



УДК 615.015.4

DOI: 10.37621/JNAMSU-2020-1-2-4

«Журнал НАМН України» | 2020 | т. 26 | № 1-2 | С. 29-37

Морфофункціональна характеристика сталого водного шару епітелію кишечника та його роль в абсорбції/біодоступності лікарських засобів

(огляд літератури)

М. Я. Головенко 

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, вул. Люстдорфська дорога, 86, Одеса 65080, Україна

Метою статті є аналіз основних морфологічних і функціональних характеристик (нерухомого) сталого водного шару (СВШ) епітелію кишечника та його ролі у молекулярних механізмах абсорбції/біодоступності лікарських засобів (ЛЗ) при їх пероральному використанні. Приведено дані щодо методу оцінки товщини СВШ, побудованого на визначенні показника ефективної проникності сполуки (P_{eff}) при різних швидкостях перфузійного потоку в кишечнику та її важливості для визначення абсорбції розчиненого ЛЗ. Охарактеризовано процес всмоктування (абсорбції) ліків у шлунково-кишковому тракті, який забезпечується такими фізичними процесами, як пасивна дифузія, полегшена дифузія та активний транспорт, що відбуваються за участю СВШ, мембран і щільних контактів ентероцитів. Дифузія сполук, що мають незначні розміри, в цитоплазму є досить швидким процесом і тому пасивна трансцелюлярна проникність визначається тільки транспортом крізь апікальну мембрану клітини в кишечнику. Описано механізми кризкклітинного (трансцелюлярного) і міжклітинного (парацелюлярного) транспорту препаратів у епітелії кишечника. Обговорюються можливі молекулярні механізми проникнення ЛЗ шляхом полегшеної дифузії, за допомогою каналоформерів і білків-переносників, які забезпечують їх транспорт без додаткової енергії. Приділено увагу процесу активного транспорту, за допомогою якого перенесення препа-

Morphofunctional characteristic of the unstirred water layer intestinal epithelium and its role in absorption/bioavailability of drugs

(literature review)

Mykola Ya. Golovenko 

A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, 86 Liustdorfska Doroha St., Odessa 65080, Ukraine

The aim of the article – analysis of the main morphological and functional characteristics of intestine epithelium unstirred water layer (UWL) and its role in molecular mechanisms of absorption/bioavailability of orally administered drugs. The method of UWL thickness determination based on effective permeability (P_{eff}) values under various speed of intestinal perfusion flow as well as this indicator importance for solutions absorption determination there was also discussed the process of drugs is discussed absorption in the gastrointestinal tract which is provided by such physical processes as passive diffusion, facilitated diffusion and active transport, involving the UWL, membranes and endothelial tight junctions. The diffusion of small molecules to the cytoplasm is a rather fast process, thus passive transcellular permeability is determined by only the intestinal apical membrane diffusion. The mechanisms of transcellular and paracellular drugs transport in the intestinal epithelium are described. The possible molecular mechanisms of drugs molecules permeability by facilitated diffusion without energy consumption with channel formers and transfer proteins are discussed. The attention was to the active transport process

ратів крізь мембрану ентероцита здійснюється за допомогою транспортерів проти градієнту концентрації, і він є пов'язаним з витратою енергії за рахунок АТФ або інших видів енергії, на створення яких АТФ витрачався раніше. Приведено класифікацію таких транспортерів, побудовану на тому, в якому напрямку білки транспортують речовини (всередину – *influx* чи назовні – *efflux* клітини) або який клас органічних сполук вони переносять. Відзначена роль ферментної системи CYP3A4 ентероцитів у регуляції процесів метаболізму (окислення) ЛЗ, що позначається на їх загальній біодоступності.

Ключові слова: лікарські засоби, всмоктування, епітелій кишечника, сталий водний шар, ентероцит, крізьклітинний транспорт, міжклітинний транспорт.

Для цитування: Головенко МЯ. Морфофункціональна характеристика сталого водного шару епітелію кишечника та його роль в абсорбції/біодоступності лікарських засобів (огляд літератури). Журнал Національної академії медичних наук України. 2020;26(1-2):29–37. DOI: 10.37621/JNAMSU-2020-1-2-4.

Стаття надійшла до редакції 25.03.2019
Направлена на рецензування 27.11.2019
Прийнята до друку 03.12.2019

through the enterocyte membrane with the help of transporters against the concentration gradient which is fulfilled with energy consumption due to ATP or other energy supplies. The classification of such transporters is given based on the transport direction (inside the cell – *influx*, or out off the cell – *efflux*) and regarding the organic substance transferred. The role of enterocyte enzymatic system CYP3A4 in drugs metabolism processes regulation is mentioned, which can influence their bioavailability.

Key words: drugs, absorption, intestine epithelium, unstirred water layer, enterocyte, transcellular transport, intercellular transport.

For citation: Golovenko MYa. Morphofunctional characteristic of the unstirred water layer intestinal epithelium and its role in absorption/bioavailability of drugs (literature review). Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. 2020;26(1-2):29–37. DOI: 10.37621/JNAMSU-2020-1-2-4.

The article was received 25.03.2019
For review, 27.11.2019
Accepted for publication on 03.12.2019




ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Головенко Микола Якович – д. б. н., проф., акад. НАМН України, головний науковий співробітник відділу медичної хімії, Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, м. Одеса, ORCID: 0000-0003-1485-128X



INFORMATION ABOUT AUTHORS

Mykola Ya. Golovenko – Dr. Sci. (Biology), Prof., Acad. of NAMS of Ukraine, Leading Researcher of Department of Medical Chemistry, A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Odessa, ORCID: 0000-0003-1485-128X

Mykola Ya. Golovenko 
ORCID: 0000-0003-1485-128X
n.golovenko@gmail.com

Одним із важливих фармакологічних (фармакокінетичних) показників, що характеризують ефективність лікарських засобів (ЛЗ), є біодоступність. Визначається зазначений процес як швидкість та ступінь надходження (всмоктування) активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) з відповідної лікарської форми з місця введення в системний кровообіг, внаслідок чого він стає доступним у біофазі дії. У цьому випадку ми маємо справу з відносним характером поняття біологічної доступності, тобто інтегральною (ступінь всмоктування) і кінетичною (швидкість всмоктування) в її кількісній оцінці [1]. Біодоступність належить до основоположних показників у біофармацевтичних дослідженнях, тому що вони використовуються, як на етапі вивчення [2] інноваційних препаратів (доклінічні та клінічні випробування), так і при впровадженні в медичну практику [3] генеричних аналогів (біоеквівалентність). Цей принцип

також покладено в основу терапевтичного лікарського моніторингу, що дозволяє підібрати індивідуальну ефективну дозу препарату з урахуванням можливої побічної дії [4].

Враховуючи той факт, що більшість ЛЗ належать до твердих оральних форм, значна увага при їх конструванні та впровадженні в медичну практику приділяється їх всмоктуванню у шлунково-кишковому тракті (ШКТ). Основними чинниками, що впливають на процеси всмоктування ЛЗ в ШКТ, вважаються такі: 1) фізико-хімічні властивості АФІ (ліпофільність, розчинність, молекулярна маса, конформація, *pKa*, іонізація, хімічна та енізматична стабільність); 2) фармацевтичні (кристалічна форма/солі, розмір частинок, допоміжні речовини, швидкість вивільнення з таблетки, швидкість розчинення, форма препарату); 3) фізіологічні (швидкість шлункової евакуації, транзит в ШКТ, кишковий *pH*, жовчна та панкреатич-

на секреція, пристінковий метаболізм, транспортні білки, дієта, вік, захворювання) [5]. Більшість із зазначених чинників добре вивчені, що знайшло своє відображення в різноманітних публікаціях.

Останнім часом значне місце в інтерпретації отриманих даних, що характеризують механізми всмоктування ЛЗ, відводиться сталому (нерухомому) водному шару епітелію кишечника (СВШ), в англомовній літературі – unstirred water layer (UWL), який поряд з іншими структурними елементами виконує бар'єрні функції щодо поживних речовин і лікарських засобів. На жаль, у вітчизняній літературі зовсім відсутня інформація щодо структури СВШ, його транслокації в епітелії кишечника і ролі в процесі абсорбції лікарських засобів.

Мета нашої роботи – провести критичний аналіз основних положень, що стосуються зазначеної проблеми, а також окреслити можливі шляхи і тенденції розвитку на пряму та використання його у фармакологічній і біофармацевтичній практиці.

БУДОВА ТА ТРАНСЛОКАЦІЯ СВШ ЕПІТЕЛІЮ КИШЕЧНИКА

З фізіологічної точки зору процес всмоктування речовин розглядається як їх перенесення з навколишнього середовища організму в його внутрішнє, тобто у порожнину (просвіт) травного каналу, клітини слизової оболонки кишок, міжклітинний простір, лімфу та кров. Для оральних твердих форм ЛЗ порожнина кишечника є місцем процесу всмоктування, який забезпечує їх відповідну біодоступність. Всмоктування ЛЗ відбувається головним чином у тонких кишках, які морфологічно та функціонально пристосовані до цього. Стінки тонкої кишки складаються з трьох оболонок: 1) зовнішньої – серозної (очеревинної); 2) середньої – м'язової; 3) внутрішньої – слизової. Із порожнини кишечника ЛЗ транспортується в шар кишкового слизу, який утворюється виділеннями (секретом) келихоподібних клітин і фрагментами кишкового епітелію, що злищується.

Власне слизова оболонка (мукоза) умовно поділяється на 3 шари:

- 1) м'язова мукоза – найглибший шар, що складається з м'язових клітин і відокремлює мукозу від субмукози;
- 2) середній шар, вміщує сполучну тканину та утворює серцевину ворсинок і вистилає крипти. Він містить низку різних клітин (лімфоцити, плазматичні клітини, макрофаги, клітини гладеньких м'язів) і неклітинні елементи – колагенові та еластинові волокна. Цей шар виконує опорну функцію та відіграє важливу бар'єрну роль на шляху мікроорганізмів і ксенобіотиків;
- 3) внутрішній шар мукози – епітелій, складається з одного шару циліндричних епітеліальних клітин – ентероцитів, вкритих криптами і ворсинками. Поверхня мукози майже втричі збільшена за рахунок складок епітелію і так званих складок Керкрінга. Найбільше їх у дванадцятипалій і порожній кишках, де вони вип'ячуються у просвіт кишки на 8 мм.

На 1 мм² слизової оболонки розташовано 18–40 ворсинок і їх висота зазвичай коливається від 200 до 500 мкм

[6]. Кожна ворсинка пронизана густою мережею кровоносних капілярів, які знаходяться в тісному контакті з епітеліальними клітинами, що полегшує транспорт АФІ та сприяє обміну між епітелієм і кровоносною системою. У стромі ворсинок знаходяться клітини гладеньких м'язів, завдяки яким ворсинки можуть скорочуватися, що сприяє мікроциркуляції і просуванню сполук. Поверхня слизової оболонки тонкої кишки, у тому числі й кишкових ворсинок, вкрита одношаровим циліндричним епітелієм – ентероцитами, який складається з трьох різновидів епітеліоцитів: стовпчастих, з посмугованою облямівкою, келихоподібних, продуцентів слизу, і кишкових ендокриноцитів. Усі вони утворюють гетерогенні скупчення та упаковані з деякими частинами бічних мембран в гексагональну матрицю [7].

Стовпчасти епітеліоцити з посмугованою облямівкою є основними клітинами, що забезпечують процеси всмоктування у тонкій кишці. Ентероцити пов'язані між собою з'єднувальним комплексом, що відмежовує апікальні (верхні) полюси клітин від їхніх базолатеральних (нижніх) частин. Кожен ентероцит покритий 1000 крихітних утворень (мікроворсинок), звернених у кишкову порожнину. Мікроворсинки, як правило, мають однорідний розмір і форму, і на «щітковій облямівці» однієї клітини тонкої кишки людини розташовується в середньому 1700 мікроворсинок, що значно збільшує всмоктувальну поверхню кожної клітини [8]. Мікроворсинки в середньому мають довжину 1,0 мкм і ширину 0,1 мкм [6]. Вони збільшують поверхню епітелію в 20–40 разів. Простір між мікроворсинками, розміром 0,02–0,05 мкм, утворює вузькі канали, через які транспортуються розчинені речовини [9]. Безліч актинових філаментів, що проходять усередині кожної мікроворсинки, здатні скорочуватися, тому при контакті з ними рідина переміщується. Зовнішня мембрана мікроворсинки багата на білки, холестерин, гліколіпіди і містить деякі ферменти (дисахаридази і пептидази), локалізовані в товщі мембрани. Специфічні білки-рецептори, розташовані на поверхні мембрани, утворюють комплекс, який селективно зв'язує речовини перед їх абсорбцією.

Мікроворсинки вкриті шаром глікокаліксу (товщина 0,1 мкм), утвореного мукополісахаридами, які в свою чергу зв'язані між собою кальцієвими містками, за рахунок чого формується відповідна сітка, яка виконує функцію молекулярного сита. За його допомогою здійснюється розділення молекул ЛЗ згідно з їхніми фізико-хімічними властивостями, а звідси й механізмом всмоктування. Сітка має негативний заряд та є гідрофільною, що надає їй селективного характеру щодо транспорту, і перешкоджає проникненню високомолекулярних ліків. Крім того, шар слизу містить ліпіди та клітинні білки, клітинні залишки і виділяє імуноглобуліни та оболонки клітин [10]. Філаменти (протеїни), складові глікокаліксу, мають радіальну орієнтацію і їх діаметр дорівнює 25–50 мкм. Вони можуть нести фіксовані заряди і відповідають за кислотний мікроклімат мікрооточення клітини.

Отже, глікокалікс разом із шаром слизу створюють більшу частину СВШ в порожнині кишечника і тому формують первинний епітеліальний дифузійний бар'єр для сполук, що швидко всмоктуються [11]. Значення *pH* у

СВШ перебуває в діапазоні між 5,2 і 6,2, тобто відіграє головну роль у регулюванні цього показника на поверхні епітеліальної клітини. Таким чином, амфільний характер слизу є необхідним для підтримання кислого мікроклімату поверхні слизової оболонки.

На сьогодні все ще немає однозначної думки щодо товщини СВШ і значення цієї структури у всмоктуванні ЛЗ. Найпоширенішим методом оцінки товщини СВШ і її важливості для абсорбції розчиненої речовини є визначення показника ефективної проникності сполуки (*Peff*) при різних швидкостях перфузійного потоку в кишечнику. Для більшості досліджень, у яких визначались параметри *Peff* у тонкій кишці перфузованих тварин з використанням анестезії, було отримано показники товщини СВШ у 300–800 мкм. Проте нещодавно ці показники перевірено в досліді на людях і неанестезованих тваринах. Отримано значення товщини СВШ у 30–100 мкм. Припускають, що ці нові значення відображають більш ефективну моторику кишечника, а отже й більш високий ступінь переміщення у просвіті кишечника в досліді *in vivo* [12].

СВШ має абсолютно однакову товщину у стовпчастих клітинах і є таким же однорідним у клітинах основи ворсинок та тих, що знаходяться на їхній верхівці. Келихоподібні клітини зазвичай мають менш помітне покриття і товщину СВШ. Однак, випадкові клітини мають більш виражений поверхневий шар, ніж сусідні, що дозволяє припустити, що цей нечіткий шар має безпосереднє відношення до кожної окремої клітини, а не просто є стороннім шаром, загальним для всіх клітин епітелію. Проте, що нечітке покриття є специфічним для кожної окремої клітини, свідчить і спостереження [13], в якому доведено, що поверхневий шар екструзованих клітин ворсинок є набагато менш вираженим і майже відсутнім на розшарованих клітинах.

МЕХАНІЗМИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ДИФУЗІЇ ЛЗ КРИЗЬ СВШ ТА ЕНТЕРОЦИТИ В ПРОЦЕСІ ЇХ АБСОРБЦІЇ

Лікарські засоби системної дії повинні з місця введення проникнути в кров. Для цього їм необхідно подолати декілька основних бар'єрів на своєму шляху, це відбувається завдяки абсорбції розчиненої речовини з просвіту кишечника за механізмом молекулярної дифузії кризь СВШ, епітеліальну клітину, інтерстиціальну рідину і, нарешті, – проникнення у кровососний капіляр. Процес

всмоктування (абсорбції) ЛЗ у ШКТ забезпечується в основному такими фізичними процесами, як пасивна дифузія, полегшена дифузія і активний транспорт, які відбуваються за участі СВШ, мембран і щільних контактів ентероцитів (рис.).

Масопереніс молекул у розчині або транспорт через біобар'єр зазвичай вимірюється потоками [14]. Потік розчиненої речовини просто визначається як маса або число молекул, що рухаються через дану площу протягом заданого періоду часу, і він може бути опосередкованим міграцією або дифузією. Міграція – це рух молекул, спричинений зовнішньою силою (гравітація, електричні поля), що діє на кожну з розчинених молекул. Дифузія є випадковим тепловим рухом молекул у розчині і, отже, спрощено спричиняє транспорт ЛЗ лише за наявності градієнта концентрації.

У фармакологічних і біофармацевтичних дослідженнях, пов'язаних з проблемами всмоктування і біодоступності ЛЗ, компоненти міграційного потоку сполук не розглядаються, а основна увага сконцентрована виключно на дифузійних потоках. Існуючі методи оцінки швидкості всмоктування ЛЗ (зміни концентрації АФІ у біорідині) можна розподілити на дві групи [15]. До першої з них, відносять методи, засновані на допущенні лінійності кінетики всіх процесів надходження, переносу та елімінації сполук в організмі. У більшості випадків застосування цих методів припускає аналіз кінетики всмоктування в рамках математичної моделі певної структури. До другої групи можна віднести методи, які ґрунтуються на допущенні лінійності лише тих процесів, що відбуваються з препаратом після його надходження в системний кровообіг, тоді як на кінетику процесу всмоктування аналогічні обмеження не накладаються. Це досягається шляхом попереднього відтворення кінетичного профілю процесу всмоктування ЛЗ за даними його фармакокінетики у крові. Перед методами першої групи ці методи мають важливу перевагу. Їхнє застосування дозволяє проаналізувати закономірності процесу всмоктування в тих випадках, коли його кінетика описується рівнянням, порядок якого відмінний від одиниці.

У більшості біологічних систем в умовах *in vitro* або *in vivo* концентрація молекул розчиненої речовини, виміряна в об'ємній фазі, не збігається з концентрацією молекул розчиненої речовини, яка фактично зустрічається у клітинній мембрані. Це вірно, тому що зазвичай існує

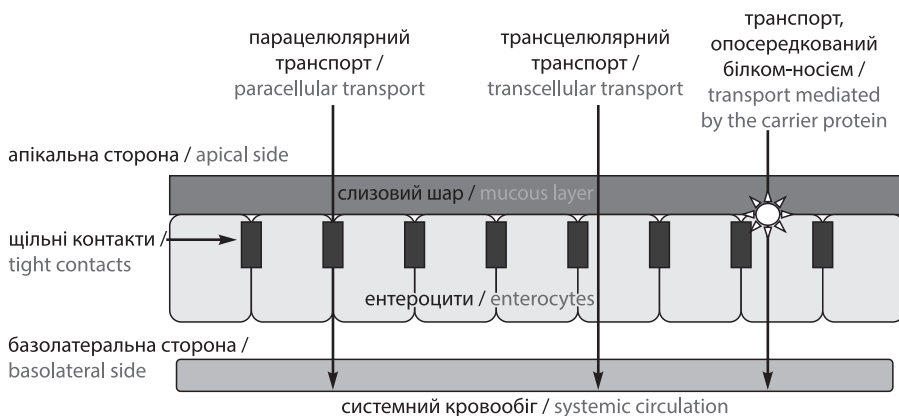


Рисунок / Figure. Схематичне зображення механізмів абсорбції ЛЗ у епітелії кишечника / Schematic representation of the mechanisms of drug absorption in the intestinal epithelium.

дифузійний бар'єр між поверхнею клітини і об'ємним перфузійним середовищем. Таким чином, коли молекула рухається з об'ємної водної фази кишечника у внутрішню частину клітини, вона повинна проникати принаймні через два бар'єри – СВШ, що прилягає до водно-ліпідної поверхні, і саму клітинну мембрану. Оскільки СВШ вміщує низку водних ламелей, що відходять назовні від клітинної мембрани, кожна з них поступово переміщується до тих пір, поки вони непомітно не змішуються з водною фазою. Хоча межа між добре перемішаною водною фазою і СВШ нечітка, їй можна присвоїти кінцеву функціональну товщину. Це теоретичне значення є еквівалентним товщині одного шару, в якому пересування ЛЗ відбувається тільки шляхом дифузії.

СВШ безпосередньо прилягає до еритроцитів, тому транспорт ЛЗ крізь ці структури відбувається синхронно. У деяких випадках і молекулярні механізми мають ідентичний характер. Мається на увазі проста (пасивна) дифузія.

Концептуально пасивний транспорт речовин через СВШ і ліпідну мембрану еритроцита можна розглядати як молекулярну дифузію, в якій бере участь нескінченне число сайтів, тоді як всі інші процеси (полегшена дифузія) та активний транспорт мають обмеження. Фундаментальне рівняння [14], що описує дифузію ЛЗ крізь слизову оболонку, ґрунтується на формі першого закону Фіка (рівняння (1)):

$$J = P \cdot C_{Aq}, \quad (1)$$

де J – потік АФІ крізь слизову оболонку (маса/площа/час); P – коефіцієнт проникнення АФІ крізь ліпофільну слизову оболонку і C_{Aq} – концентрація АФІ в рідинному середовищі водно-епітеліального шару.

Коефіцієнт проникнення сполук визначається рівнянням (2):

$$P = \frac{D \cdot K}{h}, \quad (2)$$

де D – коефіцієнт дифузії АФІ всередині мембрани; K – коефіцієнт надходження АФІ з рідинного шару в слизову оболонку; h – ефективна товщина слизової мембрани.

Отже, для успішного проникнення молекули ЛЗ крізь слизову оболонку, вона повинна володіти достатньою розчинністю (C_s), яка дозволяє ефективну доставку препарату до слизової поверхні (внаслідок чого досягається високий показник C_{Aq}). Масова швидкість розчинення описується рівнянням Нойнеса-Уїтні (рівняння (3)):

$$\frac{dM}{dt} = \frac{D \cdot S}{h_D} (C_s - C), \quad (3)$$

де M – маса ЛЗ, розчиненого протягом часу t ; D – коефіцієнт дифузії ЛЗ через СВШ; S – загальна площа поверхні твердих частинок ЛЗ; h_D – товщина дифузійного шару на поверхні частинок; C_s – загальна розчинність АФІ в рідинному середовищі; C – концентрація АФІ в розчині протягом часу t .

Швидкість розчинення пропорційна S і C_s , а C_s залежить від складу рідинного середовища, включаючи його

pH . Таким чином, розчинність і швидкість розчинення є непостійними величинами в окремих ділянках ШКТ. В той же час, ЛЗ повинен мати достатню ліпофільність для переходу з рідинного середовища в ліпофільну частину слизової мембрани, завдяки чому досягається високий показник K (див. рівняння (2)). Низькомолекулярні ЛЗ з малим радіусом молекули проникають крізь слизову ефективніше, ніж високомолекулярні.

Одним із важливих чинників, що ускладнює розрахунки проникності речовин, є те, що багато ЛЗ – це слабкі кислоти чи основи і, таким чином, існують в іонізованій та неіонізованій формі. Відомо, що при пероральному введенні ЛЗ переважає місце, що мають різні значення pH : в шлунку воно становить приблизно 1,0; близько 6,8 – у верхніх відділах та 7,6 – у нижніх відділах тонкої кишки.

Доля іонізованих молекул препаратів пов'язана з pH і pKa . Якщо вони однакові ($pH = pKa$), то співвідношення між іонізованою та неіонізованою частинами препарату дорівнює 1 (50 % речовини знаходиться у розчинній та 50 % – у нерозчинній в ліпідах формах). Кислота ацетилсаліцилова ($pKa = 3,5$) і фенобарбітал ($pKa = 7,24$) – кислоти, що з підвищенням pH стають ще більш іонізованими і все менше розчиняються в жирах. Тому кислоти переважно розчиняються у шлунку значно більше, ніж у кишечнику.

БАР'ЄРНІ СТРУКТУРИ ЕНТЕРОЦИТІВ, ЩО ОБУМОВЛЮЮТЬ МЕХАНІЗМИ ВСМОКТУВАННЯ ЛЗ

Бар'єрними структурами еритроцитів, які перешкоджають проникненню ЛЗ в кров, є клітинна мембрана та/або щільні міжклітинні контакти. Тому розрізняють два види клітинного транспорту речовин (див. рис.): крізьклітинний (трансцелюлярний) і міжклітинний (парацелюлярний).

Крізьклітинний транспорт. Для того, щоб потрапити в клітину, розчинений ЛЗ має проникнути в мембрану, яка її оточує. Клітинні мембрани складаються з перервного подвійного шару фосфоліпідів і традиційно описуються рідинною мозаїчною моделлю [16] або суперрешітковою моделлю [17]. Присутність різних ліпідів і протеїнів забезпечує унікальні властивості мембран клітин у всьому організмі. Епітеліальні клітини поляризовані і мають суттєві відмінності у властивостях мембран в межах однієї тканини. Наприклад, частина мембран клітин, що межує з порожниною кишечника (апикальна сторона) і частина мембран, що розташовані під епітелієм (базолатеральна сторона), мають різний склад білків і ліпідів, а тому й різну проникність. Ліпідна природа клітинних мембран обмежує транспорт іонів і гідрофільних молекул [15]. Упорядкована структура мембрани також має негативний вплив на рівень розчинення ЛЗ, що мають значний розмір молекули.

Першим кроком пасивного трансцелюлярного транспорту є проникнення розчиненого ліпофільного ЛЗ до апикальної мембрани, яке завершується дифузиею крізь цитоплазму внутрішнього середовища клітини. При цьому має місце латеральна дифузія ЛЗ у ліпідний подвійний шар клітинної мембрани. Наприкінці, розчинена сполука виходить крізь базолатеральну мембрану. Показано [18], що дифузія сполук, які мають незначні розміри, в цито-

плазму є достатньо швидким процесом і тому пасивна трансцелюлярна проникність визначається тільки транспортом крізь апікальну мембрану клітини.

Транспорт ЛЗ крізь біологічну мембрану належить до складних процесів і залежить від її полярності, щільності та гідрофобності. Згідно із загальноприйнятими уявленнями, бішар мембрани може бути умовно розподілений на чотири зони [19]. Перша (зовнішня) містить значну кількість молекул води і відповідає за взаємодію з іншими мембранами та протеїнами. Друга має найбільш високу молекулярну щільність серед усіх чотирьох і вміщує незначну кількість води та є найбільшим бар'єром для дифузії. Третя зона представлена найбільшою щільністю неполярних хвостів біологічних молекул. Вона служить основним бар'єром для проникнення крізь мембрану і основним її завданням є «розпізнавання» відповідної форми та розміру молекули, що транспортується. Четверта належить до найбільш гідрофобної частини мембрани і діє як гідрофобний бар'єр при транспорті крізь мембрану.

Така мембранна структура слугує доказом того, що транспорт ЛЗ крізь мембрану – це послідовність складних молекулярних подій, а не простий двоступінчатий процес утворення розчину і дифузії.

Першим кроком пасивного трансцелюлярного транспорту є проникнення розчиненого ЛЗ до апікальної мембрани, що завершується дифузією крізь цитоплазму внутрішнього середовища клітини (якщо розчинена сполука є дуже ліпофільною), і в цьому процесі особлива роль належить водно-епітеліальному шару. При цьому має місце латеральна дифузія ЛЗ в ліпідний подвійний шар клітинної мембрани. Наприкінці, розчинена сполука виходить через базолатеральну мембрану. Дифузія сполук, що мають незначні розміри, у цитоплазму – процес достатньо швидкий і тому пасивна трансцелюлярна проникність визначається тільки транспортом через апікальну мембрану клітини [11].

Для всмоктування і транспорту ЛЗ крізь біологічні мембрани найбільш сприятливим є середній ступінь їхньої розчинності у воді й ліпідах. Достатня розчинність лікарської речовини має першорядне значення для доставки її до місця дії з кров'ю і міжклітинною рідиною, а ліпідорозчинність – для швидкого проходження крізь біомембрани.

Розглянуті у цьому розділі молекулярні механізми транспорту ЛЗ крізь мембрану ентероцита належать до так званої простої (пасивної) дифузії. У той же час, існує інший механізм, який отримав назву «полегшена дифузія». Як уже зазначалося раніше, хімічні та фізичні властивості плазматичних мембран роблять їх вибірково проникними. Оскільки вони мають як гідрофобні, так і гідрофільні прошарки, ЛЗ повинні мати можливість проходити через обидві частини. Оскільки гідрофобна зона мембран відштовхує такі речовини, як заряджені іони, то для їх транспортування необхідні допоміжні можливості. Такі сполуки використовують спеціальні мембранні білки, які сприяють їх успішному проходженню крізь мембрану [20]. У процесі полегшеної дифузії молекули та іони проходять через мембрану, використовуючи два типи мембранних транспортних білків: канали і білки-

носії. Ці мембранні транспортні білки забезпечують дифузію без додаткової енергії.

Канальні білки (каналоформери) утворюють гідрофільну пору, через яку можуть проходити заряджені молекули, тим самим уникаючи гідрофобної зони мембрани, і вони є специфічними для даної речовини. Наприклад, аквапорини представляють собою канальні білки, які полегшують транспорт тільки води через плазматичну мембрану. Канальні білки або завжди відкриті, або контролюються будь-яким механізмом контролю потоку. Закриті канали залишаються такими, доки конкретний іон або речовина не зв'яжеться з каналом.

Білки-переносники забезпечують більш високу швидкість полегшеної дифузії, порівняно з простою пасивною дифузією. Швидкість полегшеної дифузії залежить від низки чинників: трансмембранного концентраційного градієнту, кількості переносника, швидкості зв'язування речовини переносником на одній поверхні мембрани (наприклад, на зовнішній), і швидкості конформаційних змін у молекулі переносника [21].

Між звичайною дифузією і перенесенням за допомогою рухомого переносника (а часто і по каналах) існує важлива відмінність.

Отже, незважаючи на те, що полегшена дифузія є більш складним процесом, ніж проста, вона дозволяє транспортувати речовини з неймовірною швидкістю. Канальні білки переміщують десятки мільйонів молекул за секунду, а білки-носії – від тисячі до мільйона молекул за секунду.

Для того щоб транспорт ЛЗ був вибіркоким, мембрана проникна для потоку певних речовин і непроникна для потоку інших, в тому числі й молекули-носія. Отже, полегшений транспорт не описується законом Фіка і має насичення при більш високій концентрації речовини. Полегшена дифузія не вимагає спеціальних енергетичних витрат за рахунок гідролізу АТФ. Ця особливість відрізняє полегшену дифузію від активного трансмембранного транспорту.

Активний транспорт є різновидністю перенесення ЛЗ крізь мембрану ентероцита за допомогою білків-переносників (транспортерів) проти градієнта концентрації. Він пов'язаний з витратою енергії і на нього використовується енергія АТФ або інші види енергії, на створення яких АТФ витрачалося раніше. Якщо безпосереднім джерелом цієї енергії слугує АТФ, таке перенесення називають первинно-активним. Якщо на перенесення використовується енергія (концентраційних, хімічних, електрохімічних градієнтів), раніше збережена за рахунок роботи іонних насосів, витрат АТФ, то такий транспорт називають вторинно-активним.

Для процесу активного транспорту характерною рисою є структурна або конформаційна відповідність між молекулами речовини, що переноситься, і молекулами, які здійснюють їх транспорт, насичуваність системи транспорту та можливість конкурентного його гальмування. Завдяки успіхам молекулярної біології і генетики, ідентифіковано та встановлено структуру багатьох білків, що транспортують різні ЛЗ. Існує й певна класифікація, побудована на тому, в якому напрямку білки транспортують речовини (всередину – influx або назовні – efflux клітини),

або який клас сполук вони переносять [22]. В останньому випадку їх підрозділяють на тих, що переносять крізь мембрану органічні катіони, аніони, нуклеозиди (influx). Окрім того, сюди відносять *P*-глікопротеїни (efflux), які виконують «охоронні» функції, не допускаючи в клітину чужорідні молекули і здійснюючи їх вихід крізь мембрану в просвіт кишечника. Це сімейство транспортерів множинної лікарської стійкості (MDR, multidrug resistance), що належать до класу *P*-глікопротеїнів (*Pgp*) і АВС-білків (ATP binding cassette proteins) – MDR1 або MRP2 з масою 170 кДа [23]. Вони локалізовані у плазматичних мембранах багатьох клітин і присутні переважно на апікальній мембрані ентероцитів, на верхівках війок. Також охарактеризовано й низку інших білків-транспортерів (MRP3, PgpT1, SGLT-1, NT2, GLUT1, GLUT3, GLUT5) [24]. Всі вони специфічні до широких груп лікарських речовин, здебільшого залежно від ступеня їх гідрофобності/гідрофільності. Більшість цих білків здійснюють транспорт гідрофільних речовин, передусім – пептидів. Переважне виведення ліпідних молекул (ліпофільних катіонів) показано лише для *Pgp* MDR1 [23].

На швидкість і кількість проникнення ЛЗ з кишечника в кров впливають також ферменти, які каталізують метаболізм ксенобіотиків у мембранах ентероцитів. Найбільш важливими з них є СУР-ферменти [25], серед яких СУР3А4 – найбільш поширена ізоформа кишечника. У дванадцятипалій кишці його активність незначна, але вона зростає в тонкому кишечнику і остаточно падає у товстому. Максимальна концентрація СУР3А4 відмічена на кінцях війок у верхній та середній третинах кишечника. Субстратами СУР3А4 в ентероцитах є багато ЛЗ, наприклад, верапаміл, дигоксин, циклоспорин, вінкрисдин, даунорубіцин, паклітаксел та ін. Основна реакція, яку каталізує СУР3А4 – окислення субстратів.

Незважаючи на незалежне генетичне регулювання синтезу СУР3А4 і *Pgp*, вони співлокалізуються на апікальній поверхні війок тонкого кишечника, що значно підвищує бар'єрну функцію ентероцитів, знижуючи кількість молекул ЛЗ, які проходять крізь ці клітини в системну циркуляцію [26].

Подолавши клітинний бар'єр за допомогою перелічених механізмів транспорту, молекули ЛЗ та їхні метаболіти виходять з ентероцита з його базолатеральної сторони і надходять крізь капіляри і портальну вену в печінку, де зазнають пресистемного метаболізму, що істотно знижує біодоступність, а звідси й ефективність.

Міжклітинний транспорт. Окрім клітинного проникнення, ділянки щільних контактів між ентероцитами також є проникними. Внесок такого шляху всмоктування вважають дуже низьким через їх малу сумарну площу (близько 0,1 % від кишкової поверхні) [27]. Ділянки контактів між ентероцитами «прошиті» двома трансмембранними білками (оклюдин та клаудин), карбоксильні кінці яких пов'язані з примембранними білками у цитоплазмі сусідніх клітин, ZO-1, ZO-2, ZO-3 та 7Н6 [28].

Також заслуговує уваги оригінальна модель щільних контактів, заснована на ліпід-білкових взаємодіях, що враховує участь мембранних ліпідів. Відповідно до цієї моделі щільні міжклітинні контакти – це асамблея ліпідних рафтів (щільних ділянок плазматичних мембран), а морфологію і фізіологію контактних ділянок визначають маловивчені взаємодії білків з рафтами мембран контактуючих клітин [29]. Визначено ряд речовин, що впливають на генному рівні на ці білки і сприяють деякому розкриттю щільних контактів. Деякі з них використовуються в системах доставки ліків як «посилюючі агенти» (enhancers). Тривалий (і за тимчасовою, і за просторовою протяжністю) шлях ЛЗ вдовж тонкого кишечника, в поєднанні з використанням таких речовин, незважаючи на низьку загальну площу проникнення, може призвести до поступового накопичення сполуки.

Отже, щільні контакти, наявні між сусідніми епітеліальними клітинами, обмежують транспорт розчиненого ЛЗ. Вони мають певні особливості у різних відділах ШКТ. Зі збільшенням щільності контактів між клітинами епітелію від тонкої кишки до прямої кишки, міжклітинне проникнення зменшується у такому ж напрямку. Тому маловірогідним є те, що цей шлях сприяє повному транспорту більшості ЛЗ, хоча молекули з незначною молекулярною масою (< 200 Da) є виключенням для такого твердження [30].

Таким чином, цілий ряд транспортних механізмів доступний для пероральних ЛЗ. Проникнення пасивним трансцелюлярним шляхом є переважаючим для задовільного всмоктування більшості препаратів. Близько 90 % ЛЗ всмоктуються в ШКТ за рахунок пасивної дифузії крізьклітинним шляхом. У певних умовах (випадках) інші процеси тільки сприяють транспорту і вони змінюються залежно від відділів ШКТ. Водночас СВШ є першим бар'єром на шляху проникнення речовин до клітини.

Підводячи підсумок розгляду механізмів транспорту речовин, необхідно ще раз підкреслити, що в процесі життєдіяльності бар'єр клітини перетинають різноманітні речовини, потоки яких ефективно регулюються. З цим завданням справляється клітинна мембрана з вбудованими в неї транспортними системами, що вміщують іонні насоси, систему білків-переносників і високоселективні іонні канали. Така велика кількість систем перенесення на перший погляд здається зайвою, адже робота тільки іонних насосів дозволяє забезпечити характерні особливості біологічного транспорту: високу вибірковість, перенесення речовин проти сил дифузії і електричного поля. Парадокс полягає, однак, у тому, що кількість потоків, які підлягають регулюванню, є нескінченно великим, тоді як насосів всього три. У цьому випадку особливого значення набувають механізми, в яких важливу роль відіграють дифузійні процеси. Таким чином, поєднання активного транспорту речовин з явищами дифузійного переносу в клітинній мембрані є тією основою, яка забезпечує нормальну життєдіяльність клітини.



СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ / REFERENCES

1. *Boroujerdi M.* Pharmacokinetics: Principles and applications. McGraw-Hill/Appleton and Lange; 2002. 528 p.
2. *Golovenko NYa, Borisyuk IYu.* The biopharmaceutical classification system-experimental model of prediction of drug bioavailability. *Biomed Chem.* 2008;2(3):235-44. DOI: 10.1134/S1990750808030037.
3. *Golovenko NYa, Borisyuk IYu, Kulinskiy MA, Polishchuk PG, Muratov EN.* Quantitative structure-property relationship analysis of drugs' pharmacokinetics within the framework of Biopharmaceutics Classification System using simplex representation of molecular structure. In: Gorb L, Kuz'min V, Muratov E, editors. Application of computational techniques in pharmacy and medicine. Series: Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics. Springer, Netherlands; 2014. p. 461-99. DOI: 10.1007/978-94-017-9257-8_14.
4. *Golovenko NYa.* [Pharmacokinetic monitoring is the key to rational pharmacotherapy]. *Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine.* 2012;18(4):440-50. Ukrainian.
5. *Golovenko NYa, Borisyuk IYu.* [Mechanisms of drug absorption in the gastrointestinal tract and methods for their modeling]. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry.* 2010;2:3-11. Russian.
6. *Lucas ML, Cooper BT, Lei FH, Holmes GK, Blair A, Cooke WT.* Acid microclimate in coeliac and Crohn's disease: a model for folate malabsorption. *Gut.* 1978;19:735-42. DOI: 10.1136/gut.19.8.735.
7. *Shanshan Kong, Yanhui H. Zhang, Weiqiang Zhang.* Regulation of intestinal epithelial cells properties and functions by amino acids. *BioMed Research International.* 2018;2018:2-12. DOI: 10.1155/2018/2819154.
8. *Brown AC Jr.* Microvilli of the human jejunal epithelial cell. *J Cell Biol.* 1962;12:623-27. DOI: 10.1083/jcb.12.3.623
9. *Takenaka T, Harada N, Kuze J, Chiba M, Iwao T, Matsunaga T.* Human small intestinal epithelial cells differentiated from adult intestinal stem cells as a novel system for predicting oral drug absorption in humans. *Drug Metab Dispos.* 2014;42(11):1947-54. DOI: 10.1124/dmd.114.059493.
10. *Larhed AW, Artursson P, Björk E.* The influence of intestinal mucous components on the diffusion of drugs. *Pharm Res.* 1998;15:66-71. DOI: 10.1023/a:1011948703571.
11. *Lennernäs H.* Human intestinal permeability. *J Pharm Sci.* 1998;87:403-10. DOI: 10.1021/js970332a.
12. *Thomson ABR, Dietchy JM.* The role of the unstirred water layer in intestinal permeation. In: Csaky TZ, editor. *Pharmacology of intestinal permeation II.* Springer, Berlin. 1984;165-269. DOI: 10.1007/978-3-642-69508-7_4.
13. *Mukherjee TM, Williams AW.* A comparative study of the ultrastructure of microvilli in the epithelium of small and large intestine of mice. *J Cell Biol.* 1967;34(2):447-61. DOI: 10.1083/jcb.34.2.447.
14. *Steen-Knudsen O.* Biological Membranes. Theory of transport, potentials and electric impulses. Cambridge: Cambridge University Press; 2002. 742 p.
15. *van de Waterbeemd H; van de Waterbeemd H, Lennernas H, Artursson P, editors.* Drug bioavailability: estimation of solubility, permeability, absorption and bioavailability. Weinheim: Wiley-VCH; 2003. 579p.
16. *Singer SJ, Nicolson GL.* The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science.* 1972;175:720-31. DOI: 10.1126/science.175.4023.720.
17. *Somerharju P, Virtanen JA, Cheng KH.* Lateral organization of membrane lipids. The super lattice view. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1440:32-48. DOI: 10.1016/s1388-1981(99)00106-7.
18. *Massaldi HA, Borzi CH.* The physico-chemical mechanism of mediated transport. I. Facilitated diffusion. *J Theor Biol.* 1984;106 (4):537-5. DOI: 10.1016/0022-5193(84)90006-7.
19. *Tieleman DP, Marrink SJ, Berendsen HJC.* A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid belated systems. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1331:235-70. DOI: 10.1016/s0304-4157(97)00008-7.
20. *Forrest LR.* Structural symmetry in membrane proteins. *Annu Rev Biophys.* 2015;44:311-37. DOI:10.1146/annurev-biophys-051013-023008.
21. *Chekman IS, Simonov PV.* Structure and function of biological membranes: the impact of nanoparticles. *International Journal of Physiology and Pathophysiology.* 2012;3(2):185-207. DOI: 10.1615/IntJPhysPathophys.v3.i2.80.
22. *Brinkmann U, Eichelbaum M.* Polymorphisms in the ABC drug transporter gene. *Pharmacogenomics J.* 2001;1(1):59-64. DOI: 10.1038/sj.tpj.6500001.
23. *Kim IW, Booth-Genthe C, Ambudkar SV.* Relationship between drugs and functional activity of various mammalian P-glycoproteins (ABC1). *Mini Rev Med Chem.* 2008;8(3):193-200. DOI: 10.2174/138955708783744100.
24. *Scheffer GL, Kool M, de Haas M.* Tissue distribution and induction of human MRP3. *Lab Invest.* 2002;82:193-201. DOI: 10.1038/labinvest.3780411.
25. *Kawauchi S, Nakamura T, Yasui H, Nishikawa C, Miki I, Inoue J et al.* Intestinal and hepatic expression of cytochrome P450s and mdr1a in rats with indomethacin-induced small intestinal ulcers. *Int J Med Sci.* 2014;11(12):1208-17. DOI: 10.7150/ijms.9866.
26. *Zhou SF.* Structure, function and regulation of Pglycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica.* 2008;38(7-8):802-32. DOI: 10.1080/00498250701867889.
27. *Nellans H.* Paracellular intestinal transport: modulation of absorption. *Adv Drug Deliv Rev.* 1991;7:339-64. DOI: 10.1016/0169-409X(91)90013-3.
28. *Salama NN, Eddington ND, Fasano A.* Tight junction modulation and its relationship to drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2006;58(1):15-28. DOI: 10.1016/j.addr.2006.01.003.
29. *Lee DB, Jamgotchian N, Allen SG.* A lipid-protein hybrid model for tight junction. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295(6):1601-12. DOI: 10.1152/ajprenal.00097.
30. *Karlsson J, Ungell AL, Grasjö J.* Paracellular drug transport across intestinal epithelia: influence of charge and induced water flux. *Eur J Pharm Sci.* 1999;9:47- 6. DOI: 10.1016/s0928-0987(99)00041-x.



Морфофункциональная характеристика устойчивого водного слоя эпителия кишечника и его роль в абсорбции/биодоступности лекарственных средств

(обзор литературы)

Н. Я. Головенко

Физико-химический институт
им. А. В. Богатского НАН Украины,
ул. Люстдорфская дорога, 86, Одесса 65080, Украина

Целью статьи является анализ основных морфологических и функциональных характеристик (недвижимого) устойчивого водного слоя (УВС) эпителия кишечника и его роли в молекулярных механизмах абсорбции/биодоступности лекарственных средств (ЛС) при их пероральном приеме. Приведены данные метода оценки толщины УВС, построенного на определении показателя эффективной проницаемости соединения (P_{eff}) при различных скоростях перфузионного потока в кишечнике и ее важности для определения абсорбции растворенного ЛС. Охарактеризован процесс всасывания (абсорбции) лекарств в желудочно-кишечном тракте, который обеспечивается такими физическими процессами как пассивная диффузия, облегченная диффузия и активный транспорт, происходящие с участием УВС, мембран и плотных контактов энтероцитов. Диффузия соединений, имеющих незначительные размеры, в цитоплазму является достаточно быстрым процессом и потому пассивная трансцеллюлярная проницаемость определяется только транс-

портом через апикальную мембрану клетки в кишечнике. Описаны механизмы чрезклеточного (трансцеллюлярного) и межклеточного (парацеллюлярного) транспорта препаратов в эпителии кишечника. Обсуждаются возможные молекулярные механизмы проникновения ЛС путем облегченной диффузии с помощью каналоформеров и белков-переносчиков, которые обеспечивают их транспорт без дополнительной энергии. Уделено внимание процессу активного транспорта, с помощью которого перенос препаратов через мембрану энтероцита осуществляется с помощью транспортеров против градиента концентрации и связан с расходом энергии за счет АТФ или других видов энергии, на создание которых АТФ использовался ранее. Приведена классификация таких транспортеров, построенная на том, в каком направлении белки транспортируют вещества (внутри – influx или наружу – efflux клетки) или какой класс органических соединений они переносят. Отмечена роль ферментной системы СУР3А4 энтероцитов в регуляции процессов метаболизма (окисления) ЛС, что сказывается на их общей биодоступности.

Ключевые слова: лекарственные средства, всасывание, эпителий кишечника, устойчивый водный слой, энтероцит, чрезклеточный транспорт, межклеточный транспорт.

Для цитирования: Головенко НЯ. Морфофункциональная характеристика устойчивого водного слоя эпителия кишечника и его роль в абсорбции / биодоступности лекарственных средств (обзор литературы). Журнал Национальной академии медицинских наук Украины. 2020;26(1-2):29–37. DOI: 10.37621/JNAMSU-2020-1-2-4.

Статья поступила в редакцию 25.03.2019 | Направлена на рецензирование 27.11.2019 | Принята в печать 03.12.2019.