

УДК 577.1+612.324

БИОХИМИЯ

Р. И. САЛГАНИК, Р. И. БЕРСИМБАЕВ, С. В. АРГУТИНСКАЯ

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ЖЕЛУДКЕ

(Представлено академиком С. Е. Севериным 23 XI 1971)

Выделение соляной кислоты в желудке животных играет ведущую роль в регуляции деятельности всего пищеварительного тракта ⁽¹⁾. Хотя наличие гастрина — гормона, который стимулирует секрецию соляной кислоты в желудке, было открыто Эдкинсом еще в 1905 г., только недавно Грегори и Трейси смогли изолировать этот гормон из слизистой оболочки желудка ⁽²⁾ и исследовать его структуру. Оказалось, что гастрин представляет собой полипептид, в состав которого входит 17 аминокислот. Было установлено, что С-концевой тетрапептид является ответственным за все физиологические эффекты этого гормона, а присоединение β-аланина к N-концу тетрапептида резко усиливает его активность ⁽³⁾.

Такой синтетический пентапептид (пентагастрин), как β-Ала-Три-Мет-Асп-Фала-НН₂, применяют в качестве полноценного аналога гастрина для физиологических исследований. Мы использовали пентагастрин для изучения механизмов секреции соляной кислоты в желудке крыс. Проведенные нами исследования позволили выявить многоступенчатый характер системы, регулирующей секрецию HCl. Оказалось, что пентагастрин (и, очевидно, гастрин) является индуктором ДНК-зависимого синтеза РНК в тканях желудка. Индуцируемая при этом гистидиндекарбоксилаза обеспечивает, видимо, локальное накопление гистамина, который, как было показано, активирует аденилциклазу. Образующийся в результате этого циклический 3',5'-аденозинмонофосфат (3',5'-АМФ), в свою очередь активирует карбоангидразу, которая и ответственна, очевидно, за образование HCl.

Опыты проводили на самцах белых крыс линии Вистар весом 200—250 г. Секрецию соляной кислоты исследовали путем перфузии желудка наркотизированных уретаном животных по методу, описанному нами ранее ⁽⁴⁾. Об интенсивности синтеза РНК в слизистой желудка судили по включению аденина-С¹⁴. Активность гистидиндекарбоксилазы в слизистой желудка определяли по Кобайаши по количеству С¹⁴О₂, образующегося при декарбоксилировании гистидина-С¹⁴ ⁽⁴⁾. В суспензии ткани желудка крыс, которую готовили по ⁽¹²⁾, определяли активность аденилциклазы по методу Вейса и Коста ⁽¹³⁾ в модификации Розен и Розен ⁽⁵⁾; активность карбоангидразы в слизистой желудка определяли по Рафтон и Бутс ⁽⁶⁾, концентрацию белка — по Лоури.

В работе использовали пентагастрин (ICI 50123) фирмы «Imperial Chemical Industries» (Англия), актиномицин D и циклогексимида — «Serva» (ФРГ), аурантин — опытного производства Института эпидемиологии и микробиологии АМН СССР, 3',5'-АМФ и N⁶-2'-О-дибутирилциклический 3',5'-аденозинмонофосфат (дибутирил-3',5'-АМФ), дигидрохлорид гистамина (0,1% раствор), теофиллин и кофеин — медицинские препараты.

В последние годы показано, что многие гормоны осуществляют свое физиологическое действие на организм, включая или усиливая в клетках-мишенях считывание участков ДНК и, следовательно, синтез определенных молекул РНК, программирующих белки-ферменты, которые реализуют функции данного гормона (⁷, ⁸). Проведенные нами опыты показали, что пентагастрин также действует как генетический индуктор:

Т а б л и ц а 1

Влияние введения пентагастрина и гистамина на синтез РНК в слизистой желудка крыс

№ опыта	Включение аденина-С ¹⁴ , имп/мин на 1 мг РНК			
	контроль	пентагастрин	пентагастрин + аурантин	гистамин
1	89	146	—	—
2	151	212	72	—
3	195	228	122	—
4	117	175	102	—
5	128	—	—	127
6	128	—	—	119
7	71	—	—	72

П р и м е ч а н и е. Каждая величина представляет результат измерений в суммарном гомогенате желудков 2—3 животных.

в дозах, стимулирующих секрецию HCl, этот гормон усиливает синтез РНК в слизистой желудка (табл. 1). Введение ингибитора ДНК-зависимого синтеза РНК — аурантина или актиномицина D, блокирует стимулирующее действие пентагастрина на синтез РНК и секрецию HCl (табл. 1, рис. 1). Оказалось, что пентагастрин индуцирует при этом в слизистой желудка гистидиндекарбоксилазу (табл. 2). Этот эффект пентагастрина также подавлялся аурантином. Гистидиндекарбоксилаза может обеспечивать накопление гистамина в клетках желудка, производящих HCl, и логично предположить, что этот биологический амин

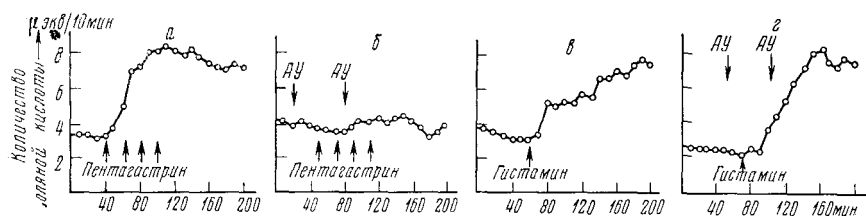


Рис. 1. Секреция соляной кислоты в желудке крыс после инъекции: а — пентагастрина (4 мкг/кг при каждой инъекции), б — пентагастрина (4 мкг/кг) и аурантина (1 мг/кг при первой инъекции и 0,5 мг/кг при второй инъекции), в — гистамина (2 мг/кг), г — гистамина (2 мг/кг) и аурантина (1 мг/кг при первой инъекции и 0,5 мг/кг при второй инъекции). Вертикальные стрелки показывают время инъекций препаратов. Каждая точка на кривой представляет результат обработки 4 опытов. АУ — аурантин

является посредником в действии гастрина. Хорошо известно, что гистамин стимулирует секрецию HCl, однако, как мы убедились, действие его не сопровождается усилением синтеза РНК и не тормозится аурантином (рис. 1, табл. 1).

Недавно было показано, что гистамин в разных тканях стимулирует активность аденилциклазы — фермента, который превращает АТФ в 3',5'-АМФ, и этот циклический нуклеотид реализует физиологические

эффекты гистамина (⁹). Известно, что 3',5'-АМФ является посредником в действии ряда гормонов и биологических аминов (¹⁰). Можно было предположить, что и в желудке действие гистамина опосредовано 3',5'-АМФ. Проведенные нами опыты показали, что гистамин действительно активирует аденилциклазу и накопление 3',5'-АМФ в ткани желудка, пентагастрин также активирует этот фермент (табл. 3). Такой эффект пентагастрина является, вероятно, непрямым и связан, скорее всего, с усилением образования гистамина под действием этого гормона (¹¹).

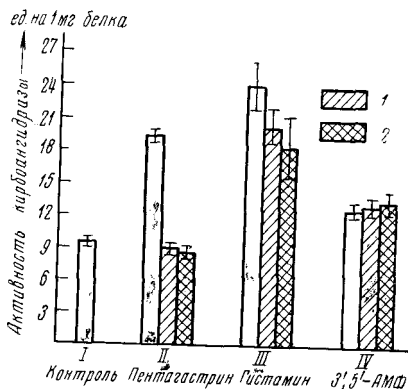


Рис. 2. Влияние актиномицина D (1) и циклогексимида (2) на активность карбоангидразы при введении пентагастрина (II), гистамина (III) и циклического 3',5'-аденозинмонофосфата (IV). I — контроль. Пентагастрин вводили подкожно по 4 мкг на 1 кг веса тела дважды с интервалом в 20 мин., гистамин вводили внутримышечно в дозе 2 мг на 1 кг веса тела. Циклический 3',5'-аденозинмонофосфат (50 мкг/кг), актиномицин D (1,5 мг/кг) и циклогексимида (700 мкг/кг) вводили внутривенно.

В ряде исследований показана способность 3',5'-АМФ стимулировать секрецию HCl (¹²). Мы установили, что кофеин и теофиллин — ингибиторы фосфодиэстеразы 3',5'-АМФ — увеличивают накопление этого нуклеотида в слизистой желудка (¹¹). С этим действием кофеина и теофиллина, очевидно, связана их способность усиливать выделение HCl. Из приведенных данных можно было заключить, что 3',5'-АМФ в этой регуляторной цепи является вторым после гистамина посредником гастрина в его действии на секрецию HCl.

Таблица 2

Влияние введения пентагастрина на активность гистидиндекарбоксилазы в слизистой желудка крыс ($M \pm m$)

№ опыта	Активность гистидиндекарбоксилазы в $\mu\text{мол. C}^{14}\text{O}_2$ на 1 мг ткани в 1 час		
	контроль	пентагастрин	пентагастрин + аурантин
1	$2,95 \pm 1,02$	$9,48 \pm 1,11$	—
2	$3,28 \pm 0,15$	$6,10 \pm 0,10$	$3,27 \pm 0,17$
3	$2,57 \pm 0,34$	$8,16 \pm 0,50$	$2,88 \pm 0,40$
4	$1,64 \pm 0,58$	$11,65 \pm 1,10$	$2,71 \pm 0,27$

Примечание. Каждая величина представляет результат 3 параллельных определений в суммарном гомогенате слизистой желудка 3 животных.

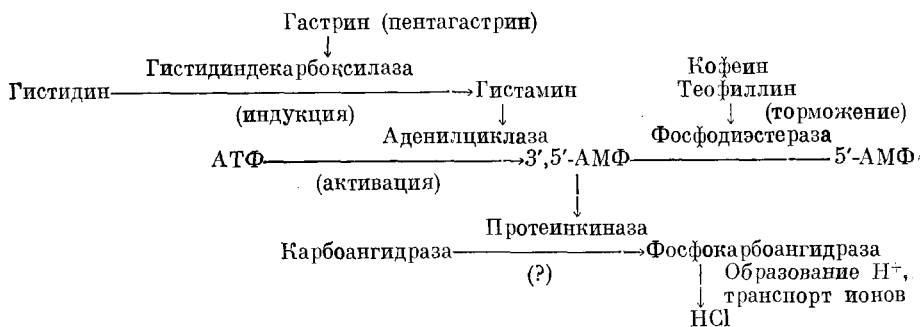
Таблица 3

Влияние пентагастрина и гистамина на активность аденилциклазы в ткани желудка крыс

Условия опыта	Число опытов	Активность аденилциклазы, $\mu\text{мол. 3',5'-АМФ}$ на 1 мг белка в 1 мин.
Контроль	8	$0,47 \pm 0,03$
Пентагастрин	8	$0,74 \pm 0,04$
Гистамин	4	$0,94 \pm 0,02$

Известно, что в секреции HCl важную роль играет карбоангидраза, которая участвует в образовании протонов и в транспорте H^+ и Cl^- через мембраны (¹³, ¹⁴). Мы обнаружили, что пентагастрин и такие предполагаемые его посредники, как гистамин и 3',5'-АМФ, активируют карбоангидразу (рис. 2). Такой же эффект наблюдался при введении

дибутирил-3',5'-АМФ. При этом только действие пентагастрина тормозится активомизином D и циклогексимином. Полученные данные позволили предложить следующую схему регуляции секреции HCl в желудке:



В этой схеме сочетаются два важных механизма действия гормонов: генетическая индукция ферментов и активация ферментов. Возможно, что 3',5'-АМФ активирует карбоангидразу, вызывая фосфорилирование этого белка при помощи специфической протеинкиназы. Известно, что таким образом 3',5'-АМФ опосредует действие ряда гормонов ⁽¹⁵⁾. Это гипотетическое звено также включено в представленную схему. Результаты этих исследований были частично опубликованы ранее ^(4, 11). Авторы приносят благодарность проф. Р. А. Грегори (Ливерпульский университет, Англия) за обсуждение приведенных в работе данных и доктору Д. С. Морли (фирма «Imperial Chemical Industries», LTD, Англия) за предоставление пентагастрина.

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
23 XI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. П. Бабкин, Внешняя секреция пищеварительных желез, М.—Л., 1927.
- ² R. A. Gregory, H. J. Trasy, J. Brit. Soc. Gastroenterol., 5, 103 (1964).
- ³ J. S. Morley, Proc. Roy. Soc. B, 170, 97 (1968).
- ⁴ Р. И. Салганик, С. В. Аргутинская, Р. И. Берсимбаев, Вопр. мед. химии, 17, 5, 516 (1971).
- ⁵ O. M. Rosen, S. M. Rosen, Biochem. Biophys. Res. Commun., 31, 82 (1968).
- ⁶ F. J. W. Rouhton, V. H. Booth, Biochem. J. 40, 319 (1946).
- ⁷ R. Schwyzer, Ann. Rev. Biochem., 33, 259 (1964).
- ⁸ A. Korner, Progr. Biophys. Mol. Biol., 17, 61 (1967).
- ⁹ T. W. Rall, S. Kakiuchi, In: Molecular Basis of Some Aspects of Mental Activity, 1, N. Y., 1966, p. 417.
- ¹⁰ G. A. Robison, R. W. Butcher, E. W. Sutherland, Ann. Rev. Biochem., 37, 149 (1968).
- ¹¹ R. I. Bersimbaev, S. V. Argutinskaya, R. I. Salganik, Experientia, 27, 1389 (1971).
- ¹² J. B. Harris, D. Alonso, Federat. Proc., 24, 1368 (1965).
- ¹³ S. Kitahara, L. Imamura, Life Sci., 5, 215 (1966).
- ¹⁴ T. H. Maren, Physiol. Rev., 47, 597 (1967).
- ¹⁵ J. P. Jost, H. V. Rickenberg, Ann. Rev. Biochem., 40, 741 (1971).