

включения. Они обнаруживаются сначала в надъядерной области, а затем в межклеточных пространствах и в собственном слое слизистой оболочки. Жировые капли апикальных концов клеток двух видов: крупные, лишенные мембран, и мелкие, заключенные в мембраны эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. Липидные включения без мембран описывались и ранее [192, 193]. Биохимически [42, 132, 142, 143, 227—229] и автораддиографически [257] было показано, что ресинтез триглицеридов происходит в микросомальной фракции — основном цитоплазматическом матриксе, что приводит к образованию крупных липидных капель, лишенных мембран. Таким образом, Штраус [256] подразделяет процесс поглощения жира на два этапа: 1) пассивная диффузия жира, 2) синтез триглицеридов. Дальнейший процесс «жировой секреции», как он считает, происходит внутри эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. Он сводится к присоединению к триглицеридам фосфолипидных оболочек и белковых молекул и образованию хиломикрон. Последние по ультраструктурным особенностям и химическому составу являются аналогами таковых в лимфатических сосудах. Последующее продвижение хиломикрон по эндоплазматическому ретикулуму, продвижение в межклеточные пространства и внутрь сосудистой системы не сопровождается существенными изменениями в их строении.

Мнение Шестранда [243], что формирование хиломикрон происходит при прохождении липидов из клеток в межклеточные пространства, было опровергнуто. Пейли и Карли [192] называли продвижение капелек липидов по эндоплазматическому ретикулуму вторичным путем внутриклеточного транспорта.

Попытка уточнить роль протеинового синтеза в транспорте хиломикрон не дала убедительных результатов [39, 107]. Электронномикроскопическое определение кислой фосфатазы выявило ее в мультивезикулярных телах. При абсорбции жира активность кислой фосфатазы снижается [44].

Сейдж и Джерсид [218] провели целенаправленное исследование распределения углеводов и липидных капель внутри комплекса Гольджи кишечных клеток под влиянием рентгеновского облучения брюшной полости крыс. Жировые капли, по их данным, сосредоточены в вакуолярном компоненте, а в тубулярном компоненте — гликопротеидные комплексы. После локального облучения содержание гликопротеидов в комплексе Гольджи увеличилось, но полярность распределения гликопротеидов и жиров сохранялась неизменной.

Как только частички жира покидают клетки, они лишаются своего мембранозного окружения. Пейли и Карли [192] называли этот процесс обратным пиноцитозом, при котором оболочка, окружающая липиды, сливается с плазматической мембраной клетки в участке выхода липида. Очутившись в межклеточном пространстве, часть липидных капель сливается, достигая 0.1—1.0 мкм в диаметре. Далее эти капли через отверстия

в базальной мембране, особенно многочисленные на вершине кишечной ворсинки, проникают в собственный слой слизистой оболочки. В собственном слое обнаруживаются липидные частички, по размерам и электронной плотности аналогичные хиломикронам лимфы [63, 88]. Кроме того, внутри и вокруг млечного синуса располагаются мелкие (меньше 0.1 мкм) частички, представляющие собой полярные липопротеиды, классифицируемые как фрагменты хиломикрон. Хиломикроны проникают в просвет лимфатического сосуда через отверстия между эндотелиальными клетками, а также через цитоплазму эндотелия. Второй путь предполагает возможность пиноцитоза эндотелия [85, 268].

#### 2.2.2. ВСАСЫВАНИЕ БЕЛКОВ

С помощью иммуноморфологических методик было показано, что сосуны ряда млекопитающих абсорбируют интактные протеины в течение первых часов или недель. Этот феномен был обнаружен у мыши и крысы, но отсутствовал у морской свинки и кролика, а также у человека [68, 117, 118, 221, 268]. Такой процесс осуществляется путем пиноцитоза. Электронномикроскопически пиноцитозные пузырьки выявляются в тех же местах, где обнаруживается область флуоресценции меченых антител при световой микроскопии [82, 268]. Поглощенный белок собирается в апикальной цитоплазме в пузырьках, которые образованы мембраной гладкого эндоплазматического ретикулума. Далее белок или полностью переваривается в энтероците или передается дальше в иммунологически неактивной форме. После введения коргизона новорожденным животным клетки утрачивают способность к пиноцитозу и внешне становятся похожими на клетки взрослых животных.

У взрослых людей и лабораторных животных в норме протеины абсорбируются как аминокислоты. Электронномикроскопически этот процесс не изучен, хотя Кларк [68] допускает, что микропиноцитоз должен сохраняться и у взрослых животных. Джекобс и Тарнаски [139], учитывая, что антагонисты абсорбции L-тирозина не влияют на его захват, но препятствуют прохождению через слизистую оболочку и попаданию в сосуды, считают, что существуют по крайней мере две системы поглощения белков: поглощение кишечной клеткой белка и пассаж через эпителиальные клетки и собственный слой слизистой оболочки.

#### 2.2.3. ВСАСЫВАНИЕ УГЛЕВОДОВ

Крейп [74, 75] на изолированной исчерченной каемке показал наличие всех энзимов, переваривающих углеводы. При введении раствора глюкозы в кишку отмечается удлинение и изменение формы микроворсинок энтероцитов. В их цитоплазме обнаруживаются единичные непрозрачные капли. Межклеточ-

ные пространства расширяются. Хотя Хэмpton [121] сообщил об увеличении числа везикул в абсорбирующих клетках тонкой кишки при даче раствора сахарозы, он пришел к заключению, что в отличие от растительного масла сахароза не имеет видимых признаков абсорбции. С помощью совмещения биохимической и электронномикроскопической методик удалось точно локализовать активность дисахаридаз на мембранах исчерченной каемки в виде выростов размером 6 нм. Джонсон [141] видел прямую зависимость между количеством выростов и активностью пшвертазы и мальтазы в исчерченной каемке эпителиоцитов золотистого хомяка. Бенсон и соавт. [52], исследовавшие той же методикой активность мальтазы, изомальтазы, трегалазы и подавление активности папанном, не нашли прямой зависимости между активностью дисахаридаз и количеством выростов на мембранах микроворсинок. Хэмилтон и Мак-Майкл [120] выдвинули концепцию, согласно которой роль гликокаликса исчерченной каемки в абсорбции дисахаридов сводится к подготовке дисахаридов и моносахаридов к транспорту через клеточную мембрану. Розенвейг и соавт. [205] гистохимически показали, что кишечные дисахаридазы и гликолитические энзимы активно адаптируются к диете с сахарами, витаминами, гормонами и лекарствами.

#### 2.2.4. ВСАСЫВАНИЕ ИНЕРТНЫХ ВЕЩЕСТВ

Шмидт [223] считал, что макромолекулярное вещество полисахаридной природы — шуофер, в состав которого входит трехвалентное железо, является идеальным препаратом для изучения процессов всасывания. Это инертное вещество поступает внутрь клетки благодаря проницаемости цитоплазматической мембраны и в меньшей степени путем пиноцитоза, концентрируется в конгломераты внутри комплекса Гольджи и затем переходит из клетки в межклеточные пространства на уровне ядра. Из межклеточных пространств через базальную мембрану это вещество проникает в собственный слой слизистой оболочки и лимфатические сосуды. По мнению автора, шуофер, так же как инертные красители (трипановый синий, нейтральный красный, акридиновый оранжевый), в процессе внедрения в клетку должны подвергнуться диффузному расщеплению, а затем концентрироваться в цитоплазматических вакуолях. Вакуоли могут происходить из плазмолеммы при пиноцитозе [50, 130, 253], из эндоплазматического ретикулума или комплекса Гольджи [222]. В этих вакуолях резорбированные вещества осуществляют внутриклеточный транспорт до места отдачи. Трайр и соавт. [268] подвергают сомнению результаты этой работы, так как инертный шуофер (латекс полистерина) не может быть измельчен и, кроме того, в работе не были использованы в качестве контроля голодные животные. Кларк [68] описал абсорбцию коллоидного золота,

сахарида окиси железа, угля и частичек краски у молодых крыс и мышей и представил убедительные доказательства, что этот материал абсорбируется путем пиноцитоза.

Грубые изменения эпителиальных кишечных клеток в биоптате слизистой оболочки при попытке проследить абсорбцию воды [276] могут быть объяснены влиянием гипотонии на клетки биоптата при его получении.

#### 2.3. УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ НАРУШЕНИЕМ ВСАСЫВАНИЯ

Накопилось большое количество электронномикроскопических работ, отражающих цитологические изменения при самых разнообразных заболеваниях желудочно-кишечного тракта [84, 87, 211, 224, 232]. В настоящем разделе обращается внимание не на все нарушения ультраструктуры кишечной стенки, а лишь на те, которые связаны с нарушением функций кишечных эпителиоцитов.

##### 2.3.1. ОКАНТОЦИТОЗ

Неспособность кишки образовывать хиломикроны приводит к некоторым патологическим сдвигам. Это связано с неадекватной продукцией  $\beta$ -липопротеинов.

Редкое наследственное заболевание —  $\beta$ -липопротеиновая недостаточность (окантоцитоз) — патогенетически связано с нарушением синтеза или использования специфического апопротеина, необходимого для продукции  $\beta$ -протеина плазмы крови [134, 150, 219]. При этом заболевании наблюдаются стеаторрея, ненормальные формы эритроцитов, неврологические расстройства. Цитологические изменения при этом заболевании выражаются в том, что при исследовании патоцков в эпителиоцитах кишечных ворсинок имеется много вакуолей, в которых содержатся липиды [3, 150]. Электронномикроскопически уточняется, что жировые капли часто чрезмерно велики и лишены мембран [83, 134, 216]. По мнению Доббинса [83] и Штрауса [256], эпителиальные клетки кишки неспособны передавать накопленные липиды в везикулы комплекса Гольджи и реализовать их во внеклеточные пространства. Пероральное введение жира не приводит у этих больных к увеличению количества жира в плазме крови и хиломикронов в лимфе [134, 219]. Все это доказывает, что поражение эпителиоцитов выражается в неспособности к секреции хиломикронов. По мнению Доббинса [83], последнее является результатом нарушений в строении комплекса Гольджи и эндоплазматического ретикулума. Сабезни и соавт. [216, 217] вызвали нарушение синтеза  $\beta$ -липопротеина и триглицеридов

плазмы у крыс с помощью пуромицина и ацетоксициклохида. Вызванное заболевание было очень похоже на окантоцитоз. Хотя клетки накапливали значительное количество липидов, формирование хиломикрон было подавлено и нарушался интра- и экстрацеллюлярный транспорт триглицеридов. В результате этих работ было доказано, что транспорт липидов intimately связан с синтезом липопротеинов.

### 2.3.2. НЕТРОПИЧЕСКОЕ СПРУ

Существует мнение, что микроворсинки кишечных эпителиоцитов с исчерченной каемкой у пациентов с клинически активной целиакией (болезнь Ги—Гертера—Гейбнера) менее многочисленны, короче, шире, чем в норме, и расположены нерегулярно [76, 213, 230, 233, 236, 281]. Некоторые авторы предполагали, что при спру область поражения ограничивается исчерченной каемкой. Длина кишечных ворсинок уменьшается до 0.5—0.7 мкм, а число микроворсинок на 1 мм<sup>2</sup> составляет только 3.3—5.0·10<sup>7</sup> [41]. Другие отмечают более выраженные цитологические изменения (рис. 2.16 — см. вкл.), включающие слабое развитие терминальной сети [40, 41, 189, 237], обилие рибосом, уменьшение мембранных структур эндоплазматического ретикулума [188], обеднение апикальных отделов цитоплазмы везикулами [40], увеличение количества лизосом [195] и прерывистость базальной мембраны. Ашворт и Чирс [40] сообщали об отсутствии жировой абсорбции в клетках тонкой кишки у больных с нелеченым спру после назначения жира. Они отмечали жир в просвете кишки, но не видели его внутри абсорбтивных клеток. Шинер и соавт. [233], напротив, обнаружили большое количество жира в абсорбтивных клетках у нелеченого больного спру, получившего кукурузное масло.

Фелис и Рубин [195] обнаружили значительное количество жира в эпителиоцитах как у голодных больных спру, так и после дачи им кукурузного масла.

Рубин [212] на основании анализа литературы выделяет три теории морфогенеза спру. Первая утверждает, что атрофия слизистой оболочки — кажущаяся и обусловлена отеком и воспалительной инфильтрацией собственного слоя кишечных ворсинок. Однако многочисленные ультраструктурные находки опровергают эту теорию.

Вторая теория предполагает, что атрофия кишечных ворсинок вызвана прекращением митотического деления в недифференцированных клетках кишечных крипт. Странным является преимущественная атрофия кишечных ворсинок без общей атрофии слизистой оболочки. В действительности оказывается, что количество фигур митозов даже увеличено.

Третья теория указывает на уменьшение числа дифференцированных клеток и гиперплазию недифференцированных.

Экспериментальная модель нарушения кинетики и атрофии кишечных ворсинок может быть получена у мышей и крыс при применении диеты с недостатком незаменимых жирных кислот. Вторично возникают нарушения синтеза ДНК. Назначение клейковины детям с целиакией приводит к иммуноподобным изменениям в капиллярах, плазматических и лимфоидных клетках [235]. При лечении больных спру диетой, свободной от клейковины, происходит восстановление исчерченной каемки [189, 218], эндоплазматического ретикулума, а в дальнейшем полное восстановление структуры кишки [112, 207—210, 281]. При нетропическом спру поражается не только слизистая оболочка тонкой кишки, но иногда и ректальная слизистая оболочка [86].

### 2.3.3. БОЛЕЗНЬ УИПЛА

Патогенез кишечной липодистрофии (болезнь Уиппла) твердо не установлен. Электронномикроскопически в слизистой оболочке тонкого кишечника обнаружены бациллоформные структуры [65, 72, 73, 278]. Коечки и Малински [144] нашли те же образования в лимфатических узлах. Были предположения, что эти структуры являются результатом синтеза макрофагов, которые могут быть выброшены в межклеточные пространства [72, 127]. Накапливается все больше убедительных доказательств, что бациллоформные структуры действительно являются бактериями [147, 268]. Кароли и соавт. [61] выделили из лимфатического узла больного *Corynebacterium anaerobium* [206], однако большинству исследователей этого сделать не удалось [61, 145, 268]. Наличие бактерий в слизистой оболочке коррелировало с активностью заболевания. Они исчезали при активной терапии антибиотиками и появлялись снова при клиническом рецидиве. Число макрофагов и содержание в них мембранозного материала также уменьшалось при эффективной терапии [72, 147, 266].

В отношении цитологических изменений эпителиоцитов нет единства мнений. Аруши, Модестова, Шаров [5], обнаружив заметные гистохимические изменения при электронномикроскопическом изучении эпителиоцитов, цитологических сдвигов не выявили. Микроворсинки имели обычную длину и ширину, клетки содержали обычное количество неизмененных органелл. Бациллоподобные тела были обнаружены в эпителиальных клетках и между ними. По мнению Давида [79] и Трайра и соавт. [266, 267], эпителиоциты вершин кишечных ворсинок изменены мало. В межклеточных пространствах обнаруживается значительное скопление липидов. Выраженные изменения наблюдаются в клетках кишечных крипт. Встречаются скопления темных недифференцированных клеток. Отто [183], тщательно исследовав ультраструктуру многих вариантов клеток тонкой кишки, обнаружил в них выраженные изменения, вызванные отчасти самим заболеванием, отчасти терапией антибиотиками и кортикостероидами.

Он делает вывод, что болезнь Уиппла относится к группе вторичных синдромов нарушения всасывания. Причины нарушения всасывания, по его мнению, находятся вне эпителиальных клеток тонкой кишки. Изменения эпителиоцитов носят вторичный характер, проявляющийся в уменьшении активности энзимов в области исчерченной каемки.

#### 2.3.4. ПРОЧИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Среди других заболеваний, сопровождающихся синдромом нарушения абсорбции, могут быть названы тропическое спру [124], хронический энтерит [80], злокачественные опухоли тонкой кишки [230], постгастроэктомическая стеаторрея [5, 76], идеопатическая стеаторрея [185, 237], кишечный дивертикулез [233] и др.

*Тропическое спру* характеризуется значительной гибелью клеток на вершинах кишечных ворсинок, причем образуются дефекты. В остальных клетках ворсинок также наблюдаются заметные дистрофические изменения. Сильно выражена лейкоцитарная инфильтрация. Клетки кишечных крипт страдают меньше [124].

*Идеопатическая стеаторрея* по клиническим проявлениям соответствует в основном синдрому малабсорбции, или спру. Происходит уменьшение поверхности слизистой оболочки тонкой кишки до 5% нормальной величины вследствие редукции или полного исчезновения микроворсинок. В основном поражаются вершины кишечных ворсинок, в то время как кишечные крипты поражены меньше. Центральные фибриллы оставшихся микроворсинок не выявляются. Терминальная сеть редуцирована, митохондрии набухают. Резорбция жира не повреждена. Лизосомы редуцированы. Параллельно с этим исчезает активность кислой фосфатазы [76, 185, 202, 230, 237].

Курран и Кример [76], исследовавшие еюнальную биопсию от 6 больных с постгастроэктомической стеаторреей, не обнаружили ультраструктурных отклонений от нормы. В то же время у двух больных регионарным энтеритом они отметили большое количество дегенерирующих клеток на вершинах кишечных ворсинок, а у больного склеродермией — небольшое количество липидных масс внутри абсорбтивных клеток. Эти данные находятся в противоречии с сообщениями ряда авторов относительно заметных изменений тонкой кишки при пострезекционных синдромах [3, 87, 224]. Кроме того, Зуфарову и соавт. [13] удалось наблюдать явления метаплазии кишечного эпителия в желудочный.

Электронная микроскопия позволяет видеть тонкие изменения эпителиоцитов в случаях без клинических проявлений нарушения всасывания. Так, при биопсии тощей кишки у больных псориазом были обнаружены изменения многих органоидов кле-

ток кишечных ворсинок [258]. Наблюдалась вакуолизация эндоплазматического ретикулума, увеличение количества лизосом, ампутация микроворсинок, изменение формы и плотности ядер. Эти изменения носили очаговый характер. Рядом с резко измененными клетками располагались интактные.

При *хроническом дуодените* также могут быть выявлены разнообразные ультраструктурные изменения (рис. 2.17 — см. вкл.), отражающие дистрофические и некробиотические изменения эпителия, частые картины лейкопедеза. Обнаруживаются нарушения секреторной активности энтероцитов с ацидофильными гранулами, желез двенадцатиперстной кишки и бокаловидных энтероцитов. Усиление регенеративной активности выражается в появлении недифференцированных клеток не только в устьях кишечных крипт, но даже на вершинах кишечных ворсинок. Последние не могут в полной мере выполнять пищеварительную функцию. Косвенным подтверждением нарушения процесса пищеварения является наличие в собственном слое слизистой оболочки макрофагов с крупными жировыми включениями [22, 23].

Брюгер и соавт. [7] при *острой бактериальной дизентерии* исследовали тощую кишку методом аспирационной биопсии и обнаружили как гистологические, так и ультраструктурные изменения. Последние выразились в дезорганизации клеток кишечных ворсинок и крипт с образованием аутофагических вакуолей и лизосом, содержащих структуры, сходные по очертаниям с бактериями. Кроме того, отмечено опустошение бокаловидных энтероцитов вершин кишечных ворсинок, а в клетках кишечных крипт повышение регенеративной активности. На этом основании авторы предлагают рассматривать дизентерию как энтероколит.

*Хронический язвенный колит* кроме толстой кишки поражает также тонкую кишку и желудок. К такому заключению пришел Турчинс [32] на основании гистохимических и электронномикроскопических исследований. В эпителиоцитах тонкой кишки он обнаружил деструкцию микроворсинок и допустил возможность первичного поражения тонкой кишки.

Терон и Мекель [259], изучавшие ультраструктурную локализацию железа в тощей кишке человека в условиях перегрузки железом при *болезни Байту*, обнаружили железо в абсорбтивных клетках кишки и в собственном слое слизистой оболочки. В кишечных эпителиоцитах железо располагалось в гранулах ферритина, ограниченных однослойной мембраной, в ациклярных везикулах и в везикулах комплекса Гольджи. Положительная реакция на кислую фосфатазу в ферритиновых гранулах подтверждает, что они относятся к группе лизосом. В макрофагах выявлялись отложения ферритина и гемосидерина, в фибробластах — главным образом ферритин. В лимфоцитах и плазмоцитах железа не было. Молекулы ферритина обнаруживались также в межклеточных пространствах и в просвете капилляров.

Прекращение или нарушение регенерации эпителия тонкой кишки может быть вызвано экспериментально путем тотального рентгеновского облучения, воздействия радиоактивных веществ или введения антагонистов нуклеинового обмена [29—31, 123, 260, 274, 275]. Антагонист фолиевой кислоты — метотрекат может вызывать у человека через 6—48 час. после однократного введения неспецифические изменения во многих органах почти всех клеточных типов тонкой кишки, а заметное торможение митотической активности — через 48 час. [160, 161]. Амниоптерин (4-аминоптерил глутаминовой кислоты) вызывает у мышей и крыс спруподобное заболевание. Он вызывает уменьшение числа фигур митозов путем нарушения метаболизма рибонуклеопротеидов. Следствием этого является атрофия слизистой оболочки [170]. Ослабевает абсорбция жира. Он выявляется в виде крупных капель только в тех клетках, на которых местах сохранились микроворсинки [215, 275]. В других исследованиях амниоптерин приводил к подавлению абсорбции ксилиты [247].

При рентгеновском облучении белых мышей тотальной дозой 450 р ультраструктурные изменения наступали в митохондриях, эндоплазматическом ретикулуме и ядерной мембране. Эти изменения носили обратимый характер [56].

Рубин [212] при анализе ультраструктуры эпителиальной «мембраны» тонкой кишки подчеркивает сложность и многокомпонентность ее и взаимосвязь различных по функциональному значению клеток. Повреждение любого компонента эпителиальной «мембраны» может привести к синдрому нарушения всасывания.

Экспериментальное изучение последствий резекции желудка и тонкой кишки, проведенное под руководством Зуфарова, привело к обнаружению в тонкой и толстой кишках разнообразных цитологических изменений, большая часть которых расценена как компенсаторно-приспособительные [11, 26]. Сходные результаты получены Менге и соавт. [165].

Наряду с всасыванием различных веществ из просвета кишки, эпителиоциты с исчерпанной каемкой могут участвовать в процессе выделения жидкости в просвет. Авцин и соавт. [1], изучая механизмы выделения жидкости в просвет тонкой кишки при экспериментальной холере, вызванной холерагеном, обнаружили дезорганизацию эпителиальных и эндотелиальных мембран. Это выражалось в отечности плазмолеммы эндотелиальных клеток, частичном разрушении плазмолеммы эпителиоцитов, диссоциации базальной мембраны, отечности основного вещества цитоплазмы эндотелиальных и эпителиальных клеток, набухании митохондрий. Наряду с этим авторы выявили приспособительные изменения, выражающиеся в активном участии агранулярного эндоплазматического ретикулума в захвате жидкости из межклеточных пространств и передаче ее через расширенные элементы ретикулума и «акведукты» (изменения типа обратного пиноцитоза)

в просвет кишки. Возможно, этот механизм «обратного» транспортного пути существует и в норме, но не в таких масштабах.

Учитывая большое количество электронномикроскопических исследований кишечного эпителия, разнообразие методических подходов, использование данных смежных дисциплин, нужно ожидать новых достижений функциональной морфологии тонкой кишки.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцин А. П., Шахламов В. А., Сагеева О. Ф. Ультраструктура эпителия и эндотелия кровеносных капилляров тонкой кишки при действии холерагена. — Арх. патол., 1973, т. 35, вып. 3, с. 41—46.
2. Алов И. А., Брауде А. И., Аспиз М. Е. Основы функциональной морфологии клетки. М., 1969.
3. Аруин Л. П. Морфологическое исследование материала биопсий тонкого кишечника. — Арх. патол., 1967, т. 29, вып. 9, с. 3—13.
4. Аруин Л. П., Крымский Л. Д., Горобинская В. С., Соколова Г. Н. Поверхность слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки по данным растровой электронной микроскопии. — В кн.: Актуальные вопросы гастроэнтерологии, вып. 7, М., 1974, с. 243—249.
5. Аруин Л. П., Мобестова Е. В., Шаров В. Г. Гистохимия и ультраструктура слизистой оболочки тонкой кишки при болезни Уиппла. — Арх. патол., 1972, т. 34, вып. 11, с. 67—73.
6. Аруин Л. П., Сметрова И. А., Шаров В. Г. Эндокринные клетки при язвенной болезни и пострезекционных синдромах. — Матер. 5-го Всес. съезда патологоанат. М., 1971, с. 18.
7. Блюмгер А. Ф., Синельникова М. П., Векслер Х. М., Терещенко Л. А., Павлицкий И. Н. Изменения слизистой оболочки тонкой кишки при острой дизентерии. — Арх. патол., 1973, т. 35, вып. 2, с. 38—43.
8. Гольдин Л. С. Электронная микроскопия слизистой оболочки тонкой кишки. — ДАН СССР, 1956, т. 106, вып. 4, с. 721—724.
9. Гропиовский Я. Надмембранный слой клеточной оболочки. — Арх. патол., 1969, т. 31, вып. 12, с. 16—25.
10. Жилкин Л. Н. Применение радиоактивных изотопов при изучении повреждения и регенерации тканей. — В кн.: Пластические и восстановительные процессы. 2-я гистол. конф. М., 1959, с. 94—100.
11. Зуфаров К. А. Клеточные механизмы приспособительных процессов в желудке и кишечнике у больных язвенной болезнью до и после резекции желудка. Ташкент, 1974.
12. Зуфаров К. А., Маариди Д. И., Нуруллаев Л. Д. Морфофункциональные особенности бунчерных желез крыс. — Арх. патол., 1972, т. 62, вып. 2, с. 27—33.
13. Зуфаров К. А., Ташходжаев П. И., Шишова Е. К., Вайсброт В. В. Ультраструктурные особенности слизистой оболочки тонкого кишечника больных хроническим энтероколитом. — Арх. патол., 1970, т. 32, вып. 1, с. 45—52.
14. Зуфаров К. А., Ташходжаев П. И., Шишова Е. К., Хамидов Д. Х. Атлас. Электронная микроскопия органов и тканей. Ташкент, 1971.
15. Зуфаров К. А., Шишова Е. К., Байбекова Э. М. Ультраструктура бокаловидных клеток кишечника собаки. — Цитология, 1968, т. 10, вып. 11, с. 1490—1492.
16. Зуфаров К. А., Шишова Е. К., Ташходжаев П. И. Атлас. Электронная микроскопия пищеварительной системы. Ташкент, 1969.
17. Казановская Э. А. Исследование кишечного эпителия полихеты *Arenicola marina*. — В кн.: Механизмы биологических процессов. Матер. 3-й конф. молодых специалистов. Л., 1973, с. 57.

## Глава 3

### ВСАСЫВАНИЕ ВОДЫ И ОДНОВАЛЕНТНЫХ ИОНОВ

И. И. Никольский

В тонкой кишке происходит интенсивное всасывание воды и солей, из них главным образом хлористого натрия. Основная масса воды и NaCl, проходящая через тонкую кишку, поступает не с пищей, а секретруется в передних отделах пищеварительного тракта. В тонком отделе кишечника осуществляется зависимый от ионов  $\text{Na}^+$  активный транспорт сахаров, аминокислот и других веществ. Одновременно происходит абсорбция (а фактически реабсорбция) NaCl и воды. В толстом отделе кишечника продолжается процесс всасывания воды и хлористого натрия.

Общее количество воды, всасываемое в кишечнике человека, достигает 8—10 л, а NaCl — около 1 моля. Как правило, в полости кишечника независимо от характера пищи поддерживается тоничность, близкая к тоничности плазмы крови, и концентрация NaCl, соответствующая плазме или несколько сниженная [47]. Значительное уменьшение концентрации NaCl происходит в толстой кишке. Таким образом, всасывание воды и хлористого натрия обычно осуществляется против градиента концентрации и, следовательно, представляет активный процесс, требующий затраты энергии. Непосредственный источник энергии и механизм его использования в транспорте воды, ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  оказываются неодинаковыми.

Среди многочисленных исследований механизма всасывания воды и солей одновалентных ионов наибольшее число работ посвящено ионам  $\text{Na}^+$ . Опыты показывают, что транспорт воды и в ряде случаев ионов  $\text{Cl}^-$  тесно сопряжен с транспортом  $\text{Na}^+$  и определяется им. Поэтому рассмотрение материала целесообразно начать с транспорта  $\text{Na}^+$ .

## 3.1. ОСНОВЫ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всасывание определяется как поступление вещества из просвета кишечника в кровь и лимфу, а в условиях эксперимента — и как перенос вещества в серозную жидкость (раствор, объем). Поэтому задача всех методов исследования сводится в первую очередь к измерению количества вещества, ушедшего из просвета кишечника (мукозного объема) или поступившего в серозный объем. Но в действительности через стенку кишечника постоянно осуществляется движение ионов и молекул воды в обоих направлениях. Для понимания механизма всасывания существенное значение имеет определение величин односторонних потоков через ткань, а также потоков через апикальную и базальную (и латеральные) мембраны кишечного эпителиоцита. Сумма потоков ( $J_{\text{net}}$ ) из мукозного раствора в серозный ( $J_{\text{ms}}$ ) и из серозного в мукозный ( $J_{\text{sm}}$ ) может быть как положительной, так и отрицательной. В случае, когда  $J_{\text{net}} > 0$  ( $J_{\text{ms}} > J_{\text{sm}}$ ), имеет место абсорбция (всасывание) вещества, а когда  $J_{\text{net}} < 0$  ( $J_{\text{ms}} < J_{\text{sm}}$ ) — секреция (энтеросорбция).

В зависимости от условий эксперимента и изучаемого объекта применяются различные методы исследования [73]. Наиболее разнообразны методы, применяемые в условиях *in vitro*. Тонкая кишка применяется либо в виде изолированного перфузируемого отрезка, либо в виде отдельных сегментов петель кишки или только ее слизистой оболочки. В последнем случае участок слизистой оболочки помещается между двумя растворами в качестве мембраны или прикрепляется к подложке и используется для определения односторонних потоков из раствора в кишечный эпителиоцит через его апикальную мембрану.

Несмотря на кажущуюся простоту, много внимания уделяется способам измерения количества абсорбируемой воды (объема серозной жидкости). Правильное измерение объема сопряжено и с точностью определения концентраций и переносимых количеств других веществ. При перфузии вывернутого отрезка кишки применяется метод непосредственного сбора жидкости, проходящей через стенку кишки [46, 61], или весовой метод [74]. Применение вывернутого «мешочка» позволяет прямо измерять объем серозной жидкости и поступление воды в ткань по изменению веса. Но наиболее точные результаты дает определение объема по концентрации непроникающего вещества — маркера, вносимого в серозный объем. Изменение концентрации непроникающего вещества обратно пропорционально изменению объема (количеству серозной жидкости). В качестве маркера применяется инулин [21], полиэтиленгликоль [55], феноловый красный [69].

Точное знание объема серозного раствора позволяет определять концентрации и количества переносимых ионов. Для измерения односторонних потоков ионов или воды применяется изотопный метод.

Перенос ионов зависит не только от разности химических потенциалов (градиента концентрации), но и от разности электрических потенциалов. Поэтому для понимания механизма всасывания ионов необходимо измерение разности потенциалов между мукозным и серозным растворами. Существенную информацию о механизме переноса ионов дает метод измерения короткозамкнутого тока, особенно при его сочетании с измерением ионных потоков [13, 22, 89]. Интересно отметить, что использование очищенной слизистой оболочки дает более высокие и более стабильные значения тока (переноса ионов) по сравнению с целой стенкой кишки [44].

Для определения всасывания (и секреции) в условиях организма наиболее часто применяется метод изолированной петли кишки. Сравнение различных модификаций образования изолированной петли показывает практическое совпадение получаемых результатов, хотя стабильность результатов может быть различной [7].

Простым способом измерения количества всосавшегося вещества является сравнение его количества, введенного в петлю и извлеченного из нее в конце опыта. Поправку на величину секреции иногда находят по щелочности перфузируемого раствора и кишечного сока [5]. Но более точным является определение объема (изменения количества воды) по изменению концентрации непроницающего маркера. Для этой цели используются инулин [98], феноловый красный [37], полиэтиленгликоль [79]. Другие ссылки можно найти в сводке Парсона [73]. Сравнение прямого и «маркерного» измерения объема жидкости показывает возможность совпадения и расхождения данных даже при перфузии петли изотоническим солевым раствором [79].

Определение абсорбции или секреции ионов проводится путем измерения их количества (концентрации) в перфузируемой жидкости. Для измерения односторонних потоков применяется введение изотопов в просвет кишки или кровь.

### 3.2. ВСАСЫВАНИЕ ИОНОВ НАТРИЯ

В обычных условиях через ткань переносятся не отдельные ионы, а осуществляется сопряженное движение катиона и аниона либо обмен катиона на катион или аниона на анион. Только в специальных экспериментальных условиях (измерение короткозамкнутого тока) можно обеспечить перенос через ткань ионов одного знака и одного типа. Опыты показывают, что в тонкой кишке происходит сопряженный перенос ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , т. е. идет всасывание  $\text{NaCl}$ , а в толстой кишке наблюдается обмен  $\text{Na}^+$  на  $\text{K}^+$ . Хотя транспорт ионов взаимосвязан, непосредственный механизм их переноса через клеточные мембраны различен. Иными словами, транспортные системы кишечного эпителиоцита, как и других клеток, специализированы по типу иона. При этом

надо иметь в виду, что один и тот же ион может транспортироваться через мембрану несколькими путями, функциональная роль которых различна. Так, ионы  $\text{Na}^+$  могут, по-видимому, переноситься через мембраны кишечного эпителиоцита по четырем каналам.

Выше подчеркивалось, что движение ионов через стенку кишки не является односторонним и результирующий поток представляет сумму потоков из просвета кишки в кровь и в обратном направлении. В зависимости от направления суммарного потока концентрация (количество)  $\text{Na}^+$  в просвете кишки может увеличиваться или уменьшаться. На рис. 3.1 представлены результаты опытов, полученные в условиях перфузии петель различных отделов кишки собаки раствором Тироде. Величины потоков опре-

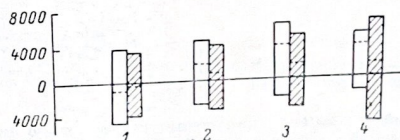


Рис. 3.1. Потоки  $\text{Na}^+$  и воды в различных отделах кишечника собаки. (По [54]).

1 — двенадцатиперстная, 2 — тощая, 3 — подвздошная, 4 — толстая кишки. Сетчатые столбики —  $\text{Na}^+$ , заштрихованные — вода. По оси ординат — величина потока, микромоль/100 см<sup>2</sup> серозной поверхности/час. Выше нулевой линии — поток из мукозного раствора ( $J_{\text{мк}}$ ), ниже — в мукозный раствор ( $J_{\text{ср}}$ ), пунктиром на столбиках обозначен суммарный поток ( $J_{\text{ср}}$ ), соответствующий высоте нулевой линии абсорбции, ниже — секреции.

делялись изотопным методом. Опыты свидетельствуют о секреции  $\text{Na}^+$  и воды в двенадцатиперстной кишке и их абсорбции в остальных отделах тонкой и толстой кишок. Аналогичная картина наблюдается и у человека в условиях нормального пищеварения (рис. 3.2 и 3.3). Концентрация  $\text{Na}^+$  возрастает в проксимальных отделах пищеварительного тракта и достигает в средних отделах тонкой кишки уровня  $\text{Na}^+$  плазмы крови. Наибольшее количество  $\text{Na}^+$  и воды в зависимости от характера пищи приходится на различные участки пищеварительного тракта. После мясной пищи, содержащей около 20 мэкв.  $\text{Na}^+$ , общее его количество в начале двенадцатиперстной кишки составляло 120 мэкв. Из них около 90 мэкв. всасывалось в тонкой кишке и 30 мэкв. — в толстой. Таким образом, в нормальных условиях в пищеварительном тракте поддерживается концентрация  $\text{Na}^+$ , близкая к концентрации в плазме крови. Несмотря на это, происходит постоянное всасывание  $\text{Na}^+$  из просвета кишечника в кровь. Нужно отметить, что зоны секреции и абсорбции  $\text{Na}^+$  зависят не только от характера пищи, но и от типа животного. Например, у морской свинки

секреция  $\text{Na}^+$  наблюдалась во всех отделах тонкой кишки, а абсорбция регистрировалась только в слепой и толстой кишках [79].  
 При рассмотрении всасывания основное значение придается изменению количества вещества в просвете кишки, но не меньше

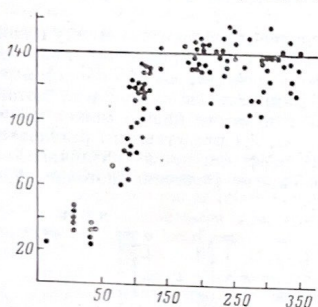


Рис. 3.2. Концентрация  $\text{Na}^+$  в различных участках пищеварительного тракта человека после приема мясной пищи. (По [47]).  
 По оси абсцисс — длина пищеварительного тракта — расстояние от зубов, см (50—350 см соответствуют тонкой кишке); по оси ординат — концентрация  $\text{Na}^+$ , мМ. Сплошная линия — концентрация  $\text{Na}^+$  в плазме крови.

значение имеет концентрация вещества, а также его градиент по отношению к плазме крови. Как следует из данных, представленных на рис. 3.2 и 3.3, уменьшение количества  $\text{Na}^+$  в просвете тонкой кишки происходит в ее проксимальных отделах, ве-

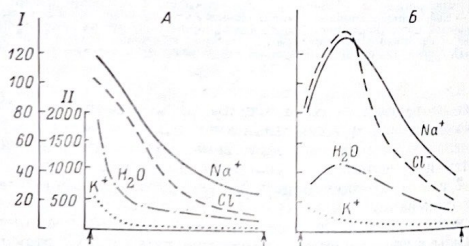


Рис. 3.3. Изменение количества воды и электролитов в тонкой кишке человека после приема мясной (А) и углеводно-молочной (В) пищи. (По [47]).  
 По оси абсцисс — расстояние вдоль тонкой кишки (стрелки — начало и конец кишки); по оси ординат: I — количество электролитов, ммог.; II — количество воды, мл.

смотря на обратный градиент концентрации, а в дистальных отделах — при фактическом равенстве концентрации в просвете и плазме крови. Для объяснения полученных фактов необходимо рассматривать одновременно динамику движения  $\text{Na}^+$  и воды,

В проксимальных отделах кишки тоничность жидкости ниже, чем в плазме крови, и поэтому происходит быстрое всасывание воды. В результате всасывается гипотонический раствор  $\text{NaCl}$  ( $\text{NaCl}$ ). В средних и дистальных отделах практически происходит всасывание изотонического раствора  $\text{NaCl}$ . В толстой кишке продолжается абсорбция  $\text{Na}^+$  и воды, но при этом концентрация  $\text{Na}^+$  падает. Ниже приводится концентрация  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в различных частях кишки крысы [37] (в мМ):

	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$
Терминальная часть тонкой кишки . . .	141	24
Участок толстой кишки (от начала):		
0—2 см . . .	78	26
2—4 см . . .	64	36
4—6 см . . .	52	56
6—8 см . . .	48	58

Одновременное измерение общего количества воды и ионов в просвете кишки показывает, что наблюдается значительное уменьшение содержания воды и  $\text{Na}^+$ , в то время как количество  $\text{K}^+$  практически не изменяется [37].

Абсорбция  $\text{Na}^+$  является результатом превышения потока  $\text{Na}^+$  из мукозного объема в серозный над потоком в обратном направлении. Как видно из данных, приведенных на рис. 3.1, и в тонкой, и толстой кишках собаки поток  $\text{Na}^+$  из просвета кишки в кровь значительно выше потока в обратном направлении. Аналогичные результаты были получены и в многочисленных опытах, выполненных в условиях *in vivo* и *in vitro* и на других объектах (табл. 3.4). Следует подчеркнуть, что на изолированных сегментах кишок при отсутствии в среде глюкозы или других субстратов транспорта превышение  $J_{\text{мз}}$  над  $J_{\text{см}}$  может не наблюдаться.

Таким образом, экспериментальное решение вопроса о природе абсорбции ионов  $\text{Na}^+$  сводится к исследованию зависимости  $J_{\text{мз}}$  и  $J_{\text{см}}$  от различных факторов и выяснению закономерностей их изменения.

В первую очередь представляет интерес исследование зависимости величины потоков от концентрации  $\text{Na}^+$ . В организме концентрация  $\text{Na}^+$  в плазме крови поддерживается практически на постоянном уровне, поэтому в эксперименте варьированию подлежит концентрация  $\text{Na}^+$  в просвете кишки. Опыты подтверждают способность эпителия кишки транспортировать  $\text{Na}^+$  против значительного градиента концентрации (рис. 3.4 и 3.5). В дистальных отделах тонкой кишки и в толстой кишке эта способность выражена сильнее. Абсорбция  $\text{Na}^+$  в тонкой кишке человека сменяется секрецией при снижении концентрации  $\text{NaCl}$  в просвете кишки до 130 мМ, в то время как в подвздошной кишке аналогичная пороговая концентрация  $\text{NaCl}$  намного ниже — порядка 30 мМ. Представление о величине концентрации  $\text{Na}^+$ , при которой абсорбция сменяется секрецией, можно получить из сравне-



Таблица 3.1  
Величины трансмуральных потоков  $\text{Na}^+$  (в мэкв./см<sup>2</sup>/час)

Объект исследования	$J_{ms}$	$J_{sm}$	$J_{net}$	Источник
Подвздошная кишка крысы:				
in vivo . . . . .	12.0	8.5	3.5	[29]
in vitro {	4.7	2.1	2.6	[25]
in vitro {	15.3	10.4	4.9	[96]
Тонкая кишка крысы in vitro . . . . .	20.2	14.2	6.0	[96]
Подвздошная кишка кролика:				
in vitro {	14.3	10.5	3.7	[44]
in vitro {	9.6	5.7	3.9	[89]
in vitro {	9.2	8.0	1.2	[66]
in vivo . . . . .	8.8	4.7	4.1	[66]
Толстая кишка крысы in vitro	8.9	6.7	2.2	[84]
Тонкая кишка лягушки . . . . .	3.3	2.1	1.2	[80]
Толстая кишка жабы . . . . .	2.1	0.2	1.9	[64]

ния  $J_{ms}$  и  $J_{sm}$  при равенстве концентраций  $\text{Na}^+$  с обеих сторон кишки. Если  $J_{ms}$  линейно зависит от концентрации  $\text{Na}^+$  в просвете кишки ( $[\text{Na}^+]_m$ ) и разность потенциалов между серозным и му-

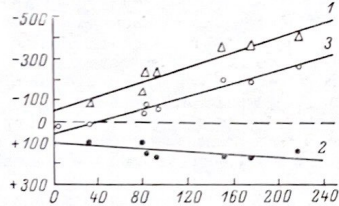


Рис. 3.4. Зависимость потоков  $\text{Na}^+$  от его концентрации в полости тонкой кишки кролика. (По [100]).

По оси абсцисс — концентрация  $\text{Na}^+$  в просвете кишки, мМ; по оси ординат — величина потока  $\text{Na}^+$ , мэкв./мин. Отрицательные величины соответствуют потоку из просвета в кровь, положительные — в просвет кишки. 1 — односторонний поток из просвета кишки в кровь ( $J_{ms}$ ), 2 — односторонний поток в обратном направлении ( $J_{sm}$ ), 3 — суммарный поток ( $J_{net}$ ).

козным растворами мала, то  $[\text{Na}^+]_m = J_{sm}/J_{ms} \cdot [\text{Na}^+]_s$ , где  $[\text{Na}^+]_s$  — концентрация  $\text{Na}^+$  в плазме крови и  $[\text{Na}^+]_m$  — концентрация  $\text{Na}^+$  в просвете кишки, выше которой наблюдается абсорбция. При рас-

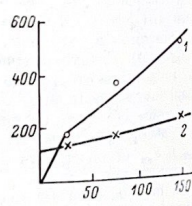


Рис. 3.5. Зависимость потоков  $\text{Na}^+$  от его концентрации в полости толстой кишки крысы. (По [39]).

По оси абсцисс — концентрация  $\text{Na}^+$  в просвете кишки, мМ; по оси ординат — величина потока  $\text{Na}^+$ , мМ/мин.см. 1 —  $J_{ms}$ , 2 —  $J_{sm}$ .

смотрении вопроса о зависимости абсорбции от концентрации  $\text{Na}^+$  следует иметь в виду, что все вышеизложенное относится к экспериментальным условиям, когда при уменьшении концентрации  $\text{Na}^+$  общая тоничность раствора поддерживается постоянной за счет непроницающего (фактически медленно проницающего) вещества, например маннита. Естественно, пороговая концентрация  $\text{Na}^+$ , начиная с которой регистрируется абсорбция, существенно зависит от условий опыта, особенно при работе на изолированных препаратах. Например, при применении метода Фишера и Парсонса, когда серозная оболочка кишки находится во влажной камере, абсорбция наблюдается начиная с концентрации  $\text{Na}^+$ , равной 10 мМ, а при использовании метода изолированного вывернутого «мешочка», серозная поверхность которого омывается раствором, содержащим 140 мМ  $\text{Na}^+$ , абсорбция имеет место только при концентрации  $\text{Na}^+$  в мукозном растворе выше 100 мМ [20, 61].

Транспорт  $\text{Na}^+$  против градиента концентрации еще не служит доказательством активной природы абсорбции. Неравномерное распределение ионов может обеспечиваться наличием постоянной разности потенциалов. Действительно, опыты показывают, что серозная поверхность тонкой кишки имеет потенциал на несколько (до 10) милливольт выше, чем мукозная, а в толстой кишке разность потенциалов может достигать 60 мв [40, 84]. Однако направление разности потенциалов (плюс — на серозной оболочке) противоположно противогradientному потоку  $\text{Na}^+$  и соответственно снижает  $J_{ms}$  и увеличивает  $J_{sm}$ . Эксперименты свидетельствуют, что регистрируемая разность потенциалов является не причиной, а следствием противогradientного (активного) транспорта ионов. Доказывается это в первую очередь одновременным измерением электрического тока и потока  $\text{Na}^+$  в условиях равенства электрохимического потенциала  $\text{Na}^+$  с обеих сторон кишечной стенки: при одинаковой концентрации  $\text{Na}^+$  разность электрических потенциалов сводится к нулю за счет внешнего источника [13, 22, 89]. В этих условиях потоки ионов в обоих направлениях должны быть равны и электрический ток отсутствовать. В действительности через ткань течет ток и перенос заряда обеспечивается энергией метаболизма. В первоначальных опытах [84] практически получалось совпадение величины тока и величины потока  $\text{Na}^+$  из слизистой оболочки в серозную ( $J_{net} = J_{ms} - J_{sm}$ ). На других объектах и в более поздних работах на тех же объектах был обнаружен значительный вклад в величину короткозамкнутого тока ( $I_{sc}$ ) также потока ионов  $\text{HCO}_3^-$  и  $\text{Cl}^-$ . Тем не менее участие активного транспорта  $\text{Na}^+$  в обеспечении  $I_{sc}$  не вызывает сомнений. Величины  $J_{net}$ , полученные на ряде объектов в условиях короткого замыкания, приведены в табл. 3.1. Ниже будут приведены и другие данные в пользу активного механизма транспорта  $\text{Na}^+$ , но можно подчеркнуть, что наличие потока иона через ткань (мембрану) при равенстве электрохимических потенциалов с обеих

сторон является строгим и достаточным доказательством активного характера транспорта.

До сих пор рассматривались только потоки  $\text{Na}^+$  через ткань и соответственно градиент концентрации  $\text{Na}^+$  между мукозным и серозным растворами. Поскольку противогradientный транспорт  $\text{Na}^+$  показан в опытах с изолированной слизистой оболочкой, есть все основания локализовать активный механизм транспорта в кишечных эпителиоцитах. Тогда должно выполняться условие  $J_{\text{net}} = J_{\text{ms}} - J_{\text{sm}} = J_{\text{mc}} - J_{\text{cm}} = J_{\text{cs}} - J_{\text{sc}}$ , где  $J_{\text{mc}}$  — поток через апикальную мембрану эпителиоцита из мукозного раствора в клетку,  $J_{\text{cm}}$  — поток из клетки в мукозный раствор,  $J_{\text{cs}}$  — поток через базальную и латеральные мембраны из клетки в серозный раствор и  $J_{\text{sc}}$  — поток из серозного раствора в клетку. В эксперименте обычно находят величины  $J_{\text{ms}}$ ,  $J_{\text{sm}}$  и  $J_{\text{mc}}$ . Значения остальных потоков можно рассчитать (см. гл. 6).

Поток  $\text{Na}^+$  через ткань складывается из потока через эпителиальные клетки и диффузионного потока через межклеточные щели ( $J_d$ ), т. е.  $J_{\text{ms}} = J_{\text{mc}} + J_d$  и  $J_{\text{sm}} = J_{\text{sc}} + J_d$ . Оценка их величины и функциональное значение диффузионного потока будут даны ниже. Необходимо только подчеркнуть, что в условиях равенства электрохимических потенциалов  $\text{Na}^+$   $J_d$  должен быть одинаков в обоих направлениях и, следовательно, превышение  $J_{\text{ms}}$  над  $J_{\text{sm}}$  может обеспечиваться только за счет превышения  $J_{\text{mc}}$  над  $J_{\text{cm}}$  и соответственно  $J_{\text{cs}}$  над  $J_{\text{sc}}$ .

Поток иона через мембрану зависит от концентрации иона в растворе, разности электрических потенциалов и проницаемости мембраны. Опыты показывают, что поток  $\text{Na}^+$  через апикальную мембрану в кишечный эпителиоцит осуществляется по электрохимическому градиенту. Как и клетки других тканей животных, кишечные эпителиоциты содержат  $\text{Na}^+$  в концентрации меньшей, чем в среде, и их цитоплазма заряжена отрицательно по отношению к окружающему раствору. Внутриклеточная концентрация  $\text{Na}^+$  в эпителиях кишечника различных животных составляет 30–50 мМ [8, 17, 60, 88]. Значительно большим разбросом данных характеризуются работы, в которых измерялся мембранный потенциал эпителиоцитов. Так, в ряде работ была зарегистрирована разность потенциалов между цитоплазмой эпителиоцита и мукозным раствором порядка 7–10 мВ [11, 103], в то время как другие авторы приводят значения мембранного потенциала, равные в среднем 36 и 45 мВ [82, 102]. Учитывая сложность измерения потенциала на сравнительно небольших эпителиальных клетках и возможность его шунтирования за счет утечки при вкалывании микроэлектрода, к низким значениям мембранного потенциала следует относиться с осторожностью. Но независимо от получаемой величины мембранного потенциала его знак увеличивает (в большей или меньшей степени) электрохимический градиент между мукозным раствором и кишечным эпителиоцитом и соответственно влияет на поток  $\text{Na}^+$ . Таким образом, превышение

$J_{\text{mc}}$  над  $J_{\text{cm}}$  обеспечивается наличием электрохимического градиента  $\text{Na}^+$ , направленного из среды в клетку. Несмотря на пассивный характер, перенос  $\text{Na}^+$  через апикальную мембрану в эпителиоцит осуществляется, вероятно, не путем простой диффузии, а посредством транспортной системы [51]. Как будет показано ниже,  $J_{\text{mc}}^{\text{Na}}$  зависит от транспорта сахаров и аминокислот, значительно возрастая в их присутствии в мукозном растворе. Эта  $\Delta J_{\text{mc}}^{\text{Na}}$  представляет специфическую фракцию в общем  $J_{\text{mc}}^{\text{Na}}$  и обеспечивается иной транспортной системой. Увеличение  $J_{\text{mc}}^{\text{Na}}$  в присутствии сахаров и аминокислот нужно рассматривать как результат повышения проницаемости апикальной мембраны для ионов  $\text{Na}^+$ .

Опыты также свидетельствуют о зависимости  $J_{\text{mc}}^{\text{Na}}$  от присутствия в мукозном растворе ионов  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ . Оказывается, что часть потока  $\text{Na}^+$  сопряжена с потоком  $\text{Cl}^-$ , и это сопряжение обеспечивается, как полагают, электронейтральной транспортной системой, переносящей  $\text{NaCl}$  [70, 71, 87]. Для эпителиоцитов подвздошной кишки кролика доля  $\text{NaCl}$ -потока составляет половину общего  $J_{\text{net}}^{\text{Na}}$  [87]. Этот поток тормозится циклическим АМФ и соответственно агентами, активирующими аденилциклазу, и стимулируется, по некоторым данным [35], адреналином.

Поступление  $\text{Na}^+$  в клетку по электрохимическому градиенту, естественно, должно вести к возрастанию внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$ , если не происходит постоянной откачки  $\text{Na}^+$  из клетки. Такая откачка может осуществляться как через апикальную, так и базальную и латеральные мембраны, но только в последнем случае будет происходить перенос  $\text{Na}^+$  через клетку. Расчеты показывают, что  $\text{Na}^+$ , поступающий в клетку по градиенту, откачивается и через апикальную, и через латеральные мембраны, т. е. и  $J_{\text{cm}}$ , и  $J_{\text{cs}}$  представляют сумму пассивного и активного потоков. Однако для понимания механизма абсорбции основное значение имеет активная составляющая потока  $J_{\text{cs}}$ . Фактически, способность клетки транспортировать  $\text{Na}^+$  против градиента концентрации через латеральные и базальную мембраны и делает возможной абсорбцию.

В отличие от  $J_{\text{net}}^{\text{Na}}$ , прямых измерений  $J_{\text{cs}}^{\text{Na}}$  и исследования его зависимости от различных факторов не проводилось. Оценка  $J_{\text{cs}}^{\text{Na}}$  производится по  $J_{\text{net}}^{\text{Na}}(J_{\text{ms}} - J_{\text{sm}})$ . Как было приведено выше,  $J_{\text{cs}}^{\text{Na}} = J_{\text{net}}^{\text{Na}} + J_{\text{sc}}$ , и если  $J_{\text{sc}}$  мало, то  $J_{\text{cs}}^{\text{Na}}$  приближается к  $J_{\text{net}}^{\text{Na}}$ . С учетом пассивного переноса  $\text{Na}^+$  через межклеточные пространства расчет дает следующие величины потоков  $\text{Na}^+$  через мембраны эпителиоцита:  $J_{\text{ms}} = 13$ ,  $J_{\text{cm}} = 10$ ,  $J_{\text{cs}} = 4$  и  $J_{\text{sc}} = 1$  мкэкв./см<sup>2</sup>/час [86].

Пассивный поток  $\text{Na}^+$  из кишечного эпителиоцита в серозный раствор крайне мал, и его доля в общем потоке  $\text{Na}^+$  через латеральные и базальные мембраны ( $J_{\text{cs}}$ ) не превышает 10%. Следовательно, практически весь поток  $\text{Na}^+$  из клетки носит активный характер и должен обеспечиваться энергией метаболизма. При этом основной метаболический вклад направлен на активное от-

качивание  $\text{Na}^+$ , дополнительно входящего через апикальную мембрану. Если бы соблюдалось равенство  $J_{\text{me}} = J_{\text{em}}$ , то и  $J_{\text{es}}$  было бы равно  $J_{\text{se}}$  и, из приведенных выше значений потоков, активная составляющая  $J_{\text{es}}$  равнялась бы приблизительно 0.8 мкэкв./см<sup>2</sup>/час. Такая величина активного потока была бы достаточна для поддержания внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$  на уровне 50 мМ при величине мембранного потенциала 20 мВ.

Опыты подтверждают зависимость абсорбции  $\text{Na}^+$  от метаболизма. Так, под влиянием анаэробноза, подацетата, цианида, 2,4-динитрофенола  $J_{\text{det}}^{\text{Na}}$  практически падает до нуля и абсорбция против градиента концентрации прекращается [9, 19, 25, 41, 89]. С другой стороны, потребление кислорода уменьшается при замене  $\text{Na}^+$  на  $\text{Li}^+$  или холин [18], и между потреблением кислорода и переносом  $\text{Na}^+$  наблюдается прямая корреляция [42]. В опытах на тощей кишке, для которой характерна высокая скорость аэробного гликолиза, обнаруживается зависимость абсорбции  $\text{Na}^+$  от присутствия в серозном объеме метаболизируемых сахаров: глюкозы, фруктозы, маннозы [12, 13].

Наряду с ингибиторами энергетического обмена, подавление противогradientного транспорта  $\text{Na}^+$  вызывается и специфическим ингибитором  $\text{Na}^+$ -насоса — оубаином (строфантинем Г). Наиболее существенная особенность его действия состоит в том, что этот ингибитор эффективен только при внесении со стороны серозной оболочки [11, 41, 64, 67, 89]. Таким образом доказывается наличие активного транспорта  $\text{Na}^+$  на серозной границе эпителиоцита. Чувствительность к оубаину можно рассматривать как свидетельство принципиальной односторонности механизма активного транспорта  $\text{Na}^+$  в эпителиальных клетках и клетках других тканей организма. Об этом же говорит и присутствие в мембранах эпителиальных клеток тонкой кишки АТФазы, активируемой ионами  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  [6, 14, 15, 36, 52, 81, 83, 92], причем в работах последних лет доказываются преимущественная локализация АТФазы в латеральных и базальной мембранах кишечного эпителиоцита. Безусловно, эти данные служат хорошим фундаментом для объяснения механизма противогradientного транспорта  $\text{Na}^+$  из эпителиальных клеток в серозный объем, но не снимают вопроса об активном характере потока  $\text{Na}^+$  и через апикальную мембрану в мукозный раствор.

Интересной особенностью абсорбции  $\text{Na}^+$ , проявляющейся только в тонкой кишке, является зависимость ее от наличия в полости кишки транспортируемых сахаров и аминокислот. Ионы  $\text{Na}^+$  оказываются необходимыми для обеспечения противогradientного транспорта сахаров и аминокислот, который в свою очередь связан с дополнительным потоком  $\text{Na}^+$  [85]. Хотя непосредственный механизм сопряжения транспорта  $\text{Na}^+$  и неэлектролитов остается предметом дискуссии [4, 57, 85], наибольшее распространение получила теория натриевого градиента, согласно которой перенос молекулы сахара или аминокислоты через апикальную

мембрану осуществляется вместе с ионом  $\text{Na}^+$ . Предполагается, что ионы  $\text{Na}^+$ , связываясь с переносчиком сахара или аминокислоты, меняют их свойства, увеличивая среднюю или скорость движения переносчика. Функциональная роль сопряжения транспорта сводится к использованию энергии постоянно поддерживаемого градиента  $\text{Na}^+$  между клеткой и средой для противогradientного транспорта сахара или аминокислоты. Следовательно, сопряжение должно приводить лишь к увеличению поступления  $\text{Na}^+$  в эпителиальные клетки кишки, но не может обеспечить само по себе увеличения переноса  $\text{Na}^+$  через ткань. В терминах потоков это означает, что сопряжение транспорта неэлектролитов и  $\text{Na}^+$  влияет только на  $J_{\text{me}}$ .

Экспериментально взаимозависимость потоков через апикальную мембрану  $\text{Na}^+$  и сахара или аминокислоты доказана достаточно четко [26, 85]. Следует заметить, что отношение  $\Delta J_{\text{me}}^{\text{Na}}$  к соответствующему потоку неэлектролита не обязательно должно равняться 1. При постоянной концентрации  $\text{Na}^+$   $\Delta J_{\text{me}}^{\text{Na}}$  линейно зависит от концентрации сахара или аминокислоты, но отношение  $\Delta J_{\text{me}}^{\text{Na}}$  к  $\text{Na}^+$ -зависимому потоку данного вещества может быть функцией концентрации  $\text{Na}^+$  в мукозном растворе (рис. 3.6). Возрастание  $J_{\text{me}}^{\text{Na}}$  при неизменном  $J_{\text{em}}^{\text{Na}}$  должно сопровождаться ростом внутриклеточной концентрации  $\text{Na}^+$ , что опытом не подтверждается [8, 24, 60]. Следовательно, увеличение  $J_{\text{me}}$  компенсируется одновременным возрастанием  $J_{\text{es}}$ , активная природа которого была рассмотрена выше. Непосредственный механизм быстрого увеличения  $J_{\text{es}}$  при практически неизменной валовой концентрации внутриклеточного  $\text{Na}^+$  не совсем ясен. Одно из возможных объяснений состоит в предположении о локальном возрастании концентрации  $\text{Na}^+$  в апикальной части клетки и связанным с этим увеличением отдачи  $\text{Na}^+$  через верхние участки латеральных мембран.

Как уже указывалось, о величине  $J_{\text{es}}$  судят обычно по  $J_{\text{det}}$  (и в некоторых условиях по короткозамкнутому току). Возрастание  $J_{\text{det}}^{\text{Na}}$  и  $J_{\text{se}}$  при внесении в мукозный раствор аминокислот и сахаров, в том числе транспортируемых, но не метаболизируемых, было показано в большом числе работ [13, 44, 66, 80, 90, 96]. Необходимо, однако, отметить, что не во всех цитированных работах увеличение  $J_{\text{det}}^{\text{Na}}$  обеспечивалось ростом  $J_{\text{me}}$ , как следует

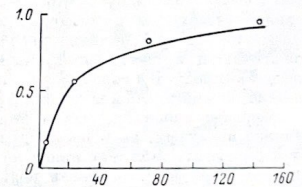


Рис. 3.6. Зависимость отношения потоков  $\text{Na}^+$  ( $\Delta J_{\text{me}}^{\text{Na}}$ ) и алаина ( $\Delta J_{\text{se}}^{\text{Na}}$ ) от концентрации  $\text{Na}^+$  в мукозном растворе. (По [26]).

По оси абсцисс — концентрация  $\text{Na}^+$  в растворе, мм; по оси ординат — отношение потоков  $(\Delta J_{\text{me}}^{\text{Na}} / \Delta J_{\text{se}}^{\text{Na}})$ .

из теоретических представлений. В ряде случаев наблюдалось снижение  $J_{\text{акт}}$ , что и вело к росту  $J_{\text{пс}}$ . Причина таких экспериментальных противоречий неясна.

Доля абсорбции  $\text{Na}^+$ , зависимой от транспорта аминокислот и сахаров, в общем потоке  $\text{Na}^+$  может быть различной. В некоторых экспериментах *in vitro* противогradientный перенос  $\text{Na}^+$  наблюдался только в присутствии сахара или аминокислот, т. е. весь  $J_{\text{пс}}^{\text{Na}}$  определялся сопряженным транспортом. С другой стороны, в условиях *in vivo* добавочная абсорбция  $\text{Na}^+$  может составлять лишь небольшую фракцию всасываемого  $\text{Na}^+$ . Еще раз следует подчеркнуть, что в толстой кишке абсорбция  $\text{Na}^+$  не зависит от присутствия сахаров и аминокислот, в том числе и глюкозы. Поскольку функциональное значение добавочного входа  $\text{Na}^+$  заключается в обеспечении активного транспорта питательных веществ (продуктов гидролиза белков и углеводов), его отсутствие в толстой кишке вполне закономерно.

Перенос ионов  $\text{Na}^+$  через стенку кишки осуществляется не только активным, но и пассивным путем, который представляет, как полагают, движение ионов не через клетки, а через межклеточные щели [87]. Основная роль пассивного канала сводится, вероятно, к обеспечению секреции  $\text{Na}^+$  ( $\text{NaCl}$ ) из плазмы крови в просвет кишки, когда его исходная концентрация ниже, чем в плазме, как это имеет место при обычной пище. Действительно, диффузионная проницаемость значительно выше в проксимальных отделах тонкой кишки. Эквивалентный радиус «пор» в пассивном канале стенки тощей кишки больше, чем в подвздошной кишке, что способствует переносу  $\text{NaCl}$  и по градиенту концентрации, и вместе с током воды [87]. Поскольку для тощей кишки проводимость по диффузионному межклеточному пути в 5—7 раз выше проводимости эпителиоцитов, наличие концентрационного или электрического градиента между просветом кишки и плазмой крови должно приводить к потоку электролитов и воды преимущественно по внеклеточному пути. Необходимо еще иметь в виду, что повышение гидростатического давления в просвете кишки значительно меньше влияет на потоки, чем повышение давления в плазме крови. За счет этого создаются условия, облегчающие секрецию.

Пассивный канал может служить и основным путем абсорбции  $\text{Na}^+$  из гипертонических растворов в начальный период поступления такого раствора в подость кишки. Однако биологическая возможность осуществления всасывания гипертонического раствора  $\text{NaCl}$  крайне мала. Поэтому диффузионный канал необходим в первую очередь для секреции и для переноса тех веществ, которые не имеют специфических транспортных систем.

Удобным методом исследования закономерностей пассивного переноса  $\text{Na}^+$  и других ионов в условиях *in vitro* является определение потоков при варьировании электрохимического градиента, в частности за счет изменения разности потенциалов.

Как и следует из теории,  $J_{\text{пс}}^{\text{Na}}$  уменьшается при росте положительного потенциала серозного раствора, а  $J_{\text{акт}}^{\text{Na}}$ , наоборот, увеличивается. При этом  $J_{\text{пс}}^{\text{Na}}$  линейно зависит от разности потенциалов, имея направление из мукозы в серозу для сегментов подвздошной кишки кролика при потенциале до +10 мв (плюс — на стороне серозы) и направление из серозы в мукозу при потенциале выше +10 мв [20, 89]. Если бы не было активного транспорта  $\text{Na}^+$ ,  $J_{\text{пс}}^{\text{Na}}$  равнялся бы нулю при нулевой разности потенциалов (при условии равенства концентрации  $\text{Na}^+$  в мукозном и серозном растворах). Измерение зависимости однонаправленных потоков  $\text{Na}^+$  и других ионов от величины трансмембранной разности потенциалов позволило вычленить диффузионную составляющую в общем потоке иона (табл. 3.2). Соотношение коэффициентов проницаемости пассивного канала для  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  оказалось равным 1.14, 1.00, 0.55, т. е. канал обладает некоторой селективностью по отношению к катионам и анионам.

Таблица 3.2  
Величины ионных потоков через апикальную мембрану ( $J_{\text{пс}}$ ), пассивный канал ( $J_{\text{д}}$ ) и коэффициент проницаемости пассивного канала ( $P_{\text{д}}$ ) [51]

Концентрация ионов, мМ	$J_{\text{пс}}$	$J_{\text{д}}$	$P_{\text{д}}$
	мэкв/см <sup>2</sup> /час		см/час
$\text{Na}^+ - 140$	$16.2 \pm 3.7$	$4.9 \pm 0.9$	0.035
$\text{Cl}^- - 145$	$10.3 \pm 0.8$	$2.8 \pm 0.1$	0.019
$\text{K}^+ - 12$	$2.5 \pm 0.1$	$0.48 \pm 0.01$	0.040

Величина диффузионной составляющей ( $J_{\text{д}}$ ) в общем потоке  $J_{\text{пс}}^{\text{Na}}$  достигает 80—85% и очень близка к величине  $J_{\text{акт}}^{\text{Na}}$  для этого же объекта. Отсюда был сделан вывод, что практически весь поток  $\text{Na}^+$  из серозного объема в мукозный осуществляется через пассивный канал, который отождествляется с межклеточными щелями [51]. Таким образом, предполагается, что из плазмы крови в подость кишечника ионы  $\text{Na}^+$  переносятся только по внеклеточному пути, а кишечные эпителиоциты обеспечивают лишь однонаправленный транспорт  $\text{Na}^+$  в плазму крови. Если это предположение справедливо, ионы должны проникать через замыкательные пластинки, отделяющие мукозный объем от межклеточных латеральных щелей. Хотя прямых доказательств проницаемости замыкательных пластинок для ионов немного [68], косвенных свидетельств, полученных на других эпителиальных тканях, накопилось достаточно [10, 34].

Общая картина механизма всасывания  $\text{Na}^+$  может быть представлена в следующем виде. Ионы  $\text{Na}^+$  переносятся из полости

кишечника в кровь как через кишечные эпителиоциты, так и по межклеточным каналам. Последний путь обеспечивает абсорбцию только по градиенту концентрации. Поступление  $\text{Na}^+$  в эпителиоциты осуществляется по электрохимическому градиенту пассивным путем, но посредством специфических транспортных систем, в том числе электронеutralной системы, переносящей  $\text{NaCl}$ . В эпителиальных клетках тонкой кишки имеется дополнительная система электрогенного транспорта  $\text{Na}^+$ , сопряженного с транспортом сахаров и аминокислот. Транспорт  $\text{Na}^+$  из эпителиоцитов в серозный объем представляет активный процесс, требующий затраты энергии.

### 3.3. ВСАСЫВАНИЕ ИОНОВ КАЛИЯ

Концентрация  $\text{K}^+$  в пище, как правило, выше концентрации  $\text{Na}^+$  и выше концентрации  $\text{K}^+$  в плазме крови. Поэтому создаются условия, когда ионы  $\text{K}^+$  могут поступать из полости кишечника в кровь по градиенту концентрации. Изменение концентрации  $\text{K}^+$  в полости тонкой кишки человека после мясной пищи иллюстрируется рис. 3.7, а на рис. 3.3 было представлено изменение количества  $\text{K}^+$  в тех же условиях и после приема углеводно-молочной пищи. Обращает на себя внимание тот факт, что в последнем случае количество  $\text{K}^+$  продолжает снижаться и в период секреции  $\text{NaCl}$  и воды в проксимальной части тонкой кишки. В толстой кишке, как было ранее показано, концентрация  $\text{K}^+$  возрастает, а его количество может и увеличиваться, и не изменяться.

Эксперименты *in vitro* и *in vivo*, в которых изучалась зависимость сорбции  $\text{K}^+$  от его концентрации в мукозном объеме, свидетельствуют о пассивном характере трансмурального транспорта  $\text{K}^+$  в тонкой кишке. Отношение потоков  $\text{K}^+$  ( $J_{\text{мк}}$  и  $J_{\text{см}}$ ) соответствует электрохимическому градиенту. При перфузии тонкой кишки раствором Тирода или другим раствором с концентрацией  $\text{K}^+$ , близкой к концентрации в плазме крови,  $J_{\text{мк}}$  практически равен  $J_{\text{см}}$  [23, 79]. Более детальное исследование показывает, что при равенстве концентраций поток в сторону серозной оболочки несколько меньше, чем в обратном направлении, так как наличие трансмуральной разности потенциалов увеличивает  $J_{\text{см}}$  и снижает  $J_{\text{мк}}$ . Фактически равенство потоков наблюдается при концентрации  $\text{K}^+$  в просвете кишки, несколько большей, чем в плазме крови. Так, в опытах на собаках [75] при концентрации  $\text{K}^+$  в плазме крови 4,8 мМ равенство потоков ( $J_{\text{нет}}=0$ ) регистрировалось, когда концентрация  $\text{K}^+$  в просвете тонкой кишки составляла 6,0 мМ, что согласуется с величиной трансмуральной разности потенциалов (-5 мВ). Аналогичное соответствие сорбции  $\text{K}^+$  с разностью его электрохимического потенциала между мукозным и серозным

растворами было получено в работах, выполненных на тонкой кишке крысы [21, 53].

Вывод о пассивном характере абсорбции  $\text{K}^+$  не означает, что перенос  $\text{K}^+$  через мембраны кишечного эпителиоцита осуществляется только диффузионным путем. Как и другие клетки, эпителиоциты имеют высокую концентрацию  $\text{K}^+$ , которая поддерживается работой  $\text{Na}^+$ -насоса. Имеются данные о влиянии оубаина на поток  $\text{K}^+$  в эпителиальные клетки через базальную мембрану [72, 101] и в изолированные эпителиоциты [58]. Например, в эпителиоцитах подвздошной кишки оубаин снижал  $J_{\text{к}}$  с 2,0 до 0,8 мкэкв./см<sup>2</sup>/час. Ранее приводились работы, доказывающие

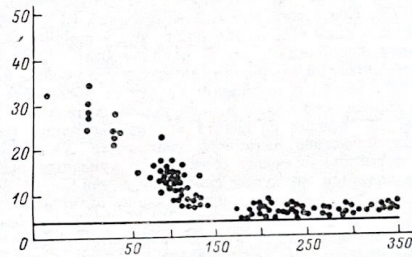


Рис. 3.7. Концентрация  $\text{K}^+$  в различных участках пищеварительного тракта человека после приема мясной пищи. (По [47]).

По оси абсцисс — длина пищеварительного тракта — расстояние от зубов, см (50—350 см соответствуют тонкой кишке); по оси ординат — концентрации  $\text{K}^+$ , мМ. Сплошная линия — концентрация  $\text{K}^+$  в плазме крови.

наличие в мембранах кишечных эпителиоцитов  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -активируемой АТФазы. Поэтому существование активного транспорта  $\text{K}^+$  в эпителиальных клетках не вызывает сомнения. Однако его вклад в общий поток  $\text{K}^+$  через ткань может быть незначительным. Из сопоставления трансмуральных потоков  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$  и их диффузионных составляющих [51] кажется вполне обоснованным предположением о преимущественном переносе  $\text{K}^+$  по пассивному (внеклеточному) каналу.

Существенную роль механизм активного транспорта  $\text{K}^+$ , вероятно, играет в процессах сорбции  $\text{K}^+$  в толстой кишке, но обеспечивает активный транспорт не всасывание, а секрецию  $\text{K}^+$ . В толстой кишке равенство  $J_{\text{мк}}$  и  $J_{\text{см}}$  достигается только при концентрации  $\text{K}^+$ , в несколько раз превышающей концентрацию в плазме крови [39, 75, 76]. Вопрос о тонкой локализации активного транспорта  $\text{K}^+$  требует дальнейших исследований, но более вероятно предположение о сопряженном активном транспорте

K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> в базальной (латеральных) мембранах и последующем транспорте через апикальную мембрану по электрохимическому градиенту.

#### 3.4. ВСАСЫВАНИЕ ИОНОВ ХЛОРА

Количественная характеристика всасывания ионов Cl<sup>-</sup> практически совпадает с показателями всасывания ионов Na<sup>+</sup>. В большинстве случаев абсорбируется (или секретируется) NaCl. Изменение в процессе всасывания количества Cl<sup>-</sup> идет параллельно количеству Na<sup>+</sup> (рис. 3.3). Несколько более быстрое уменьшение количества Cl<sup>-</sup> по сравнению с Na<sup>+</sup> объясняется обменом Cl<sup>-</sup> на HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Соответственно и концентрация Cl<sup>-</sup> в дистальной части тонкой кишки становится ниже, чем в плазме крови [47].

Механизм абсорбции Cl<sup>-</sup> изучен пока недостаточно. Приводятся сведения об активной абсорбции, активной секреции и пассивном переносе Cl<sup>-</sup>. Вывод о пассивном характере абсорбции Cl<sup>-</sup> был наиболее хорошо обоснован в экспериментах *in vitro* [22, 91]. Абсорбция Cl<sup>-</sup> против градиента его концентрации рассматривалась как следствие активного транспорта Na<sup>+</sup>, создающего разность потенциалов между серозным и мукозным растворами, которая и является движущей силой для ионов Cl<sup>-</sup> [3, 84]. Естественно, что все факторы, подавляющие активный транспорт Na<sup>+</sup>, должны влиять и на перенос Cl<sup>-</sup>. Такой механизм вторичного активного транспорта хорошо объясняет многие экспериментальные данные, но, как показали дальнейшие исследования, не является единственным возможным путем переноса Cl<sup>-</sup> через эпителиальные клетки.

Величины  $J_{\text{мк}}^{\text{Cl}}$  и  $J_{\text{ср}}^{\text{Cl}}$ , полученные на разных объектах в условиях нулевой разности потенциалов и равенства концентраций ионов с обеих сторон эпителиального слоя, представлены в табл. 3.3. Превышение потока Cl<sup>-</sup> из мукозного раствора в серозный над обратным потоком несомненно свидетельствует о возможности активного транспорта Cl<sup>-</sup>. Аналогичный вывод был сделан и в ряде работ, в которых измерялось соотношение потоков Cl<sup>-</sup> в условиях *in vivo* [29, 56, 59].

Таблица 3.3

Величины трансмуральных потоков Cl<sup>-</sup> (в мэкв./см<sup>2</sup>/час)

Объект исследования	$J_{\text{мк}}$	$J_{\text{ср}}$	$J_{\text{нет}}$	Источник
Подвздошная кишка кролика	7.0	7.3	-0.3	[91]
	9.9	8.6	1.3	[44]
Тонкая кишка лягушки	3.7	2.6	1.1	[80]
Толстая кишка жабы	1.03	0.97	0.06	[64]

Измерение потока Cl<sup>-</sup> через апикальную мембрану ( $J_{\text{мк}}^{\text{Cl}}$ ) и исследование его свойств позволило прийти к заключению, что механизм активного транспорта Cl<sup>-</sup> локализован в апикальной мембране эпителиоцита [50]. Внутриклеточная концентрация Cl<sup>-</sup> (50—60 мМ) оказывается выше его равновесной концентрации, рассчитанной по величине мембранного потенциала. Поэтому поток Cl<sup>-</sup> из мукозного раствора в кишечный эпителиоцит идет против электрохимического градиента. Этот поток нелинейно зависит от концентрации Cl<sup>-</sup> в растворе и тормозится, как и  $J_{\text{мк}}^{\text{Cl}}$  [59], ацетазоламидом. Конкурентное торможение входа Cl<sup>-</sup> наблюдается при внесении в раствор ионов брома, иода, нитрата, тиоцианида. Перечисленные закономерности транспорта Cl<sup>-</sup> через апикальную мембрану свидетельствуют о локализации в ней специфической системы активного переноса ионов хлора.

Дальнейшие исследования зависимости потока Cl<sup>-</sup> от присутствия ионов Na<sup>+</sup> позволили прийти к выводу о сопряжении потоков Cl<sup>-</sup> и Na<sup>+</sup>, т. е. о наличии нейтрального NaCl-транспорта [70, 71, 87]. В этой транспортной системе перенос Na<sup>+</sup> осуществляется по градиенту концентрации и может энергетически обеспечивать поступление в клетки Cl<sup>-</sup> против электрохимического градиента. С другой стороны, возможно сопряжение потока Cl<sup>-</sup> в клетку с выходом из клетки HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. В этом случае должен наблюдаться обменный Cl<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-поток, что подтверждается экспериментально [47, 48, 56, 76]. Поступление Cl<sup>-</sup> в клетку обеспечивается энергетически выходом HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> по градиенту концентрации и прямо не связано с входом Na<sup>+</sup>, который сопряжен, по мнению ряда авторов, с выходом H<sup>+</sup> [87].

Выход Cl<sup>-</sup> из кишечных эпителиоцитов в серозный объем ( $J_{\text{ср}}^{\text{Cl}}$ ) может осуществляться пассивным путем, поскольку электрохимический потенциал Cl<sup>-</sup> в клетке выше, чем в плазме крови (окружающем растворе).

Выше отмечалось, что поток Na<sup>+</sup> из серозного объема в мукозный может быть практически полностью отнесен к внеклеточному пути. Аналогичное сравнение  $J_{\text{мк}}$  и  $J_{\text{ср}}$  для ионов Cl<sup>-</sup> [51] показывает, что диффузионный поток значительно ниже общего потока через ткань. Следовательно, перенос Cl<sup>-</sup> из серозного раствора в мукозный осуществляется и по внеклеточному пути и через клетки, что согласуется с фактом секреции Cl<sup>-</sup>. По данным, представленным в табл. 3.2, проницаемость пассивного канала для ионов Cl<sup>-</sup> почти в 2 раза ниже, чем для ионов Na<sup>+</sup>. Поэтому пассивная диффузия NaCl по градиенту концентрации из плазмы крови в просвет кишечника должна приводить к возникновению диффузионной разности потенциала со знаком плюс на стороне мукозы, что обязательно надо принимать во внимание при измерении трансмуральной разности потенциалов в условиях частичной замены NaCl на другие вещества.

Все изложенное позволяет прийти к заключению о разнотипности механизмов переноса Cl<sup>-</sup> через стенку кишечника. При

абсорбции  $\text{Cl}^-$  значительная фракция общего потока обеспечивается пассивным сопряжением (через потенциал) с активным транспортом  $\text{Na}^+$ . Вероятно, недостаточность сопряжения (за счет шунтирования потенциала внеклеточным пассивным каналом) создает необходимость существования независимой системы активного транспорта  $\text{Cl}^-$  из мукозного в серозный раствор. Эта система локализована в апикальной мембране кишечного эпителиоцита и обеспечивает, вероятно, сопряженный  $\text{NaCl}$ -транспорт или обмен  $\text{Cl}^-$  на  $\text{HCO}_3^-$ .

### 3.5. СЕКРЕЦИЯ ОДНОВАЛЕНТНЫХ ИОНОВ

В последние годы значительно возросло количество работ, посвященных проблеме секреции электролитов в тонкой кишке, особенно активной секреции ионов в подвздошной кишке. Как уже упоминалось, в проксимальной части тонкой кишки секреция воды и электролитов представляет нормальный физиологический процесс, обеспечивающий относительно постоянно концентрации  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в просвете кишки. Наиболее вероятный механизм этой секреции заключается в пассивной фильтрации ионов из плазмы крови по межклеточному пути.

Кроме пассивной секреции в тонкой и толстой кишках функционирует механизм активной секреции, поддержание которой требует затраты энергии метаболизма. Хорошо известен факт секреции бикарбоната в толстой кишке. В тонкой кишке интенсивность секреции бикарбоната возрастает в дистальном направлении. Если в тонкой кишке бикарбонат, как правило, всасывается, то в подвздошной кишке — секретруется. Так, равновесная концентрация ( $J_{\text{net}} = 0$ )  $\text{CO}_2$  в проксимальной части тонкой кишки собаки составляла 5 мэкв., а в дистальной части подвздошной кишки — 75 мэкв. [94]. Основная часть секретируемого в просвет кишки бикарбоната обеспечивается обменным потоком  $\text{HCO}_3^-$  на  $\text{Cl}^-$  [47, 48, 56, 76]. Секреция бикарбоната зависит от концентрации  $\text{Cl}^-$  в просвете кишки и может тормозиться ацетазоламидом. Торможение осуществляется, вероятно, на уровне транспорта, так как ацетазоламид не влиял на производство  $\text{HCO}_3^-$  в слизистой оболочке подвздошной кишки кролика [49]. Обменный механизм секреции  $\text{HCO}_3^-$  не является единственно возможным, хотя и может быть доминирующим в нормальных условиях. Имеются указания на существование нейтральной секреции  $\text{NaHCO}_3$  по подобие  $\text{NaCl}$ , обеспечиваемой, вероятно, одной и той же транспортной системой. Следует отметить, что в условиях *in vivo*, например при экспериментальной холере у кроликов, основная секреция идет за счет  $\text{NaHCO}_3$ , а не  $\text{NaCl}$  [87]. В условиях *in vitro* интенсивность секреции  $\text{HCO}_3^-$  может лимитироваться не транспортными процессами, а уровнем внутриклеточного производства бикарбоната, так как показано, что значительная доля секретируе-

мого  $\text{HCO}_3^-$  обеспечивается внутриклеточным метаболизмом слизистой, а не переносом  $\text{HCO}_3^-$  из серозного объема. Производство бикарбоната не зависело от уровня циклического АМФ, но снижалось в безнатриевой среде и при действии оубаина [49]. По некоторым данным [35], секреция  $\text{HCO}_3^-$  тормозится адреналином за счет его влияния через  $\alpha$ -рецепторы.

Эпителиоциты тонкой кишки обладают и системой активной секреции  $\text{Cl}^-$ . Доказательством активной природы потока  $\text{Cl}^-$  из серозного раствора в мукозный служит, как и в случае активной абсорбции  $\text{Na}^+$ , наличие  $J_{\text{net}}^{\text{Cl}}$  при равенстве электрохимических потенциалов. Так, на изолированных сегментах тонкой кишки крысы в присутствии галактозы наблюдался поток  $\text{Cl}^-$  из серозного раствора в мукозный, равный 4 мэкв./см<sup>2</sup>/час [96]. Близкая величина потока была зарегистрирована при действии циклического АМФ на эпителиальные клетки подвздошной кишки кролика (табл. 3.4). Обращает на себя внимание тот факт, что циклический АМФ, во всяком случае в условиях *in vitro*, вызывает переход от активной абсорбции к активной секреции  $\text{Cl}^-$  преимущественно за счет снижения  $J_{\text{ms}}$ . Одновременно тормозится абсорбция  $\text{Na}^+$ . Аналогичное действие оказывают различные факторы, увеличивающие концентрацию циклического АМФ, в том числе холерный токсин, необратимо активирующий аденилциклазу. В опытах *in vitro* на сегментах подвздошной кишки кролика введение холергена в мукозный раствор вызывало через 50–60 мин. снижение  $J_{\text{ms}}^{\text{Na}}$  и  $J_{\text{ms}}^{\text{Cl}}$  при практически неизмененных  $J_{\text{sm}}$ , в результате чего абсорбция  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  сменялась их секрецией [77]. Но в растворах без  $\text{Na}^+$  или без  $\text{HCO}_3^-$  и  $\text{Cl}^-$  холерген не оказывал влияния соответственно на  $J_{\text{net}}^{\text{Cl}}$  или  $J_{\text{ms}}^{\text{Na}}$ . Подобная зависимость эффекта от ионного состава среды наблюдалась и в случае увеличения циклического АМФ под влиянием теофиллина [71]. На этом основании был сделан вывод о действии циклического АМФ (и всех факторов, увеличивающих его уровень) преимущественно на систему сопряженного нейтрального  $\text{NaCl}$  (или  $\text{NaHCO}_3$ ) транспорта. Экспериментальные факты хорошо объясняются при предположении, что циклический АМФ полностью блокирует

Таблица 3.4

Влияние циклического АМФ на ионные потоки (в мэкв./см<sup>2</sup>/час) через слизистую оболочку подвздошной кишки кролика [43]

Условия опыта	Потоки $\text{Na}^+$			Потоки $\text{Cl}^-$		
	$J_{\text{ms}}$	$J_{\text{sm}}$	$J_{\text{net}}$	$J_{\text{ms}}$	$J_{\text{sm}}$	$J_{\text{net}}$
Контроль . . . . .	15.9	11.6	4.4 ± 0.2	11.5	8.2	3.2 ± 0.7
Циклический АМФ . . . . .	9.9	9.7	0.1 ± 0.1	6.2	9.7	-3.5 ± 0.5

сопряженный NaCl-поток в эпителии через апикальную мембрану ( $J_{NaCl}$ ), в то время как обратный NaCl-поток ( $J_{NaCl}$ ) и активная абсорбция  $Na^+$  остаются без изменения [16, 74, 87]. Таким образом, переход от активной абсорбции к активной секреции NaCl регулируется уровнем циклического АМФ.

Различие эндогенной концентрации циклического АМФ в экспериментальных условиях может обуславливать широкий спектр получаемых результатов, особенно в отношении переноса  $Cl^-$ , что хорошо объясняет кажущуюся противоречивость литературных данных, касающихся транспорта  $Cl^-$ . Следует также иметь в виду, что в отличие от пассивного потока активная секреция  $Cl^-$  сопровождается генерацией потенциала со знаком плюс на стороне серозной оболочки, как и при активной абсорбции  $Na^+$ . Поэтому электрические характеристики (трансмуральная разность потенциалов, короткозамкнутый ток) при переходе от активной абсорбции  $Na^+$  к активной секреции  $Cl^-$  могут не изменяться [43, 93].

В заключение необходимо подчеркнуть, что до сих пор клетки кишечного эпителия рассматривались как однотипные, с одинаковыми транспортными характеристиками. В действительности различают минимум пять типов эпителиальных клеток. Их транспортная активность может быть неодинаковой. В частности, возможна локализация клеток, секретирующих NaCl, в криптах.

### 3.6. ВСАСЫВАНИЕ ВОДЫ

Закономерности всасывания воды описаны в большом количестве работ. При сопоставлении полученных результатов обязательно следует учитывать различия применяемых методов. Оценка всасывания может производиться как по изменению количества воды, так и по скорости переноса воды, меченой дейтерием или тритием. В первом случае измеряется абсорбция, а во втором — однонаправленный поток воды ( $J_{w}$ ). Естественно, получаемый результат зависит от того, применяется ли перфузия (или заполнение) полости кишки водой или изотоническим раствором. При перфузии водой измеряется в основном величина пассивной фильтрации, а при перфузии раствором — перенос воды, сопряженный с транспортом вещества. Последний тип всасывания представляет, вероятно, наибольший интерес, так как им обеспечивается поступление воды из изотонических растворов, что является основным типом всасывания в условиях нормального пищеварения. Как уже отмечалось, большее количество воды поступает в кишечник не с пищей, а секретируется в верхних отделах пищеварительного тракта в виде изотонического раствора. Так, по средним оценкам в кишечнике человека за день всасывается 8—9 л воды, из которых только 1,5 л имеют «внешнее происхождение». Поэтому эпителий кишечника должен быть адаптирован главным образом к абсорбции воды из изотонического раствора,

тем более что при поступлении в полость кишечника гипотонических или гипертонических растворов происходит сравнительно быстрое их концентрирование или разведение [25, 47, 98].

Часто проводится сравнение интенсивности всасывания воды в различных отделах кишечника. На рис. 3.1 представлены величины потоков и величины абсорбции или секреции воды в различных отделах кишечника собаки при его перфузии изотоническим солевым раствором с глюкозой. В данном случае интенсивность абсорбции оказалась выше в подвздошной кишке, чем в тощей. Но при перфузии водой интенсивность всасывания была выше

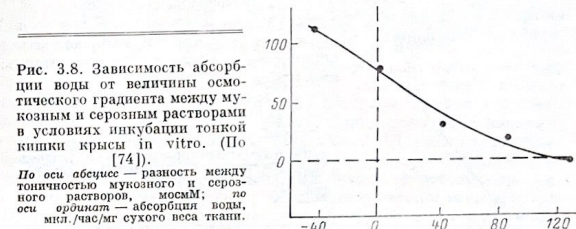


Рис. 3.8. Зависимость абсорбции воды от величины осмотического градиента между мукозным и серозным растворами в условиях инкубации тонкой кишки крысы in vitro. (По [74]).

По оси абсцисс — разность между тонкостью мукозного и серозного растворов, мосМ; по оси ординат — абсорбция воды, мл/час/мг сухого веса ткани.

в проксимальных отделах тонкой кишки [1]. Такое же отношение скоростей [фильтрации] воды характерно и для кишечника человека, но интенсивность всасывания изотонических растворов приблизительно одинакова в тощей и подвздошной кишках [47]. С другой стороны, в опытах на крысах была получена более высокая скорость всасывания воды в проксимальных отделах кишечника, особенно при наличии глюкозы [78].

Скорость всасывания воды практически линейно зависит от тоничности раствора [2, 74, 100]. В отсутствие глюкозы, особенно в проксимальных отделах кишечника, направление общего потока воды соответствует направлению осмотического градиента. Но при наличии глюкозы, и даже ее отсутствии в дистальных отделах кишечника, абсорбция воды осуществляется и против осмотического градиента, так что равенство потоков воды из просвета кишки в кровь и в обратном направлении достигается лишь при перепаде осмотического давления на величину около 100 мосМ (рис. 3.8).

Возможность всасывания воды против градиента концентрации привела некоторых исследователей к выводу о наличии механизма активного транспорта воды. В пользу этого свидетельствует зависимость абсорбции от глюкозы, подавление ее в условиях аноксии или при действии ингибиторов энергетического обмена [30]. Действительно, эти данные доказывают, что абсорбция воды из изотонических и гипертонических растворов требует затраты энер-



гии. Более сильное влияние глюкозы на всасывание воды в толстой кишке отражает большую роль гликолиза в ее энергетическом обеспечении.

Непосредственной движущей силой, определяющей абсорбцию воды при отсутствии или обратном направлении осмотического градиента, является активный транспорт растворенных веществ. Иными словами, транспортируемое вещество тянет за собой воду. Опыты, выполненные в условиях *in vivo* и *in vitro*, обнаруживают хорошую корреляцию между потоком вещества и потоком воды [20, 21, 54, 78, 100]. Пример соотношения между потоком воды и потоком  $\text{Na}^+$  ( $J_{\text{вст}}$ ) в различных отделах кишечника собаки представлен на рис. 3.9 (все точки, независимо от участка кишки, ложатся на прямую, проходящую через ноль).

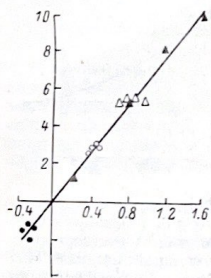


Рис. 3.9. Отношение потока воды ( $J_{\text{вст}}$ ) к потоку  $\text{Na}^+$  в кишечнике собаки. (По [54]).

По оси абсцисс — поток  $\text{Na}^+$ , мэкв./15 мин.; по оси ординат — поток воды, мл/15 мин. Разные точки соответствуют различным отделам кишечника.

Из всех веществ, транспортируемых через эпителиальные клетки кишечника, решающая роль в обеспечении переноса воды принадлежит ионам натрия и хлора. Поскольку в экспериментальных условиях *in vitro* активный транспорт  $\text{Cl}^-$  наблюдается не всегда, во многих случаях выявляется абсолютная зависимость абсорбции воды от транспорта  $\text{Na}^+$ . Например, при исследовании абсорбции воды, когда серозная оболочка изолированного сегмента кишки находилась во влажной камере, замена  $\text{Na}^+$  на  $\text{Li}^+$ ,  $\text{K}^+$  или маннит приводила к полной остановке абсорбции [63]. При использовании метода короткозамкнутого тока, когда через ткань транспортировались только ионы  $\text{Na}^+$ , перенос воды соответствовал строго изотоническому раствору  $\text{Na}^+$ , но не  $\text{NaCl}$  [22]. Все факторы, влияющие на транспорт  $\text{Na}^+$ , оказывают действие на абсорбцию воды. Уже упоминалось, что авокиня, ингибиторы энергетического обмена подавляют абсорбцию воды. Таким же действием обладает специфический ингибитор натриевого насоса — оубаин.

Увеличение абсорбции воды наблюдается в условиях повышенного транспорта  $\text{Na}^+$  за счет сопряжения его с переносом

сахаров или аминокислот. Причем глюкоза может оказывать двойное действие, стимулируя поступление  $\text{Na}^+$  в клетки через апикальную мембрану и увеличивая поток  $\text{Na}^+$  в серозный раствор за счет метаболического влияния. Очень убедительно зависимость абсорбции воды от глюкозы была продемонстрирована методикой измерения переноса воды в отдельной ворсинке [62]. Следует упомянуть также факт подавления абсорбции воды специфическим ингибитором транспорта сахаров — флоридином [30, 54].

В условиях, когда эпителиальными клетками кишки активно транспортируется  $\text{Cl}^-$  или  $\text{HCO}_3^-$ , проявляется зависимость абсорбции воды от факторов, влияющих на транспорт этих анионов. Так, ингибитор активного транспорта  $\text{Cl}^-$  — ацетазоламид — одновременно снижал абсорбцию  $\text{Cl}^-$  и воды в подвздошной кишке собаки [59]. Ранее отмечалась возможность активной секреции  $\text{NaCl}$  ( $\text{NaHCO}_3$ ) и ее предполагаемая роль в патологии водного обмена. Хотя основную роль в секреции воды и солей в полость кишечника, вероятно, играет филтратция, включение дополнительного механизма активной секреции  $\text{NaCl}$  при торможении абсорбции  $\text{Cl}^-$  и  $\text{Na}^+$  может быть главным фактором, приводящим к смене нормального процесса всасывания воды процессом секреции.

Чтобы транспорт  $\text{Na}^+$  или  $\text{Cl}^-$  обеспечивал перенос воды, должен создаваться осмотический градиент, который и служит непосредственной движущей силой для молекул воды. Но опыты показывают, что тоничность плазмы крови при абсорбции соли практически не меняется. Следовательно, осмотический градиент создается на более ранних участках транспорта. Если предположить, что повышенное осмотическое давление возникает во всем объеме эпителиальных клеток, то необходимо объяснить, почему вода поступает только через апикальную, но не базальную поверхность клеток. Одна из возможностей состоит в постулировании неодинаковых свойств мембран, обращенных в серозный и мукозный объем [27].

Наибольшее распространение в последние годы получила гипотеза локального осмотического градиента [31, 33]. Предполагается, что  $\text{Na}^+$  поступает в клетки через апикальную мембрану микроворсинок и в области пещерной каемки эпителиоцита создается повышенная концентрация  $\text{Na}^+$ . Далее ионы  $\text{Na}^+$  активно откачиваются через верхнюю часть латеральной мембраны, и соответственно с градиентом концентрации интенсивность откачки снижается по длине латеральной мембраны в направлении к базальной части клетки. Благодаря этому в апикальной части межклеточной щели создается концентрация  $\text{Na}^+$ , превышающая концентрацию  $\text{Na}^+$  в мукозном или серозном растворе. Наличие замыкающей пластинки препятствует диффузии  $\text{Na}^+$  в мукозный раствор, таким образом обеспечивается перенос откачиваемого  $\text{Na}^+$  только в одном направлении. Расчеты показывают, что в зависимости от длины и ширины канала, величины проницаемости мембран для ионов  $\text{Na}^+$  и воды в серозный объем из межклеточных

щелей может поступать и изотонический, и гипертонический раствор.

Основные свидетельства в пользу рассмотренной гипотезы локального осмотического градиента получены в опытах на эпителии слизистой оболочки желчного пузыря кролика. Имеются доказательства поступления воды в межклеточный канал не через замыкательную пластинку, а через клетку [97, 99]. Поступая в канал, вода вызывает его расширение, что хорошо иллюстрируется электронномикроскопическими фотографиями. Значение потока воды по межклеточным щелям четко выявляется и в условиях переноса воды по осмотическому градиенту. При гипотоническом мукозном растворе поток воды оказывается выше, чем при обратном осмотическом градиенте [65]. В последнем случае межклеточные щели выглядят замкнутыми.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Есипенко Б. Е., Лазин П. В. Всасывание воды в тонкой кишке и водный обмен. — Матер. 2-го Всес. симпози. по физиол. и патол. всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973, с. 26—29.
2. Миронов В. С. Всасывание воды и натрия в тонкой кишке в условиях измененного водно-солевого обмена. — Матер. 2-го Всес. симпози. по физиол. и патол. всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973, с. 85—88.
3. Никольский Н. Н. Проницаемость клеток. — В кн.: Физиология пищеварения. Л., 1974, с. 7—25.
4. Никольский Н. Н., Трошин А. С. Транспорт сахаров через клеточные мембраны. Л., 1973.
5. Панкова Л. П. О всасывании концентрированных растворов. — Физиол. ж. СССР, 1955, т. 41, № 6, с. 801—806.
6. Ташмухамедов Б. А., Далимова Д., Бекмухамедова З. У. О локализации транспортной АТФ-азы в эпителии тонкого кишечника. — Биохимика, 1969, т. 14, № 6, с. 1032—1034.
7. Хрипкова А. Г., Миронов В. С., Бабенко Т. М., Трохимчук Л. Ф., Карлова А. С., Романюк И. Г. Значение способа образования изолированного отрезка для оценки всасывания из тонкой кишки. — Матер. 2-го Всес. симпози. по физиол. и патол. всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973, с. 138—140.
8. Armstrong W. M. D., Musselman D. L., Reitzug H. C. Sodium, potassium, and water content of isolated bullfrog small intestinal epithelia. — Amer. J. Physiol., 1970, v. 219, № 4, p. 1023—1026.
9. Baker R. D., Wall M. J., Long J. L. Intestinal transmural electrical activity: selective effects of mucosal and serosal anaerobiosis. — Biochim. et biophys. acta, 1971, v. 225, № 2, p. 392—396.
10. Barry P. H., Diamond J. M., Wright E. M. The mechanism of cation permeation in rabbit gallbladder. Dilution potentials and bionic potentials. — J. Membr. Biol., 1971, v. 4, № 4, p. 358—394.
11. Barry R. J. C., Eggenton J. Membrane potentials of epithelial cells in rat small intestine. — J. Physiol., 1972, v. 227, № 1, p. 201—216.
12. Barry R. J. C., Eggenton J., Smyth D. H. Sodium pumps in the rat small intestine in relation to hexose transfer and metabolism. — J. Physiol., 1969, v. 204, № 2, p. 299—310.
13. Barry R. J. C., Smyth D. H., Wright E. M. Short-circuit current and solute transfer by rat jejunum. — J. Physiol., 1965, v. 181, № 2, p. 410—431.
14. Berg G. G., Chapman B. The sodium and potassium activated ATPase of intestinal epithelium. I. Location of enzymatic activity in the cell. — J. Cell. a. Comp. Physiol., 1965, v. 65, № 3, p. 361—372.
15. Berg G. G., Szekeres J. The sodium and potassium activated ATPase. II. Comparative study of intestinal epithelium and red cells. — J. Cell. a. Comp. Physiol., 1966, v. 67, № 3, p. 487—500.
16. Binder H. J., Powell D. W., Tai Y.-H., Curran P. F. Electrolyte transport in rabbit ileum. — Amer. J. Physiol., 1973, v. 225, № 4, p. 776—780.
17. Bosacková J., Crane R. K. Studies on the mechanism of intestinal absorption of sugars. IX. Intracellular sodium concentrations and active sugar transport by hamster small intestine in vitro. — Biochim. et biophys. acta, 1965, v. 102, № 2, p. 436—441.
18. Bronk J. R., Parsons D. S. The polarographic determination of the respiration of the small intestine of the rat. — Biochim. et biophys. acta, 1965, v. 107, № 3, p. 397—404.
19. Chez R. A., Palmer R. R., Schultz S. G., Curran P. F. Effect of inhibitors on alanine transport in isolated rabbit ileum. — J. Gen. Physiol., 1967, v. 50, № 10, p. 2357—2376.
20. Clarkson T. W. The transport of salt and water across isolated rat ileum. Evidence for at least two distinct pathways. — J. Gen. Physiol., 1967, v. 50, № 3, p. 695—728.
21. Clarkson T. W., Rothstein A. Transport of monovalent cations by the isolated small intestine of the rat. — Amer. J. Physiol., 1960, v. 199, № 5, p. 898—906.
22. Clarkson T. W., Toole S. R. Measurement of short-circuit current and ion transport across the ileum. — Amer. J. Physiol., 1964, v. 206, № 3, p. 658—668.
23. Code C. F., Bass P., McClary G. B., Neumann R. L., Orvis A. L. Absorption of water, sodium and potassium in small intestine of dogs. — Amer. J. Physiol., 1960, v. 199, № 2, p. 281—288.
24. Csáky T. Z., Esposito G. Osmotic swelling of intestinal epithelial cells during active sugar transport. — Amer. J. Physiol., 1969, v. 217, № 3, p. 753—755.
25. Curran P. F. Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> and water transport by rat ileum in vitro. — J. Gen. Physiol., 1960, v. 43, № 6, p. 1137—1148.
26. Curran P. F., Hajjar J. J., Glynn I. M. The sodium-alanine interaction in rabbit ileum. Effect of alanine on sodium fluxes. — J. Gen. Physiol., 1970, v. 55, № 3, p. 297—308.
27. Curran P. F., Macintosh J. R. A model system for biological water transport. — Nature, 1962, v. 193, № 4813, p. 347—348.
28. Curran P. F., Schultz S. G., Chez R. A., Fuiz R. E. Kinetic relations of the Na-amino acid interaction at the mucosal border of intestine. — J. Gen. Physiol., 1967, v. 50, № 5, p. 1261—1286.
29. Curran P. F., Solomon A. K. Ion and water fluxes in the ileum of rats. — J. Gen. Physiol., 1957, v. 41, № 1, p. 143—168.
30. Detheridge J. F., Matthews J., Smyth D. H. The effect of inhibitors on intestinal transfer of glucose and fluid. — J. Physiol., 1966, v. 183, № 2, p. 369—377.
31. Diamond J. M. Water-solute coupling and ion selectivity in epithelia. — Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B, 1971, v. 262, № 842, p. 83—342.
32. Diamond J. M. Standing-gradient model of fluid transport in epithelia. — Federat. Proc., 1971, v. 30, № 1, p. 6—13.
33. Diamond J. M., Bossert W. H. Standing-gradient osmotic flow. A mechanism for coupling of water and solute transport in epithelia. — J. Gen. Physiol., 1967, v. 50, № 8, p. 2061—2083.
34. Di Bona D. R., Civan M. M. Pathways for movement of ions and water across toad urinary bladder. I. Anatomic site of trans-epithelial shunt pathways. — J. Membr. Biol., 1973, v. 12, № 2, p. 101—128.
35. Dietz J., Field M. Ion transport in rabbit ileal mucosa. IV. Bicarbonate secretion. — Amer. J. Physiol., 1973, v. 225, № 4, p. 858—861.

## Глава 4

### ВСАСЫВАНИЕ ДВУХВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ

В. К. Бауман

#### 4.1. КАЛЬЦИЙ

Кальций относится к пяти наиболее распространенным элементам (O, C, H, N, Ca), встречающимся в организме человека и животных. Его биологическая роль весьма многообразна. Ионы кальция занимают ключевые позиции в ряде физиологических и биохимических процессов (например, в мышечном сокращении, свертывании крови), играют важную роль в функции нервной системы и проницаемости клеточных мембран. Кальций является незаменимым элементом и в структурном отношении, составляя основную часть костной ткани.

В процессе эволюции в организме животных выработалась совершенная регуляция гомеостаза кальция. Строгий контроль, осуществляемый нейрогормональной системой, обеспечивает у человека и животных постоянство уровня кальция в крови (около 10 мг%). Лишь при значительных нарушениях питания и функций организма (рахит, остеомаляция, гипervитаминоз и др.) уровень кальция изменяется, что ведет к тяжелым последствиям, а резкое падение его вызывает тетанию и смерть.

В поддержании гомеостаза кальция в организме ведущая роль принадлежит пищеварительной системе, всасыванию и экскреции катиона в кишечнике. На интенсивность этих процессов значительное влияние оказывают физиологические факторы (возраст, секреция пищеварительных соков и желчи, гормоны, а также состав пищи (липиды, органические кислоты, лактоза, минеральные вещества и витамины). Особенно важную роль играет витамин D.

Изучение всасывания кальция у животных встречает ряд трудностей. Количество всасывающегося в кишечнике катиона нельзя определить в обычных балансовых опытах, ибо с калом

выводится не только кальций, не всасывающийся из пищи, но и кальций эндогенного происхождения, экскретируемый в кишечник из крови. Только с применением новой техники исследования — радиоактивной метки ( $^{45}\text{Ca}$ ,  $^{47}\text{Ca}$ ) или неабсорбируемых маркеров ( $\text{C}_2\text{O}_3$ ,  $^{91}\text{Y}$ ) — стало возможным более детальное исследование процессов всасывания и экскреции. Важную роль в изучении механизма всасывания кальция сыграло применение методов перфузии и изолированной кишечной петли *in situ*, а также методов инкубации в условиях *in vitro* вывернутых кишечных «мешочков», кишечных срезов или изолированных эпителиальных клеток слизистой оболочки.

Всасывание кальция изучалось многочисленными исследователями, накоплен огромный материал, обобщенный в ряде обзоров [34, 97, 212, 438, 446, 454].

#### 4.1.1. МЕСТО ВСАСЫВАНИЯ

Кальций всасывается по всей длине кишечного тракта, но эффективность процесса (количество всасывающегося за определенное время катиона в расчете на единицу длины кишки) в разных отделах варьирует. Сравнительное изучение всасывания кальция из различных отрезков кишечника *in situ* у крыс [301, 436], свиней [289], овец [370], собак [123, 124], лошадей [366], птиц [205, 206] и человека [83] позволяет сделать вывод, что местом наиболее эффективного всасывания кальция в пищеварительном тракте различных млекопитающих и птиц является двенадцатиперстная кишка и начальный отдел тонкой кишки. По мере удаления от желудка эффективность всасывания понижается.

Более высокая скорость всасывания катиона в двенадцатиперстной и тонкой кишках по сравнению с дистальными отделами кишечника подтвердилась в опытах *in vitro* у крыс, кроликов, морских свинок [351, 352] и у птиц [77]. Таким образом, в отношении эффективности всасывания кальция в кишечном тракте существует выраженный проксимодистальный градиент.

Предполагается, что в слизистой оболочке верхних отделов кишечника действует специальная система, активно транспортирующая катион через кишечные эпителиоциты в кровь.

Однако основное количество поступившего с пищей кальция усваивается не в двенадцатиперстной кишке, а в последующих отделах тонкой кишки — тощей и верхней части подвздошной. Это объясняется большей протяженностью этих отделов и замедленной скоростью прохождения химуса, что способствует более полному всасыванию катиона. Из общего количества усвоенного кальция 2% всасывается в желудке, 15% в двенадцатиперстной кишке, 23% в тощей и 60% в подвздошной [244]. Аналогичные данные получены и в других исследованиях [124, 126].

#### 4.1.2. МЕХАНИЗМ ВСАСЫВАНИЯ

Эпителиальные клетки, выстилающие стенки кишечника, представляют собой труднопроницаемый барьер для кальция. Существует специальный механизм для его переноса из полости кишечника в кровь, благодаря которому организм обеспечивается этим катионом.

Следует отметить, что процесс транспорта веществ, в том числе и катионов, через мембраны и клетки еще далеко не полностью расшифрован. Результаты изучения отдельных этапов всасывания зачастую неоднозначны и противоречивы. Однако интенсивные исследования последних лет в области структуры и функции слизистой оболочки тонкой кишки на субклеточном и молекулярном уровнях, кинетический анализ транспорта катиона, успехи в изучении механизма действия витамина D и отдельных ферментов позволяют в настоящее время глубже понять процесс всасывания кальция.

**Активный транспорт и диффузия.** Впервые убедительные данные о существовании в слизистой оболочке тонкой кишки системы активного транспорта кальция получены в опытах Шахтера и Росена в 1959 г. [355], проведенных на вывернутых кишечных «мешочках» при различных условиях инкубации *in vitro*. Обобщая результаты этих и последующих многочисленных исследований [67, 150, 351, 354, 425], проведенных на различных видах млекопитающих и птицах с использованием методов *in vitro* (вывернутые кишечные «мешочки», срезы стенки кишки или суспензии клеток, выделенных из слизистой оболочки тонкой кишки), можно сделать вывод, что переход ионов кальция через кишечный барьер отвечает основным критериям, характеризующим активный транспорт [44]:

- 1) поток катионов направлен против градиента концентрации;
- 2) поток катионов характеризуется односторонностью — от слизистой к серозной оболочке стенки кишки;
- 3) поток стремится к пределу (эффект насыщения) при увеличении концентрации катионов в среде;
- 4) поток уменьшается при внесении в среду других двухвалентных элементов (конкурентное ингибирование);
- 5) поток катионов зависит от метаболической энергии (атмосфера азота, низкая температура, метаболические яды угнетают поток, а сахара — стимулируют).

Эффект насыщения потока при повышении концентрации катиона и конкурентное ингибирование в присутствии других двухвалентных катионов указывают на участие в процессе всасывания кальция системы со специфическим переносчиком.

Кинетический анализ процесса транспорта катионов [98, 150, 323] позволил выявить его двойственную природу. При низком уровне кальция в инкубационной среде происходит активный транспорт с эффектом насыщения согласно закону Михаэлиса—

Ментен, а при высоком уровне — пассивная диффузия с линейным возрастанием потока при увеличении концентрации катиона. Соотношение этих двух механизмов в транспорте кальция при различных его концентрациях в среде наглядно иллюстрируется сложным характером кривой (рис. 4.1).

Следует, однако, отметить, что в некоторых исследованиях при использовании техники *in vitro* [78, 187] линейная зависимость потока кальция от концентрации, т. е. пассивная диффузия, наблюдалась при всех уровнях катиона в среде.

Изучение процесса всасывания кальция с применением методов перфузии кишки или изолированных лигатурами отрезков ее *in situ*, т. е. в условиях близких к естественным — с сохранением кровообращения органа [233, 370, 426, 436, 458], подтвердило существование активного транспорта кальция. Всасывание ка-

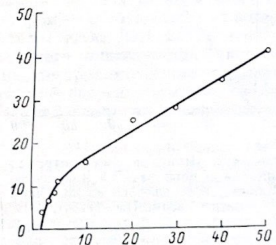


Рис. 4.1. Поглощение кальция срезами стенки двенадцатиперстной кишки крысы в зависимости от его концентрации в инкубационной среде (По [323]).

По оси абсцисс — концентрация кальция, мм; по оси ординат — скорость поглощения кальция срезами, мг/г/час.

тиона проходило против градиента концентрации, когда его уровень в полости кишки был ниже, чем в крови. В других опытах на собаках с фистулой по Тири—Велла [127] максимальная скорость всасывания наблюдалась при значительно более высокой, чем в крови, концентрации катиона в перфузате, при которой его транспорт совершался по градиенту (рис. 4.2). Выраженный эффект замедления скорости всасывания при увеличении концентрации кальция в перфузате свыше 50 мг%, резкое ингибирование при введении магния позволяют предположить, что всасывание кальция в тонкой кишке собак осуществляется с помощью механизма облегченной диффузии при участии переносчика.

Сложный характер процесса всасывания кальция, в котором используются как активный, так и пассивный механизмы, наблюдался рядом исследователей на животных [98, 426, 453] и человеке [303].

Кривая (рис. 4.3) показывает, что между количеством всосавшегося кальция и концентрацией катиона в полости кишки существует сложная зависимость. Эффективность всасывания понижается с повышением концентрации, оставаясь без изменения в диапазоне от 0,2 до 5 мг/мл, а затем резко снижается при дальнейшем

увеличении концентрации (от 5 до 25 мг/мл). При анализе этой кривой [426] выявляются два процесса, имеющие эффект насыщения. При низком уровне кальция его всасывание происходит за счет активного механизма, который быстро насыщается с повышением концентрации катиона; в районе плато, возможно, действует механизм облегченной диффузии, когда кальций всасывается по градиенту концентрации, но с помощью переносчика, что обуславливает эффект насыщения. При дальнейшем увеличении концентрации в полости кишки эффективность всасывания

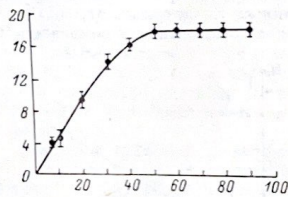


Рис. 4.2. Влияние концентрации кальция в перфузате на количество кальция, всосавшегося из кишечной петли собак. (По [127]).  
По оси абсцисс — концентрация кальция, мг/мл; по оси ординат — скорость всасывания, мг/час.

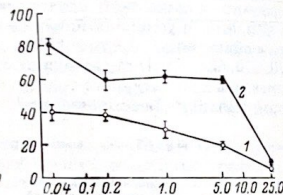


Рис. 4.3. Влияние концентрации кальция на всасывание  $^{45}\text{Ca}$  из двенадцатиперстной кишки контрольных рахитичных цыплят (1) и рахитичных цыплят, получивших 500 МЕ витамина  $\text{D}_3$  (2). (По [426]).  
По оси абсцисс — концентрация кальция, мг/мл (доза — 1 мл); по оси ординат — всасывание  $^{45}\text{Ca}$ , %.

резко снижается, так как процесс происходит лишь за счет пассивной диффузии.

Согласно экспериментальным данным о распределении концентрации кальция в различных отделах кишечного тракта [124], можно предположить, что только в верхних отделах тонкой кишки — в двенадцатиперстной и тощей, где концентрация кальция ниже, чем в крови (около 8 мг%), кальций всасывается за счет активного механизма. Характерно, что именно в этих отделах тонкой кишки выявлен активный транспорт катиона в опытах *in vitro* [351, 355]. В нижележащих отделах тонкой кишки концентрация кальция превышает 20 мг% и катион всасывается по градиенту.

Приведенные выше экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в настоящее время еще не получен однозначный ответ относительно природы процесса всасывания кальция. Однако, обобщая результаты исследований зависимости всасывания катиона от его концентрации, можно сделать вывод об участии в транспорте двух основных механизмов. Один, более эффективный, действующий при низком уровне кальция, характеризуется

эффектом насыщения и может быть отнесен к механизму с участием переносчика, т. е. к активному транспорту или облегченной диффузии. Другой механизм действует при высоком уровне кальция и характеризуется линейной зависимостью от концентрации, что позволяет отнести его к пассивной диффузии.

Подобная закономерность: активный транспорт при низких и пассивный — при высоких концентрациях — проявляется и при всасывании других веществ, например железа [131], глюкозы [156], и, по-видимому, имеет важное физиологическое значение, так как обеспечивает наиболее рациональное снабжение организма необходимыми веществами.

Остается, однако, неясным, на каком этапе всасывания действует активный механизм: первом — переход катиона через исчерпанную каемку в клетку или втором — освобождение из клеток в кровь. Согласно одним исследователям [261, 275], переход через исчерпанную каемку кишечного эпителиоцита является активным, совершающимся против электрохимического градиента и требующим затраты метаболической энергии, которая обеспечивается за счет гидролиза АТФ под влиянием специфической Са-активируемой АТФазы.

Другие исследователи [77, 78, 109, 429] переход кальция через исчерпанную каемку эпителиоцита характеризуют как простую или облегченную диффузию, осуществляемую без затраты метаболической энергии. Изучение термодинамики процесса [77] и его кинетический анализ [323] показывают, что этот этап совершается по градиенту концентрации. Но в связи с низкой проницаемостью мембраны микроворсинков он является лимитирующим звеном процесса всасывания, и необходимо участие специального переносчика, облегчающего транспорт катиона через мембрану.

Эта гипотеза представляется наиболее убедительной, ибо между внеклеточной и внутриклеточной средой существует высокий градиент концентрации кальция ( $10^{-3}$  против  $10^{-6}$  М) [88, 334], направленный внутрь клетки, что благоприятствует диффузии. При этих условиях активный этап транспорта катиона должен быть связан не с входом в клетку, а с освобождением из нее против градиента.

**Витамин D и кальцийсвязывающий белок.** Стимуляция процесса всасывания кальция витамином D подтверждается многочисленными экспериментальными данными. На рис. 4.3 видно, что при всех значениях концентрации катиона в кишечнике эффективность его всасывания у рахитичных цыплят значительно ниже, чем у цыплят, обеспеченных витамином D. В результате потребность организма в кальции у рахитичных цыплят не может быть полностью удовлетворена, происходит падение его уровня в крови и нарушение минерализации костной ткани.

Стимулирующий эффект витамина D на всасывание кальция интенсивно изучался многими исследователями, но долгие годы его механизм оставался загадочным.

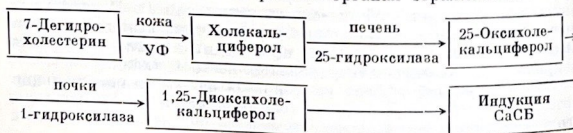
Ранее выдвинутая гипотеза [282] о том, что молекула витамина D является непосредственным переносчиком ионов, не получила признания, так как отсутствуют доказательства способности витамина образовывать комплекс с кальцием. Прямое действие витамина D на структуру и функцию мембран, которое проявляется при гипervитаминозе и обусловлено его токсическим воздействием [22, 58], трудно увязать с увеличением транспорта кальция через мембраны в физиологических условиях.

Значительный прогресс в изучении действия витамина D в организме произошел в последние годы, когда роль этого витамина была связана с биосинтезом специфического белка [5, 437, 438]. Установлено, что витамин D индуцирует образование в слизистой оболочке тонкого кишечника цыплят особого белка, который способствует всасыванию кальция. У животных с дефицитом витамина D этот белок не образуется, и транспорт кальция из кишечника в кровь у них нарушен.

Веским доказательством в пользу гипотезы, что витамин D действует посредством индукции биосинтеза белка, участвующего в транспорте, послужили эксперименты с применением антибиотиков, ингибирующих белковый синтез [5, 119, 304]. Если актиномицин D или пурамицин вводился рахитичным цыплятам до витамина (или одновременно с ним), то специфический белок в слизистой оболочке кишечника не синтезировался и всасывание кальция не стимулировалось.

В дальнейших экспериментах с включением меченой оротовой кислоты или уридина во фракцию ядерной РНК клеток кишечных эпителиоцитов [208, 390] и с включением меченого лейцина в синтезированный в них кальцийсвязывающий белок (СаСБ) [273] полностью подтвердилась гипотеза об индукции витамином D через генетический аппарат клеток кишечного эпителия синтеза de novo особого белка. Кроме того, установлено [144], что изолированные полирибосомы слизистой оболочки кишки цыплят, получавших витамин D, способны в условиях *in vitro* синтезировать заново СаСБ, подобный аналогичному белку, синтезированному *in vivo*. Полирибосомы, изолированные из клеток слизистой оболочки цыплят, не получавших витамина D, к такому синтезу не способны.

Витамин D в организме человека и животных претерпевает сложные превращения, в результате которых образуется метаболически активная форма витамина [7, 137, 224]. Основные этапы превращения витамина D в разных органах отражены на схеме:



158

В коже под влиянием ультрафиолетовых лучей из провитамина (7-дегидрохолестерина) образуется витамин D (холекальциферол). В печени, а затем в почках с участием специфических ферментов митохондрий (гидроксилаз) последовательно происходят два процесса гидроксирования. В результате молекула холекальциферола приобретает две гидроксильные группы (в положении 1 и 25) с образованием 1,25-диоксихолекальциферола, и ее молекулярный вес возрастает с 384 до 416.

Указанные сравнительно небольшие химические изменения молекулы витамина D значительно повышают его физиологическую активность. Стимуляция всасывания кальция в кишечнике под влиянием 1,25-диоксихолекальциферола значительно выше, чем у исходного витамина D.

Эти два новых факта — превращение витамина D в организме животных в активную форму и биосинтез под его влиянием специфического белка — полностью объясняют ранее казавшиеся непонятными особенности в действии этого витамина. Теперь ясно, почему витамин не оказывает непосредственного эффекта в системе *in vitro* и *in vivo* и почему между временем его введения и первым проявлением стимуляции всасывания кальция существует довольно продолжительный скрытый период (6—16 час). Объяснимым теперь становится и то, что столь ничтожные количества витамина (как 0,0025 мг) способны проявлять в организме значительный эффект. Витамин D не сам участвует в процессах всасывания, а действует через генетический аппарат клеток как индуктор.

Особенностью белка, индуцированного под влиянием витамина D, является способность образовывать с кальцием прочный комплекс. Этот белок в 1966 г. впервые был обнаружен в слизистой оболочке тонкой кишки цыплят Вассерманом и Тайлером [437], а затем выявлен у многих других видов животных: рыб [10], свиней [16, 292], коров [161], обезьян [439] и у человека [277].

В настоящее время СаСБ выделен, очищен и детально охарактеризован как в физико-химическом, так и в функциональном отношении [93, 211, 435]. СаСБ — растворимый белок с молекулярным весом 25 000—28 000, обладающий высокой электрофоретической подвижностью и поэтому на электрофореграммах в полиакриламидном геле представлен самой нижней фракцией. Его аминокислотный состав отличается большим содержанием двух основных карбоновых кислот — аспарагиновой и глутаминовой, которые, вероятно, и ответственны за образование комплекса с катионом. Одна молекула СаСБ связывает четыре молекулы кальция. Белок обладает относительной специфичностью для кальция и способен присоединять ряд других двухвалентных катионов, хотя комплексы с ними менее прочны, чем с кальцием. Некоторые свойства СаСБ приведены в работе Вассермана и соавт. [429].

159

Молекулярный вес . . . . .	25 000—28 000
Коэффициент седиментации . . . . .	2.96
Константы устойчивости, $M^{-1}$ :	
Ca . . . . .	$2.6 \cdot 10^6$
Cr . . . . .	$3.9 \cdot 10^4$
Ba . . . . .	$5.8 \cdot 10^4$
Одна молекула белка связывает 4 молекулы Ca.	

Примечание. По последним данным [93], константа устойчивости CaCB для Ca выше  $-20 \cdot 10^6 M^{-1}$ .

Константа устойчивости комплекса кальция с этим белком выше примерно в 1000 раз, чем у комплекса с альбумином, и в 100 раз, чем у комплекса с лимонной кислотой.

Методом иммунологической флуоресценции [399] удалось установить, что CaCB синтезируется в тонкой кишке бокаловидными

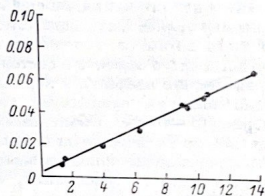


Рис. 4.4. Корреляция между константой скорости всасывания  $^{45}Ca$  и концентрацией CaCB в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки цыплят. (По [294]).  
По оси абсцисс — концентрация CaCB, ед. оптической плотности; по оси ординат — константа скорости всасывания  $^{45}Ca$ , мин.<sup>-1</sup>.

клетками и локализуется в исчерченной каемке кишечного эпителиоцита, по-видимому в слое гликокаликса, покрывающего микроворсинки. О поверхностной локализации этого белка в слизистой оболочке свидетельствует и быстрый его переход в раствор при встряхивании слизистой оболочки с буферным раствором [9].

Показано, что CaCB не обладает ферментативной активностью (в том числе и АТФазной). Не найдено также ферментов, катализирующих связывание катионов с белком и его освобождение из комплекса. Соединение кальция с белком происходит без затраты дополнительной энергии и без участия сульфгидрильных групп, но в присутствии мочевины этот процесс резко подавляется, очевидно за счет изменения конформации молекулы белка. Лизолецитин также нарушает комплекс белка с катионом [211].

Присутствие CaCB в слизистой оболочке кишечника в 3—5 раз увеличивает всасывание кальция, причем с увеличением концентрации белка повышается и количество всосавшегося кальция [5, 429]. Коэффициент корреляции между этими величинами достигает 0.99, что доказывает непосредственное участие CaCB в процессе транспорта (рис. 4.4). Недавно получено прямое подтверждение этому в экспериментах с культурой ткани [120]. Добавка CaCB в инкубационную среду с культурой ткани кишечника эмбриона цыпленка, у которого этот белок не синтезируется,

обусловила повышенное включение кальция в слизистую оболочку и увеличение переноса катиона через вывернутый кишечный «мешочек».

Существует выраженный проксимо-дистальный градиент концентрации CaCB в слизистой оболочке кишечного тракта. Наибольшее его количество обнаруживается в двенадцатиперстной кишке, в нижнем же отделе тонкой кишки только следы [11, 292]. Это соответствует наличию подобного градиента и в отношении эффективности всасывания кальция.

Помимо слизистой оболочки кишечника CaCB выявлен в почках различных животных, в яйцеводу кур, где происходит кальцификация скорлупы яиц [11, 121], и в молочной железе млекопитающих [43].

Таким образом, CaCB синтезируется под влиянием витамина D в эпителиальных тканях, связанных с интенсивным внутриклеточным транспортом кальция. Однако интимный механизм участия CaCB в процессе всасывания кальция пока еще не расшифрован. Еще нет единого мнения, какой этап транспорта катиона стимулируется витамином — переход через исчерченную каемку в кишечный эпителиоцит [177, 259, 327, 429], или освобождение из клетки [179, 408], или оба этих этапа [354]. Выдвигается еще одна гипотеза: витамин D и CaCB влияют на внутриклеточный транспорт кальция, связанный с деятельностью митохондрий [145, 174, 350, 356].

Весьма убедительными являются результаты кинетического анализа, показавшие, что лимитирующим этапом процесса всасывания кальция является транспорт катиона через исчерченную каемку кишечного эпителиоцита [323] и что витамин D и его активный метаболит (1,25-дигидрокси-1,25-дихолекальциферол) стимулируют именно этот этап путем усиления транспорта посредством переносчика [327]. Таким переносчиком катиона через исчерченную каемку, видимо, и является CaCB.

Предлагаются 3 модели участия CaCB в транспорте кальция [440]: 1) диффузионный облегчитель, увеличивающий перенос ионов кальция через исчерченную каемку; 2) внутриклеточный переносчик катиона через цитоплазму к базальной мембране; 3) концентратор кальция на поверхности микроворсинок, что облегчает последующие этапы транспорта катиона.

Первая из этих моделей представляется наиболее обоснованной, так как CaCB находится в исчерченной каемке эпителиоцитов и его действия связаны не с затратой энергии, а с изменением пассивной проницаемости мембраны микроворсинок для кальция. О пассивной природе этого этапа свидетельствуют также данные о том, что под влиянием витамина D увеличиваются потоки катиона как в преобладающем направлении — из полости кишки в кровь, так и обратно — из крови в кишку [441].

Проницаемость мембран определяется особенностями их структуры, которая может видоизменяться от присутствия в мембране

специфического белка. Отмечалось [68, 165], что витамин D определенным образом влияет на состав и свойства мембран микроворсинок.

Важная роль в структуре мембран принадлежит ионам кальция. Они обладают способностью образовывать так называемые «кальциевые мостики» между некоторыми отрицательно заряженными группировками различных макромолекул, входящих в плазматические мембраны и покрывающий их слой гликокаликса. Образование таких мостиков повышает «жесткость» мембраны и делает ее менее проницаемой [256]. В связи с этим определенный интерес представляет гипотеза [8] о том, что СаСБ не служит переносчиком, а является акцептором кальция, включенного в структуру мембраны, тем самым увеличивая ее проницаемость.

**Витамин D и фосфатазная активность.** В исчерпанной каемке эпителиоцитов и покрывающем их слое гликокаликса осуществляются процессы мембранного пищеварения, сопряженные с транспортом веществ [64]. Здесь сосредоточено множество гидролитических ферментов, в том числе щелочная фосфатаза, Са- и Mg-активируемые АТФазы, пирофосфатаза, фитаза.

В ряде экспериментов [261, 275] установлено стимулирующее действие витамина D на Са-активируемую АТФазу исчерпанной каемки. Активность этого фермента оказалась тесно связанной с величиной всасывания кальция в двенадцатиперстной кишке, что послужило основанием считать Са-активируемую АТФазу наряду с СаСБ компонентами активной транспортной системы для кальция.

Аналогичные результаты получены и в отношении щелочной фосфатазы, Mg-активируемой АТФазы, пирофосфатазы и фитазы [180, 200, 232, 234].

Близкое совпадение между активностью этих ферментов, их локализация в исчерпанной каемке эпителиоцитов, стимуляция под влиянием витамина D и подавление одним стереоспецифичным для фосфатазы ингибитором (L-фенилаланином) дало основание предположить, что эти ферменты являются выражением фосфатазной активности единого ферментного комплекса. Об идентичности Са-активируемой АТФазы и щелочной фосфатазы в исчерпанной каемке свидетельствуют также кинетические исследования [347]. Таким образом, можно говорить об общей фосфатазной активности комплекса ферментов исчерпанной каемки кишечных эпителиоцитов, стимулируемых витамином D.

Следует указать, однако, что увеличение фосфатазной активности исчерпанной каемки после введения рахитичным цыплятам витамина D было вторичным по отношению к появлению СаСБ и стимуляции всасывания кальция [400]. Кроме того, на активность фосфатазы в значительной степени влияет не только витамин D, но и уровень кальция и фосфора в рационе, а также другие факторы [272, 295]. Убедительные доказательства того, что под влиянием витамина D индуцируется биосинтез специ-

ческого белка — СаСБ, получены недавно в исследованиях *in vitro* [144]. Полирибосомы, изолированные из клеток слизистой оболочки тонкой кишки цыплят, получавших витамин D, способны синтезировать *de novo* в системе *in vitro* СаСБ, аналогичный белку, синтезированному *in vivo*. Образование других белков, индуцированных витамином D, при этом не происходило.

Увеличение фосфатазной активности исчерпанной каемки под влиянием витамина D можно рассматривать как проявление неспецифического действия витамина, связанного с повышением общей жизнедеятельности слизистой оболочки кишки. Показано [84], что после введения рахитичным крысам витамина D наблюдается усиленное обновление клеток слизистой оболочки тонкой кишки и увеличение в них биосинтеза белка.

**Участие митохондрий в транспорте.** Первые этапы всасывания кальция — аккумуляция в исчерпанной каемке кишечных эпителиоцитов и переход через мембраны микроворсинок, — по-видимому, облегчаются участием специфического СаСБ. Объяснение второго этапа всасывания — перехода через цитоплазму от апикальной к базальной мембране эпителиоцитов — встречает ряд трудностей. Прежде всего, внутриклеточная концентрация ионов кальция очень низка, и ее изменения существенно отражаются на активности различных ферментов и на биохимических процессах (дыхание, гликолиз) [334]. Так, например, ферменты, катализирующие глюконеогенез, — пируваткиназа и фруктоза-1,6-дифосфатаза — ингибируются ионами кальция [449]. По этой причине катион не должен переноситься через клетки в свободной, физиологически активной форме. В опытах с применением радиоактивного кальция на эпителиальных клетках почек, интенсивно транспортирующих кальций, установлено [87], что не происходит смешивания транспортируемого катиона с общим цитоплазматическим фондом и он связывается с митохондриальными мембранами. О важной роли митохондрий в транспорте и в поддержании внутриклеточного гомеостаза кальция в последние годы появились многочисленные экспериментальные данные, обобщенные в обзорах [63, 88, 241].

Установлено, что из всех изученных одно- и двухвалентных катионов только кальций оказался способным в больших количествах аккумуляроваться в митохондриях. Количество этого катиона в митохондриях в 1000 раз выше, чем в цитоплазме клеток.

Высокая способность митохондрий аккумулялировать кальций в значительной степени определяется огромной поверхностью их мембран, которая в 30 раз превышает общую поверхность клетки, а также наличием в их мембране особых веществ, обладающих средством к кальцию. Помимо ранее выделенного высокомолекулярного гликопротеина [63] из митохондрий сердечной мышцы недавно изолирован липофильный ионофор, который служит переносчиком кальция и магния через мембрану [86].