

- Артеменко Д. П., Бурый В. А., Владимирова И. А., Шуба М. Ф. Модификация метода одинарного сахарозного мостика // Физиол. журн.—1982.—28, № 3.—С. 374—380.
- Ганиткевич В. Я., Смирнов С. В., Шуба М. Ф. Исследование входящего кальциевого тока изолированной гладкомышечной клетки методом фиксации потенциала в условиях внутриклеточного диализа // Биол. мембранны.—1985.—2, № 12.—С. 1225—1234.
- Ганиткевич В. Я., Смирнов С. В., Шуба М. Ф. О природе инактивации входящего кальциевого тока одиночной изолированной гладкомышечной клетки // Там же.—С. 1235—1241.
- Кочемасова Н. Г., Шуба М. Ф., Боев К. К. Электрическая и сократительная активность гладких мышц желудка кошки // Физиол. журн. СССР.—1970.—56, № 2.—С. 246—254.
- Расулов М. И. Практическое значение электрогастрографии // Врачеб. дело.—1985.—10, № 1.—С. 5—8.
- Шуба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранных входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения // Физиол. журн.—1981.—27, № 4.—С. 533—541.
- Hara Y., Ito Y. The electrical activity recorded from smooth muscle of the circular layer of the human stomach // Pflugers Arch.—1979.—382, N 1.—P. 145—153.
- El-Sharkawy T. Y., Morgan K. G., Szurszewski J. H. Intracellular electrical activity of canine and human gastric smooth muscle // J. Physiol. (Gr. Brit.)—1978.—279, June.—P. 291—307.
- Papasova M. P., Nagai T., Prosser C. L. Two component slow waves in smooth muscle of cat stomach // Amer. J. Physiol.—1968.—214, N 4.—P. 695—702.
- Szurszewski J. H. Mechanism of action of pentagastrin and acetylcholine on the longitudinal muscle of the canine antrum // J. Physiol. (Gr. Brit.)—1975.—252, N 3.—P. 335—361.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца  
АН УССР, Киев

Поступила 30.06.87

УДК 612.323:615.272.4:615.35:577.152.1.015

## Влияние супероксиддисмутазы на секреторную функцию желудка

Ф. А. Зверихановский, Ж. П. Смирнова, С. Г. Вайнштейн,  
И. С. Магура, В. И. Дудко

Как было показано нами ранее [1], экзогенная супероксиддисмутаза (СОД) оказывает у собак стимулирующее влияние на выделение трех основных компонентов желудочного сока, а также потенцирует секреторный эффект гистамина и простина Е<sub>2</sub>. Известны данные о влиянии антиоксидантов на синтез простагландинов [18], активность аденилаткиназы [7], мембранные системы транспорта Ca<sup>2+</sup> [2]. Перечисленные параметры являются компонентами многоступенчатой регуляторной системы секреции слизистой оболочки желудка [6]. В то же время роль антиоксидантов, в том числе и СОД, в секреторном ответе паренхиматозных клеток желудка во многом остается невыясненной, что послужило объектом нашего исследования.

### Методика

Первая серия исследований проведена на беспородных белых крысах-самцах массой тела 160—200 г, которые условно были разделены на две следующие группы: 1-я группа — животные, получавшие внутрибрюшинно 1 мл калий-фосфатного буфера (0,002 моль/л; pH — 7,4); 2-я группа — животные, получавшие внутрибрюшинно Cu/Zn-СОД (1 мг/кг), растворенную в 1 мл калий-фосфатного буфера. В каждую группу входило по 10 животных. Применялась лиофилизированная Cu/Zn-СОД, синтезированная в Институте биохимии АН АрмССР. Через 30 мин после введения буфера или СОД у крыс под внутрибрюшинным барбамиловым наркозом (100 мг/кг) из полости левого желудочка забирали кровь. В качестве антикоагуланта и стабилизатора

фосфодиэстераз использовали динатриевую соль ЭДТА·2H<sub>2</sub>O (молекулярная масса — 375,25) [5]. Животных умерщвляли декапитацией. После извлечения желудка иссекали его слизистую оболочку и замораживали в жидком азоте. Аликвоту слизистой оболочки гомогенизировали в аппарате Поттера-Эльвегейма при 3000 g в стабилизированном по pH физиологическом растворе. Фосфодиэстеразы стабилизировали динатриевой солью ЭДТА·2H<sub>2</sub>O. В плазме крови животных радиоиммунологическим методом с использованием коммерческих наборов (ЧССР, Франция) определяли содержание цАМФ, цГМФ и гастрин, а в слизистой оболочке желудка — содержание циклических нуклеотидов.

Вторая серия экспериментов проведена в опытах на изолированных желудках 45 крыс (331 отведение), помещенных в камеру, через которую пропускали раствор Кребса ( $34^{\circ}\text{C}$ ) следующего состава (ммоль/л):  $\text{NaCl} = 135$ ;  $\text{KCl} = 4.7$ ;  $\text{CaCl}_2 = 2.5$ ;  $\text{NaHCO}_3 = 1.4$ ; глюкоза — 7.9. Электрический потенциал клеток слизистой оболочки желудка регистрировали методом внутриклеточных отведений с использованием стеклянных микрэлектродов. Электрический потенциал подавали на вход усилителя постоянного тока (УПТ-2), а затем на осциллограф С1-18. В качестве веществ, вызывающих электрическую реакцию железистых клеток, применяли гистамин ( $10^{-4}$  моль/л), СОД ( $1.5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) и их сочетание в указанных концентрациях, а также СОД в концентрации  $3 \cdot 10^{-6}$  моль/л. Для выяснения механизмов гиперполяризационного ответа железистых клеток желудка использовали гипокальциевый (1 ммоль/л  $\text{CaCl}_2$ ) раствор и блокаторы кальциевого тока:  $\text{Co}^{2+}$  (1 ммоль/л), верапамил ( $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) и нифедипин ( $10^{-6}$  моль/л). Полученные результаты обработаны вариационно-статистическими методами.

## Результаты и их обсуждение

Введение животным СОД (таблица) значительно повышало продукцию цАМФ в слизистой оболочке желудка и содержание его в крови и не оказывало влияния на содержание цГМФ; одновременно достоверно увеличивалась концентрация гастрин в крови.

В опытах *in vitro* в растворе, содержащем СОД ( $1,5 \cdot 10^{-6}$  ммоль/л) в клетках желез желудка, регистрируется увеличение мембранныго потенциала (МП) на  $25,0 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}; P < 0,001$  (рис. 1, б). Исходный мембранный потенциал покоя этих клеток составлял  $27,6 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$ . В концентрации  $3 \cdot 10^{-6}$  ммоль/л фермент вызывал более значительное увеличение МП (на  $28,2 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}; P < 0,001$ ), т. е. наблюдается зависимость силы ответа клеток желез желудка от концентрации СОД.

Учитывая тот факт, что СОД потенцирует секреторный эффект гистамина, а гистамин, как показали проведенные нами ранее исследования [4], инициирует в клетках желез желудка значительную гиперполяризацию мембранны (на  $22,1 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$ ) (рис. 1, *a*), нам казалось интересным выяснить, как же влияет на электрическую активность этих клеток комплексное применение гистамина и СОД. Оказалось, что в таком растворе в клетках желез желудка регистрируется увеличение МП (на  $35,2 \text{ мВ} \pm 0,8 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$ ), намного превышающее таковое в опытах с применением только гистамина или СОД (рис. 1, *в*). Замена этого раствора раствором, содержащим только СОД или только гистамин, через 20 мин уменьшала мембранный потенциал

Содержание гастрин, циклических нуклеотидов в крови и цАМФ, цГМФ в слизистой оболочке желудка крыс, получавших супероксиддисмутазу

Группа животных (число животных в группе)	Кровь			Слизистая оболочка желудка	
	гастрин, пг/мл	цАМФ, пмоль/л	цГМФ, пмоль/л	цАМФ, пмоль/г	цГМФ, пмоль/г
Контроль (10)	61,76±5,52	0,103±0,019	0,022±0,003	0,066±0,004	0,013±0,002
Опыт (10)	88,66±5,49	0,436±0,030	0,023±0,005	0,167±0,017	0,011±0,003
P	<0,01	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05

до значения, регистрируемого

В гипокальциевом растворе уменьшалась, составляя на 8,3 мВ  $\pm$  0,6 мВ; Р < 0,001) малой (2,5 ммоль/л Са<sup>2+</sup>) лизистых клеток на СОД Р < 0,001).

Блокаторы кальциево-ректо уменьшали гиперпоп-

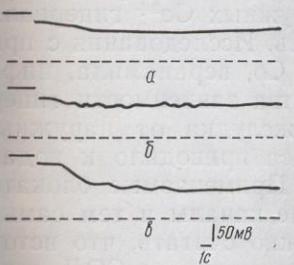


Рис. 1. Гиперполяризационный применением:  
 1 — гистамина ( $10^{-4}$  моль/л); б  
 гистамина и супероксиддисмутазы  
 начале кривой — введение микроЭЛ

Рис. 2. Изменение гиперполяризации оксиддисмутазы в зависимости от времени действия блокаторов. 1 — в нормальном растворе Кребса; 2 — в дипине.

лудка на СОД (рис. 2, б) памила гиперполяризацию всего  $17,0 \text{ мВ} \pm 1,1 \text{ мВ}$  и С применением нифедипина ставлял в течение первых

Влияние описанных выше методов отмывания на сорбцию СОД в растворах МП (на 18.2 мВ+0.7 мВ)

Полученные нами данные механизмах секреторного повышением концентрации действуя с тучными клетками диндекарбоксилазы и специфически связываясь с Н<sub>2</sub>АТФ, активирует мембранные каналы информации в париетальных клетках слизистой оболочки пищеварительного тракта, что приводит к ционированием цАМФ [6]. Стимулом для этого явления является гормон, который стимулирует выделение соляной кислоты из слизистой оболочки желудка. В свою очередь, это приводит к повышению уровня гастрин-секретирующих клеток в слизистой оболочке желудка, что способствует запуску транспортных процессов, связанных с выделением соляной кислоты из слизистой оболочки желудка в определенной мере.

Известно, что в изоли-  
триин влияет на активность  
в опыте на изолированном  
растворе не наблюдалась  
и гистамином [11, 17]. Со-  
ение гистамина [4], СОД и  
связано с концентрацией

до значения, регистрируемого при их раздельном применении ( $50,0 \text{ мВ} \pm 0,4 \text{ мВ}$  и  $49,4 \text{ мВ} \pm 0,5 \text{ мВ}$  соответственно).

В гипокальциевом растворе (рис. 2, а) гиперполяризация на СОД уменьшалась, составляя на 20-й минуте  $16,1 \text{ мВ} \pm 1,1 \text{ мВ}$ , а на 40-й —  $8,3 \text{ мВ} \pm 0,6 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$ . Приведение концентрации ионов Са к нормальной ( $2,5 \text{ ммоль/л} \text{ CaCl}_2$ ) восстанавливало гиперполяризацию железистых клеток на СОД до прежнего значения (до  $31,6 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$ ).

Блокаторы кальциевого тока (ионы Со, верапамил, нифедипин) резко уменьшали гиперполяризационный ответ железистых клеток же-

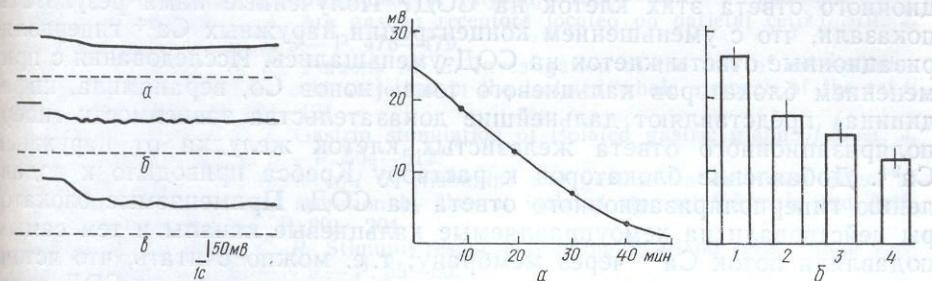


Рис. 1. Гиперполяризационный ответ железистых клеток желудка крысы, вызванный применением:

1 — гистамина ( $10^{-4} \text{ моль/л}$ ); б — супероксиддисмутазы ( $1,5 \cdot 10^{-6} \text{ ммоль/л}$ ); в — комплекса гистамина и супероксиддисмутазы (в указанных выше концентрациях). Скачок вниз в начале кривой — введение микрозлектрода. Гиперполяризация — отклонение вниз.

Рис. 2. Изменение гиперполяризационного ответа железистых клеток желудка на супероксиддисмутазу в зависимости от времени пребывания в гипокальциевом растворе (а) и в течение 20 мин действия блокаторов кальциевого тока (б):

1 — в нормальном растворе Кребса; 2 — в растворе, содержащем ионы Со; 3 — верапамил; 4 — нифедипин.

лудка на СОД (рис. 2, б). В опытах с применением ионов Со и верапамила гиперполяризационный ответ на СОД на 20-й минуте составлял всего  $17,0 \text{ мВ} \pm 1,1 \text{ мВ}$  и  $14,8 \text{ мВ} \pm 1,2 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$  соответственно. С применением нифедипина гиперполяризационный ответ на СОД составлял в течение первых 15 мин  $12,6 \text{ мВ} \pm 1,3 \text{ мВ}$ .

Влияние описанных выше блокаторов кальциевого тока было обратимым и после отмывания желудка в нормальном растворе Кребса добавление СОД в раствор по-прежнему вызывало значительное увеличение МП (на  $18,2 \text{ мВ} \pm 0,7 \text{ мВ}$ ;  $P < 0,001$ ).

Полученные нами данные позволяют высказать предположение о механизмах секреторного эффекта СОД. Возможно, он опосредуется повышением концентрации гастрин в крови и тканях желудка. Взаимодействуя с тучными клетками, гастрин индуцирует в них синтез гистидинкарбоксилазы и соответственно продукцию гистамина [3]. Специфически связываясь с  $\text{H}_2$ -рецепторами париетальных клеток, гистамин активирует мембранный аденилатциклазу. Дальнейший путь передачи информации в париетальной клетке связан с внутриклеточным функционированием цАМФ [6]. Установлено, что у крыс гастрин непосредственно действует на главные клетки, стимулируя в них синтез РНК и белка, увеличивая концентрацию внутриклеточных ионов Са; это способствует запуску транспортной системы главных клеток [10]. Повышение уровня гастринина и цАМФ в крови крыс в ответ на введение СОД, а также увеличение цАМФ в гомогенатах слизистой оболочки желудка в определенной мере подтверждают нашу гипотезу.

Известно, что в изолированных париетальных клетках желудка гастрин влияет на активность цАМФ и аденилатциклазы [12, 13]. Так, в опыте на изолированном желудке млекопитающих в бескальциевом растворе не наблюдалась секреция в ответ на стимуляцию гастрином и гистамином [11, 17]. Согласно результатам, полученным нами, влияние гистамина [4], СОД и их сочетания на железистые клетки желудка связано с концентрацией наружных  $\text{Ca}^{2+}$ . Гиперполяризация мембран

этих клеток, инициированная гистамином и СОД, дает основания предположить, что этот эффект сопутствует процессам секреции. Рядом исследователей [9] было показано, что в период активации секреторных процессов в железистых клетках значительно возрастает внутриклеточная концентрация ионов Ca. Этот факт позволяет предположить, что гиперполяризация мембран, возбужденных гистамином и СОД клеток желез желудка, также характеризуется увеличенной концентрацией ионов Ca.

Что же является источником, повышающим внутриклеточную концентрацию ионов Ca, необходимую для возникновения гиперполяризационного ответа этих клеток на СОД? Полученные нами результаты показали, что с уменьшением концентрации наружных  $Ca^{2+}$  гиперполяризационные ответы клеток на СОД уменьшались. Исследования с применением блокаторов кальциевого тока (ионов Co, верапамила, нифедипина) представляют дальнейшие доказательства зависимости гиперполяризационного ответа железистых клеток желудка от наружных  $Ca^{2+}$ . Добавление блокаторов к раствору Кребса приводило к подавлению гиперполяризационного ответа на СОД. Применяемые блокаторы действовали на хемоуправляемые кальциевые каналы и тем самым подавляли поток  $Ca^{2+}$  через мембрану; т. е. можно считать, что источником гиперполяризационного ответа железистых клеток на СОД являются  $Ca^{2+}$  наружного раствора. И в этом смысле клетки желез желудка ведут себя подобно ацинарным клеткам слюнных желез [15]. Входя в клетку, ионы Ca вызывают активацию кальцийзависимых калиевых каналов, что ведет к увеличению калиевой проницаемости мембранны ряда железистых клеток [14, 16, 17]. Поэтому можно предположить, что гиперполяризационные ответы железистых клеток желудка, вызванные гистамином и СОД, возникают вследствие повышения калиевой проницаемости мембран железистых клеток.

Следовательно, в механизмах секреторного эффекта СОД просматривается как участие гастрин, так и вторичных посредников (цАМФ и  $Ca^{2+}$ ), играющих важную роль во внутриклеточном ответе на действие различных, внешних для клетки раздражителей. Регуляция желудочной секреции осуществляется нервными и гормональными механизмами, при этом первые действуют через высвобождение клеточных ионов Ca, а вторые — преимущественно накоплением цАМФ [8]. И хотя по своим начальным стадиям эти пути разделены, в последующих фазах секреции суммарный эффект их взаимно потенцируется.

#### THE INFLUENCE OF SUPEROXIDE DISMUTASE ON THE SECRETORY FUNCTION OF STOMACH

F. A. Zvershkhanyovskiy, Zh. P. Smirnova, S. G. Vainshtein, I. S. Magura, V. I. Dudko

The secretory effect of the stomach gland cells caused by superoxide dismutase was accompanied by an increase of cAMP production in gastric mucosa, and of gastrin concentration in blood. It is assumed that the secretory response of the stomach gland cells initiated by superoxide dismutase was realized with participation of the secondary messengers — cAMP and  $Ca^{2+}$ .

Medical Institute,  
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Ternopol

1. Звершхановский Ф. А., Вайнштейн С. Г. Способ одномоментной стимуляции выделения трех компонентов желудочного секрета // Тез. докл. XV съезда Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова. Кишинев, 1987.—Л.: Наука, 1987.—Т. 2.—С. 464.
2. Мирсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.—М.: Медицина, 1984.—272 с.
3. Салганик Р. И., Берсимбаев Р. И., Киселева Е. В. и др. Многоклеточный биохимический ансамбль, обеспечивающий секрецию соляной кислоты в желудке крыс // Докл. АН СССР.—1975.—224, № 5.—С. 1220—1222.
4. Смирнова Ж. П. О роли ионов  $Ca^{2+}$  в электрическом ответе железистых клеток желудка крысы на гистамин // Физиол. журн.—1983.—29, № 5.—С. 555—558.

5. Сучкова С. Н. Факторы, влияющие на конформации леотидов в плазме крови радиоизотопометрическими методами // Тез. докл. XV съезда Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова. Кишинев, 1987.—Л.: Наука, 1987.—Т. 2.—С. 279—281.
6. Таиров М. М., Берсимбаев Р. И. О влиянии гиперполяризации на конформации леотидов в плазме крови // Тез. докл. XV съезда Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова. Кишинев, 1987.—Л.: Наука, 1987.—Т. 2.—С. 282—284.
7. Физиология адаптационных процессов // Тез. докл. XV съезда Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова. Кишинев, 1987.—Л.: Наука, 1987.—Т. 2.—С. 635 с.
8. Шубникова Е. А., Коротко Е. А. Стимуляция секреции желудка // Тез. докл. XV съезда Всесоюз. физиол. о-ва им. И. П. Павлова. Кишинев, 1987.—Л.: Наука, 1987.—Т. 2.—С. 131 с.
9. Berglindth T., Sachs G., Takeguchi C. Isolation of isolated rabbit gastric glands /  
Black J. W., Welsh L. A. Are Calcium and cAMP involved in the control of acid secretion? // Pharmacol.—1977.—59, N 3.—P. 123—131.
10. Bunce K. T., Koney A. C., Parsons D. R. The role of calcium in the control of acid secretion // Ibid.—1979.—67.—P. 123—131.
11. Chew C. S., Hersey S. J. Gas Hormones and Gastric Acid Secretion // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Coruzzi G., Adamo M., Bertaccini A. The role of calcium ions on gastric acid secretion // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Ginsborg B. L., House C. R. Stimulation of cockroach gland responses by calcium // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Rasmussen H., Goodmen D. Receptor activation // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Rubin R. Calcium and cellular responses // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Takeguchi C., Sin C. J. A rapid rise in cytosolic calcium concentration: application to the study of acid secretion // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Ginsborg B. L., House C. R. Stimulation of cockroach gland responses by calcium // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
Terpilovskaia E. A., Korotko E. A. Stimulation of acid secretion by calcium // Gas Hormones and Gastric Acid Secretion /  
M-va zdravoobrashcheniya UCCP

УДК 612.334+335.5+612.2

#### Влияние нейротензина на кровообращение и пищеварение

Веслав В. Павлик, Петр Густав

Нейротензин является трипептидом, состоящим из трех аминокислот: аланина, глицина и аспартата. Он был открыт в 1975 году в коре головного мозга млекопитающих и назван нейротензином. Нейротензин имеет высокую степень гомологии с гипотензином, который был открыт в 1977 году в коре головного мозга млекопитающих.

Нейротензин выделяется из нервных окончаний при переваривании жирной пищи и глюкозы только в незначительных количествах. Нейротензин обладает высокой активностью, тем не менее его действие на организм неизвестно. Этот пептид впервые был обнаружен в 1975 году в коре головного мозга млекопитающих. Нейротензин выделяется из нервных окончаний при переваривании жирной пищи и глюкозы только в незначительных количествах. Нейротензин обладает высокой активностью, тем не менее его действие на организм неизвестно. Этот пептид впервые был обнаружен в 1975 году в коре головного мозга млекопитающих.

Во время введения нейротензина в организм происходит интенсивное сокращение гладкой мускулатуры, что приводит к снижению кровяного давления. Нейротензин обладает высокой активностью, тем не менее его действие на организм неизвестно.