

УДК 612.015.1/313.32

А. П. Левицький, С. В. Вовчук, Б. Д. Осадчий, С. О. Соколов

## ВПЛИВ САЛІВАІНУ НА ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ

Серед біологічно активних речовин особливе місце займають протеолітичні ферменти — калікреїни. Відмітною особливістю цих ферментів є їх чітко виражена біологічна дія гормоноподібного характеру. Так, при внутрішньому введенні калікреїни викликають зниження артеріального тиску [3, 12, 15], посилюють або розслаблюють гладкі м'язи [2, 24], збільшують кровонаповнення органів і підвищують проникність капілярів [7, 17].

Дослідженнями останніх років встановлено, що основним джерелом цих ферментів в організмі людини та тварин є підщелепні залози [4, 5, 23]. Водночас, слина і підщелепні залози містять і ряд інших біологічно активних речовин, зокрема інгібітор шлункової секреції — сіалогастрон [9, 11, 19, 20]. Вивчення ферментативних властивостей очищеного сіалогастрону показало, що ця речовина є глікопротеїдом з високою БАЕЕ (N- $\alpha$ -бензоїл-L-аргінін-етилловий ефір) естеразною активністю [16]. Враховуючи це, ми припустили, що діючим началом сіалогастрону є калікреїн. Деякою мірою підтвердженням цієї гіпотези є дослідження румунських авторів [13, 14], які показали гальмівну дію на шлункову секрецію внутрішнього введення брадикініну — продукту дії калікреїну.

Ми вивчали вплив високоочищеного препарату калікреїну (саліваїну) підщеплених залоз шурів на спонтанну шлункову секрецію.

## Методика досліджень

Досліди проведені на 187 шурах лінії Вістар вагою 100—130 г. За три доби до початку дослідів у шурів видаляли підщелепні залози для виключення дії власного саліваїну. За 24 год до початку дослідів шурів переводили на голодну дієту.

Споживання води при цьому не обмежували. Шлункову секрецію вивчали перев'язуванням пілоруса [22]. Досліджувані розчини вводили в хвостову вену шурів. Концентрацію білка в шлунковому соці визначали за методом Лоурі. Активність пепсину визначали за розщепленням 2% розчину гемоглобіну (pH 1,8). За одиницю активності приймали кількість ферменту, що каталізує утворення 1 мікромоля тирозину за 1 хв інкубації при +37° С [5]. Загальну кислотність шлункового соку визначали титруванням лугом. Виділення саліваїну з підщелепних залоз шурів проведено за методом Рієккіна та ін. у нашій модифікації [3]. З допомогою диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі (pH 8,3) встановлена гомогенність одержаного препарату. Активність саліваїну визначали за гідролізом БАЕЕ спектрофотометричним методом Траутшоляда та ін. у модифікації Барабаша і Левицького [1]. Активність ферментів (А) виражали в естеразних одиницях калікреїну. Гіпотензивну активність саліваїну визначали кривим методом з допомогою електронномеханічної системи реєстрації артеріального тиску [4]. Одержаний препарат саліваїну мав виражену БАЕЕ естеразну (А-132,8 Е/мл) та гіпотензивну активність. Змішану слину у шурів збирали при полікарпіновій стимуляції (5 мг/кг) під нембуталовим наркозом (50 мг/кг) за методом Бенарда та ін. [10]. БАЕЕ естеразна активність слини становила 16,9 Е/мл (концентрація білка 7,8 мг/мл). Статистичну обробку одержаних даних провадили за методом Монцевічюте-Ерінгене [6].

## Результати досліджень

В першій серії дослідів нами було доведено, що слина щурів спричиняє виражену гальмівну дію як на секрецію, так і на загальну продукцію соляної кислоти, білка і пепсину шлункового соку (табл. 1). Водночас частково очищений препарат саліваїну (А-93,2 Е/мл) в дозі 3,5 мг/кг викликав менш виразне зниження швидкості шлункової секреції, а брадикінін (Угорщина) в дозі 35 мкг/кг практично не змінював її.

Таблиця 1

Вплив внутрішнього введення слини (169 Е/кг, 78 мг/кг), частково очищеного препарату саліваїну (466 Е/кг; 3,5 мг/кг) і брадикініну (35 мкг/кг) на шлункову секрецію, секрецію НСІ, білка та пепсину через 4 год після перев'язки пілоруса

| Досліджувана речовина | n  | Статистичні показники | Секреція<br>мл/кг·год  | НСІ                    |                        | Білок                 |                        | Пепсин               |                       |
|-----------------------|----|-----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|
|                       |    |                       |                        | мекв/мл                | мекв/кг·год            | мг/мл                 | мг/кг·год              | од/мл                | од/кг·год             |
| Фізіологічний розчин  | 9  | M<br>±t               | 6,42<br>0,794          | 0,080<br>0,008         | 0,515<br>0,088         | 13,99<br>2,04         | 86,27<br>10,75         | 3,30<br>0,38         | 20,87<br>3,62         |
| Слина                 | 10 | M<br>±t<br>p          | 3,41<br>0,486<br>0,009 | 0,090<br>0,013<br>0,49 | 0,380<br>0,086<br>0,29 | 14,74<br>2,56<br>0,84 | 54,55<br>9,56<br>0,04  | 3,59<br>0,51<br>0,62 | 12,01<br>2,86<br>0,08 |
| Саліваїн              | 9  | M<br>±t<br>p          | 4,84<br>0,459<br>0,11  | 0,095<br>0,008<br>0,21 | 0,486<br>0,077<br>0,77 | 19,16<br>3,55<br>0,21 | 87,17<br>13,88<br>0,92 | 3,49<br>0,26<br>0,69 | 17,23<br>2,10<br>0,38 |
| Брадикінін            | 11 | M<br>±t<br>p          | 6,26<br>0,824<br>0,92  | 0,094<br>0,010<br>0,29 | 0,609<br>0,129<br>0,56 | 19,85<br>4,57<br>0,24 | 99,98<br>12,43<br>0,39 | 3,05<br>0,35<br>0,62 | 19,03<br>2,78<br>0,69 |

Таблиця 2

Вплив різних доз саліваїну на швидкість секреції НСІ, білка та пепсину через 4 год після перев'язки пілоруса

| Саліваїн<br>(мг/кг) | n  | Статистичні показники | Секреція<br>мл/кг·год  | НСІ                    |                          | Білок                 |                         | Пепсин                |                       |
|---------------------|----|-----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                     |    |                       |                        | мекв/мл                | мекв/кг·год              | мг/мл                 | мг/кг·год               | од/мл                 | од/кг·год             |
| 0                   | 10 | M<br>±t               | 7,14<br>0,58           | 0,093<br>0,008         | 0,661<br>0,060           | 13,51<br>0,95         | 95,24<br>8,19           | 1,98<br>0,12          | 14,47<br>1,43         |
| 1,0                 | 9  | M<br>±t<br>p          | 6,54<br>1,10<br>0,62   | 0,105<br>0,013<br>0,43 | 0,722<br>0,174<br>0,69   | 16,02<br>1,78<br>0,24 | 102,64<br>19,97<br>0,74 | 2,85<br>0,19<br>0,001 | 18,24<br>3,43<br>0,33 |
| 2,5                 | 9  | M<br>±t<br>p          | 5,14<br>0,61<br>0,03   | 0,091<br>0,011<br>0,92 | 0,486<br>0,080<br>0,09   | 14,83<br>2,37<br>0,62 | 71,90<br>9,55<br>0,07   | 2,48<br>0,28<br>0,10  | 13,22<br>2,26<br>0,62 |
| 5,0                 | 10 | M<br>±t<br>p          | 2,98<br>0,43<br><0,001 | 0,086<br>0,010<br>0,56 | 0,304<br>0,066<br><0,001 | 15,23<br>0,85<br>0,21 | 44,69<br>6,98<br><0,001 | 2,84<br>0,19<br>0,001 | 8,32<br>1,41<br>0,007 |

Дальші дослідження були проведені з високоочищеним препаратом саліваїну (А=132,8 Е/мл). В табл. 2 представлені результати по вивченню впливу різних доз саліваїну на шлункову секрецію щурів через 4 год після перев'язки пілоруса. Вірогідне зниження швидкості шлункової секреції спостерігається при дозі 2,5 мг/кг і вище. Цікаво відзначити, що вже малі дози калікреїноподібного ферменту (1,0 мг/кг) викликають значне підвищення активності пепсину. Цим пояснюється той факт, що вірогідне зниження секреції пепсину відбувається тільки після введення

великої дози саліваїну ковому соці не спостері

Зниження продукції після внутрішнього введення виразну гальмівну дію 4 год. В цей же період гальмівної продукції пепсину 8 год секреція шлункової, що вказує на припинення

У щурів з видаленням водниці за три — чотири години, як і у неоперованих щурів, секреції НСІ, білка та пепсину значно знижує про

Обго

Отже, одержані на гіпотензивного ферменту гальмування спонтанної секреції НСІ і пепсину. Ця оцінка ключові, що виділені шлункової секреції сім підщелепних залоз. Певче, що схема очищення Кобаяші та Ямамото падає зі схемою виділення препаратів мають ви

Характерною властивістю його здатність вже в малих дозах вати активність пепсину, яка стимулює діяльність слинних залоз, близьких до фізіологічної, можливою участю шлункової секреції, а також для інших залозистих

Вплив саліваїну (3,5 мг/кг) на шлункову секрецію (а), соляної кислоти (б). Суцільна лінія — дослідження

Однак, внутрішнє введення саліваїну практично не впливає на швидкість розпаду брадикініну у кривині навіть великі дози брадикініну не досягають основної активності кініну, що призводить до розпаду брадикініну. В результаті дослідження малих доз брадикініну не спостерігалося підвищення швидкості розпаду гістаміном.

великої дози саліваїну. Значних змін концентрації HCl і білка в шлунковому соці не спостерігається.

Зниження продукції шлункового соку відбувається вже через 2 год після внутрішнього введення саліваїну (див. рисунок, а). Але найбільш виразну гальмівну дію на шлункову секрецію саліваїн здійснює через 4 год. В цей же період відбувається і найбільш виражене зниження загальної продукції пепсину і соляної кислоти (див. рисунок б, в). Через 8 год секреція шлункового соку, пепсину і HCl практично нормалізується, що вказує на припинення дії саліваїну.

У щурів з видаленими наднирковими залозами (адреналектомія проводилась за три — чотири доби до дослідів), внутрішнє введення саліваїну, як і у неоперованих тварин, викликає зниження шлункової секреції HCl, білка і пепсину (табл. 3). При цьому сама адреналектомія значно знижує продукцію шлункового соку.

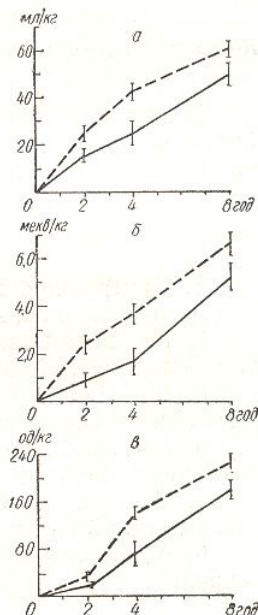
### Обговорення результатів досліджень

Отже, одержані нами дані свідчать про те, що внутрішнє введення гіпотензивного ферменту підщелепних залоз щурів саліваїну викликає гальмування спонтанної шлункової секреції, загальної продукції білка, HCl і пепсину. Ця обставина дозволяє нам заключити, що виділений раніше із слини інгібітор шлункової секреції сіалогастрон є калікреїном підщелепних залоз. Підтвердженням цього є той факт, що схема очистки сіалогастрону, описана Кобаяші та Ямамото [16], майже повністю співпадає зі схемою виділення саліваїну [3] і обидва препарати мають високу БАЕЕ естеразну активність.

Характерною властивістю дії саліваїну є його здатність вже в малих кількостях підвищувати активність пепсину в шлунковому соці. Така стимулююча дія калікреїну (саліваїну) в малих, близьких до фізіологічних, дозах вказує на можливу участь слинних калікреїнів у регуляції шлункової секреції, подібно до того, як описано для інших залозистих органів [18].

Вплив саліваїну (3,5 мг/кг) на динаміку секреції шлункового соку (а), соляної кислоти (б) та пепсину (в).

Суцільна лінія — дослід, переривчаста — контроль.



Однак, внутрішнє введення великої дози брадикініну (35 мкг/кг) практично не впливає на шлункову секрецію. Це свідчить про те, що гідроліз брадикініну у кров'яному руслі відбувається настільки швидко, що навіть великі дози брадикініну при одноразовому внутрішньому введенні не досягають основних паренхіматозних органів. Це пояснюється високою активністю кінін-руйнівних ферментів, під дією яких період напіврозпаду брадикініну в плазмі крові триває 30 с [21]. Ці дані суперечать результатам досліджень Грози та ін. [13, 14], які показали гальмівну дію малих доз брадикініну (0,01 мкг/кг) на шлункову секрецію, стимульовану гістаміном.

Гальмівна дія саліваїну на шлункову секрецію починається через 2 год і набуває максимуму через 4 год. Через 8 год гальмівна дія саліваїну зменшується, що вказує на його інактивацію і часткове виведення з організму щура.

Таблиця 3

Вплив саліваїну (3,5 мг/кг) на швидкість шлункової секреції, секрецію HCl, білка і пепсину у адреналектомованих щурів через 2 год після перев'язки пілоруса

| Група тварин        | n  | Статистичні показники | Секреція<br>мл/кг·год  | HCl<br>мекв/кг·год       | Білок<br>мг/кг·год       | Пепсин<br>од/кг·год    |
|---------------------|----|-----------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| Псевдооперовані К   | 14 | M<br>±m               | 12,54<br>1,14          | 1,149<br>0,156           | 157,13<br>19,34          | 18,891<br>3,61         |
| Д                   | 16 | M<br>±m<br>p          | 6,33<br>0,81<br><0,001 | 0,395<br>0,135<br>=0,002 | 123,06<br>20,62<br>=0,24 | 8,39<br>1,39<br>=0,011 |
| Адреналектомовані К | 16 | M<br>±m               | 5,99<br>0,44           | 0,424<br>0,063           | 104,21<br>14,46          | 6,93<br>0,91           |
| Д                   | 14 | M<br>±m<br>p          | 3,17<br>0,52<br><0,001 | 0,184<br>0,022<br>=0,002 | 31,78<br>7,32<br><0,001  | 5,42<br>1,17<br>=0,33  |

К—контроль, Д—дослід.

В наших дослідях адреналектомія не усувала гальмівної дії саліваїну на шлункову секрецію, що може вказувати на пряму дію калікреїну на шлункові залози, або ж опосередковану через якісь інші системи.

### Висновки

1. Внутрішнє введення змішаної слини щурів знижує спонтанну шлункову секрецію, загальну продукцію HCl, білка та пепсину.
2. Виділений раніше із слини інгібітор шлункової секреції сіалогастрон — це калікреїн підщелепних слинних залоз.
3. Вірогідне зниження шлункової секреції спостерігається при внутрішньому введенні саліваїну в дозі 2,5 мг/кг і вище.
4. Максимальне зниження шлункової секреції відбувається через 4 год після введення саліваїну.
5. Малі дози саліваїну приводять до збільшення активності пепсину і концентрації білка в шлунковому соці.
6. Адреналектомія не усуває гальмівної дії саліваїну на шлункову секрецію.

### Література

1. Барабаш Р. Д., Левицкий А. П. Казениолитическая и БАЭЭ эстеразная активность слюны и слюнных желез крыс в постнатальном онтогенезе. — Бюл. эксперим. биол. мед., 1973, № 8, с. 65—67.
2. Веремеенко К. Н. Ферменты калликреин-кининовой системы и их исследование в клинике. — В кн.: Молекулярная биология, в. 10. Вопросы теоретической и прикладной ферментологии. Киев, «Наук. думка», 1974, с. 80—92.
3. Вовчук С. В. Гипотензивные ферменты слюнных желез. Автореф. канд. дис. Одесса, 1975. 22 с.
4. Левицкий А. П., Вовчук С. В., Барабаш Р. Д. Обнаружение, выделение и свойства калликреина слюны крысы и золотистого хомяка *Cricetus auratus*. — Журн. эвол. биохимии и физиологии, 1974, № 5, с. 510—512.
5. Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез. Автореф. докт. дис. Одесса, 1974. 53 с.

6. Монцевичоте-Эрингене Е. дицинской исследовательской № 4, с. 71—78.
7. Пасхина Т. С. Ферментативности и биосинтеза ферментов с. 317—359.
8. Радбиль О. С., Вайнштейн Казанск. ун-та, 1973, 328 с.
9. Baume P. E., Baxter C., human salivary gastrone.—
10. Benarde M. A., Fabian F. the collection of large quantities 329.
11. Code C. F., Ratke H. V., tory inhibitory activity in p. 26—31.
12. Frey E. K., Kraut H., Werl krein-Kinin-System und sei
13. Groza P., Buzoiu V., I L'inhibition de la secretion siol., 1967, 4, N 3, p. 177—18
14. Groza P., Corneanu D. M. roum. physiol., 1972, 9, N 6,
15. Kininogenases (Kallikreins cological rational. Stuttgart
16. Kobayashi M., Yamamoto I in salivary glands. Extract secretion from mouse sub p. 226—231.
17. Lewis G. P. The role of pla troenterology, 1967, N 52, p
18. Lewis G. P. Role of kinins Proc. R. Soc. Med., 1971, N
19. Menguy R., Masters Y. F. bitory substance in gastric
20. Menguy R., Berlinski M. human saliva.— Amer. J. D
21. Saameli K., Eskes T. K. E life.— Amer. J. Physiol., 196
22. Shay H., Sun D. C., Gruen gastric secretion in the r
23. Webster M. E. Kallikreins N 25, p. 131—155.
24. Werle E.— Kinine.— J. Mor

А. П. Левицкий

### EFFECT OF

Gastric secretion, secreted by saliva and by intravenous injection of the production lowers under saliv (35 µg/kg) does not affect gastric secretion is observed inhibition occurs 4 hrs after the remove the salivain inhibiting conclude that sialogastron, a kallikrein of the mandibular gland Institute of Stomatology, Odessa

6. Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.— Патол. физиол. и эксперим. терапия, 1964, № 4, с. 71—78.
7. Пасхина Т. С. Ферментативный механизм образования и распада кининов плазмы крови (брадикинина и каллидина).— В кн.: Химические факторы регуляции активности и биосинтеза ферментов (под ред. В. Н. Ореховича). М., «Медицина», 1969, с. 317—359.
8. Радбиль О. С., Вайнштейн С. Г. Эндокринная система и желудок. Казань, Изд-во Казанск. ун-та, 1973, 328 с.
9. Baume P. E., Baxter C., Nicholls A. Concentration and partial characterization of human salivary gastrone.— Amer. J. Digest. Diseases, 1967, 12, N 10, p. 965—972.
10. Benarde M. A., Fabian F. W., Rosen S., Hoppert C. A., Hunt H. R. A method for the collection of large quantities of rat saliva.— J. Dent. Res., 1956, N 35, p. 326—329.
11. Code C. F., Ratke H. V., Livermore G. K., Lundberg W. Occurrence of gastric secretory inhibitory activity in fresh gastric and salivary mucin.— Fed. Proc., 1949, N 8, p. 26—31.
12. Frey E. K., Kraut H., Werle E., Vogel R., Zickraph-Rüdel G., Trautschold I. Das Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren. Stuttgart, «Enke-Verlag», 1968, 253 S.
13. Groza P., Buzoianu V., Ionescu S., Rusovici L. Recherches sur le mécanisme de l'inhibition de la sécrétion gastrique produite par la bradykinine.— Rev. roum. physiol., 1967, 4, N 3, p. 177—181.
14. Groza P., Corneanu D. M., Ionescu S. Effect of bradykinin on antral gastrin.— Rev. roum. physiol., 1972, 9, N 6, p. 461—470.
15. Kininogenases (Kallikreins). 1-st symposium on physiological properties and pharmacological rational. Stuttgart — New York, 1972—1973. 192 S.
16. Kobayashi M., Yamamoto M. Studies on the inhibitory substances on gastric secretion in salivary glands. Extraction and purification of the inhibitory substance of gastric secretion from mouse submaxillary glands.— J. Pharm. Soc. Jap., 1972, 92, N 3, p. 226—231.
17. Lewis G. P. The role of plasma kinins as mediator of functional vasodilatation.— Gastroenterology, 1967, N 52, p. 406—411.
18. Lewis G. P. Role of kinins and prostaglandins as mediator of functional hyperamia.— Proc. R. Soc. Med., 1971, N 64, p. 6—9.
19. Menguy R., Masters Y. F., Gryboski W. A. Studies on the origin of the gastric inhibitory substance in gastric juice.— Surgery, 1965, 58, p. 535—540.
20. Menguy R., Berlinski M. Source of sialogastrone, a gastric inhibitory substance in human saliva.— Amer. J. Digest. Diseases, 1967, 12, N 1, p. 1—6.
21. Saameli K., Eskes T. K. Bradykinin and cardiovascular system: estimation of half-life.— Amer. J. Physiol., 1962, 203, p. 261—265.
22. Shay H., Sun D. C., Gruenstein M. A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat.— Gastroenterology, 1954, 26, p. 906—911.
23. Webster M. E. Kallikreins in glandular tissues.— Handbook Exper. Pharmac., 1970, N 25, p. 131—155.
24. Werle E.— Kinine.— J. Mond. Pharm., 1968, 11, N 3, p. 291—312.

Одесский стоматологический институт

Надійшла до редакції  
23.III 1976 р.

A. P. Levitskij, S. V. Vovchuk, B. D. Osadchij,  
S. A. Sokolov

#### EFFECT OF SALIVAIN ON GASTRIC SECRETION

##### Summary

Gastric secretion, secretion of hydrochloric acid and protein are determined to be inhibited by saliva and kallikrein (salivain) on the rat submandibular glands by intravenous injection of the preparation. Despite pepsin considerable activation, its total production lowers under salivain action as well. The intravenous injection of bradykinin (35 µg/kg) does not affect the level of gastric secretion. A significant decrease in gastric secretion is observed at the 2.5 mg/kg and above dose of salivain and maximal inhibition occurs 4 hrs after the pylorus ligation. The preliminary adrenalectomy does not remove the salivain inhibiting action. On the basis of the data obtained it ought to conclude that sialogastron, an inhibitor of gastric secretion described previously, is kallikrein of the mandibular glands.

Institute of Stomatology, Odessa