

УДК 613.81-06:616.34:611.018.25

Л.М. ЯКОВЛЕВА

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Ключевые слова: кишечник, энтероциты, алкоголь, щелочная фосфатаза.

При алкогольной интоксикации в энтероцитах наблюдается изменение активности щелочной фосфатазы. На раннем сроке алкоголизации (2 месяца) происходит увеличением активности фермента. Для длительной алкогольной интоксикации (4 и 6 месяцев) характерно снижение активности щелочной фосфатазы в исследуемых клеточных структурах. Все это характеризует нарушение всасывательной функции тонкой кишки.

L.M. YAKOVLEVA

THE DYNAMICS OF ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY OF SMALL INTESTINE MUCOSA IN ALCOHOL INTOXICATION

Key words: intestine, enterocytes, alcohol, alkaline phosphatase.

At alcohol intoxication the change of alkaline phosphatase activity in enterocytes is observed. At early period of alcoholization (2 months) the enzyme activity is increased. The long-term alcohol intoxication (4 or 6 months) is characterized by the reduced activity of alkaline phosphatase in the studied cellular structures. It characterizes the impaired absorptive function of small intestine.

За последние десятилетия в области изучения деятельности пищеварительной системы достигнуты огромные успехи. Основным положением в определении пищеварительного статуса являются следующие элементы: структурная целостность слизистой оболочки, пищеварительная активности ферментов всех отделов кишечного тракта, состояние транспортных систем эпителиальных клеток, активность моторной функции мышечной оболочки, состояния микроциркуляции кишечной стенки.

Нарушение желудочно-кишечного тракта характеризуется состоянием дисфункции органа (нарушение процессов секреции, переваривания, всасывания, моторики, снижение ферментативной активности и т.д.). При этом в тонкой кишке блокируется пристеночное, мембранное переваривание, при котором возникает недостаточное всасывание пищевых субстратов.

Известно, что кишечник относится к числу органов, наиболее богатых щелочной фосфатазой [1]. Активность фермента обеспечивает отщепление фосфатов от моноэфиров фосфорной кислоты, участвует во всасывании аминокислот из кишечника [3], в синтезе гликогена, в переносе органических веществ через клеточные мембраны, таким образом, участвует в процессах, протекающих на поверхности слизистой оболочки кишечной стенки. В связи с этим особый интерес представляет изучение активности щелочной фосфатазы в структурах кишечника.

Целью исследования являлось изучение активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тонкой кишки на различных сроках алкогольной интоксикации.

Материалы и методы. Объектом исследования были белые беспородные крысы массой 190-210 г. Животные были разделены на две группы: контрольная (интактная) и опытная. Опытная группа в качестве единственного источника питьевой воды получала 20%-ный раствор этилового спирта в течение 2, 4 и 6 месяцев, контрольная группа – воду. Все действия, предусматривавшие контакт с лабораторными животными, осуществляли с учетом требований «Пра-

вил проведения работ с использованием экспериментальных животных». По окончании эксперимента животных под анестезией декапитировали. После декапитации забор кусочков тонкой кишки осуществляли в течение 4–6 мин, их замораживали в криостате при температуре -20°C . Гистохимическим методом исследовали активность щелочной фосфатазы по методу M.S. Burstone (1959) [4], основанному на реакции одновременного азосочетания с использованием в качестве субстрата AS-BI фосфат нафтола и прочного синего PP. Для этого свежеприготовленные замороженные срезы толщиной 10 мкм подсушивали, после чего инкубировали с нафтол AS-BI фосфатом и прочным синим BB. В качестве основы инкубационной среды использовали трис HCl-буфер с $\text{pH} = 8,2-9,2$. Инкубацию проводили при температуре $+37^{\circ}\text{C}$.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью персонального компьютера с использованием стандартного пакета программ. Степень достоверности определяли по t -критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Гистохимическим методом исследования щелочная фосфатаза выявляется в области формирующейся щеточной каемки эпителиоцитов на протяжении всей тонкой кишки. В контрольной группе активность фермента несколько понижается в краниокаудальном направлении. Наибольшей ферментативной активностью обладают эпителиальные клетки тощей кишки, расположенные на вершине ворсин. В то же время клетки, расположенные у основания ворсин, имеют меньшую активность. В эпителиоцитах подвздошной кишки активность фермента незначительно ниже. Достаточно слабой ферментативной активностью характеризуются эндотелиальные клетки кровеносных сосудов слизистой оболочки как проксимального, так и дистального отделов тонкой кишки.

Результаты гистохимического исследования щелочной фосфатазы слизистой оболочки тонкой кишки представлены в таблице.

Динамика изменения содержания фермента зависит от длительности приема алкоголя. Через 2 месяца от начала алкоголизации у крыс наблюдается значительное снижение активности фермента в энтероцитах, расположенных на вершине ворсин. В то же время в клетках, расположенных у основания ворсин, активность снижается незначительно, а в подвздошной кишке даже увеличивается. Одновременно происходит увеличение активности и в эндотелиальных клетках сосудов слизистой оболочки всех отделов кишечника (таблица).

**Активность фермента щелочной фосфатазы тонкой кишки
в различные сроки алкогольной интоксикации**

Группы	Проксимальный отдел тонкой кишки (тощая)			Дистальный отдел тонкой кишки (подвздошная)		
	эпителий вершины ворсин	эпителий основания ворсин	эндотелий кровеносных сосудов	эпителий вершины ворсин	эпителий основания ворсин	эндотелий кровеносных сосудов
Контроль	$0,93 \pm 0,055$	$0,69 \pm 0,048$	$0,28 \pm 0,017$	$0,38 \pm 0,028$	$0,33 \pm 0,028$	$0,26 \pm 0,009$
2 мес.	$0,78 \pm 0,032^*$	$0,67 \pm 0,03^*$	$0,34 \pm 0,02^*$	$0,38 \pm 0,026$	$0,43 \pm 0,04^*$	$0,3 \pm 0,023^*$
4 мес.	$0,70 \pm 0,019^*$	$0,59 \pm 0,032$	$0,26 \pm 0,016^*$	$0,26 \pm 0,013^*$	$0,34 \pm 0,02^*$	$0,24 \pm 0,1^*$
6 мес.	$0,66 \pm 0,007^*$	$0,54 \pm 0,028$	$0,25 \pm 0,006^*$	$0,23 \pm 0,01^{**}$	$0,29 \pm 0,008^*$	$0,2 \pm 0,012^{**}$

Примечание. В таблице приведены среднестатистические показатели в усл. ед. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$.

Через 4 месяца активность щелочной фосфатазы снижается во всех исследуемых структурах. При этом наиболее выражено проявляется в клетках тощей кишки, расположенных на вершине ворсин. Следует отметить, что именно в них осуществляется всасывание пищевых субстратов, так как данные клетки являются наиболее функционально активными (таблица).

В опытной группе с хронической алкогольной интоксикацией длительностью 6 месяцев наблюдается прогрессирующее снижение активности фермента. Уменьшение щелочной фосфатазы происходит в энтероцитах, расположенных как на вершине, так и у основания ворсин. Однако в дистальном отделе тонкой кишки наблюдается достоверное максимальное снижение щелочной фосфатазы во всех эпителиоцитах (таблица).

Обсуждение результатов. В последние годы утвердилось представление, что основная роль в происхождении алкогольного повреждения органов принадлежит прямому токсическому воздействию этилового спирта и его метаболитов на субклеточные структуры и ферментные системы клеток [5]. Таким образом, можно полагать, что снижение активности щелочной фосфатазы в тощей кишке является непосредственной причиной повреждения слизистой оболочки проксимального отдела тонкой кишки. В то же время в подвздошной кишке локальных повреждений не наблюдается, в связи с тем, что в дистальном отделе кишечного содержимого отсутствует этанол. Действительно, на данном участке кишечника мы выявили высокую ферментативную активность. Возможно, это связано с активацией окислительно-восстановительных процессов за счет поступления в клетки огромного количества этанолового субстрата, так как существующие мощные компенсаторно-приспособительные процессы активно подключаются на начальном этапе алкоголизации. Следовательно, при этом развивается гиперреактивность и сохраняется повышенная функциональная активность кишечника.

Однако необходимо помнить, что длительный прием этанола, с биохимической точки зрения, сопровождается с затруднением углеводного обмена, так как нарушается процесс гликолиза, используется большое количества белков – как ферментов, так и переносчиков [2]. Все это сопровождается истощением организма, снижением ферментативной активности, в конечном итоге – состоянием дисфункции тонкой кишки.

Литература

1. Агеев А.К. Гистохимия кислой и щелочной фосфатаз человека в норме и патологии. Л.: Медицина, 1969. 144 с.
2. Булгакова В.С., Высокогорский В.Е., Приемыкина Т.В., Титов С.С. Нарушение обмена углеводов соединений при алкогольной интоксикации // Наркология. 2008. № 5. С. 50-53.
3. Кушар Р.И. Пищеварительно-транспортные системы энтероцитов и некоторые закономерности их функционирования у представителей млекопитающих и птиц: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Л., 1980. 38 с.
4. Burstone M.S. New histochemical techniques for the demonstration of tissue oxidase (cytochrome oxidase) // J. Histochem. Cytochem. 1959. Vol. 7. P. 112-122.
5. Yurtas L., Dale B., Klemm W. Alcohol intoxicates humans by disrupting cell function // The Addiction letter. 1991. Vol. 7, № 10. P. 5.