимого аэробного гликолиза. Этот механизм требует сохранения структурной целостности клетки.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
7 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ T. H. Wilson, *Intestinal Absorption*, Philadelphia — London, 1962. ² G. Wiseman, *Absorption from the Intestine*, London — N.Y., 1964. ³ Н. Ш. Амиров, *Физиол. журн. СССР*, **53**, 705 (1967). ⁴ T. H. Wilson, G. Wiseman, *J. Physiol.*, **123**, 126 (1954). ⁵ T. H. Wilson, *J. Biol. Chem.*, **222**, 751 (1956). ⁶ W. G. J. Lemhoff, J. W. O. Van Den Berg et al., *Biochim. et biophys. acta*, **215**, 229 (1970). ⁷ А. М. Уголев, *Физиология и патология пристеночного пищеварения*, Л., 1967. ⁸ А. М. Уголев, Н. М. Митюшова, И. К. Гозите, *Физиол. журн. СССР*, **55**, 1513 (1969). ⁹ S. B. Barker, W. H. Summerson, *J. Biol. Chem.*, **138**, 535 (1941). ¹⁰ А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова, В кн. *Исследование пищеварительного аппарата у человека*, Л., 1969. ¹¹ O. H. Lowry, J. A. Loper, *J. Biol. Chem.*, **162**, 421 (1946).