

УДК 612.386:546.7+546.82

Р. О. Файтельберг, В. А. Преснов, Т. А. Ермакова, А. С. Никитина

ВСАСЫВАНИЕ РАСТВОРОВ КОМПЛЕКСОВ ПЕРЕХОДНЫХ МЕТАЛЛОВ И ВЛИЯНИЕ ИХ НА ТЕЧЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ТОНКОЙ КИШКЕ КРЫС

Среди химических компонентов животного организма микроэлементам принадлежит важная роль. К настоящему времени накоплено много фактического материала, свидетельствующего об их большом физиологическом значении. В последние годы для более широкого использования микроэлементов в практике проводятся исследования по изысканию и получению рациональных форм микроэлементов. Синтезирован большой ряд соединений микроэлементов в комплексе с различными органическими веществами, которые почти не обладают токсичностью по сравнению с их минеральными солями.

Мы изучали всасывание комплексов переходных металлов в тонком кишечнике и влияние этих растворов на синтетические процессы в слизистой оболочке кишечника.

Методика исследований

Эксперименты проведены на 150 белых крысах линии Вистар. В опытах *in vitro* на вывернутых мешочках, образованных из тонкого кишечника по методу Вильсона и др. изучали всасывание растворов хлористой меди и хлористого марганца, содержащих металл в концентрации 0,25 мг/мл и растворов комплексов переходных металлов (КПМ), содержащих те же микроэлементы, в той же концентрации. Концентрация Ti в растворе КПМ составляла 0,001 моль. В дальнейшем КПМ, содержащий медь, обозначается нами как КПМ₁, а содержащий марганец — КПМ₂. Содержание микроэлементов в растворах определяли на полярографе LP-55.

Опыты по определению интенсивности всасывания микроэлементов из растворов их хлористых солей служили контролем при изучении резорбции микроэлементов из растворов КПМ.

Влияние растворов КПМ, а также растворов хлористых солей марганца и меди на синтетические процессы в слизистой оболочке кишечника исследовали в остром опыте. У крыс под гексаналовым наркозом изолировали два отрезка тонкого кишечника, в которые на 30 мин вводили исследуемые растворы. Затем вырезали кусочки кишечной стенки, в которых после фиксации в растворе Карнуа гистохимически изучали нуклеиновые кислоты методом Эйнарсона [4] с ферментативным контролем на специфичность путем использования РНКазы, ДНК — методом Фельгена—Россенбена, сульфгидрильные группы белковой природы — методом Барнета и Зелигмана, щелочную фосфатазу — методом азосочетаний, кислые мукополисахариды — альциановым синим по Сиддмену.

Контролем служила слизистая оболочка интактного кишечника. После соответствующих гистологических проводок материал заливали в парафин. Срезы готовили толщиной 7—10 мкм. Стандартизации толщины сравниваемых пар срезов достигали при монтировании контрольного и опытного кишечника на одном блоке. Такой методический прием позволяет получать одинаковой толщины парные срезы. Оптическую плотность препаратов (величину прямо пропорциональную концентрации) определяли на приборе МФ-2 при величине щели 15 мкм. Одновременно оптическую плотность определяли и в контрольных препаратах.

Результаты исследований и их обсуждение

Исследования показали, что всасывание меди из раствора хлористой соли в среднем по группе животных составляло $0,30 \pm 0,01$ мг; из них в слизистой оболочке задерживалось $0,21 \pm 0,009$ мг и $0,09 \pm 0,005$ мг проходило в полость кишечного мешочка (табл. 1).

В присутствии хлористого титана (раствор КПМ₁) всасывание, аккумуляция и транспорт Си в полость кишечного мешочка были несколько ниже, чем из раствора CuCl₂ и соответственно составляли: $0,25 \pm 0,008$ мг ($p < 0,001$); $0,16 \pm 0,008$ мг ($p < 0,001$); $0,07 \pm 0,006$ мг ($p < 0,01$) (табл. 1).

Таблица 1

Всасывание (аккумуляция и транспорт) Си из растворов его хлористой соли и растворов КПМ в опытах *in vitro* (% вычислены, исходя из того, что высота полярографической волны Си в исходном растворе принята за 100 %), в мг (средние данные)

Статистические показатели	Раствор	Всасывание	Аккумуляция	Транспорт
$M \pm m$	CuCl ₂	$0,30 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,009$	$0,09 \pm 0,005$
$M \pm m$	КПМ	$0,25 \pm 0,008$	$0,16 \pm 0,008$	$0,07 \pm 0,006$
t		3,84	4,16	2,59
p		$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$

Очевидно, хлористый титан, входящий в состав КПМ₁, угнетает резорбцию меди.

В следующих сериях опытов изучали всасывание, аккумуляцию и транспорт марганца из раствора КПМ₂ и MnCl₂.

Всасывание марганца из раствора хлористой соли составляло $0,35 \pm 0,01$ мг, из них $0,32 \pm 0,01$ мг металла накапливалось в тканях кишечной стенки и только $0,02 \pm 0,002$ мг проходило в полость кишечного мешочка (табл. 2).

Таблица 2

Всасывание (аккумуляция и транспорт) Мп из раствора хлористой соли и растворов КПМ в опытах *in vitro* (% вычислены, исходя из того, что высота полярографической волны Мп в исходном растворе принята за 100 %), в мг (средние данные)

Статистические показатели	Раствор	Всасывание	Аккумуляция	Транспорт
$M \pm m$	MnCl ₂	$0,35 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,01$	$0,02 \pm 0,002$
$M \pm m$	КПМ ₂	$0,55 \pm 0,06$	$0,24 \pm 0,09$	$0,31 \pm 0,005$
t		18,18	5,71	32,22
p		$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$

Изучение всасывания марганца из раствора КПМ₂ показало, что резорбция этого микроэлемента гораздо выше, чем из раствора хлористого марганца и составляет $0,55 \pm 0,06$ мг ($p < 0,001$).

Однако всасывание микроэлементов в этой серии опытов возрастает за счет большей проницаемости их в полость кишечного мешочка — $0,31 \pm 0,009$ ($p < 0,001$), а не за счет аккумуляции как при изучении резорбции КПМ₁ (табл. 2).

Как видно из табл. 1 и 2, наибольшая аккумуляция микроэлемента в слизистой оболочке наблюдалась во время всасывания марганца из растворов MnCl₂ и КПМ₂, затем меди из растворов CuCl₂ и КПМ₁. В полость мешочка поступало больше всего марганца из раствора КПМ₂.

Цитофотометрическое исследование концентрации изучаемых ингредиентов в препаратах тонкого кишечника показало, что концентрация РНК энтероцитах равна $44,1 \pm 2,51$. При всасывании хлористой меди оптическая плотность препаратов превысила исходный уровень на 56,40% ($67,8 \pm 2,8$; $p < 0,01$). При всасывании меди из раствора КПМ₁, изменения содержания РНК носили сходный характер и концентрация РНК увеличивалась и достигала в среднем по группе $106,5 \pm 3,75$, т. е. на 130,45% превысила норму (табл. 3). Количество ДНК существенных изменений не претерпевало.

Таблица 3

Концентрация РНК в эпителии кишечника крыс после всасывания CuCl_2 и КПМ₁

№ серии и статистические показатели	Оптическая плотность				
	норма	при всасывании CuCl_2	%	при всасывании из КПМ	%
1	$48,0 \pm 1,15$	$76,1 \pm 6,59$	158,54	$97,2 \pm 1,02$	202,50
2	$45,4 \pm 1,33$	$60,4 \pm 1,02$	133,03	$113,4 \pm 1,02$	249,77
3	$46,5 \pm 1,11$	$72,2 \pm 0,90$	155,26	$117,7 \pm 0,92$	240,21
4	$36,8 \pm 0,90$	$65,8 \pm 1,38$	178,80	$103,8 \pm 1,57$	282,06
$M \pm m$	$44,1 \pm 2,51$	$68,6 \pm 2,80$	156,40	$106,5 \pm 3,75$	230,45
t_1		6,30		13,83	
p_1		$< 0,001$		$< 0,001$	
t_2				8,56	
p_2				$< 0,001$	

Изучение содержания сульфгидрильных групп белков в эпителии кишечника показало, что энтероциты крыс контрольной группы характеризуются интенсивной реакцией. Какие-либо существенные отличия в окраске апикального и базального отделов цитоплазмы отсутствуют. Белковые вещества выявляются в виде мельчайшей зернистости, довольно равномерно распределенной в цитоплазме, в кариоплазме они содержатся в незначительных количествах. Интенсивно окрашены ядрышки и немногочисленные глыбки хроматина.

Введение в кишечник исследуемых растворов вызывало определенные изменения в содержании белковых веществ в энтероцитах. Так, в норме концентрация SH-групп белков составляла $63,2 \pm 3,01$, а при всасывании хлористой меди интенсивность реакции усиливалась до $83,5 \pm 2,92$ ($p < 0,001$), что на 32,79% превысило исходный уровень.

При всасывании в кишечнике раствора КПМ₁, содержащего медь, оптическая плотность препаратов увеличилась до $93,4 \pm 2,70$ ($p < 0,001$), т. е. на 49,11% превысила норму (табл. 4). При всасывании в кишечнике растворов хлористого марганца концентрация РНК увеличивалась по сравнению с нормой на 89,84%. При всасывании раствора КПМ₂ в изменении концентрации РНК наблюдалась аналогичная тенденция, оптическая плотность препаратов повышалась и достигала $76,8 \pm 3,99$ ($p < 0,001$), т. е. на 75,00% превышала норму (табл. 5).

Изучение содержания сульфгидрильных групп белков в эпителии кишечника крыс показало, что при всасывании растворов MnCl_2 увеличивается их концентрация в среднем по группе животных на 53,76%. При всасывании КПМ₂, содержащего марганец, оптическая плотность SH-групп в цитоплазме превысила контрольный уровень более чем на 79,03% (табл. 6). Такую неспецифическую ответную реакцию со стороны бокаловидных клеток можно объяснить тем, что они не принимают активного участия во всасывании, однако их секретобразующая функция

Таблица 4

Концентрация сульфгидрильных групп белков в эпителии кишечника крыс после всасывания CuCl_2 и КПМ₁

№ серии и статистические показатели	Оптическая плотность				
	норма	при всасывании CuCl_2	%	при всасывании из КПМ ₁	%
1	$65,1 \pm 1,63$	$91,2 \pm 0,88$	140,09	$92,3 \pm 1,49$	141,78
2	$63,2 \pm 0,88$	$68,5 \pm 0,94$	108,38	$93,0 \pm 0,81$	147,15
3	$57,4 \pm 0,90$	$91,7 \pm 0,70$	159,75	$96,4 \pm 0,71$	167,94
4	$59,4 \pm 0,84$	$79,3 \pm 1,64$	133,50	$100,9 \pm 2,24$	169,86
5	$71,1 \pm 0,96$	$86,9 \pm 0,86$	122,22	$84,5 \pm 1,82$	118,84
$M \pm m$	$63,2 \pm 3,01$	$83,5 \pm 2,92$	132,79	$93,4 \pm 2,70$	149,11
t_1		4,84		7,47	
p_1		<0,01		<0,001	
t_2				2,49	
p_2				<0,05	

Таблица 5

Концентрация РНК в эпителии кишечника крыс после всасывания MnCl_2 и КПМ₂

№ серии и статистические показатели	Оптическая плотность				
	норма	при всасывании MnCl_2	%	при всасывании из КПМ ₂	%
1	$48,0 \pm 1,15$	$95,9 \pm 1,14$	199,79	$76,7 \pm 1,10$	159,79
2	$45,4 \pm 1,33$	$95,0 \pm 0,83$	209,25	$88,1 \pm 1,71$	194,05
3	$46,5 \pm 1,11$	$69,4 \pm 2,59$	149,24	$72,4 \pm 1,62$	155,69
4	$36,8 \pm 0,90$	$74,0 \pm 1,26$	201,08	$70,1 \pm 1,07$	190,48
$M \pm m$	$44,1 \pm 2,51$	$83,5 \pm 5,44$	189,94	$76,8 \pm 3,99$	175,00
t_1		6,72		25,66	
p_1		<0,001		<0,001	
t_2				1,22	
p_2				>0,2	

Таблица 6

Концентрация сульфгидрильных групп белков в эпителии кишечника крыс после всасывания MnCl_2 и КПМ₂

№ серии и статистические показатели	Оптическая плотность				
	норма	при всасывании MnCl_2	%	при всасывании КПМ ₂	%
1	$65,1 \pm 1,63$	$105,2 \pm 2,16$	161,59	$120,5 \pm 12,38$	185,09
2	$63,2 \pm 0,88$	$86,8 \pm 1,46$	151,21	$106,8 \pm 2,37$	186,06
3	$57,4 \pm 0,90$	$99,9 \pm 1,81$	168,18	$113,7 \pm 1,85$	191,41
4	$59,4 \pm 0,84$	$93,5 \pm 0,65$	131,50	$113,9 \pm 0,96$	160,19
5	$71,1 \pm 0,96$	$98,8 \pm 1,44$	156,32	$109,0 \pm 3,37$	172,40
$M \pm m$	$63,2 \pm 3,01$	$96,8 \pm 2,68$	153,76	$112,7 \pm 2,76$	179,03
t_1		8,53		13,41	
p_1		<0,001		<0,001	
t_2				4,22	
p_2				<0,01	

зависит от уровня физиологической активности слизистой оболочки кишечника.

Выявление щелочной фосфатазы показало, что у контрольных животных реакция наиболее резко проявляется в щеточной кайме кишечных ворсинок, а также локально в цитоплазме энтероцитов. Наиболее выражена реакция на щелочную фосфатазу в эпителиальных клетках, выстилающих апикальную и латеральную поверхность ворсинок.

В препаратах кишечника, полученных после 30 мин пребывания в нем растворов КПМ₁ и КПМ₂, наблюдается значительная активация щелочной фосфатазы, как в области щеточной каймы, так и в цитоплазме. При всасывании в кишечнике растворов хлористых солей марганца и меди активность щелочной фосфатазы слизистой оболочки повышается в меньшей степени.

Сопоставляя транспорт марганца и меди из растворов КПМ₁ и КПМ₂ и контрольных растворов можно отметить, что наиболее активно всасывается марганец, затем медь. Наибольшая аккумуляция микроэлемента в слизистой оболочке наблюдалась во время всасывания марганца из растворов $MnCl_2$ и КПМ₂, а затем меди из растворов $CuCl_2$ и КПМ₁.

Таким образом, анализ полученных данных дает возможность предположить, что усиление всасывания марганца из раствора КПМ₂ по сравнению со всасыванием Cu из КПМ₁ связано с тем, что в резорбции Mn активно участвуют системы переносчиков [5], а также с тем, что растворы, содержащие хлорид марганца, являются более сильными химическими раздражителями, чем растворы, содержащие хлорид меди.

Наряду с этим данные фотометрии показывают, что во всех вариантах опыта во время всасывания указанных веществ происходит усиление синтеза изучаемых ингредиентов, что, по-видимому, связано с участием их в процессах дыхания, проницаемости мембран и энергетическом обмене слизистой оболочки тонкой кишки. Это наиболее выражено во время резорбции КПМ₁ и КПМ₂, содержащих как медь, так и марганец.

Следует предположить, что резорбция КПМ сопровождается большим расходом энергии, значительная часть которой, очевидно, идет на поддержание клеточных структур, так как резорбируемый марганец в больших количествах аккумулируется слизистой оболочкой кишечника. Возможно, хлориды марганца выполняют роль активатора окислительного катализа и ферментных систем, осуществляющих процесс всасывания.

В наших опытах не отмечалось нарушения клеточных структур, а наблюдаемые нами изменения в концентрации и топике изучаемых ингредиентов свидетельствуют об активно протекающих процессах резорбции в тонком кишечнике, что особенно проявляется во время всасывания раствора КПМ₂. На это же указывает повышение активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника.

Наши данные согласуются с работами Бэрлоу и др. [3], которые, изучая в опытах *in vitro* всасывание микроэлементов, отмечали, что исследуемые металлы очень активно поглощаются срезами тонкого кишечника крыс и задерживаются его тканями.

К такому же выводу пришли Файтельберг и Фролова [2], Файтельберг и Ермакова [1], которые, исследуя всасывание микроэлементов в опытах *in vitro* на крысах наблюдали накопление их тканями вывернутого мешочка.

Выводы

1. Всасывание марганца из раствора KPM_2 , содержащего хлористый титан, в тонком кишечнике крыс протекает интенсивнее, чем из раствора хлористой соли.
2. Всасывание меди из раствора KPM_1 в тонкой кишке крыс угнетается хлористым титаном и протекает менее активно по сравнению с резорбцией меди из раствора хлористой меди.
3. Всасывание изучаемых веществ в тонком кишечнике сопровождается усилением синтетических процессов в эпителии тонкой кишки, что наиболее отчетливо проявляется во время всасывания KPM_2 .

Литература

1. Файтельберг Р. О., Ермакова Т. А. Всасывание комплексных соединений марганца с аминокислотами в тонком кишечнике.—Физиол. журн. СССР, 1975, 61, № 9, с. 1415—1420.
2. Файтельберг Р. О., Фролова Л. И. Всасывание микроэлементов (кобальта, меди, марганца и цинка) в кишечнике.—Физиол. журн. СССР, 1971, 57, № 7, с. 1058—1066.
3. Barlow H., Nitchell P. Uptakes of manganese, cadmium and mercury of intact strips of rat intestinal.—J. Nutr., 1966, N 1, p. 51—57.
4. Einarson L. On the theory of gallocyanin-chromatin staining and its application for quantitative estimation of basophilic.—Acta path. Scand., 1951, N 28, p. 82.
5. Thomson A. B. R., Olatunbosin D., Deiberg L. S. Interrelation of intestinal transport system for manganese and iron.—J. Lab. and Klin. med., 1971, 78, N 4, p. 642—655.

Кафедра физиологии человека
и животных Одесского университета

Поступила в редакцию
5.I 1977 г.

R. O. Fajtelberg, V. A. Presnov, T. A. Ermakova, A. S. Nikitina

ABSORPTION OF SOLUTIONS OF TRANSITION METALS COMPLEXES AND THEIR EFFECTS ON COURSE OF SYNTHETICAL PROCESSES IN SMALL INTESTINE OF RATS

Summary

In acute experiments on 150 albino rats of the Wistar line it was established that absorption of manganese complexes with titanium in small intestine proceeds more intensively than absorption of manganese from $MnCl_2$ solution. Absorption of copper complexes with titanium is depressed by $TiCl_2$ and proceeds less actively as compared with resorption of copper from $CuCl_2$ solution. Absorption of substances under investigation is accompanied by intensification of synthetical processes in epithelium of small intestine, which manifests most distinctly during absorption of manganese with titanium.

Department of Human and Animal Physiology,
State University, Odessa