
Вопросы общей патологии

УДК 576.7

DOI 10.52246/1606-8157_2024_29_4_36

СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КИШЕЧНОЙ ВОРСИНКИ КАК ЛИПИДНЫЙ НАСОС ТОНКОЙ КИШКИ

Т. Е. Казакова¹, кандидат биологических наук, ttattyana@list.ru,

А. В. Зайцева², zaytseva2312@inbox.ru,

Е. В. Бедяев¹, кандидат медицинских наук, akb37@mail.ru,

И. С. Сесорова¹, доктор биологических наук, Irina-s3@yandex.ru

¹ ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России, 153012, Россия, г. Иваново, Шереметевский просп., д. 8

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

РЕЗЮМЕ Понимание механизмов всасывания липидов в кишечной ворсинке будет способствовать прогрессу разработок методов регуляции всасывания жиров и липофильных препаратов.

Цель – поиск морфологического обоснования сократительной функции энтероцита и динамического механизма адсорбции липидов из инвезиция кишечной ворсинки в лимфатический капилляр (ЛК).

Материал и методы. Механизмы всасывания липидов изучались на крысах линии Wistar. Изолированный участок тонкой кишки исследовался методом трансмиссионной электронной микроскопии через 25 и 45 минут после внутриволостного введения химуса крысам-реципиентам от крыс-доноров. Химус для введения получали забором шприцом из начального отдела тонкой кишки крыс-доноров через 60 мин после перорального введения им 1,5 мл кукурузного масла. Контролем служили крысы после 24-часового голодания.

Результаты и обсуждение. Доказана сократительная функция энтероцита, в котором пучки актиновых филаментов, связанных в единый функциональный комплекс с десмосомами, ограничивающими сложный пальцевидный контакт, «выдавливают» хиломикроны из межконтактной щели с латеральной на базальную поверхность энтероцита. Всасывание лимфы из интерстиция кишечной ворсинки в терминальный отдел ЛК происходит при участии пучков гладкомышечных клеток (ГМК), образующих вокруг ЛК спирально расположенные пучки, к которым подходят нервные окончания. Таким образом, сократительные элементы кишечной ворсинки формируют уникальный липидный насос, который может играть критическую роль в истощении или избыточном поглощении пищевых липидов.

Ключевые слова: энтероцит, транспорт липидов, лимфатический капилляр.

CONTRACTILE ELEMENTS OF INTESTINAL VILLUS AS THE SMALL INTESTINE LIPID PUMP

T. E. Kazakova, A.V. Zaitseva, E.V. Bedyayev, I.S. Sesorova

ABSTRACT Understanding the mechanisms of lipid absorption in the intestinal villus will contribute to the development of methods regulating the absorption of fats and lipophilic drugs.

Objective: to search for a morphological substantiation of the contractile function of enterocyte and the dynamic mechanism of lipid adsorption from the intestinal villus into the lymphatic capillary (LC).

Material and methods. Mechanisms of lipid absorption were studied on rats of Wistar line. An isolated section of the small intestine was examined by transmission electron microscopy 5, 25 and 45 minutes after intracavitary chymus administration to rats from donor rats. Chyme for administration was prepared by syringe sampling from the initial small intestine of donor rats 60 min after oral administration of 1.5 ml of corn oil. Rats after 24 hours of fasting served as controls.

Results and discussion. The contractile function of enterocyte was proved. Bundles of actin filaments within the enterocyte are bound with desmosomes into a single functional complex. The latter limiting complicated finger-like contact 'squeezes' chylomicrons from the intercellular gap from the lateral to the basal surface of enterocyte. The absorption of lymph from the interstitium of the intestinal villus into the terminal section of the LC occurs under the control of the autonomic nervous system with the participation of bundles of MMC that form spiral bundles around the LC. Thus, contractile elements of the intestinal villi form a unique lipid pump under the control of the autonomic nervous system that may play a crucial role in the depletion or excess absorption of dietary lipids.

Keywords: enterocyte, lipid transport, lymphatic capillary.

В тонкой кишке липофильные лекарственные препараты вместе с поглощенными пищевыми липидами всасываются в энтероциты, дренируются ЛК кишечной ворсинки и попадают в системный кровоток, минуя печень, что повышает их эффективность [5]. Между тем наши знания о динамическом механизме трансэндотелиальной абсорбции липидов и их последующего транспорта через ЛК и сосуды в условиях *in vivo* остаются ограниченными [10].

Целью данного исследования стал поиск морфологического обоснования сократительной функции энтероцита и динамического механизма адсорбции липидов из инвезиция кишечной ворсинки в ЛК.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Механизмы всасывания липидов изучались электронно-микроскопическими методами на крысах линии Wistar. Моделировалась липидная нагрузка, близкая к физиологической [9]. В качестве контроля использовались животные после 24-часового голодания. Исследовался изолированный участок тонкой кишки, непосредственно примыкающий к желудку, через 5, 25 и 45 минут после введения химуса в начальный отдел тонкой кишки крысам-реципиентам от крыс-доноров. Химус для введения получали забором из начального отдела тонкой кишки крыс-доноров через 60 мин после перорального введения 1,5 мл кукурузного масла с помощью шприца. Все манипуляции проводились под наркозом (комбинация препаратов золептила и рометара в соотношении 3/1, в дозе

0,1 мл на 100 г массы тела). Строго соблюдались «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Хельсинская декларация 1975 г. в ее редакции от 2000 г.). Протокол эксперимента № 5 от 05.12.2018 одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России. Образцы ткани фиксировались 1 %-ным глутаровым альдегидом, постфиксировались один час на льду редуцированным осмием (смесью 2 %-ного OsO₄ на 0,2 М какодилатном буфере и 3 %-ного ферроцианида калия на 0,2 М какодилатном буфере в соотношении 1:1, рН 7,4), промывались и инкубировались 5 мин 0,5 %-ным тиокарбогидрозидом при комнатной температуре. Далее образцы снова трехкратно отмывались 0,2 М какодилатным буфером, контрастировались 20 мин редуцированным осмием (протокол OTOTO, Seligman A. M., 1966 в модификации) [8]. После последующей дегидратации в спиртах с восходящей концентрацией и ацетоне материал заливали в смолу «Эпон-812» с последующей полимеризацией при +60 °С [1]. Изготавливались ультратонкие срезы толщиной 70 нм, которые просматривались на трансмиссионном электронном микроскопе Tecnai 12 EM (FEI, Netherlands).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поглощение пищевых липидов энтероцитами тонкой кишки и их дальнейший транспорт в лимфу представляет собой сложный многоступенчатый процесс и подразумевает существование особых регуляторных механизмов [3]. В нашем исследовании мы сконцентрировали внимание

на анализе структур, обеспечивающих дренаж липидов через энтероцит кишечной ворсинки в ЛК.

На начальном этапе липиды в форме моно-, диглицеридов и жирных кислот диффундируют в плазмолемму энтероцита и продвигаются по плазматической мембране со «щеточной каемки» на ее базолатеральную часть, чему способствует сокращение микроворсинки. На начальном этапе всасывания липидов у экспериментальных животных было показано уменьшение длины микроворсинки одновременно с увеличением ее диаметра (по сравнению с контрольной группой). Так, у голодных крыс диаметр микроворсинки составил в среднем $84 \pm 0,8$ нм, высота – 1235 ± 23 нм. Через 5 минут после введения химуса в полость начального отдела тонкой кишки крысы средний диаметр микроворсинки энтероцита (по данным трансмиссионной электронной микроскопии, ТЭМ) увеличился и составил 106 ± 19 нм, высота микроворсинки уменьшилась в среднем до 863 ± 40 нм. Такое сокращение возможно за счет сложно организованного цитоскелета энтероцита. Так, в центральной части микроворсинки актиновые филаменты сшиваются в пучки и стабилизируются белками эспином, фимбрином и, апикально, виллином [7]. Эти пучки связаны с апикальной терминальной сетью клетки, образованной актомиозином и промежуточными филаментами [7]. В свою очередь терминальная сеть энтероцита связана с другими элементами цитоскелета клетки.

Поглощенные энтероцитом моноглицериды и жирные кислоты транспортируются с базолатеральной части плазмолеммы белком-переносчиком на мембрану гладкого эндоплазматического ретикулюма, где ресинтезируются в триглицериды и включаются в состав липопротеинов и хиломикронов [2, 3].

Пройдя через комплекс Гольджи (КГ), хиломикроны с помощью мембранных транспортных переносчиков органеллы попадают в межконтрактную щель сложных пальцевидных соединений латеральной плазмолеммы соседних энтероцитов. Межконтрактная щель энтероцитов кишечной ворсинки на 25-й минуте после перорального введения экспериментальным животным химуса увеличивается в ширину в два раза, а на 45-й минуте – в три раза по срав-

нению с таковой у контрольной группы крыс. При этом в экспериментальной группе через 25 мин после начала всасывания липидов длина латеральной проекции пальцевидных контактов на базолатеральную поверхность плазмолеммы энтероцита возрастает приблизительно в 1,5 раза и составляет 165 ± 6 нм, а через 45 мин – почти в два раза (230 ± 11 нм), при неизменной длине контактирующих поверхностей, которая составила в среднем 680 ± 20 нм.

Таким образом, через 45 минут после перорального введения крысам липидов в объеме нагрузки, близкой к физиологической, большая часть липидов в форме хиломикронов скапливается в просвете сложного пальцевидного контакта (рис. 1а). Последний в свою очередь ограничен с двух сторон – проксимально и дистально – десмосомами, микрофиламенты которых вплетаются в обнаруженные нами пучки тонких филаментов, расположенных вдоль сложных пальцевидных контактов (рис 1б).

В результате формируется актино-миозиновая «манжетка», сокращение которой выдавливает скопившиеся хиломикроны из межконтрактной щели с латеральной на базальную поверхность энтероцита в щель между клеткой и базальной мембраной, что и обнаруживается на 45-й минуте транспорта липидов. Существование актино-миозиновой «манжетки» подтверждают данные иммуно-флуоресцентного анализа, проведенного D. Krndija et al. (2019) [6].

Таким образом, существует механизм, «выдавливает» липиды из зоны интердигитирующих контактов к базальной мембране энтероцита, где они создают давление, способствующее их дальнейшему продвижению.

В интерстиций кишечной ворсинки хиломикроны попадают через поры базальной мембраны, формирующиеся дендритными клетками, отростки которых были найдены в просвете пор после кормления животных [5]. Наши исследования показали, что у крыс после 24-часового голодания фенестры в базальной мембране встречались редко. В литературе было высказано предположение, что фенестры тонкой кишки связаны с регуляцией всасывания липидов, что было продемонстрировано увеличением количества и размера фенестр базальной мембраны после кормления животных [4].

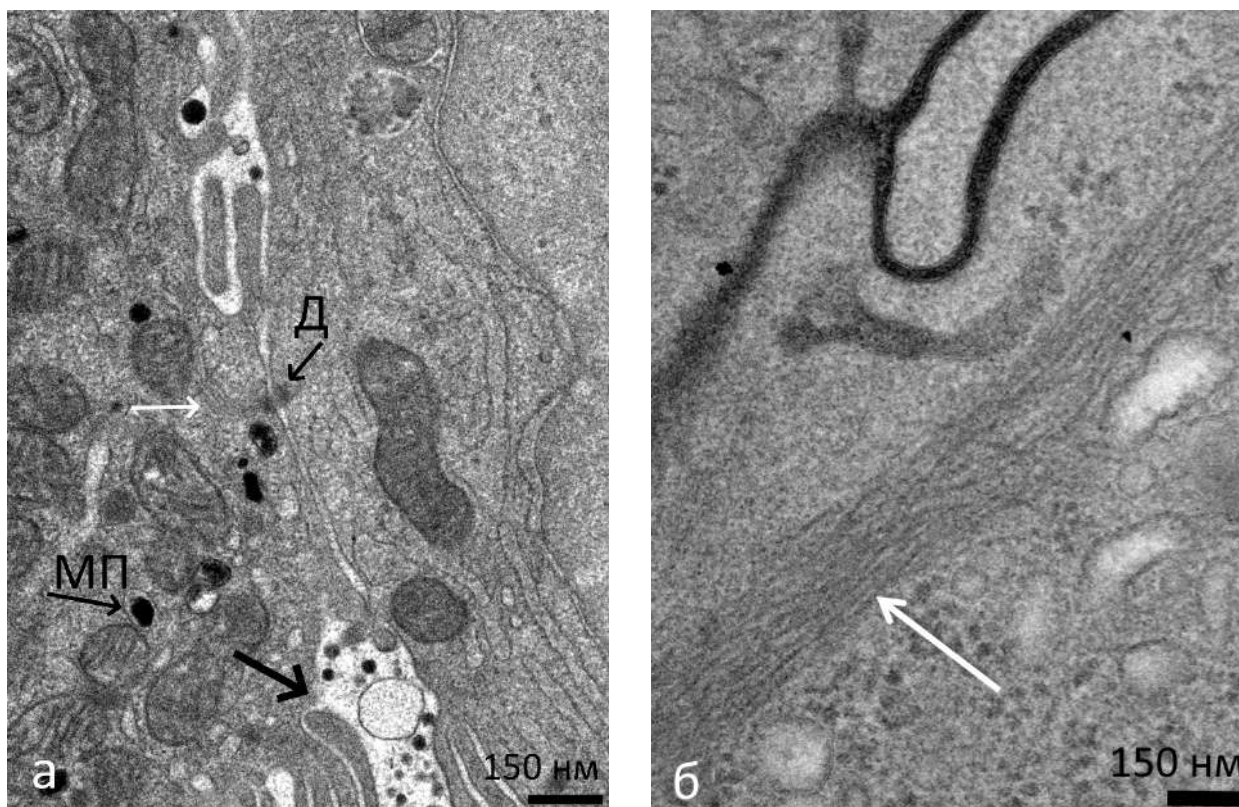


Рис. 1. Межклеточные контакты через 45 минут после введения химуса: *а* – липиды в просвете пост-Гольджи мембранного переносчика (МП), в интердигитирующих контактах – черная стрелка; Д – десмосома; актиновые филаменты – белая стрелка. Бар 150 нм; *б* – актиновые филаменты – белая стрелка, Бар 150 нм. ТЭМ

Структуры еще одного транспортного механизма были обнаружены нами в интерстиции кишечной ворсинки. В непосредственной близости от ЛК в интерстиции собственной пластинки кишечной ворсинки располагаются ГМК (рис. 2а). Они лежат группами по 3–4 (рис. 2б), в которых ГМК близко расположены друг от друга и имеют спиральное относительно продольной оси кишечной ворсинки расположение. Между соседними ГМК выявляются щелевидные соединения. Между группами ГМК расположены более светлые ГМК, переходящие из одного «пучка» клеток в другой. В местах, где ГМК близко прилегают к эндотелию ЛК, регистрируется типичное нервное окончание (рис. 2а). Пространство интерстиция между плазмолеммами ГМК и эндотелиоцитами ЛК, а также нервным окончанием заполнено пучками актиновых микрофиламентов. Ассоциированные с терминальным отделом ЛК пучки ГМК и нервные окончания позволяют утверждать существование активного механизма резорбции липидов в ЛК.

Наши предположения нашли подтверждение в исследовании прижизненной визуализации

транспорта липидов в ЛК с помощью флуоресцентных маркеров. К. Choe et al. (2015) показал изменение диаметра ЛК после электрической и химической стимуляции волокон блуждающего и паравазального (симпатического) нервов [5].

Таким образом, транспорт липидов через эпителий кишечной ворсинки в ЛК обеспечивается сложным взаимодействием цитоскелетных и сократительных белков энтероцита, которое лежит в основе единого «насосного механизма» продвижения липидов через энтероцит и их нагнетания в строме собственной пластинки кишечной ворсинки.

Дальнейшему продвижению липидов из интерстиция собственной пластинки кишечной ворсинки в лимфу будут способствовать ГМК, расположенные по спирали вокруг начального отдела ЛК кишечной ворсинки. Нервные окончания, ассоциированные с пучками ГМК, являются морфологическим доказательством существования активного механизма резорбции липидов в ЛК кишечной ворсинки, который может играть критическую роль в истощении или избыточном поглощении пищевых липидов.

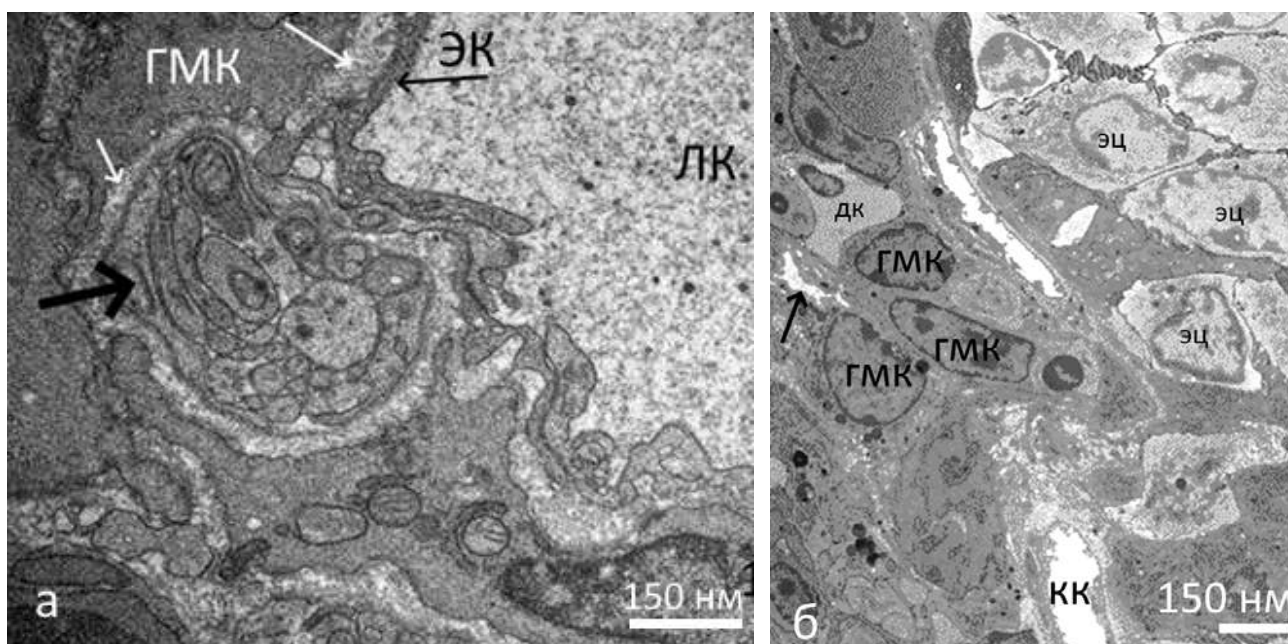


Рис. 2. Лимфатический капилляр кишечной ворсинки через 45 минут после введения химуса: *а* – липиды в просвете лимфатического капилляра; ГМК – гладкомышечная клетка; ЭК – эндотелиальная клетка; нервное окончание – черная стрелка; микрофиламенты в зоне контакта клеток и нервного окончания – белая стрелка. Бар 150 нм; *б* – ЛК – черная стрелка; ЭЦ – энтероцит; КК – кровеносный капилляр. Бар 200 нм. ТЭМ

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов А.А., Комиссарчик Я. Ю., Миронов В.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: метод. рук-во. Санкт-Петербург: Наука; 1994:400.
2. Здорикова М.А., Казакова Т.Е. Морфофункциональные особенности межклеточных контактов энтероцита кишечной ворсинки крысы. Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека. Материалы V Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Иваново; 2019:9-11.
3. Здорикова М.А., Казакова Т.Е., Димов И. Д., Сесорова И.С. Молекулярные механизмы транспорта липидов из эндоплазматического ретикулума в комплекс Гольджи в энтероците кишечной ворсинки. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019;11:30-34.
4. Azumi R, Morita K, Mizutani Y. Dynamics of basal lamina fenestrations in the rat intestinal villous epithelium in response to dietary conditions. *Biomed. Res.* 2018;39(2):65-74.
5. Choe K, Jang JY, Park I, Kim Y, Ahn S, Park D-Y, Hong Y-K, Alitalo K, Koh GY, Kim P. Intravital imaging of intestinal lacteals unveils lipid drainage through contractility. *J Clin Invest.* 2015;125(11):4042-4052.
6. Krndija D, Marjou FE, Guirao B. Active cell migration is critical for steady-state epithelial turnover in the gut. *Science.* 2019;365:705-710.
7. Delacour D, Salomon J, Robine S, Louvard D. Plasticity of the brush border – the yin and yang of intestinal homeostasis *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016; Mar;13(3):161-74. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.5>.
8. Seligman AM. A new staining method (OTO) for enhancing contrast of lipid-containing membranes and droplets in osmium tetroxide-fixed tissue with osmiophilic thiocarbohydrazide (TCH). *J Cell Biol.* 1966;30(2):424-432. <https://doi.org/10.1083/jcb.30.2.424>.
9. Sesorova IS, Kashin AD, Sesorov VV, Zdorikova MA, Dimov ID, Karelina NR, Beznoussenko GV, Mironov AA. Cellular and sub-cellular mechanisms of lipid transport from gut to lymph. *Tissue and Cell.* 2021;72:101529.
10. Миронов А.А. Механизмы реализации наследственной информации – ключевая проблема молекулярной биологии клетки. Вестник Ивановской медицинской академии. 2024;29(3):5-8. https://doi.org/10.52246/1606-8157_2024_29_3_5.