

УДК 636.32/38.035:084:612.320.3

ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСПОРТНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ РУБЦА ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н. С. ШЕВЕЛЕВ, И. А. МОРОЗОВ, А. Г. ГРУШКИН, Л. Ю. ВЕТРОВА

(Кафедра физиологии и биохимии животных)

В статье показано влияние гистамина и серотонина на процессы всасывания в слизистой оболочке рубца жвачных животных. Изучены взаимосвязь между образованием и всасыванием летучих жирных кислот и кальция, а также действие этих процессов на слизистую оболочку рубца. Установлен парацеллюлярный путь транспорта короткоцепочечных жирных кислот в эпителии преджелудков.

Изучение влияния биогенных аминов в регуляции физиологических функций позволяет объяснить некоторые детали механизма транспортных процессов в рубце жвачных животных.

Гистамин и серотонин являются биологически активными веществами (тканевыми гормонами), участвующими в пищеварительных процессах как на тканевом, так и на внутриклеточном уровне. У млекопитающих животных около 90% всего серотонина и гистамина содержится в желудочно-кишечном тракте [6].

Цель нашей работы — изучить механизмы регуляции

парацеллюлярного вида транспорта в слизистой оболочке рубца жвачных животных под воздействием биологически активных веществ — гистамина и серотонина.

Методика

Для выполнения поставленной задачи были проведены опыты на крупном рогатом скоте и овцах. Подопытные животные, подобранные по принципу аналогов, содержались на сено-концентратно-корнеплодном рационе, сбалансированном по общей питательности, сахаро-протеиновому отношению и содержанию минеральных веществ

согласно детализированным нормам кормления. Животных кормили 3 раза в день через равные промежутки времени; поение без ограничений.

Подопытным животным предварительно были наложены катетеры на воротную вену и рубцовые фистулы. Контроль за физиологическим состоянием животных осуществлялся постоянно. Пробы рубцового содержимого, крови, мочи и образцов слизистой оболочки рубца брали до кормления, через 1, 3, 5 и 7 ч после приема животными корма. Биохимические показатели (ЛЖК, Са, гормоны) в рубцовой жидкости (РЖ), крови и мочи определяли общепринятыми методами. Экскретируемые с мочой свободный гистамин и серотонин отражают скорость их эндогенного образования и концентрацию в организме животных [4]. Образцы слизистой оболочки рубца для электронно-микроскопических исследований получали через фистулу рубца, методом биопсии. С помощью морфометрии анализировали развитие клеточных структур, наиболее ответственных за транспортные процессы (митохондрии, пластинчатый комплекс Гольджи, межклеточные пространства).

Результаты

Теоретически существует несколько возможных путей транспорта питательных ве-

ществ в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта жвачных животных: через межклеточные щели, с помощью эндопиноцитозных везикул через цитоплазму, путем диффузии через микропоры в цитолеме. Видимо, все эти пути используются в той или иной степени и в слизистой оболочке преджелудков жвачных при транспорте рубцовых метаболитов.

Межклеточный вид транспорта летучих жирных кислот через многослойный ороговевающий эпителий слизистой оболочки рубца по-видимому, является наиболее вероятным путем трансруминального обмена летучих жирных кислот. Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры межклеточных соединений показало, что контактирующие поверхности смежных руменоцитов производящего слоя образуют различные по плотности и протяженности контакты. Так, между клеточными мембранами имеется щелевидный промежуток (межклеточное пространство) от 600 Å до 2 мкм. Ширина одной и той же щели колеблется в направлении от просвета рубца к базальной мембране. Межклеточные пространства с многочисленными сужениями (рис. 1), в области которых сочлененные поверхности сближаются на то или иное расстояние, достигают иног-

да 300 Å и образуют межклеточные мостики.

В объемном изображении такие зоны сближения представляются в виде прерывистого щелевого контакта, пересекающего межклеточное пространство и разделяющего его как бы на 2 части: большую — базальную и меньшую — люминальную. В производящем слое сближение сочлененных поверхностей завершается частичным слиянием клеточных мембран с образованием межклеточных мостиков, укрепленных десмосомами. Таким образом, методом электронной микроскопии установлено, что в области соединения эпителиальных клеток действительно имеются щели, частично перекрытые прерывистыми межклеточными контактами — мостиками (рис. 1, В).

Соприкасающиеся клеточные поверхности обладают специализированными образованиями, которые состоят из ряда дифференцированных структур, образующих соединительный комплекс. Последний состоит из 3 зон: плотного контакта (*zonula occludens*), промежуточного (*zonula adherens*) и десмосомы [7]. Однако в большинстве случаев неизвестна протяженность подобных контактов. Возможно, они представляют собой лишь точечные слияния оболочек, не обеспечивающие ее полное пере-

крытие, как в эндотелии капилляров [8]. *Zonula occludens* действительно непроницаема в ряде эпителиев, например, в кровеносных капиллярах головного мозга, где она является частью морфологического субстрата гемато-энцефалического барьера или в эпителии тонкой кишки.

Межклеточное пространство заполнено веществом эндоплазматического покрытия. По сути дела в нем встречаются и сливаются эндоплазматические покрытия смежных руменоцитов. Следовательно, при любом виде межклеточного контакта щель должна быть заполнена этим веществом, имеющим полисахаридную природу.

Необходимо отметить, что гликопротеидное покрытие на поверхности эпителия выявляется при обычных методах фиксации и окраски в той же локализации, что и при использовании методов гистохимии. В межклеточных пространствах выявлено гомогенное вещество со средней электронной плотностью [2].

Нами получено электронно-гистохимическое доказательство заполненности межклеточных пространств специальным пористым веществом, которое довольно легко пропускает воду и растворенные в ней питательные вещества, а также крупные молекулы, не превышающие размеры щелей. Не прихо-

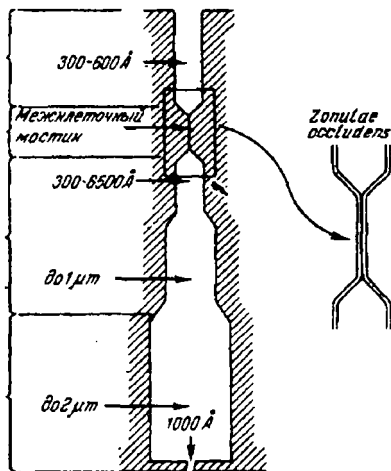


Рис. 1. Схематизированное изображение межклеточного пространства в эпителии рубца.

А — базальный слой, Б — шиповатый и зернистый слои, В — зернистый слой, Г — роговой слой.

дится сомневаться, что это вещество играет важную роль в межклеточной проницаемости, особенно в транспорте ионов.

При любом типе межклеточных контактов они представляются в виде непрерывных каналов, заполненных жидкостью. Ясность в этот вопрос могут внести прямые исследования пропускной способности межклеточных пространств и эпителия в целом.

Проведенные нами исследования показали, что между уровнем содержания тканевых гормонов, концентра-

цией ЛЖК и морфологическими изменениями в слизистой оболочке рубца имеется прямая корреляция. Это подтверждает предположение, что гистамин и серотонин обладают соответственно стимулирующим и ингибирующим действием на транспортные процессы. Гистамин, обладая высокой активностью, вызывает расширение капилляров в ЖКТ и увеличивает проницаемость их стенок посредством циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). А механизм положительного инотропного действия гистамина связан с повышением проницаемости мембран для ионов Ca , а также с усиленным образованием цАМФ, принимающего участие в формировании каналов переноса кальция [4].

Одновременно в этом процессе возбуждается мозговая слюя надпочечников, выделяющий адреналин, который, в свою очередь, влияет на углеводный и липидный обмен, увеличивая потребление кислорода и НЭЖК. Известна положительная корреляция между образованием ЛЖК и насыщенностью кальция в рубце [10]. Нашими исследованиями установлено, что в пик рубцового пищеварения концентрация кальция достигает своего максимума не только в РЖ (рис. 2), но и в руминоцитах слизистой оболочки (около 1,2 мг% в сух. в-ве).

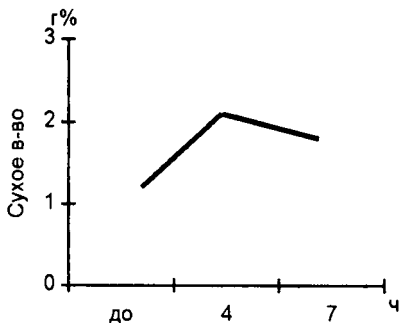


Рис. 2. Динамика содержания кальция в РЖ.

При этом интенсивно утилизируются жиры и углеводы. Так как основные энергетические процессы клеточного метаболизма и образования АТФ в руменоцитах связаны с митохондриями, то их размер и количество являются показателем уровня интенсивности транспорта питательных веществ в слизистой оболочке рубца (рис. 3).

При аэробном обмене активизируется более 100 митохондриальных ферментов, оказывающих влияние не только на процессы всасывания, но и на интенсивность микробных процессов в рубце и уровень образования ЛЖК (рис. 4) [5].

Полученные результаты показывают, что динамика концентрации ЛЖК в крови и рубцовой жидкости изменяется параллельно. Максимальное количество низкомолекулярных жирных кислот в РЖ

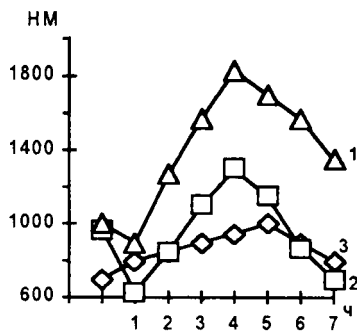


Рис. 3. Изменение размера митохондрий (1), комплекса Гольджи (2) и межклеточного пространства (3) после кормления.

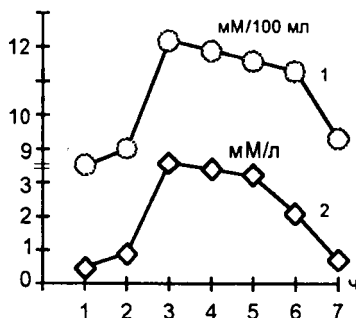


Рис. 4. Динамика содержания ЛЖК в рубце (1) и крови (2) после кормления.

и крови обнаружено в 3–5-часовой период после кормления животных (рис. 4). В это же время достигали максимума и морфометрические показатели клеточных органелл, что объясняется их активным состоянием (рис. 3). Все это указывает на возможность стимуляции гистамином транспортных процессов через эпителиальный барьер слизистой оболочки рубца (рис. 4, 5).

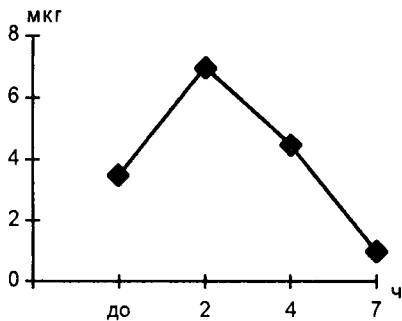


Рис. 5. Концентрация гистамина в моче.

Серотонин в противоположность гистамину вызывает сокращение гладкой мускулатуры и сужает просветы кровеносных капилляров [5]. Ингибирующий эффект серотонина (рис. 6) осуществляется, по-видимому, центральными механизмами через монооксидазу, регулирующую углеродный обмен. Известно, что под действием сильных ингибиторов (типа монооксидазы) повышается уровень серотонина в организме. Некоторые эффекты серотонина так же, как и гистамина, передаются через цАМФ [3, 6].

Нами установлено, что молекулы и микрочастицы размером 2–4 нм проникают в межклеточные пространства и через базальную мембрану попадают в просвет кровеносных капилляров. Эти данные были получены при использовании коллоидного лантана в качестве электронно-микроскопического трейсера (рис. 7).

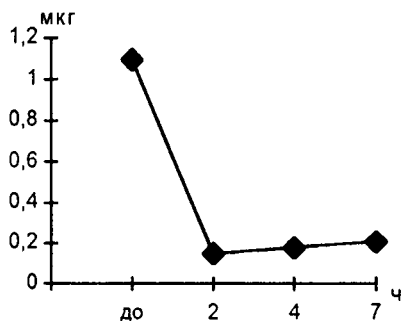


Рис. 6. Концентрация серотонина в моче.

Все сказанное указывает на то, что водорастворимые летучие жирные кислоты могут преодолевать эпителиальный слизистый барьер рубца парацеллюлярным путем по межклеточным пространствам.

В производящем слое гистамин и серотонин регулируют насыщенность кальцием, который, в свою очередь, вызывает сокращение внутриклеточных актиновых микрофиламентов, прикрепленных одним концом к цитолеме, а другим — к цитоплазме эпителиальной клетки. При сокращении этих филаментов поверхности соседних клеток сдвигаются, соответственно увеличивается или уменьшается размер межклеточных пространств и изменяется интенсивность парацеллюлярного потока водорастворимых продуктов рубцового метаболизма.

Кроме того, гистамин и серотонин регулируют интен-

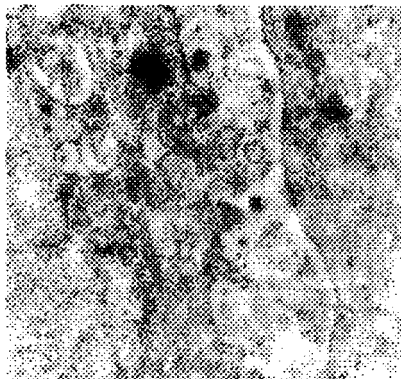


Рис. 7. Лантан в межклеточных пространствах слизистой оболочки рубца.

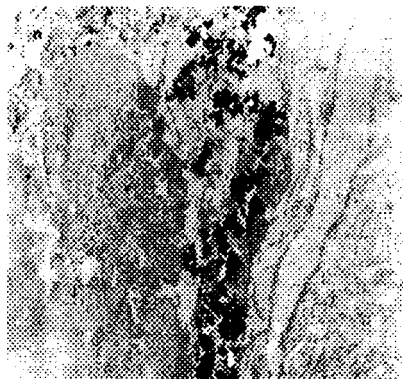


Рис. 8. ЛЖК в межклеточных пространствах слизистой оболочки рубца.

сивность окислительных процессов, повышая активность рубцовой микрофлоры, и тем самым стимулируют процесс образования летучих жирных кислот в рубце.

Одним из факторов, способствующих открытию межклеточных пространств в производящем слое, может быть особый способ прикрепления эпителиальных клеток к коллагеновым волокнам, особенно в зонах межклеточных фокальных контактов. Коллагеновые волокна, в свою очередь, имеют связь с мышечными элементами. Следовательно, мышечные сокращения, передаваемые на коллагеновые волокна и их фибриллы, доходят через стропные филаменты и до плазмалеммы эпителиальных клеток. Поэтому при сокращении мышц соответственно

меняются и размеры межклеточных щелей, что, в свою очередь, изменяет проницаемость эпителиального пласта в целом. Подобный механизм работает в межэндотелиальном пространстве капилляров диафрагмы [9].

При рассмотрении этого процесса на клеточном уровне видно, что актиновые филаменты прикреплены к клеточной мембране в особых участках, известных под названием пластинок прикрепления, или фокальных контактов, образуя густую сеть. Эта сеть способна сокращаться, предположительно, в зависимости от концентрации Ca (рис. 2) и обеспечивать подвижность клеточной поверхности, что вызывает изменение размеров межклеточных пространств (рис. 3) [1].

Выводы

1. Летучие жирные кислоты всасываются из просвета рубца в кровь и лимфу через слизистую оболочку рубца жвачных парацеллюлярным путем транспорта, по межклеточным пространствам, о чем свидетельствуют увеличение размера межклеточных пространств и визуализация в них короткоцепочечных летучих жирных кислот методом электронной гистохимии.

2. Гистамин и серотонин, по-видимому, осуществляют функциональную регуляцию транспортных процессов в слизистой оболочке рубца, изменяя размеры межклеточных пространств, митохондрий, уровень кальция, а также влияют на активность целлюлозо-литических микроорганизмов, связанных с образованием летучих жирных кислот как основных энергетических источников жвачных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Албертс А и др. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1987, т. 3, с. 115–

120, т. 4, с. 151–153. — 2. Алов И. А., Брауде А. И., Аспиз М. Е. Основы функциональной морфологии клетки. М.: Медицина, 1966. — 3. Айнсон Э. И. Влияние серотонина на обмен липидов у овец. Обмен липидов и липидное питание с.-х. животных. Боровск. 1982. — 4. Вайсфельд И. Л., Кассиль Г. Н. Гистамин в биохимии и физиологии. М.: Наука. 1981. — 5. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Медицина. 1977, т. 1, с. 532–533, т. 2, с. 40–41. — 6. Науменко У. В., Попова Н. К. Серотонин и меланин в регуляции эндокринной системы. Новосибирск: Наука, 1975. — 7. Робертис Э. и др. Биология клетки. М.: Мир, 1973. — 8. Черных А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция. М.: Медицина, 1984. — 9. Шахламов В. А. Капилляры. М.: Медицина. 1971. — 10. Schruder V., Vissing S., Breves G. Journal of Comparative Physiology B. 1999, vol. 169, p. 487–494.

Статья поступила
3 июля 2001 г.

SUMMARY

Effect of histamine and serotonin on the processes of absorption in mucous membrane of ruminants' rumen is shown in the paper. Interaction between formation and absorption of volatile fatty acids and calcium, as well as effect of these processes on mucous membrane of rumen have been studied. Paracellular way of transportation of short-chain fatty acids in gizzard epithelium has been determined.