

Суточные колебания скорости всасывания глюкозы в тонкой кишке голодных и сытых крыс

В условиях хронического эксперимента восстановлено добовый ритм швидкості всмоктування глюкози. У різні періоди доби перфузували ізольовану проксимальну ділянку тонкої кишки щурів розчинами глюкози, фруктози, медичної жовчі або Рингера. Добовий ритм всмоктування глюкози істотно порушується у голодних щурів. При цьому різні субстрати по-різному змінюють амплітуду коливань добового ритму швидкості всмоктування та його акрофазу. Перфузія розчином Рингера зміщує акрофазу швидкості всмоктування глюкози у бік вечірнього часу, розчином фруктози — у бік денного часу, а жовчі — у бік нічного часу. У ситих щурів добовий ритм швидкості всмоктування менше змінюється. Голодування є могутнім екзогенним фактором, який викликає структурні перебудови тонкої кишки та змінює добовий ритм всмоктування глюкози.

Введение

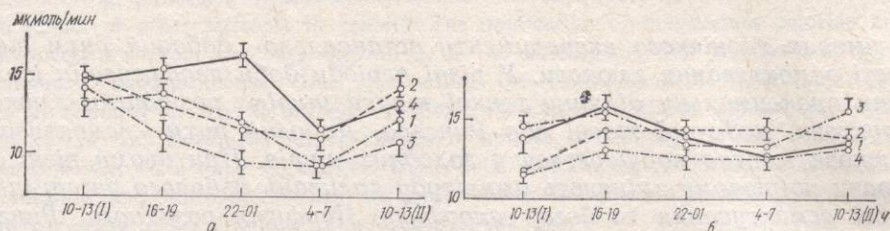
Мощным фактором, вызывающим структурные перестройки тонкой кишки, является голодание. При этом снижается ферментативная активность органа: происходит деградация и включение собственно кишечных ферментов в состав липопротеиновых мембран [7, 17, 18]. Исследованы механизмы, осуществляющие мембранный гидролиз и транспорт пищевых веществ в тонкой кишке крыс под влиянием голодания [1, 2, 5, 10]. Показано, что голодание влияет на синтез и транслокацию сахаразы, значительно снижая ее концентрацию в клетках кишечника. Причем активность утилизации сахаразы гомогенатами клеток слизистой оболочки тонкой кишки уменьшается при увеличении срока голодания. Поддержание при голодании мембранного пищеварения в состоянии, близком к нормальному, осуществляется через размещение ферментов на поверхности мембран энтероцитов [3, 5, 11]. Нами подтверждено, что функция эпителия кишечника контролируется люминальными факторами [1]. Причем суточные ритмы структуры и функции эпителия тонкой кишки определяются не только экзогенными факторами, но и эндогенными [15].

Целью нашей работы было исследование соотношения эндогенного и субстратного контроля регуляции суточного ритма всасывания глюкозы в тонкой кишке в условиях хронического эксперимента.

Методика

Для исследования мембранного транспорта сахара в тонкой кишке использовали метод хронических экспериментов применительно к мелким лабораторным животным [3, 14, 15]. Опыты проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 170—190 г., у которых изолировали проксимальный участок тонкой кишки. Изоляцию участков тонкой кишки осуществляли по методу Тири-Велла в модификации Уголева [15]. Голодных и сытых крыс в течение 2 ч в различные периоды суток перфузировали следующими растворами: раствором глюкозы (55 ммоль/л) — I серия опыта, раствором фруктозы (55 ммоль/л) — II серия опыта, медицинской желчью — III серия опыта, раствором Рингера (контроль) — IV серия опыта. В каждой серии проводили иссле-

дования на крысах двух групп. В течение 48 ч (24 ч до начала эксперимента и 24 ч в период его проведения) крысы первой группы (4 животных) имели свободный доступ только к воде (группа голодных животных). Крысы второй группы (4 животных) в течение указанного выше периода имели свободный доступ к воде и пище (группа сытых животных). До проведения эксперимента, а также в перерывах между перфузиями животных содержали при контролируемом световом ре-



Суточный ритм скорости всасывания глюкозы (мкмоль/мин) изолированной петлей проксимального участка тонкой кишки голодных (*а*) и сытых (*б*) крыс при двухчасовой перфузии раствором Рингера (1), глюкозы (2), фруктозы (3) и желчи (4).

жиме. Исследования выполняли в течение суток в одни и те же периоды времени: 10—13 ч — первый дневной период, 16—19 ч — вечерний период, 22—01 ч — ночной период, 4—7 ч — утренний период и 10—13 ч следующих суток — второй дневной период.

Для определения состояния транспортных систем энтероцитов изолированные участки тонкой кишки крыс перфузировали раствором глюкозы (55 ммоль/л) в течение двух 30-минутных интервалов (с 1-й и по 30-ю минуту и со 150-й по 180-ю минуту). В промежутке, в период с 31-й по 150-ю минуту, раствор глюкозы или заменяли на один из других экспериментальных растворов (растворы фруктозы, желчи, Рингера) или продолжали перфузировать раствором глюкозы. Контрольную серию составляли животные (голодные и сытые), изолированные участки тонкой кишки которых в каждом временном интервале перфузировали с 31-й по 150-ю минуту раствором Рингера. Во всех опытах рассчитывали скорость всасывания глюкозы. Средние значения скорости всасывания глюкозы из раствора (55 ммоль/л) сравнивали с максимальной скоростью всасывания в контроле, принятой за 100 %. Концентрацию глюкозы определяли мышьяково-молибденовым методом Нельсона в модификации Уголева и соавт. [16]. Скорость всасывания глюкозы в изолированных участках тонкой кишки крыс рассчитывали по следующей формуле:

$$u_a = v(c_1 - c_2),$$

где u_a — скорость всасывания моносахаридов (мкмоль/мин); v — скорость перфузии (мл/мин); c_1 и c_2 — концентрация субстратов (гексоз, ммоль/л) в исходном и оттекающем перфузатах соответственно. Результаты опытов обработаны методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Суточные колебания скорости всасывания глюкозы у голодных крыс при двухчасовой перфузии раствором Рингера представлены на рисунке, *а*. В проксимальном участке тонкой кишки голодных крыс (контроль) скорость всасывания глюкозы зависела от времени суток и колебалась в пределах $(9,3 \pm 0,35)$ — $(13,9 - 0,54)$ мкмоль/мин. Максимальные значения зарегистрированы в период с 16 до 19 ч. В первую половину светового дня (с 10 до 13 ч) значение этого показателя составило $(13,3 \pm 0,60)$ мкмоль/мин, начиная с 22 и заканчивая 01 ч, скорость всасывания глюкозы уменьшилась до $(12,2 \pm 0,42)$ мкмоль/мин ($P < 0,05$). Минимальные значения показателя приходились на период с

4 до 7 ч и составляли $(9,3 \pm 0,35)$ мкмоль/мин, что на 34 % меньше значений в дневной период ($P < 0,05$). Хотя и в меньшей мере, скорость всасывания глюкозы оставалась сниженной и в период с 10 до 13 ч следующих суток и составляла $(12,2 \pm 0,52)$ мкмоль/мин. У сытых животных (см. рисунок, б, 1) акрофаза скорости всасывания глюкозы, как и у голодных животных, приходилась на время с 16 до 19 ч, составив $(15,8 \pm 0,83)$ мкмоль/мин, что на 2,2 мкмоль/мин больше, чем у голодных крыс. Это значение было принято нами за 100 %. В период с 10 до 13 ч первых суток скорость всасывания глюкозы у сытых животных отличалась от скорости всасывания у голодных и составляла $(13,8 \pm 0,80)$ мкмоль/мин. В период с 4 до 7 ч скорость всасывания снижалась до $(12,6 \pm 0,84)$ мкмоль/мин, что на 20 % ниже максимальной ($P < 0,05$).

Анализ полученных результатов показывает, что скорость всасывания глюкозы у голодных крыс по сравнению с показателями у сытых животных в период с 4 до 7 ч и с 10 до 13 ч следующих суток была ниже на 27 и 17 % соответственно ($P < 0,05$). У крыс обеих групп в проксимальном участке тонкой кишки наблюдается суточный ритм скорости всасывания глюкозы. Минифаза этого процесса у крыс обеих групп приходится на предутренний и утренний периоды (с 4 до 7 ч), однако у голодных крыс снижение выражено сильнее, чем у сытых (на 34 и 20 % соответственно). Временные характеристики максимальных значений скорости всасывания совпадали в меньшей мере.

Перфузия глюкозой проксимального отдела тонкой кишки у голодных крыс выявила колебания суточного ритма скорости всасывания (см. рисунок, а, 2). При этом максимум приходился на первую половину суток (10—13 ч), составив $(14,9 \pm 0,41)$ мкмоль/мин. Характерно, что и на следующие сутки (10—13 ч) скорость всасывания оставалась высокой. Близкой к этому значению была скорость всасывания и во вторую половину суток в период с 16 до 19 ч $(13,2 \pm 0,52)$ мкмоль/мин ($P < 0,05$). Минимальные значения скорости всасывания наблюдали в предутренний период с 4 до 7 ч, которые составляли $(11,1 \pm 0,5)$ мкмоль/мин, что на 26 % ниже, чем значения, наблюдавшиеся в утренний ($P < 0,05$). У сытых животных (см. рис. 2, 2) в промежутки 16—19, 22—01, 4—7 и 10—13 ч следующих суток скорость всасывания была стабильной и составляла $(13,8 \pm 0,78)$ — $(13,3 \pm 0,61)$ мкмоль/мин ($P < 0,05$). Достоверно значения этого показателя снижались в период с 10 до 13 ч первых суток: $(11,7 \pm 0,63)$ мкмоль/мин против $(14,3 \pm 0,61)$ мкмоль/мин ($P < 0,05$). Сравнение значений скорости всасывания глюкозы у голодных крыс и крыс контрольной группы выявило, что у подопытных животных в период с 4 до 7 ч они были выше на 19 %, а в период с 10 до 13 ч следующих суток — на 17 % ($P < 0,05$).

Полученные в этой серии результаты позволяют считать, что двухчасовая перфузия раствором глюкозы по-разному влияет на ритм скорости всасывания глюкозы у голодных и сытых животных. У голодных крыс он существенно не отличается от ритма у контрольных крыс, однако скорость всасывания в определенные периоды суток у опытных крыс была больше. У сытых крыс ритм скорости всасывания сглаживался, причем минимальные значения смещались с утреннего периода (4—7 ч) на дневной последующих суток (10—13 ч).

Колебания суточного ритма скорости всасывания при перфузии раствором фруктозы в проксимальном участке тонкой кишки голодных крыс представлены на рисунке, а, 3. Максимальное значение скорости всасывания было зарегистрировано с 10 до 13 ч и составляло $(12,9 \pm 0,80)$ мкмоль/мин, а минимальное — с 4 до 7 ч и составляло $(9,1 \pm 0,58)$ мкмоль/мин. При этом снижение составило 29 % ($P < 0,05$). С 22 до 01 ч скорость всасывания глюкозы оставалась низкой $(9,5 \pm 0,49)$ мкмоль/мин. Сопоставление результатов, полученных в опытах на голодных крысах при перфузии раствором Рингера и фруктозой, показывает, что скорость всасывания глюкозы с 16 до 19 ч, с 22 до

01 ч одних суток и с 10 до 13 ч следующих суток была меньше, чем у крыс контрольной группы на 19,2 и 11 % соответственно ($P < 0,05$). У сытых крыс при перфузии фруктозой максимальная скорость всасывания наблюдалась с 16 до 19 ч — $(15,4 \pm 0,42)$ мкмоль/мин. В остальные временные интервалы значения этого показателя составляли $(13,3 - 0,71) - (15,4 \pm 0,78)$ мкмоль/мин.

Сравнивая скорость всасывания глюкозы у подопытных крыс, можно отметить, что во все периоды измерений, кроме 1-го дневного времени, она была меньшей у голодных крыс. Так, с 16 до 19 ч разница скорости всасывания у сытых и голодных крыс составляла 27 %, с 4 до 7 ч — 31 % и во 2-е дневное время — 30 % ($P < 0,05$).

Таким образом, у голодных крыс суточный ритм скорости всасывания сохраняется, однако абсолютные значения в вечерний, ночной периоды первых суток наблюдения и дневное время следующих суток достоверно меньше, чем у контрольных крыс. У сытых крыс под влиянием фруктозы колебания суточного ритма скорости всасывания сглаживались, при этом средние значения скорости в отдельные периоды не отличались от значений этого показателя у контрольных животных.

При регулярной перфузии тонкой кишки раствором желчи у голодных животных максимальные значения всасывания наблюдались в ночной период (с 22 до 01 ч), составляя $(15,6 \pm 0,58)$ мкмоль/мин (см. рисунок, а, 4). На уровне высоких значений этот показатель сохранялся и в дневной $(14,9 \pm 0,46)$ мкмоль/мин, и в вечерний — $(15,5 \pm 0,33)$ мкмоль/мин периоды суток. Минимальная скорость приходилась на период с 4 до 7 ч, составляя $(11,6 \pm 0,42)$ мкмоль/мин ($P < 0,05$). Достоверное снижение значений этого показателя — $(13,3 \pm 0,22)$ мкмоль/мин наблюдалось в дневное время следующих суток. Сравнивая значения скорости всасывания глюкозы у голодных крыс контрольной и подопытной групп, можно отметить, что у подопытных крыс с 16 до 19 ч, с 22 до 01 ч одних суток и с 4 до 7 ч следующих они были больше, чем у крыс контрольной группы на 11,28 и 25 % соответственно. У сытых крыс максимальная скорость всасывания наблюдалась во второй дневной период следующих суток, составляя $(13,3 \pm 0,58)$ мкмоль/мин (рисунок, б, 4). В остальные временные интервалы значения этого показателя были достоверно меньшими и составляли $(11,6 \pm 0,53)$ мкмоль/мин. Таким образом, перфузия раствором желчи не влияет на суточный ритм скорости всасывания глюкозы у голодных крыс и нивелирует его колебания у сытых животных.

Проведенное исследование выявило наличие суточного ритма скорости всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс в норме и его колебаний под влиянием нагрузок растворами глюкозы, фруктозы или желчью в определенные временные интервалы. Контроль за всасывательной функцией тонкой кишки осуществляется весьма эффективно. В частности, показано, что система транспорта глюкозы в тонкой кишке крыс обладает значительной чувствительностью, зависит от функционального состояния организма (сытость, голод) и характера нагрузок растворами субстратов или желчи. Наибольшие изменения суточного ритма скорости всасывания глюкозы обнаружены у голодных животных. Однако в зависимости от применяемого для перфузии раствора менялся характер ритма, в частности, изменялось положение акрофазы. Если при перфузии раствором Рингера максимальная скорость всасывания приходилась на вечернее время (16—19 ч), то при перфузии раствором фруктозы — на дневное (10—13 ч), а перфузия раствором желчи сдвигала ее на ночное время (22—01 ч). Минифаза скорости всасывания при всех воздействиях наблюдалась с 4 до 7 ч. У сытых крыс колебания суточного ритма скорости всасывания глюкозы были выражены лишь при регулярной перфузии тонкой кишки раствором Рингера и глюкозой, и максимум приходился на вечернее время (с 16 до 19 ч). Минимальные значения наблюдались с 4 до 7 ч после перфузии раствором Рингера и с 10 до 13 ч после перфузии раствором глюкозы. У сытых животных по сравнению с голодными скорость вса-

сывания на протяжении суток подвержена меньшим изменениям в интактных условиях и под влиянием нагрузок глюкозой, фруктозой или желчью. Увеличение скорости всасывания глюкозы у голодных крыс под влиянием длительных нагрузок, может быть, связано с быстрой адаптацией специфических транспортных систем тонкой кишки в результате синтеза новых транспортных переносчиков [16, 19]. Голодание уже в ранние периоды суток вызывает выраженные изменения фазовой структуры биологических ритмов, активности энергетического обмена [6]. Динамика межсистемного десинхронизма свидетельствует о развитии при голодании вначале компенсаторно-приспособительных, а затем патологических изменений [9]. По нашему мнению [12], индуцированный синтез дополнительных единиц транспортных переносчиков по мере накопления транспортируемого вещества в клетках слизистой оболочки кишечника характеризует так называемые «быстрые перестройки» в работе энтероцитов. В пользу такого вывода свидетельствует то, что мера и характер функциональной нагрузки существенно влияют на структуру слизистой оболочки тонкой кишки. При повышении функциональной нагрузки возрастает численность клеточной популяции преимущественно в проксимальных отделах кишки, где в основном реализуется всасывание. Уменьшение или исключение функциональных нагрузок приводит к заметному снижению численности клеточных популяций [3, 4, 5]. Существенная роль в регуляции пищевой адаптации принадлежит гликогеновому депо в слизистой оболочке тонкой кишки. Показано, что различные углеводные нагрузки приводят к накоплению гликогена в энтероцитах [11].

Таким образом, исследования, проведенные в условиях хронических экспериментов, согласуются с представлениями о том, что всасывательная функция эпителия кишечника имеет суточный ритм и контролируется люминальными факторами, компонентами пищи и эндогенными веществами.

М. И. Voloshenovich, М. А. Labusheva, А. М. Ugolev, V. P. Pishak

CIRCADIAN RHYTHM OF INTESTINAL GLUCOSE ABSORPTION IN FASTING AND FED RATS

Under conditions of chronic experiment the circadian cycle of glucose transport was determined. An isolated proximal area of the small intestine was perfused by glucose, fructose, medical bile and Ringer's solutions in various intervals of the 24 hour period. The circadian cycle of glucose absorption is disturbed in the fasting rats. Various substrates differently alter their amplitude and acro-phase of absorption. Ringer's solution perfusion shifts the acro-phase absorption to evening time, while that of fructose occurs during day time and that of bile takes place at night. The circadian cycle of the fed rats is less subject to shifts. Fasting is a powerful exogenous factor causing structural changes in the small intestine and altering the circadian cycle of glucose absorption.

Medical Institute, Ministry of Public
Health of Ukraine, Chernovtsy

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Волошеневич М. И., Мюле В., Заринов Б. З. Структурные и функциональные перестройки тонкой кишки при голодании // Пробл. клинич. и эксперим. энтерологии / Сб. науч. тр.— Л., 1981.— С. 71—77.
2. Заринов Б. З. Субстратные и парасубстратные механизмы регуляции, адаптации и компенсации пищеварительных и транспортных процессов в тонкой кишке: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук.— Ташкент, 1985.— 46 с.
3. Заринов Б. З., Маматахунов А. И., Уголев А. М. Гипоплазия и гиперплазия слизистой оболочки в разных отделах тонкой кишки крыс при различных функциональных нагрузках // Докл. АН СССР.— 1983.— 273, № 6.— С. 1500—1504.
4. Зуфаров В. А., Юлдашев А. Ю. Временная организация функционирования цитоплазматических структур энтероцитов в процессе всасывания // Арх. анатомии, гистологии, эмбриологии.— 1980.— 78, вып. 6.— С. 76—83.

5. *Маматахунов А. И.* Структурно-функциональная характеристика адаптационно-компенсаторной реакции тонкой кишки : Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—Ташкент, 1985.—25 с.
6. *Маркина В. В.* Десинхронизация метаболических систем в печени в оценке реактивных и патологических изменений органа при голодании // Нарушение механизмов регуляции и их коррекция : Тез. докл. IV Всесоюз. съезда патофизиологов 3—6 окт. 1989, Кишинев.—М., 1989.—Т. 1.—С. 398.
7. *Покровский А. А.* Применение корреляционных преобразований анализа суточной динамики функциональной активности клеток эпителия тонкой кишки у мышей при различных режимах кормления // Цитология.—1978.—20, № 5.—С. 557—562.
8. *Рахимов К. Р., Зуннунова С. Э., Смирнова Г. И.* Циркадная ритмичность функций различных звеньев пищеварительно-транспортного конвейера // Мембранное пищеварение и всасывание (Юрмала, 19—21 марта 1986 г.) : Тез. докл. 3-го Всесоюз. симпозиума.—Рига : Зинатне, 1986.—С. 186—199.
9. *Романов Ю. А., Маркина В. В.* Сравнительная оценка реактивности пространственной и временной организации метаболических процессов в печени при голодании // Нарушение механизмов регуляции и их коррекция : Тез. докл. IV Всесоюз. съезда патофизиологов 3—6 окт. 1989, Кишинев.—М., 1989.—Т. 1.—С. 411.
10. *Рыбин И. С.* Характеристика мембранного гидролиза и транспорта в условиях хронических экспериментов : Автореф. дис. ... канд. биол. наук.—М., 1986.—27 с.
11. *Смирнова Г. И., Озолс А. Я.* Влияние различных углеводных нагрузок на накопление гликогена в слизистой оболочке тонкой кишки цыплят при голодании // Теоретические и практические аспекты современной биохимии, молекулярной биологии и биотехнологии : Матер. VII биохим. конф. Прибалт. респ.—Вильнюс, 1990.—С. 155.
12. *Уголев А. М.* Мембранное пищеварение. Полисубстратные процессы. Организация и регуляция.—Л. : Наука, 1972.—358 с.
13. *Уголев А. М., Заринов Б. З., Иезуитова Н. Н. и др.* Особенности мембранного гидролиза и транспорта в тонкой кишке в условиях близких к физиологическим (ревизия существующих данных и представлений) // Биол. мембраны.—1984.—1, № 10.—С. 997—1018.
14. *Уголев А. М., Заринов Б. З.* Методические приемы для изучения мембранного пищеварения и всасывания в тонкой кишке в условиях хронического эксперимента на крысах и некоторых других животных // Физиол. журн. СССР.—1979.—77, № 12.—С. 1850—1854.
15. *Уголев А. М., Заринов Б. З., Волошенович М. И. и др.* Новая техника и результаты исследования ферментативных и транспортных функций тонкой кишки в хронических экспериментах на крысах в норме и патологии // Там же.—1981.—87, № 11.—С. 1683—1693.
16. *Уголев А. М., Иезуитова Н. Н.* Мембранное пищеварение, структурная и функциональная организация // Усп. физиол. наук.—1985.—16, № 4.—С. 3—34.

Черновиц. мед. ин-т
М-ва здравоохранения Украины

Материал поступил
в редакцию 27.05.92