

Активность щелочной фосфатазы в пристеночной и полостной слизи разных отделов кишечника у мини-свиней светлогорской популяции

Е.П. Полякова¹, Т.А. Макашова¹, Т.В. Метревели¹, А.О. Ревякин²

¹ – ФГБОУ ВПО Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А.Тимирязева, Москва

² – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, scbmt@yandex.ru

В опытах на мини-свиньях исследована динамика активности щелочной фосфатазы в стенке кишечника и химусе всех отделов кишечника. В результате исследований обнаружена активность фермента в химусе и стенке кишки всех отделов кишечника. При этом в стенке кишки более высокая активность фермента была отмечена в слизистых наложениях тонкого отдела кишечника. По фракциям химуса активность фермента была распределена неравномерно. Большая активность отмечалась в плотной эндогенной фракции.

Ключевые слова: мини-свиньи, химус, щелочная фосфатаза, плотная эндогенная фракция, стенка кишки, полостная слизь.

Введение

В процессах пищеварения принимают участие множество ферментов, одним из которых является щелочная фосфатаза (ЩФ). Фермент локализуется, прежде всего, в костной ткани, паренхиме и стенках желчных протоков печени, проксимальных отделах извитых канальцев почек, предстательной железе, лактирующей молочной железе, клетках слизистой оболочки кишечника, плаценте, и особенно его много в растущих костях. Локализуясь в клеточной мембране, ЩФ участвует в транспорте биологических соединений. Она присутствует в каждом органе: наиболее высокая активность обнаружена в эпителии слизистой оболочки кишечника, эпителии канальцев почек, остеобластах, гепатоцитах и плаценте, но, несмо-

тря на это, основным местом выработки ЩФ являются энтероциты слизистой оболочки кишечника [11]. ЩФ гидролизует глюкофосфаты, фосфолипиды, фосфонуклеотиды. Доказано участие этого фермента в процессах всасывания углеводов, аминокислот, их транспорте через клеточную мембрану, фосфорилировании, синтезе гликогена и других процессах [9].

Однако исследования активности ЩФ в полости кишки не проводились, поскольку в настоящее время энтеральная среда (химус) рассматривается как бесформенная масса, в которой механически перемешаны пищевые частицы и пищеварительные соки, и где встреча субстрата и фермента носит случайный характер, а финальный гидролиз происходит на апикальной поверхности

слизистой оболочки в области гликокаликса. При этом слой слизи, покрывающий слизистую оболочку по всей длине кишечника, не учитывается [12, 13]. Вместе с тем, в последнее время в литературе появились сведения о том, что химус – сложное эндогенное образование, основу которого составляет полостная слизь [1, 2, 3], которой дали название «плотная эндогенная фракция» (ПЭФ) [4, 5]. Оказалось, что ПЭФ – сложное эндогенное структурное образование, основу которого составляет десквамированная слизистая оболочка, слизистые наложения, секрет бокаловидных клеток пищеварительные ферменты и другие вещества. Показано, что в цельном химусе минеральные элементы, такие как Ca, Mn, Zn, адсорбируются ПЭФ, а K, Na – остаются в растворимой фракции. P и Mg обнаруживаются в ПЭФ и РФ, определено упорядоченное распределение их вдоль кишечника [6].

В опытах *in vitro* Ю. Гальперин показал, что в секрете поджелудочной железы ферменты связаны с гликопротеинами. Имеются данные об активности ЩФ в слизистой оболочке [12, 14, 15] и в слизистых наложениях [2, 7, 8, 10], но при этом отсутствуют сведения о динамике активности этого фермента в полости кишки по длине кишечника и их локализации во фракциях химуса.

В связи с этим, нами было поставлена **цель** – изучение активности ЩФ в полости кишечника.

Благодаря разработанной на кафедре физиологии и биохимии ФГБОУ ВПО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева методике разделения химуса на экзогенные и эндогенные составляющие, мы смогли определить динамику актив-

ности ЩФ в цельном химусе, его фракциях (ПЭФ и РФ), а также в слизистой оболочке и слизистых наложениях.

Материалы и методы

Исследования проводили в лаборатории кафедры физиологии, этологии и биохимии животных ФГБОУ ВПО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Объектом исследования являлись мини-свиньи светлогорской популяции в возрасте 6 лет. Кормление животных осуществлялось согласно принятой схеме, стандартным комбикормом. Животные содержались в групповых клетках.

Для исследования животных через 3 ч после кормления умерщвляли, извлекали кишечник. Из всех отделов кишечника для определения активности ЩФ отбирали образцы цельного химуса, часть которого подвергали разделению на следующие фракции: плотная эндогенная фракция, растворимая фракция и пищевые частицы. Из стенки кишечника выделяли слизистую оболочку и слизистые наложения, в которых также определяли динамику активности фермента.

Активность ЩФ в образцах определяли с использованием стандартных наборов «Витал-Диагностикс».

Результаты и их обсуждение

В нашем эксперименте было обнаружено, что активность ЩФ была достаточно низкой в слизистой оболочке тонкого отдела кишечника (12-перстная и тощая кишки), однако в подвздошной кишке отмечалось существенное увеличение активности (рис. 1). В слепой кишке наблюдалось резкое снижение активности ЩФ, которое сохранялось в ободочной и прямой кишках.

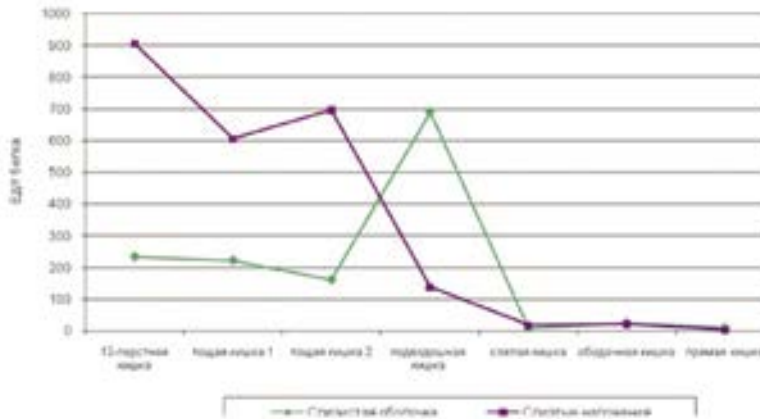


Рис. 1. Активность ЩФ в слизистой оболочке и слизистых наложениях.

В слизистых наложениях наблюдалась иная картина. Максимальная активность была обнаружена в 12-перстной кишке, которая оставалась на достаточно высоком уровне в тощей кишке. В подвздошной кишке наблюдалось снижение активности фермента, она несколько уменьшилась в слепой кишке и оставалась на этом уровне в ободочной и прямой кишках.

Полученные нами результаты в целом совпадают с имеющимися литературными данными [9, 7].

Активность фермента в полости кишки мало изучена. Наши исследования показывают, что активность фермента по длине кишечника имеет выраженную динамику.

Активность ЩФ в цельном химусе достаточно высокая (на уровне активности в слизистых наложениях) до подвздошной кишки. А в слепой кишке отмечалось резкое снижение активности ЩФ, которая не менялась в ободочной и прямой кишках.

Методика разделения химуса, разработанная на кафедре физиологии, этоло-

гии и биохимии животных ФГБОУ ВПО РГАУ-МСХА, позволила нам изучить динамику активности ЩФ в ПЭФ и РФ. В результате чего было обнаружено, что активность фермента неравномерно распределена во фракциях. Активность ЩФ более высокая в ПЭФ, чем в РФ. Динамика активности в обеих фракциях идентична, но сильно колеблется по отделам кишечника (рис. 2).

Высокая активность наблюдалась в 12-перстной кишке, после чего отмечалось снижение в 2-3 раза в тощей кишке и последующее увеличение в подвздошной кишке. В слепой кишке активность фермента резко снизилась и оставалась на низком уровне в ободочной и прямой кишках.

Заключение

Таким образом, результаты наших исследований позволяют сделать заключение, что ЩФ проявляет свою активность как в слизистой оболочке, так и в полости кишки. При этом в слизистой оболочке большая её активность обнаруживается в слизистых наложениях

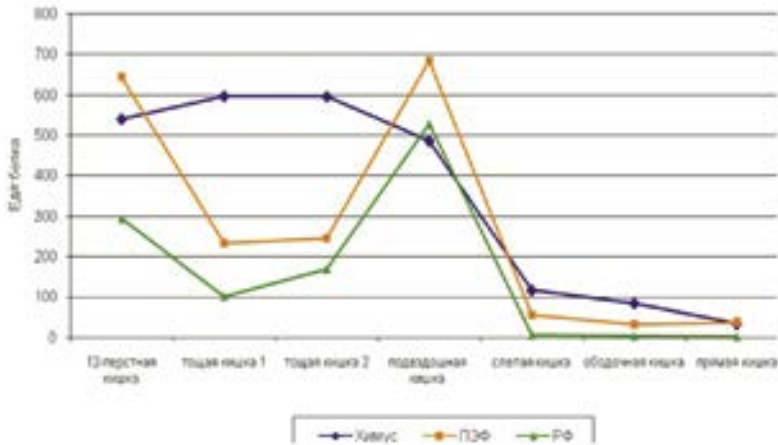


Рис. 2. Активность ЩФ в цельном химусе и его фракциях.

тонкого отдела. Это, по-видимому, связано с функцией Бруннеровых и Либеркюновых желёз, в секрете которых и содержится данный фермент.

В полости кишки при этом активность фермента объясняется поступлением секрета поджелудочной железы и желчи, а также содержанием ЩФ в десквамированных в полость кишки слизистых наложениях. Как известно, функция ЩФ и механизм её действия заключается в отщеплении остатка фосфорной кислоты от активных метаболитов. В результате расщепления фосфоэфирной связи образуются продукты, которые доступны для последующего гидролиза другими ферментами или могут быть эвакуированы в нижележащие отделы.

Обнаруженное увеличение активности фермента в слизистой оболочке, ПЭФ и РФ, в подвздошной кишке и ранее показанное увеличение концентрации кальция и фосфора в ПЭФ и РФ в этом отделе кишечника могут свидетельствовать о связи фермента с абсорбцией этих элементов.

В литературе имеются данные, что кишечные ферменты и щелочная фосфатаза, в частности, после выполнения своей физиологической роли, переходя с химусом в толстый отдел кишечника, разрушается в его дистальном отделе. Однако наши исследования показывают, что происходит резкое снижение активности фермента в толстом кишечнике.

Список литературы

1. Гальперин Ю.М., Костюченко Л.Н., Железная Л.А., Денисова Е.А. Роль гликопротеинов в образовании флокулярных гелевых структур естественного пищеварения // Физиол. журнал СССР. 1990. № 8. С. 1068-1071.
2. Гальперин Ю.М., Лазарев П.И. Структура пищеварительно-транспортных процессов в тонкой кишке // Журн. общ. биологии. 1985. № 1. С. 108-113.
3. Гальперин Ю.М., Лазарев П.И. Пищеварение и гомеостаз. - М.: Наука. 1986. 304 с.
4. Георгиевский В.И., Полякова Е.П. Кишечный химус и процессы всасывания: новые аспекты (Мат-лы Второй международной конференции). - Боровск. 1995. С. 128-134.
5. Георгиевский В.И., Шевелёв Н.С., Полякова Е.П. Роль эндогенных структур химуса в поддержании кишечного гомеостаза // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии (Мат-лы Чет-

- вёртой Российской гастроэнтерологической недели). – М. 1998. Т. 8. № 5. Прил. 11. С. 267-268.
6. **Иванов А.А., Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А.** Общебиологический феномен депонирования катионов структурами химуса и его значение для создания смесей энтерального питания // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012. № 2. С. 71-75.
 7. **Морозов И.А.** Структура и функции слизистого слоя тонкой кишки // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2002. № 6. С. 88-92.
 8. **Морозов И.А., Ишакова В.Ю., Лысков Ю.А.** О пищеварительной функции надэпителиального слизистого слоя тонкой кишки // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 1990. Т. 76. № 4. С. 515-522.
 9. **Морозов И.А., Лысков Ю.А., Питран Б.В., Хвьяля С.И.** Всасывание и секреция в тонкой кишке (субмикроскопические аспекты). - М.: Медицина. 1988. 224 с.
 10. **Питран Б.В., Алтавин А.Б., Ансима М.П.** Использование гелевых реплик для изучения субстрат-связывающих компонентов надмембранной зоны энтероцитов // Ассимиляция питательных веществ в организме животных. - Рига: Зинатне. 1986. С.138-149.
 11. **Самсонович В.А.** Активность щелочной фосфатазы содержимого и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта у свиней // Вести национальной академии наук Беларуси. 2013. № 1. С.84-87.
 12. **Уголев А.М.** Контактное (пристеночное) пищеварение. - М. 1963. 170 с.
 13. **Уголев А.М.** Мембранное пищеварение. - Л.: Наука. 1972. 358 с.
 14. **Allen A.** Mucus as protective secretion of complexity // TIBS. 1983. № 5. P. 169-174.
 15. **Allen A., Cunliffe W.J., Pearson J.P., et al.** Studies on gastrointestinal mucus // Scand. J. Gastroenterol. 1984. Vol. 19. P. 101-113.

Activity of alkaline phosphatase in parietal and band slime of different intestine departments at Svetlogorsk population of mini-pigs

E.P. Polyakova, T.A. Makashova, T.V. Metreveli, A.O. Revyakin

The dynamics of the activity of alkaline phosphatase in the intestinal wall and the chyme all intestines was investigated in experiments on mini pigs. Research discovered the enzyme activity in the chyme and the wall of the intestine of all departments of the intestine. In the wall of the intestine higher enzyme activity was observed in mucous overlays a thin intestine. Alkaline phosphatase activity was detected in the chyme of all intestines. Fractions chyme enzyme activity was not evenly distributed. Most activity was observed in the dense endogenous fraction.

Key words: mini-pigs, chyme, alkaline phosphatase, dense endogenous fraction, intestinal wall, cavity mucus.