

THE TOPOGRAPHY OF DIGESTIVE PEPTIDASES IN THE INTESTINES OF HEALTHY AND SICK PIGLETS OF DIFFERENT AGE

L. Lazarenko, Candidate of Veterinary sciences, Associate Professor Perm Institute of the Federal Penitentiary Service, Russia

This article contains certain matters concerning the pathogenesis of intestinal diseases of piglets. During the inflammatory process in intestines of sick animals we can observe changes in nature of distribution of activity of digestive enzymes along small and large bowels.

Keywords: peptide hydrolases, proximal-distal gradient, small bowel, large bowel.

Conference participant

ТОПОГРАФИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ПЕПТИДАЗ В КИШЕЧНИКЕ У ЗДОРОВЫХ И БОЛЬНЫХ ПОРОСЯТ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Лазаренко Л. В., канд. ветеринар. наук
Пермский институт ФСИН России, Россия

В статье рассматриваются некоторые вопросы патогенеза кишечных заболеваний у поросят. При развитии воспалительных процессов в кишечнике у больных животных наблюдается изменение характера распределения активности пищеварительных ферментов вдоль тонкой и толстой кишки.

Ключевые слова: пептидгидролазы, проксимо-дистальный градиент, тонкая кишка, толстая кишка.

Участник конференции

Выяснение причин и характера течения любого заболевания является важным условием для обоснованного лечения. Желудочно-кишечные расстройства у поросят, по статистике являются наиболее распространенными среди незаразных болезней, но несмотря на значительное количество исследований по данной проблеме, имеется ряд вопросов ранее не изученных.

Болезни кишечника практически всегда сопровождаются расстройствами мембранного пищеварения. Данный вид пищеварения является промежуточным звеном между полостным пищеварением и всасыванием. Оно обеспечивает заключительные стадии гидролиза пищевых веществ, а также сопряжение пищеварительных процессов и процессов всасывания.

Ферменты, реализующие мембранное пищеварение у млекопитающих, происходят из двух источников: адсорбированные из полости тонкой кишки преимущественно панкреатические ферменты; собственно кишечные ферменты, синтезируемые клетками кишечника (энтероцитами).

Основным органом белкового пищеварения является тонкая кишка. Гидролиз белковых субстратов происходит как в её полости, так и на поверхности мембраны энтероцитов (щеточной кайме). В настоящее время известно, что кишечные пептидазы представлены в виде двух популяций: мембранные (щеточкокаменные) и цитозольные (внутриклеточные).

Мембранные ферменты являются интегральной частью мембраны микроворсинок. Наиболее важным ферментом, реализующим свое действие

на поверхности мембран щеточной каймы энтероцитов, считается *аминопептидаза М*. Она обладает широкой субстратной специфичностью и отщепляет нейтральные и основные аминокислоты от молекул белковых субстратов.

Особую группу ферментов, осуществляющих заключительные стадии гидролиза белков в тонкой кишке, составляют дипептидазы. Они гидролизуют пептидные связи, примыкающие к терминальным α -амино и α -карбоксылным группам. В природе известно более 400 дипептидаз. Для некоторых из них характерна широкая субстратная специфичность, например для *глициллейциндипептидазы*.

Важной особенностью пищеварительных свойств тонкой кишки является неидентичное распределение различных ферментативных активностей вдоль кишечника, разные отделы которого функционально неравноценны. Существование *проксимо-дистальных* (у животных – кранио-каудальных) градиентов обнаружено как в отношении полостного, так и мембранного пищеварения.

В отношении белкового пищеварения существует эта же закономерность – гидролиз белков и продуктов его расщепления в различных отделах тонкой кишки происходит с разной интенсивностью. Различия в топографии пептидаз тонкой кишки были выявлены в ходе исследований на представителях разных видов животных.

В процессе онтогенетического развития распределение активностей ферментов вдоль тонкой кишки претерпевает заметные изменения в связи с переходом от молочного питания к

дефинитивному. Особенно это характерно для незрелорождающихся млекопитающих, у которых четко дифференцированы периоды питания.

Материалы и методы исследования. Для исследования были подобраны четыре группы клинически здоровых поросят 1-, 7-, 14- и 30-дневного возраста и четыре группы поросят-гипотрофиков соответствующего возраста с симптомами заболеваний желудочно-кишечного тракта (n=5).

После убоя у животных вскрывали брюшную полость, извлекали кишку. Для исследования тонкую кишку делили на четыре части (четыре сегмента), толстую кишку – на две части (два сегмента). Каждый участок промывали, просушивали фильтровальной бумагой и снимали слизистую оболочку. Слизистую оболочку замораживали в жидком азоте при температуре -196°C до времени проведения исследований.

Активность дипептидазы (глициллейциндипептидазы) определялась по методу А.М. Уголева и Н.М. Тимофеевой, активность аминопептидазы – по методу Fagg W. с соавт.; в качестве субстратов использовались 0,75 ммоль раствор L-аланин- β -нафтиламида и 40 ммоль раствор глицил-DL-лейцина. Все субстраты готовились на растворе Рингера (pH=7,4).

Активность ферментов выражали в мкмоль продуктов гидролиза, образующихся за 1 минуту в расчете на 1 грамм белка, количество которого определяли методом Lowry O.H. с соавт.

Результаты исследования. Показана функциональная неравноценность разных отделов тонкой и толстой кишки в распределении актив-

ности пептидаз у здоровых поросят разного возраста. Выявлены изменения проксимо-дистального градиента распределения кишечных пептидаз у больных животных. Результаты исследования представлены в таблицах 1, 2, 3 и 4, на рисунке 1 показан график распределения активности фермента *аминопептидазы М* у здоровых и больных поросят 1-дневного возраста.

Вначале рассмотрим результаты исследования у здоровых поросят разного возраста с разным типом питания.

У поросят 1-дневного возраста активность *аминопептидазы М* в пищеварительном тракте распределена достаточно равномерно с максимумом

в подвздошной кишке и сравнительно высоким уровнем активности в толстой (21-22% от максимальной активности в тонкой кишке) (табл. 1, рис. 1). Распределение активности *глициллейциндипептидазы* у 1-дневных поросят характеризуется более высоким уровнем в тощей кишке (табл. 1).

У 7-дневных поросят, для которых также характерен молочный тип питания, активность *аминопептидазы М* доминирует в тощей кишке. Доля активности в подвздошной кишке по сравнению с 1-дневными снижается в два раза (49%), в толстой кишке она составляет 16 % (табл. 2). Доля активности *глициллейциндипептидазы* у 7-дневных животных в подвздошной

кишке незначительно снижается (> на 23%), по сравнению с 1-дневными.

У 14-дневных поросят, в период смешанного питания, происходит смещение максимума активности *аминопептидазы М* в проксимальном направлении в тощую и двенадцатиперстную кишку. Доля активности фермента в толстой кишке снижается, по сравнению с 1-дневными, до 13-15% (табл. 3). Характер распределения *глициллейциндипептидазы* у 14-дневных животных имеет сходство с 7-дневными.

У 30-дневных животных (дефинитивный тип питания) наибольшая активность *аминопептидазы М* наблюдается в тощей кишке; доля активнос-

Таблица 1.

Активность аминопептидазы М и глициллейциндипептидазы (мкмоль/мин/г белка) в гомогенатах слизистой оболочки различных отделов тонкой и толстой кишки у здоровых и больных поросят 1-дневного возраста (n=5)

Отделы кишечника	Аминопептидаза М		Глициллейциндипептидаза	
	Здоровые	Больные	Здоровые	Больные
Двенадцатиперстная кишка	77.29±9.99 (74)	41.62±5.7 (69)	1022.30±230.47 (70)	603.29±113.35 (62)
Проксимальный отдел тощей кишки	90.38±8.5 (86)	60.48±1.38 (100)	1403.60±117.48 (97)	897.58±143.40 (93)
Дистальный отдел тощей кишки	91.26±8.44 (87)	57.39±5.54 (95)	1451.32±75.73 (100)	968.03±32.37 (100)
Подвздошная кишка	105.09±1.5 (100)	49.35±4.76 (82)	1217.08±196.26 (84)	628.54±35.59 (65)
Проксимальный отдел толстой кишки	23.25±2.35 (22)	12.44±0.93 (21)	345.18±56.0 (24)	229.75±25.51 (24)
Дистальный отдел толстой кишки	22.11±0.91 (21)	11.61±0.69 (19)	345.92±119.39 (24)	208.76±17.03 (22)

Примечание: в скобках указана активность фермента в процентах по отношению к максимальной, принятой за 100%.

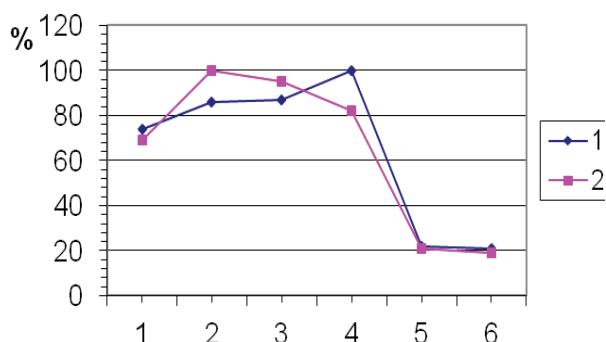


Рис. 1. Распределение активности аминопептидазы М вдоль тонкой и толстой кишки у здоровых (1) и больных (2) поросят 1-дневного возраста. По оси ординат: активность фермента в процентах (по отношению к максимальной, принятой за 100%); по оси абсцисс: 1 – двенадцатиперстная, 2, 3 – проксимальный и дистальный отделы тощей кишки, 4 – подвздошная кишка, 5, 6 – проксимальный и дистальный отделы толстой кишки

Таблица 2.

Активность аминопептидазы М и глициллейциндипептидазы (мкмоль/мин/г белка) в гомогенатах слизистой оболочки различных отделов тонкой и толстой кишки у здоровых и больных поросят 7-дневного возраста (n=5)

Отделы кишечника	Аминопептидаза М		Глициллейциндипептидаза	
	Здоровые	Больные	Здоровые	Больные
Двенадцатиперстная кишка	82.90±7.37 (65)	18.56±1.09 (20)	576.18±50.52 (76)	208.95±41.33 (44)
Проксимальный отдел тощей кишки	110.83±10.33 (87)	21.49±5.14 (23)	753.73±153.01 (100)	275.16±34.96 (57)
Дистальный отдел тощей кишки	127.96±10.27 (100)	60.59±16.86 (65)	694.37±82.17 (92)	237.46±30.86 (50)
Подвздошная кишка	62.99±4.8 (49)	93.77±20.53 (100)	461.54±73.88 (61)	479.96±61.08 (100)
Проксимальный отдел толстой кишки	20.65±0.5 (16)	11.31±0.99 (12)	408.09±58.97 (54)	126.62±13.73 (26)
Дистальный отдел толстой кишки	20.42±1.9 (16)	13.69±1.3 (15)	322.61±67.1 (43)	132.16±15.71 (28)

Обозначения те же, что и в таблице 1.

Таблица 3.

Активность аминопептидазы М и глициллейциндипептидазы (мкмоль/мин/г белка) в гомогенатах слизистой оболочки различных отделов тонкой и толстой кишки у здоровых и больных поросят 14-дневного возраста (n=5)

Отделы кишечника	Аминопептидаза М		Глициллейциндипептидаза	
	Здоровые	Больные	Здоровые	Больные
Двенадцатиперстная кишка	78.35±13.6 (93)	33.81±1.85 (52)	950.56±128.65 (75)	306.56±33.48 (36)
Проксимальный отдел тощей кишки	84.32±11.35 (100)	43.49±4.69 (67)	1264.92±151.59 (100)	454.36±40.66 (53)
Дистальный отдел тощей кишки	72.54±4.0 (86)	63.87±7.37 (97)	1165.24±81.48 (92)	702.71±21.4 (82)
Подвздошная кишка	41.97±3.27 (50)	65.13±9.71 (100)	817.56±77.77 (65)	852.67±97.3 (100)
Проксимальный отдел толстой кишки	10.70±1.45 (13)	9.47±0.69 (15)	540.28±34.02 (43)	347.02±31.76 (41)
Дистальный отдел толстой кишки	12.82±0.79 (15)	11.71±1.46 (18)	444.48±79.22 (35)	329.44±39.06 (39)

Обозначения те же, что и в таблице 1.

ти в толстой составляет 12-14% по отношению к максимальной активности в тонкой кишке (табл. 4). Активность *глициллейциндипептидазы* доминирует в дистальном отделе тощей и в подвздошной кишке.

В толстой кишке доля активности *глициллейциндипептидазы* повышается от 24% у 1-дневных поросят до 44-49% у 30-дневных.

В результате анализа результатов

выявлена функциональная неравноценность в распределении активности пептидаз в разных отделах тонкой и толстой кишки. С увеличением возраста у здоровых поросят наблюдаются изменения проксимо-дистального градиента пептидаз. Данные изменения могут быть обусловлены переходом от одного типа питания к другому – от молочного к смешанному и дефинитивному. Таким образом, изменение

характера пищи является одним из факторов регуляции ферментативной активности.

Исследования, проведенные у больных животных, выявили следующие результаты. У новорожденных поросят 1-дневного возраста распределение активности пептидгидролаз вдоль кишечника идентично градиенту их распределения у здоровых – выявлено смещение максимума актив-

Таблица 4.

Активность аминопептидазы М и глициллейциндипептидазы (мкмоль/мин/г белка) в гомогенатах слизистой оболочки различных отделов тонкой и толстой кишки у здоровых и больных поросят 30-дневного возраста (n=5)

Отделы кишечника	Аминопептидаза М		Глициллейциндипептидаза	
	Здоровые	Больные	Здоровые	Больные
Двенадцатиперстная кишка	33.37±4.87 (39)	24.56±3.46 (55)	404.74±104.51 (50)	444.38±74.36 (59)
Проксимальный отдел тощей кишки	85.60±14.21 (100)	30.34±1.52 (68)	608.98±86.75 (75)	587.09±46.12 (78)
Дистальный отдел тощей кишки	75.44±18.58 (88)	36.60±1.2 (82)	781.97±201.79 (96)	687.63±37.73 (91)
Подвздошная кишка	56.37±6.74 (66)	44.77±5.98 (100)	815.85±107.31 (100)	752.66±63.45 (100)
Проксимальный отдел толстой кишки	11.85±1.95 (14)	13.51±0.79 (30)	355.79±77.12 (44)	491.67±32.46 (65)
Дистальный отдел толстой кишки	9.97±1.12 (12)	15.05±0.84 (34)	400.33±94.5 (49)	454.72±39.63 (60)

Обозначения те же, что и в таблице 1.

ности пептидгидролаз в дистальные отделы тонкой кишки.

У больных поросят старших возрастных групп максимальная активность ферментов доминирует в дистальных отделах тонкой кишки. Такое смещение максимума активности характерно как для аминопептидазы М, так и для глициллейциндипептидазы.

Заслуживает внимания характер изменения активности ферментов в толстой кишке у 30-дневных поросят. Доля активности аминопептидазы М составляет 30-34%, что более чем в два раза выше по сравнению со здоровыми (12-14%). Распределение активности глициллейциндипептидазы в толстой кишке имеет такую же закономерность – 60-65% у больных по сравнению с 44-49% у здоровых животных.

Такие изменения градиента распределения пептидгидролаз у больных поросят можно объяснить компенсаторно-адаптационной реакцией, возникающей в ответ на снижение ферментативной активности в тонкой кишке. Результаты исследований показывают, что у здоровых и больных новорожденных поросят (возраст 1 день) проксимо-дистальный градиент распределения ферментов имеет одинаковый характер, несмотря на низкий запас ферментов в тонкой и тол-

стой кишке у больных. С возрастом максимальная активность пептидаз смещается каудально.

Факторами, вызывающими подобные изменения при заболеваниях у животных, в первую очередь, являются воспалительные процессы слизистой оболочки кишечника и в меньшей степени – субстратная регуляция активности ферментов, связанная с изменением типа питания.

Таким образом, было показано, что желудочно-кишечные заболевания у поросят сопровождаются не только снижением запаса и синтеза пищеварительных ферментов, но и изменением характера распределения их активности в кишечнике. Коррекцию проксимо-дистального градиента распределения ферментативной активности можно использовать в качестве критерия для оценки эффективности лекарственных средств.

References:

1. Адаптационно-компенсаторные процессы / на примере мембранного гидролиза и транспорта // Ред. А.М. Уголев. Л.: Наука, 1991, с. 288.
2. Тимофеева Н.М. Роль пептидаз в ассимиляции белков / обзор современных данных // Физиол. журнал им. И.М. Сеченова, 1993, т.79, №6, С. 1-18.
3. Уголев А.М. Мембранное пи-

щеварение. Полисубстратные процессы, организация и регуляция. Л.: Наука, 1972, С. 358.

4. Уголев А.М., Тимофеева Н.М., Егорова В.В., Никитина А.А. Детальная характеристика ферментного спектра тонкой кишки крыс в раннем постнатальном периоде // Физиол. журнал им. И.М. Сеченова, 1993, т. 78, № 8, С. 21-28.

5. Цветкова В.А., Хюттер Г.Ю., Егорова В.В., Уголев А.М. Протеазы толстой кишки. // Физиол. журнал им. И.М. Сеченова, 1993, Т.79, №6, С. 128-132.

6. Danielsen E.M., Vyas I.P., Kenny A.J. A neutral endopeptidase in the microvillar membrane of pig intestine // Bioshem. J. – 1980. – V. 191. – P. 645-648.

7. Hauri H.-P., Stieger B., Marxer A. The brush-border membrane of the rat colonic columnar epithelial cell // Molecular and cellular basis of digestion. – Amsterdam, 1986. – P. 421-431.

8. Henning S.J., Rubin D.C., Shulman R.J. Ontogeny of the intestinal mucosa // Physiology of the gastrointestinal tract: 3rd ed. – N.Y.: Raven Press, 1994. – P.571-610.

9. Kenny A.J., Maroux S. Topology of microvillar membrane hydrolases of kidney and intestine // Physiol. Rev. – 1982. – V. 62. – P.91-128.