



Г.Ф. Коротко

## ПРОТЕИНАЗО-АКТИВИРУЕМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ СИСТЕМЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ

МУЗ «Городская больница № 2 – КМЛДО»

Россия, 350012, г. Краснодар ул. Красных Партизан, 6, корпус 2. E-mail: korotko@rambler.ru

Экзосекретируемые пищеварительными железами ферменты, особенно протеиназы, выполняют не только дигестивную, но и сигнальную роль, путем образования регуляторных пептидов, стимуляции и ингибции их релизинга, возбуждения специальных протеиназо-активируемых рецепторов органов системы пищеварения, адаптируя их пищеварительную и защитную функции. Такую же роль выполняют эндосекретируемые пищеварительными железами ферменты. Приведены примеры сложной энзимергической регуляции дигестивных и недигестивных функций органов пищеварения в норме и при патологии.

*Ключевые слова:* протеиназо-активированные рецепторы, классификация, эффекты, секреция, моторика.

G.F. Korotko

## PROTEINASE-ACTIVATED RECEPTORS OF DIGESTIVE SYSTEMS

City hospital №2

Corpus 2, 6 Krasnih partizan st., Krasnodar, 350012, Russia. E-mail: korotko@rambler.ru

The enzymes exosecreted by digestive glands, especially proteinases have not only digestive but signal role. The role is realized by means of regulatory peptide formation, stimulation and inhibition of their release, stimulation of special proteinase-activated receptors of digestive organs and adaptation their digestive and protective function. The enzymes endo-secreted by digestive glands have the same role. The examples of complex enzyme regulation of digestive and non-digestive organ functions in normal and pathologic condition were demonstrated.

*Keywords:* Proteinase-activated receptors, classification, effects, secretion, motility.

**П**ротеиназы – вездесущие ферменты, выполняют многочисленные жизненно важные функции в обеспечении катаболического компонента обмена белков. Важна регуляторная роль протеиназ, ибо с их участием происходит образование и деградация регуляторных пептидов, факторов роста, активации и инактивации факторов иммунзащиты, гемокоагуляции и антикоагуляции, тканевого и нетканевого лизиса и аналогичных процессов [1,2]. В пищеварительном тракте протеиназы играют ключевую роль в полостном и пристеночном пищеварении, велико их сигнальное значение в регуляторной организации пищеварения. Регуляции реализуются посредством образования, релизинга и деградации регуляторных пептидов, которые корректируют пищеварительные и неп пищеварительные функции органов системы пищеварения. Как стало очевидным в последние годы, протеиназы реализуют свои эффекты и через протеиназо-активируемые рецепторы (ПАР), которыми снабжены мембраны множества клеток разных физиологических систем. Этому аспекту регуляторной роли протеиназ в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) посвящен настоящий краткий обзор литературы, в том числе и результатов наших исследований.

Временем открытия ПАР считают начало шестидесятих годов прошлого столетия, когда было показано, что пепсин и трипсин могут действовать подобно инсулину на диафрагму крысы, иницируя ее рецепторы. К настоящему времени установлено 4 вида ПАР (табл. 1). В порядке очередности их открытия и клонирования данные рецепторы обозначаются: ПАР1, ПАР2, ПАР3 и ПАР4, которые предложено считать «гормоноподобными мессенджерами». Рецепторы локализируются на цитоплазматических мембранах различного типа клеток, связаны с их G-белками. Через посредство ПАР и цепь вторичных мессенджеров активируются или тормозятся клетки органов различных физиологических систем. Активация ПАР производится путем отщепления протеиназой от его внеклеточной N-терминали домена с последующим соединением освобожденного конца молекулы с пептидным фрагментом рецептора. Как видно из таблицы 1, ПАР представлены и в органах системы пищеварения. ПАР имеют общие и селективные активирующие их протеиназы. В роли лигандов могут выступать их короткие пептидные фрагменты – гексапептиды с определенной последовательностью аминокислот. Такой способностью обладают несколько синтезированных пептидов – агони-



стов ПАР без предварительной активации рецептора протеиназами, что используют в идентификации видов ПАР.

В органах системы пищеварения наиболее широко представлены ПАР2. Как показали экспериментальные исследования, активация рецепторов данного типа стимулирует или угнетает секрецию электролитов и ферментов слюнных, желудочных, поджелудочной желез, печени и билиарного тракта, моторную активность желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), активность энтероцитов, нейронов нервных сплетений желудка и кишечника, вазодилатацию и вазоконстрикцию органов пищеварения, различного типа афферентов, включая ноцицепторы, индуцирует ангиогенез, есть влияния на центральную и периферическую нервную систему, интегринь. Принци-

пиально, что данные влияния отнесены к числу модулирующих. Особый прикладной интерес исследователей ПАР вызвало установление выраженного участия протеиназ в воспалительных процессах, болезни раздраженного кишечника, активации факторов роста, с чем связывают онкогенез и интенсивность метастазирования. Это нашло подтверждение в клинике путем иммунохимической идентификации соответствующих ПАР в структурах кишечника. Активируют ПАР не только эндогенные, но и экзогенные, а также бактериальные протеиназы. Возвратное торможение секреции ферментов glandулицитами пищеварительных желез также может найти объяснение в наличии ПАР на glandулоцитах и на управляющих их секрецией структурах.

Таблица 1.

**Характеристика протеиназо-активируемых рецепторов в желудочно-кишечном тракте человека**

	ПАР1	ПАР2	ПАР3	ПАР4
Активирующие протеиназы	Тромбин, трипсин, плазмин, катепсин G, гранзим А, факторы Ха, VIIa, гингипсин	Трипсин, триптаза, трипсин-2, трипсин IV, матриптаза, мембранная сериновая протеаза I, факторы Ха, VIIa, гингипаин, акрозин, др. протеазы	Тромбин, трипсин, фактор Ха	Тромбин, трипсин, катепсин G, факторы Ха и VIIa, гингипаин, трипсин VI
Селективные пептидные агонисты	SFLLRN	SLIGKV, SLIGRL, LIGRLO	TFRGAP	GYPGKV
Локализация в желудочно-кишечном тракте	Энтероциты, мезентеральное нервное сплетение, фибробласты, гладкие мышцы, эндотелий, раковый эпителий толстой кишки, иммуноциты	Энтероциты, мезентеральное нервное сплетение, фибропласты, гладкие мышцы, эндотелий, раковый эпителий толстой кишки, панкреатические дуктулоциты и ациноциты, иммуноциты	Недифференцированные клетки желудка и тонкой кишки	Энтероциты, подслизистое нервное сплетение, энтеральные нейроны, эндотелий, иммуноциты
Известные эффекты в желудочно-кишечном тракте	Апоптоз, секреция ионов, рилизинг P <sub>g</sub> , пролиферация, сокращение и релаксация гладких мышц	Секреция ионов, рилизинг P <sub>g</sub> и эйкозаноидов, нейропептидов, секреция амилазы, активация ионных каналов, висцеральная гиперсенситивность, моторика		Моторная функция (сокращение продольных мышц)

В семидесятых годах прошлого столетия нами в комплексном изучении процесса эндосекреции ферментов пищеварительными железами, ее назначения и путей обеспечения ферментного гомеостаза организма в острых

и хронических экспериментах были установлены анаболические эффекты парентерального введения пепсиногена, трипсиногена и амилазы [3,4].



**Включение метионина  $^{35}\text{S}$  в ткань различных органов без парентерального введения ферментов ( контроль) и при введении их (радиоактивность тканей в процентах по отношению к таковой крови, забор материала через 1 ч после введение метионина,  $\text{M} \pm \text{m}$ )**

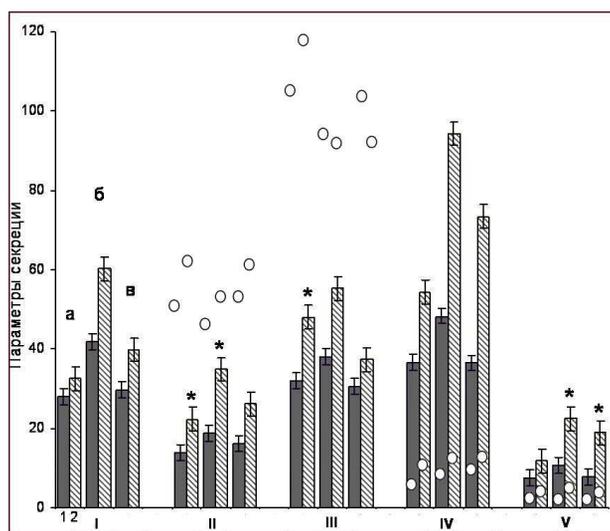
	Контроль	Пепсиноген	Трипсиноген	Амилаза
Кровь	100	100	100	100
Поджелудочная железа	660±34	2956±242*	914±62*	1042±69*
Слизистая оболочка желудка	307±17	852±59*	537±80*	538±59*
Слизистая оболочка двенадцатиперстной кишки	310±27	738±81*	439±35*	1212±104*
Слизистая оболочка тонкой кишки	316±13	613±45*	391±31*	488±48*
Печень	324±22	774±60*	593±63*	654±57*
Почка	467±34	1236±143*	1054±138*	742±104*

Примечание: \* – статистически достоверное увеличение.

Обратили на себя внимание не только общий анаболический эффект в виде повышенного включения в ткани меченого ( $^{35}\text{S}$  и  $^{75}\text{Se}$ ) метионина, но и выраженные селективные влияния. Это выразилось в многократно дозозависимо возросшем включении метионина в ткань поджелудочной железы под влиянием пепсиногена, аналогичном влиянии трипсиногена на слизистую оболочку желудка. Многократно усилилось включение меченого метионина в слизистую ДПК под влиянием внутривенного введения панкреатической  $\alpha$ -амилазы, в меньшей мере – пепсиногена (табл. 2). Такие результаты определили последующее направленное исследование энзимотропных влияний введения пепсиногена и гиперпепсиногемии на секрецию поджелудочной железы, трипсиногена и гипертрипсиногемии на секрецию желез желудка, введения  $\alpha$ -амилазы и гиперамилаземии на секрецию тонкой кишки и тонкокишечный гидролиз полисахаридов. Результаты данных многолетних исследований коллектива опубликованы в журналах и монографиях [3,5,6,7]. Но наступило время «ПАР – бума» и возможно понимание описанной нами феноменологии с позиций сигнальной

роли протеиназ пищеварительного тракта в модуляции и интеграции его функций. На такую роль ПАР делается акцент в современных экспериментальных и клинических исследованиях [1,8,9].

Нашими работами установлено, что вызванная в экспериментах гипертрипсиногемия повышает секрецию пепсиногена железами желудка (Рис.1) и этот эффект наблюдается в острых и хронических опытах, на изолированном *in vitro* органе при различных видах стимуляции секреции его желез. Вызванная в экспериментах на животных гиперпепсиногемия существенно повышает умеренно стимулированную секрецию поджелудочной железы (Рис.2) [3,7]. В опытах на изолированной *in vitro* поджелудочной железе кролика установлено, что увеличение концентрации химотрипсиногена в инкубационном растворе увеличивает рекрецию, но снижает синтез данного фермента железой и при этом возрастает синтез в ней амилазы. При инкубации железы в растворе с повышенной амилитической активностью увеличивается рекреция, но снижается синтез амилазы железой и нарастает синтез ею химотрипсиногена.



**Рис.1. Секреторные эффекты внутривенного введения собакам пентагастрина (1) и его же с трипсиногеном (2).**

I – Объем сока, мл/ч; II – Общая протеолитическая активность, ед/мл\*100 / ед/0,5ч; III – Общий белок, г/л\*100 / мкг/0,5ч; IV – Общая кислотность, ммоль/л\*102 / ммоль/0,5ч; V – Свободная HCl, ммоль, \*102 / ммоль/0,5 ч; а – 1,2; б – 3; в – 4 получасовые периоды; \* - статистически достоверные различия.



Приведенные примеры свидетельствуют о том, что рекреция ферментов снижает синтез одноименного энзима и стимулирует синтез фермента иной группы в данной железе и подобный эффект имеет место в другой железе

(трипсинемия увеличивает секрецию пепсиногена, пепсиногенемия – секрецию трипсиногена). Данные эффекты относятся к числу модулирующих и гиперферментемия пускового влияния на секрецию желез не оказывает.

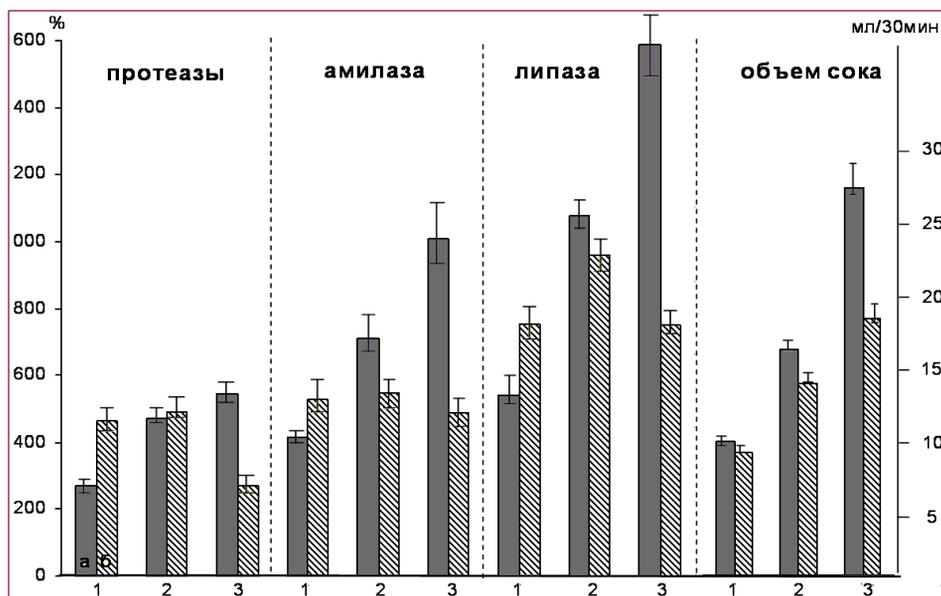


Рис. 2. Влияние пепсиногена на стимулированную секретинем с панкреозиминем секрецию поджелудочной железы ( $M \pm m$ , в процентах к секреции натощак, объем сока – мл/30 мин).

а – секреция на гормоны; б – на гормоны и введение 2 мг пепсиногена, дозы секретина и панкреозимина: 1 – по 0,25 Ед/кг; 2 – по 0,50 Ед/кг; 3 – по 1,0 Ед/кг.

Эксперименты с учетом амилолитической активности тонкокишечных перфузатов показали, что при вызванной в экспериментах панкреатической гиперамилаземии резко нарастает тонкокишечная рекреция панкреатической  $\alpha$ -амилазы, при этом существенно повышается секреция тонкокишечной  $\gamma$ -амилазы. Аналогичны примеры в секреторной деятельности слюнных желез человека: при гиперамилаземии на ранних стадиях острого панкреатита слюнные железы не только наращивают рекрецию панкреатической, но и секрецию слюнной  $\alpha$ -амилазы [6]. В острых опытах на собаках отмечено увеличение секреции амилазы слюнными железами при гиперпепсиногемии, а при гипертрипсинемии - увеличение выделения со слюной ингибитора трипсина [4]. На уровне накопленных данных назвать конкретные механизмы, посредством которых модулируется секреторная деятельность пищеварительных желез зимогенными протеиназами и амилазой не представляется возможным. Для протеиназ, надо полагать, это – ПАР.

Сигнальную роль в возвратном торможении секреции поджелудочной железы, выполняют не только протеиназы, но и амилаза и липаза, аргументируя существование энзимергических регуляций секреции пищеварительных желез. В первую очередь это относится к системе пищеварения, реализующей посредством гидролаз каскадную деполимеризацию нутриентов в сложно организованном многоорганном пищеварительном конвейере. В обзоре литературы по проблеме ПАР сказано: «Протеиназы нужно теперь считать важными подобными гормонам посредниками, сигнализирующими клеткам и тканям о многих переменных в норме и патологии». «С признани-

ем сигнальной роли протеиназ будет развиваться их биология и физиология и нас ждут захватывающие события в этой области».

Однако протеиназы следует отнести к достаточно специфичным лигандам рецепторов. Так, в естественных условиях постпрандиально резко возрастает экскреция ферментов, в том числе их зимогенов, в составе пищеварительных секретов, что дает саморегуляторные эффекты с хемосенсоров слизистой оболочки [5,10]. Иницируется при этом эндосекреции, протоковая и тонкокишечная резорбция ферментов, о чем свидетельствует повышение концентрации и дебитов ферментов, в том числе протеиназ, в составе лимфы [5]. Это косвенно может свидетельствовать о принципиальной возможности паракринных влияний протеиназ, так как ПАР имеют не только апикальные, но и базолатеральные мембраны клеток. Но постпрандиально в норме протеолитическая активность крови в системном кровотоке не изменяется или сдвиг ее незначительный. Это объясняется несколькими причинами: сильным разведением зимогенов в большом объеме крови и тканевой жидкости [1,10], наличием в крови ингибиторов протеиназ (правда, с  $\alpha 2$ -макроглобулином связанные протеиназы сигнальную роль утрачивают частично, в отличие от  $\alpha 1$ -антитрипсина, который в крови инактивирует сериновые протеиназы полностью [1]).

К названным причинам следует добавить адсорбирующую роль эндотелия кровеносных капилляров, которые демпфируют срочные подвижки ферментативной активности крови [10]. Такую же роль играет адсорбция ферментов плазменными белками и ферментными элемен-



тами крови [10]. Использование адсорбционной емкости эпителиоцитов при гиперферментемиях (например, при остром панкреатите) является причиной постстимуляционного повышения ферментативной активности крови и энзимотоксических полиорганных последствий этого.

Высокая адсорбирующая емкость компонентов крови и эндотелия сосудов может быть причиной относительной постпрандиальной стабильности не только протеолитической, а также липолитической и амилолитической активностей крови.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Веремеенко К.Н., Досенко В.Е., Кизим А.И., Терзов А.И. О механизмах лечебного действия системной энзимотерапии // Врач. дело. - 2000. № 2 (1051). - С. 3 - 11.
2. Вилкинсон Д. Принципы и методы диагностической энзимологии (пер. с англ.) - М.: Медицина, 1981. - 624с.
3. Коротько Г.Ф., Алейник В.А., Курзанов А.Н., Хамракулов Ш. Трипсиноген как модификатор пептидергических влияний на секрецию желудочных и поджелудочной желез // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 1996. - Т. 82, №8 - 9. - С. 87 - 95.
4. Коротько Г.Ф., Кадиров Ш.К. Роль слюнных желез в обеспечении относительного постоянства гидролитической активности крови // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 1994, - Т.80, № 8. - С.108 - 117.
5. Коротько Г.Ф. Секрция поджелудочной железы. 2-е доп. изд. - Краснодар: изд. Куб. гос. мед. универс., 2005. - 312 с.
6. Коротько Г.Ф. Желудочное пищеварение. - Краснодар, 2007. - 256с.
7. Коротько Г.Ф., Аблязов А.А. Дифференцированность эндосекреторных реакций желудка, двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы на пробные завтраки разного состава // Физиол. человека. - 1993. - Т. 19, № 3. - С. 135 - 140.
8. Губергриц Н.Б. Хроническая абдоминальная боль. Панкреатическая боль: Как помочь больному. - Киев, 2004. - 176 с.
9. Цветной И.М., Ингель И.Э. Гормональная функция неэндокринных клеток: роль нового биологического феномена в регуляции гомеостаза // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2000. - Т. 130, № 11. - С. 483 - 487.
10. Коротько Г.Ф. Рециркуляция ферментов пищеварительными железами. - Краснодар: Изд. «Эдви», 2011. - 144с.

ПОСТУПИЛА: 11.01.2012