

УДК 615.036.8:612

МЕДИЦИНА

В. Т. Ивашкин, Г. А. Минасян, О. Г. Агеева, Т. Л. Конищева, В. М. Арутюнян

Влияние аденозина, гуаниловых нуклеотидов, агонистов β -адренорецепторов и блокаторов H_2 -гистаминорецепторов на активность гистаминчувствительной аденилатциклазы париетальных клеток желудка крысы

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР К. Г. Карагезяном 31/III 1987)

Гистаминчувствительная аденилатциклаза (АЦ) париетальных клеток желудка—мембранный фермент, активно участвующий в регуляции желудочной секреции соляной кислоты. Это действие осуществляется посредством катализирования превращения АТФ в цАМФ; последний, влияя на ферменты-мишени внутри клетки, увеличивает продукцию ионов H^+ (H^+). Поэтому путем целенаправленного воздействия на АЦ возможно в значительной степени модулировать такой важный физиологический процесс, как секреция HCl. Это имеет большое практическое значение, особенно в гастроэнтерологии. Однако изучение желудочной гистаминчувствительной АЦ и особенно влияния на нее различных биологических и фармакологических агентов только началось, а имеющиеся данные пока что характеризуются неполнотой и фрагментарностью. Учитывая это обстоятельство, мы провели изучение влияния ряда мембраноактивных веществ на активность гистаминчувствительной АЦ париетальных клеток желудка крыс.

Получение препаратов, обогащенных париетальными клетками слизистой желудка крыс, и определение активности ферментного препарата описаны нами в ранее опубликованной статье.

Зависимость активации гистаминчувствительной АЦ от времени преинкубации с гистамином показана на рис. 1. Результаты свидетельствуют о том, что максимальная стимуляция активности АЦ достигается после 15-минутной преинкубации ферментного препарата с гистамином, а полное насыщение H_2 рецепторов гистаминчувствительной АЦ достигается за 60—90 мин. Влияние гуаниловых нуклеотидов (ГТФ) на взаимодействие гистамина и АЦ и характер кооперативного взаимодействия фермента с гистамином представлены на рис. 2.

Гуаниловые нуклеотиды значительно влияли на характер взаимодействия фермента с гистамином. Так, добавление ГТФ в концентрации 10^{-5} М практически на два порядка снижало концентрацию гистамина, вызывающую полумаксимальную активацию фермента (2×10^{-7} против 2×10^{-5} М); степень активации в присутствии ГТФ достигала 250—300%. На основании этих результатов можно предположить, что состояние N-белка, с которым взаимодействует ГТФ, опре-

деляет функциональные свойства гистаминчувствительной желудочной АЦ. Что же касается характеристики взаимодействия фермента с лигандом, то степень кооперативности, вычисленная по методу Хилла, оказалось равной 0,65, что свидетельствует об отрицательном влиянии присоединения к АЦ первых молекул гистамина на присоединение всех последующих.

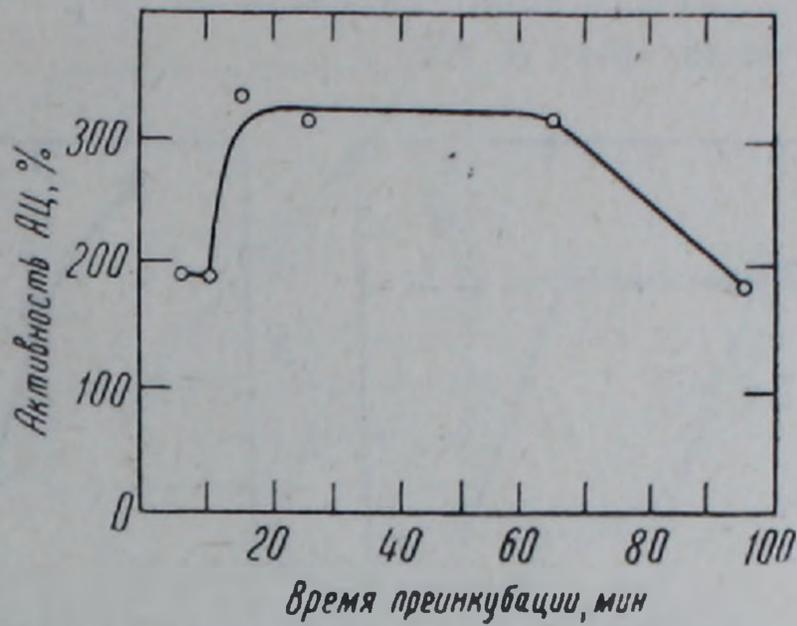


Рис. 1. Зависимость активации гистаминчувствительной аденилатциклазы от времени преинкубации с гистамином. Инкубационная среда содержала ГТФ (10^{-5} М). Содержание белка в пробе 160 мкг

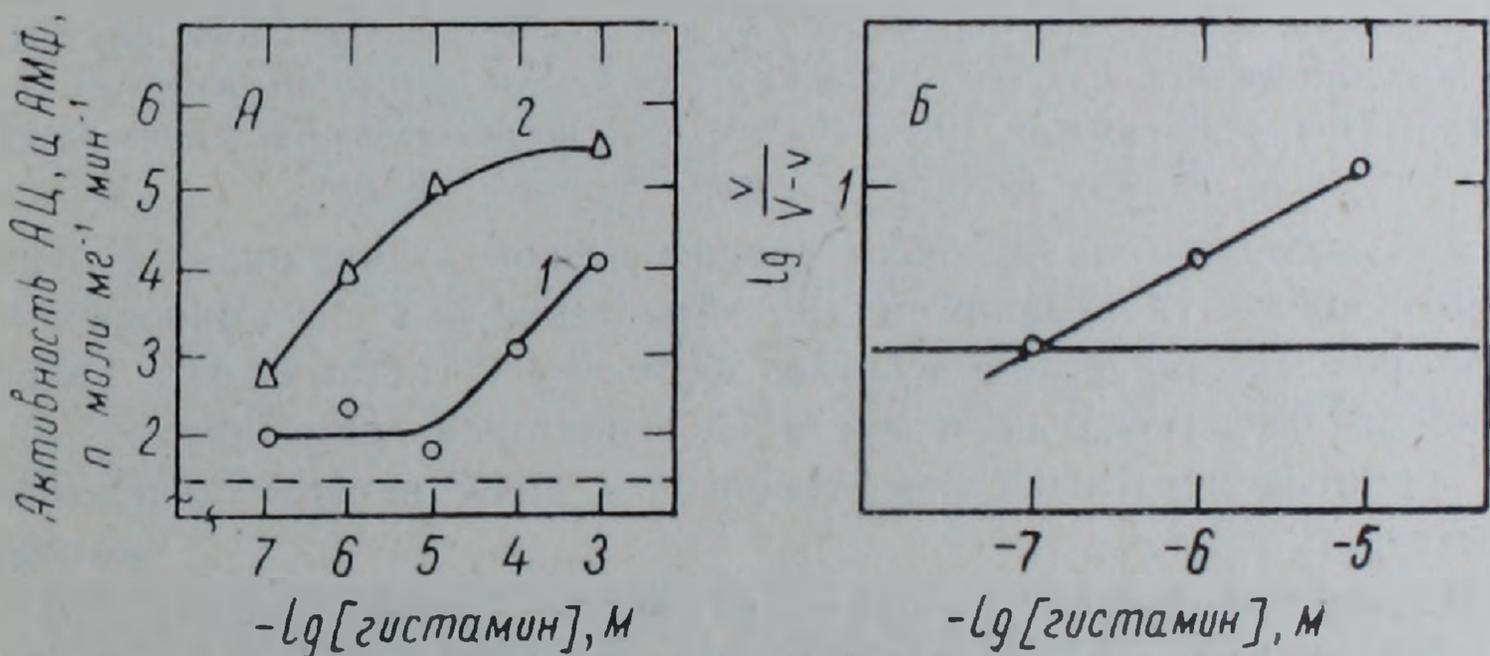


Рис. 2. Влияние ГТФ на взаимодействие аденилатциклазы с гистамином (А) и определение характера кооперативного взаимодействия фермента с гистамином (Б). А, 1—взаимодействие в отсутствие ГТФ; 2—взаимодействие в присутствии ГТФ (10^{-5} М). Б—график Хилла. Содержание белка в пробах—120 мкг

Результаты исследования влияния аденозина на активность АЦ представлены на рис. 3. Аденозин существенно влиял на активность фермента, ингибируя его в относительно высоких концентрациях (10^{-4} — 10^{-3} М), однако этот эффект модификатора оказывался существенно усиленным в случае, если в системе содержался гуаниловый нуклеотид (ГТФ, 10^{-5}). В таких условиях, во-первых, не наблюдалось активации фермента, во-вторых, потенцировался эффект аденозина, ингибирующее действие которого проявлялось в концентрациях 10^{-6} — 10^{-5} М. Это свидетельствует о том, что, как и постулируется в литера-

туре, аденозин в высоких концентрациях действует, ингибируя фермент через рецепторы, находящиеся на каталитической субъединице (низкое сродство, высокая концентрация модификатора), в присутствии же гуаниловых нуклеотидов ингибирующее действие опосредуется N-белком (высокое сродство, низкие концентрации модификатора). По-видимому, механизм низкого сродства реализуется и в случае ингибирования гистаминстимулированной активности фермента в отсутствие гуанилового нуклеотида (рис. 3, Б).

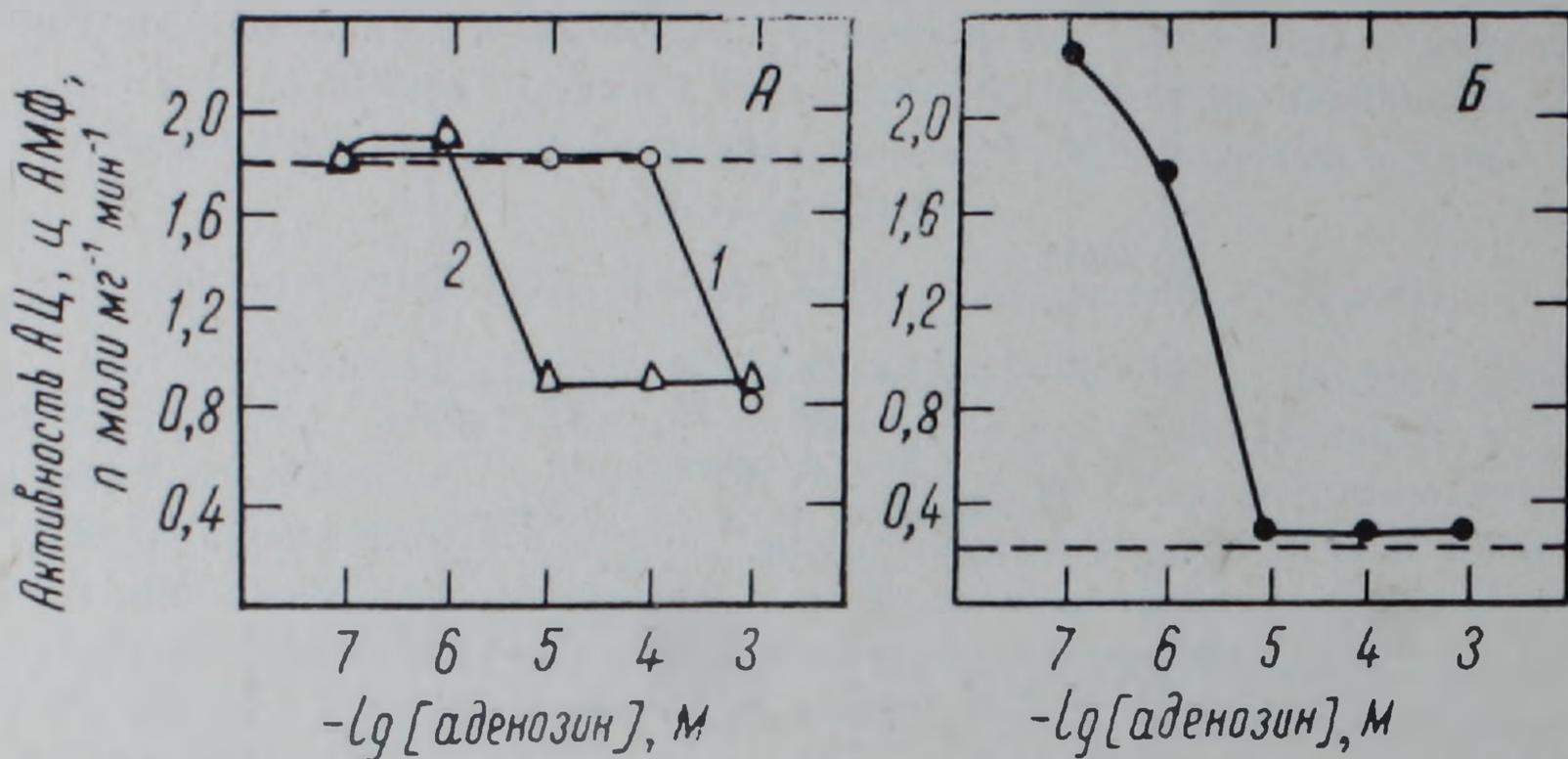


Рис. 3. Влияние аденозина на базальную (А) и гистаминстимулированную (Б) активность аденилатциклазы. Влияние аденозина на базальную активность измерено в отсутствие (1) и в присутствии ГТФ (10^{-5} М) (2); концентрация гистамина в серии Б равна 1×10^{-3} М, содержание белка 140 мкг

Для исследования процесса специфической активации АЦ париетальных клеток гистамином и для характеристики гистаминовых H_2 -рецепторов изучали взаимодействие фермента с гистамином в присутствии специфического антагониста H_2 -рецепторов—циметидина, вещества, применяемого в гастроэнтерологии в качестве антиульцерозного средства.

Циметидин, взятый в весьма невысоких концентрациях (10^{-8} — 10^{-6} М), оказывал существенный ингибирующий эффект на процесс активации АЦ гистамином, что свидетельствует о его высоком сродстве к ферменту (рис. 4, А). Построенный на основании экспериментальных данных вторичный график (график Шильда) позволяет оценить степень этого сродства: $K_{инс}$ для циметидина составляет $1,3 \times 10^{-8}$ М.

Согласно литературным данным, агонисты β -адренергических рецепторов стимулируют активность АЦ в препаратах париетальных клеток (6).

В наших опытах введение изопротеренола в инкубационную среду также приводило к стимуляции аденилатциклазной активности. Исследование совместного действия изопротеренола и гистамина на АЦ париетальных клеток показало, что активация фермента агонистами H_2 - и β -рецепторов носит аддитивный характер.

Таким образом, на основании полученных данных выяснилось, что гистамин активирует АЦ, при этом полумаксимальная активация в

отсутствие ГТФ достигается при его концентрации $2 \times 10^{-5} \text{ M}$, а в присутствии 10^{-5} M ГТФ—при концентрации $2 \times 10^{-7} \text{ M}$. Специфический ингибитор гистаминовых H_2 -рецепторов—циметидин связывается с рецепторным участком фермента, $K_{инс} = 1,3 \times 10^{-8} \text{ M}$. ГТФ вызывает увеличение активации фермента в 2 раза, причем полумаксимальный эффект наблюдается при содержании ГТФ в инкубационной среде, рав-

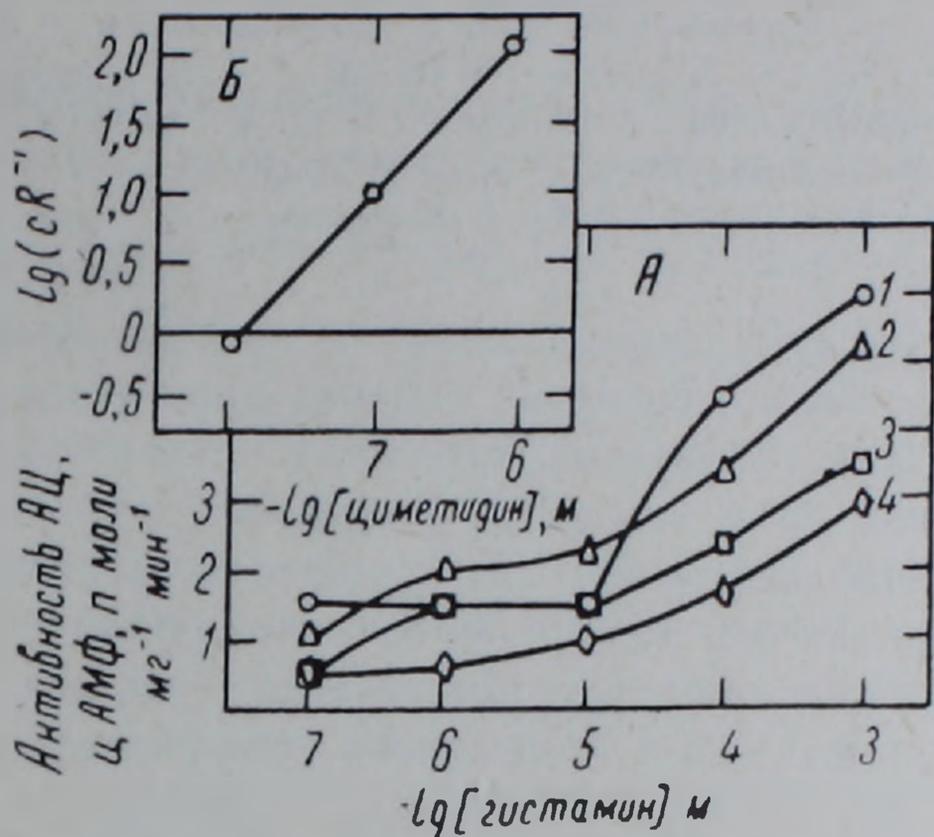


Рис. 4. Активация аденилатциклазы гистамином в отсутствие (1) и в присутствии увеличивающихся концентраций циметидина (2— 10^{-6} M , 3— 10^{-7} M , 4— 10^{-8} M). Определение $K_{дис}$ по методу Шильда (Б). Содержание белка в пробах 110 мкг

ном $1 \times 10^{-7} \text{ M}$. Аденозин—сильный ингибитор базальной и гистамин-стимулированной активности фермента. Полумаксимальное ингибиторное действие аденозина на АЦ в отсутствие ГТФ достигается при концентрации $4 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Ереванский государственный медицинский институт
Военно-медицинская ордена Ленина Краснознаменная академия
им. С. М. Кирова

Վ. Տ. ԻՎԱՇԿԻՆ, Հ. Ա. ՄԻՆԱՍՅԱՆ, Օ. Գ. ԱՅԵՆՎԱ, Տ. Լ. ԿՈՆԻՉԵՎԱ, Վ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Ադենոզինի, գուանիլ նուկլեոտիդների, β -ադրենոնոպեպտորների ազոնիստների և H_2 -հիստամինաոպեպտորների անտագոնիստների ազդեցությունն առնեստի ստամոքսի պարիետալ բջիջների հիստամինազգայուն ադենիլատցիկլազայի վրա

Ստամոքսի պարիետալ բջիջների ադենիլատցիկլազան կանոնավորում է ստամոքսի ազաթթվի արտադրությունը:

Ցույց է տրված, որ հիստամինը խթանում է ադենիլատցիկլազայի ակտիվությունը, իսկ հիստամինի H_2 -ոպեպտորների ինհիբիտոր ցիմետիդինը՝ կապվում է ֆերմենտի ոպեպտոր տեղամասի հետ: Գուանիլինո-

Ֆոսֆատը երկու անգամ բարձրացնում է ադենիլատցիկլազայի ակտիվությունը, իսկ ադենոզինը՝ ընդհակառակն, զգալիորեն ընկճում ֆերմենտի ակտիվությունը: Ֆերմենտի վրա խթանիչ հզոր ազդեցություն ունի β -ադրենոսեցիպտորների մեդիատոր իզոպրոտերենոլը:

ЛИТЕРАТУРА—ԻՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ D. Fromm e. a., Gastroenterol, v. 2, p. 453—462 (1975). ² F. Brennan e. a., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 3, p. 725—730 (1975). ³ J. B. Harris, D. Alonso, Fed. Proc., v. 24, p. 1368—1376 (1965). ⁴ M. Rodbell e. a., in: Advances in cyclic nucleotide research, New York, Raven Press, v. 5, p. 3—29 (1975). ⁵ В. І. Ивашкин и др., ДАН АрмССР, т. 85, №3 (1987). ⁶ W. J. Thompson e. a., Amer. J. Physiol., v. 1, p. 76—84 (1981).