

Я. Ю. КОМИССАРЧИК, член-корреспондент АН СССР А. М. УГОЛЕВ

**УЛЬТРАСТРУКТУРА И ВОЗМОЖНОЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ  
ЗНАЧЕНИЕ ГЛИКОКАЛИКСА МИКРОВОРСИНОК  
КИШЕЧНЫХ КЛЕТОК**

В течение 60-х годов было обнаружено, что внешняя мембрана микроворсинок (так же, как и мембрана многих других типов клеток) покрыта отчетливо выраженным слоем мукополисахаридов, получившим теперь название фюз-слоя или гликокаликса. При достаточно высоких разрешениях электронного микроскопа показано, что этот слой не является сплошным, а образован очень большим числом тонких нитей, состоящих из мукополисахаридов и прочно связанных с наружным слоем мембраны (<sup>1-5</sup>). Наблюдаемая картина зависит от используемой техники подготовки объектов для электронномикроскопического исследования. Тем не менее, уже в настоящее время можно утверждать следующее: 1) гликокаликс является структурой самой клетки, а не возникает вследствие адгезии мукополисахаридов, образуемых слизистыми клетками; в пользу этого свидетельствуют как различия в составе гликокаликса, с одной стороны, так и эксперименты с введением метки в кишечные клетки — с другой (<sup>1, 2</sup>); 2) толщина гликокаликса максимальна на верхушке микроворсинок и меньше на боковых поверхностях; 3) степень развития гликокаликса сильно варьирует у разных видов животных (<sup>2</sup>).

Функции гликокаликса в настоящее время широко обсуждаются. Предполагается, что этот слой является интегральной частью цитоплазматической мембраны и влияет на такие свойства клеточной поверхности, как абсорбция, транспорт, иммунологическое поведение, адгезионные силы и т. д. (<sup>3</sup>). Он предупреждает проникновение в щеточную кайму крупных частиц, бактерий и т. д. Что касается последнего, то уже ранее было продемонстрировано, что сама структура щеточной каймы обеспечивает ее функционирование как бактериального фильтра. Вместе с тем гликокаликс, по-видимому, существенно влияет на протекание процессов мембранного гидролиза и транспорта, на что обратил внимание Ито (<sup>2</sup>). Таким образом, дальнейшие исследования структуры гликокаликса важны для понимания как процессов мембранного пищеварения и транспорта в кишечных клетках, так и функций поверхностных мембран других типов клеток.

В настоящей работе сделана попытка сопоставить ультраструктуру гликокаликса щеточной каймы целой слизистой и предварительно изолированных клеток при различных способах фиксации и улучшенного контрастирования.

**Методика.** Опыты проведены на крысах линии Вистар весом около 150 г, голодавших в течение 16—20 час. до опыта. Препараты интактной слизистой были получены следующим образом. Кишка (после срединного разреза) извлекалась из брюшной полости, и в условиях сохраненного кровообращения из нее вырезался небольшой кусочек, который на несколько секунд опускался в охлажденный раствор Рингера и далее переносился в фиксатор. Изолированные клетки были получены без дополнительных химических и физических воздействий из отпрепарированных кусочков кишки путем механической деформации (способ перчатки) (<sup>6</sup>). Фиксация материала осуществлялась в 3,12% глютаральдегиде, приготовленном на фосфатном буфере (рН 7,2) с добавлением 1% сахарозы и последующей

постфиксацией в 2%  $\text{OsO}_4$  или в изотоническом растворе 2%  $\text{OsO}_4$  на том же буфере. После отмывки фиксатора объекты помещались на 2 часа в 2% уранилацетат, разведенный на вероналацетатном буфере (рН 5). Обезвоженные в этиловом спирте объекты заливались в аралдит. Ультратонкие срезы контрастировались цитратом свинца (<sup>4</sup>) или насыщенным спиртовым раствором уранилацетата. В ряде случаев использовалось двойное контрастирование. Срезы просматривались на электронных микроскопах JEM-7 и JEM-5g.

**Результаты.** Для суждения о структуре гликокаликса существенно сопоставление продольных и поперечных срезов микроворсинок, полученных из одного блока. На рис. 1 *A—B* (см. вкл. к стр. 699) представлены такие данные. Как можно видеть, гликокаликс покрывает всю ворсинку от верхушки до основания слоем, который на верхушке имеет толщину 500—1100 Å, на боковых поверхностях 150—400 Å. На поперечных срезах микроворсинок видно, что поры щеточной каймы практически целиком заполнены гликокаликсом, причем его толщина меняется в зависимости от расстояния между микроворсинками, что, по-видимому, ограничивает его рост. В ряде случаев удается проследить промежуток между слоями, принадлежащими отдельным микроворсинкам или увидеть границу между слоями отдельных микроворсинок.

При всех условиях, которые использовались для обработки материала, гликокаликс, скорее, напоминает петлистую трехмерную сеть, чем сильно разветвленные ленты, как об этом принято писать. Как можно видеть, микроворсинки имеют гексагональное распределение, которое отражается также на форме гликокаликса боковой поверхности. Связь с внешней поверхностью мембраны прослеживается отчетливо, вместе с тем (это важно при обсуждении некоторых функций гликокаликса) наблюдаются (особенно на поперечных срезах) случаи, когда куски гликокаликса занимают территорию между окружающими микроворсинками, не будучи связанными ни с одной из них (изолированный, или оторванный, гликокаликс).

Выше было отмечено, что гликокаликс прочно связан со структурами микроворсинки и не может быть отделен от нее воздействием различных химических веществ, в том числе и муколитических ферментативных препаратов и т. д. (<sup>2</sup>). Однако, как можно видеть из рис. 1, *G*, на изолированных клетках, полученных от тех же животных, не удается обнаружить гликокаликса. Предположение, что гликокаликс теряется при обработке в гипотоническом растворе ЭДТА, противоречит специальным экспериментам Ито (<sup>3</sup>). Оно также не подтверждается исследованием изолированных клеток, полученных нами от тех же животных, что и интактная слизистая. Хотя изоляция проводилась в охлажденном растворе Рингера, изолированные клетки также не имеют никаких признаков гликокаликса. Этот феномен кажется мало понятным и заставляет допустить, что при определенных условиях клетки сбрасывают гликокаликс.

Наши данные полностью согласуются с основными предшествующими наблюдениями и подтверждают как регулярность гликокаликса, так и то, что он является дериватом самих микроворсинок. Анализ препаратов заставляет думать, что гликокаликс, по-видимому, должен рассматриваться скорее как трехмерная сеть, чем как система разветвленных лент. Менее ясно, образуется ли эта сеть в результате действия фиксирующих и контрастирующих агентов или она существует в естественных условиях. То обстоятельство, что гликокаликс состоит из кислых мукополисахаридов, богатых сульфатными группами, позволяет предполагать, что такая сеть может образовываться при помощи ряда механизмов, известных для мукополисахаридов, и в частности при помощи мостиков в результате взаимодействия двух- или многовалентных катионов с кислыми группами мукополисахаридов. Если гликокаликс является сетью, то он может не только выполнять функцию ионного обмена, но и служить своеобразным аналогом молекулярного сита. Оба эти обстоятельства могли бы способствовать

созданию в области щеточной каймы благоприятных условий для протекания ферментативных и транспортных процессов, значительно отличающихся от тех, которые протекают в полости кишки.

Ранее были продемонстрированы некоторые особенности кинетики ферментативных реакций в зоне мембранного пищеварения (обзоры (7, 8)). Эти особенности были отнесены за счет эффектов, характерных для протекания реакций на границе фаз и изменения свойств ферментов при образовании энзим-мембранных комплексов. Возможно, определенную роль в возникновении этих различий играет также то, что ферменты действуют в среде, отделенной от кишечной сети с выраженными кислыми свойствами. Кроме того, эффект молекулярных сит должен проявляться в накоплении молекул, преимущественно мелких, подобно тому, как это имеет место в сефадексах. Для понимания кинетики ферментативных и транспортных реакций, в частности для характеристики обмена веществами между кишечной средой и щеточной каймой, существенно, что благодаря гликокаликсу возникает неподвижный слой на некотором расстоянии от мембраны.

До сих пор, насколько нам известно, не были описаны структуры, которые охарактеризованы как оторванный гликокаликс. Их присутствие кажется весьма вероятным, если учесть высокую скорость роста гликокаликса, полное обновление которого происходит в течение нескольких часов (2). При таких условиях избыток гликокаликса должен удаляться из пор щеточной каймы, что подтверждается наличием фрагментов гликокаликса, а также большей его толщиной на верхушках микроворсинок по сравнению с их боковыми поверхностями.

Мы полагаем, что этот процесс обеспечивает решение такой важной задачи, как очистка пор в пористых реакторах от загрязнений. В технических реакторах очистка является обязательным элементом технологического процесса и осуществляется обычно при помощи действия агрессивных сред, пропускаемых через реактор. В живых реакторах этот процесс, по-видимому, также необходим, и он осуществляется при помощи обновления гликокаликса.

В заключение следует отметить, что рассмотренные выше свойства гликокаликса должны играть важную роль в осуществлении процессов мембранного гидролиза и транспорта и в процессах распределения веществ между кишечной средой и кишечной клеткой. Вместе с тем, эти закономерности существенны и для понимания функции многих других типов клеток. Неожиданной и необычной фракцией (также, возможно, общей) является очистительная (пурификаторная) функция гликокаликса.

Институт цитологии  
Академии наук СССР  
Ленинград

Поступило  
17 VI 1970

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> S. Ito, J. Revel, J. Cell Biol., 23, 44A (1964). <sup>2</sup> S. Ito, Federat. Proc., 28, 12 (1969). <sup>3</sup> J. Revel, S. Ito, The Specificity of Cell Surfaces, 1967. <sup>4</sup> R. S. Reynolds, J. Cell Biol., 17, 208 (1963). <sup>5</sup> D. W. Fawcett, J. Histochem. and Cytochem., 13, 75 (1965). <sup>6</sup> J. S. Trier, Handbook of Physiol., Sect. 6, 3, 1968, p. 1125. <sup>7</sup> А. М. Уголев, Пристеночное (контактное) пищеварение, 1963. <sup>8</sup> А. М. Уголев, Физиология и патология пристеночного пищеварения, Л., 1967. <sup>9</sup> А. М. Уголев, Н. М. Митюшова, И. К. Гозите, Физiol. журн. СССР, 55, 1513 (1969).