

УДК:591.1

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ТРЕОНИНА НА ПРОЦЕССЫ ВСАСЫВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В КИШЕЧНИКЕ

Черная В.Н., Хомякова О.В., Коваль С.Я.

Проблема полноценного белкового питания человека и животных во все времена являлась актуальной [1]. Известно, что наиболее полноценным белком для питания человека является белок животного происхождения, содержащий все незаменимые для человека аминокислоты в достаточном количестве. Однако, при современном дефиците животного белка и в случае, когда возникает необходимость снизить уровень белка или продуктов животного происхождения (например, при заболеваниях мочевыводящей и сердечно-сосудистой систем), в рационе чаще всего заменяют белки животного происхождения растительными. Белки растительного происхождения имеют дефицит по ряду незаменимых аминокислот, для восполнения которого применяют биологически активные добавки, содержащие дефицитные аминокислоты в свободном состоянии. Чаще всего используют аминокислотные препараты микробиологического синтеза, которые содержат аминокислоты в наиболее доступной для организма L-форме. Использование синтетических аминокислот, при всей своей эффективности, может повлечь за собой ряд проблем. Известно [2], что при введении в пищу аминокислот в виде препаратов, свободные аминокислоты привносятся в содержимое кишечника в концентрациях больших, чем при расщеплении обычного пищевого белка. В процессе нормального гидролиза белка концентрация свободных аминокислот в химусе не повышается одновременно, а пролонгированно [3]. При введении свободных аминокислот в виде препаратов снижается скорость прохождения пищи по пищеварительному тракту [4]. Причем отмечается, что ингибирование этого процесса увеличивается с повышением уровня концентрации отдельных свободных аминокислот. Установлено [5,6], что при транспорте аминокислот, освобождающихся при гидролизе пептидов, не происходит конкуренции между мономерами за транспортный механизм. В то же время, в случае смеси двух или большего количества свободных аминокислот, между ними часто наблюдается конкурентные взаимоотношения.

Каждая аминокислота имеет определенную скорость абсорбции [7], но эта скорость варьирует в зависимости от присутствия других аминокислот, что создает конкуренцию за транспортные механизмы.

Таким образом, проблема взаимодействия свободных аминокислот при всасывании остается на сегодняшний день актуальной. Особенно это относится к тем аминокислотам, которые вводятся в качестве биологически активных добавок

для коррекции аминокислотного состава пищи при использовании низкопротеиновых рационов или рационов с использованием неполноценного для питания белков.

Одной из аминокислот, которая является лимитирующей при использовании в пищу значительного количества зерновых продуктов (из пшеницы, ячменя, кукурузы) является треонин. Данные продукты, как правило, требуют коррекции по содержанию лизина, метионина и триптофана. Однако треонин в данных продуктах является аминокислотой первого порядка лимитирования [8, 9]. Поэтому дополнительное совместное введение данных аминокислот в свободном состоянии требует более подробного изучения.

Для того, чтобы изучить вопрос о механизмах начального переноса веществ и о взаимодействии их как между собой, так и с переносчиками мембран клеток кишечника, был разработан метод аккумулирующего препарата слизистой [9], который в эксперименте *in vitro* дает наиболее полную картину трансмембранного переноса в кишечнике. Применение этого метода позволяет сделать вывод о том, какие взаимоотношения существуют между изучаемыми веществами в процессе резорбции.

Целью данного исследования было изучения взаимодействия свободного треонина с лизином, метионином и триптофаном при совместном введении в пищу в виде биологически активных добавок. Основными задачами, которые мы ставили в данной работе, было изучение взаимодействия свободного треонина при всасывании в кишечнике с препаратами лизина, метионина и триптофана.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте *in vitro* с использованием аккумулирующего препарата слизистой кишечника (АПС), который получали из тощей кишки цыплят [9] изучали характер взаимодействия свободных аминокислот при всасывании в кишечнике.

Для получения АПС 28-дневных цыплят (n=10) после 8 часового голодания декапировали, вскрывали брюшную полость и изолировали тонкий кишечник (без двенадцатиперстной кишки) на расстоянии 2 см от места впадения желчных и панкреатического протоков. Тонкую кишку промывали холодным раствором Рингера и помещали на ледяную баню. Затем каждую тонкую кишку делили на 7 отрезков по 3 см (группы 1 – 7), выворачивали отрезки слизистой наружу, надевали на стеклянную палочку и накладывали лигатуры из хлопчатобумажных нитей с обоих концов для предотвращения продольного и серозного протоков веществ при всасывании. АПС инкубировали в растворах субстрата при температуре 41⁰ С в течение 45 минут с постоянным насыщением его кислородом по схеме: группа 1 – в физиологическом растворе; группу 2 – в физиологическом растворе с добавкой 0,01 г/мл треонина; группу 3 – в физиологическом растворе с добавкой 0,01 г/мл лизина; группу 4 – в физиологическом растворе с добавкой по 0,01 г/мл лизина и треонина; группу 5 в физиологическом растворе с добавкой 0,01 г/мл метионина; группу 6 – в физиологическом растворе с добавкой по 0,01 г/мл метионина и треонина; группу 7 – в физиологическом растворе с добавкой 0,01 г/мл триптофана; группу 8 – в

физиологическом растворе с добавкой по 0,01 г/мл треонина и триптофана. После окончания инкубации препараты извлекали, слегка просушивали на фильтре и срезали лигатуры вместе с расположенными дистально от них остатками кишки. АПС взвешивали, затем гомогенизировали в 12%-ном растворе сульфосалициловой кислоты. Гомогенат выдерживали в течение 30 минут при периодическом перемешивании для более полного осаждения белков и экстракции содержащихся в стенке кишки свободных аминокислот. Затем гомогенат центрифугировали в течение 20 мин при 6 тыс. об/мин. В надосадочной жидкости количественно определяли свободные аминокислоты методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе Т-339. Для расчета концентрации накопления веществ в ткани тонкой кишки применяли следующую формулу (1):

$$N = \frac{E \times P \text{ ст} \times N \text{ ст мкМ}}{0,8 \times E \text{ ст} \times P}, \quad (1)$$

где N – концентрация накопленного вещества в ткани, в мкМ; N ст – концентрация стандартного раствора исследуемого вещества, в мкМ; E – экстинция пробы, мин; E ст – экстинция стандартного раствора, мин; P – вес определяемого препарата АПС, в мг; P ст – вес стандартного АПС, в мг; 0,8 – коэффициент, характеризующий содержание тканевой воды, в которой растворен субстрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты эксперимента показали (таблица 1), что в процессе всасывания в тонком кишечнике между изученными аминокислотами наблюдается различный характер взаимодействия.

При изучении характера взаимодействия треонина и лизина в процессе энтерального переноса анализ показал, что в исходном препарате тонкой кишки концентрация свободного треонина после инкубации в физиологическом растворе составила $75,85 \pm 0,92$ мкМ/г. После инкубации АПС в растворе с содержанием только треонина количество данной аминокислоты в ткани кишечника возросло 34,7% и стало составлять $102,18 \pm 0,84$ мкМ/г ($p \leq 0,05$). Количество свободного лизина в исходном препарате было равно $11,06 \pm 0,04$ мкМ/г, а после инкубации в растворе с лизином возросло в 5,5 раза до $61,38 \pm 0,54$ мкМ/г. После инкубации АПС в растворе с содержанием треонина и лизина, количество треонина в ткани тонкой кишки составило $122,15 \pm 0,68$ мкМ/г, что на $19,97$ мкМ/г (61,0%) больше, чем при инкубации в растворе с содержанием только треонина ($p \leq 0,05$). Таким образом, мы констатировали, что в присутствии свободного лизина достоверно усиливается процесс всасывания треонина. Уровень лизина в ткани кишки при инкубации в данном растворе также достоверно ($p \leq 0,05$) повышается до $84,23 \pm 0,86$ мкМ/г, что на $22,85$ мкМ/г (в 7,6 раз) больше, чем в препарате, который инкубировался в присутствии только лизина. Это может свидетельствовать о том, что в присутствии треонина интенсивность всасывания свободного лизина в тонком кишечнике увеличивается. В данном случае обнаруживается взаимное усиление всасывания свободных аминокислот, что свидетельствует о синергизме этих веществ в процессе энтерального переноса.

Таблица 1.
Содержание свободных аминокислот в ткани кишечника (мкМ/г) после инкубации АПС в растворах с различным аминокислотным составом

| Состав инкубационных растворов | Количество аминокислот в АПС | | | |
|--|------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | Треонин | Лизин | Метионин | Триптофан |
| Физиологический раствор- (контроль) % | 75,85±0,92 100 | 11,06±0,04 100 | 11,74±0,05 100 | 10,19±0,08 100 |
| Физ. раствор + 0,01г/мл треонина % к контролю | 102,18±0,84* 134,7 | - | - | - |
| Физ. раствор + 0,01г/мл лизина % к контролю | - | 61,38±0,54* 554,9 | - | - |
| Физ. раствор + по 0,01 г/мл треонина и лизина % к контролю | 122,15±0,68* 161,0 | 84,23±0,86* 761,6 | - | - |
| Физ. раствор + 0,01г/мл метионина % к контролю | - | - | 18,10±0,07* 154,2 | - |
| Физ. раствор + по 0,01г/мл треонина и метионина % к контролю | 92,78±0,59* 122,3 | - | 16,22±0,06* 138,2 | - |
| Физ. раствор + 0,01г/мл триптофана % к контролю | - | - | - | 35,55±0,21* 348,9 |
| Физ. раствор + по 0,01г/мл треонина и триптофана % к контролю | 81,39±0,38* 107,3 | - | - | 43,18±0,31* 423,8 |

* – разница показателя с контрольной группой достоверна ($p \leq 0,05$).

Изучение характера взаимодействия треонина и метионина в процессе всасывания показало, что между этими аминокислотами существует некоторая конкуренция при всасывании. Анализ результатов показал, что если после инкубации в растворе с содержанием только треонина количество данной аминокислоты в ткани кишечника возросло на 34,7% относительно исходного, то после инкубации в растворе с присутствием треонина и метионина количество треонина возросло только на 22,3% относительно содержания этой аминокислоты в ткани кишечника при инкубации АПС в физиологическом растворе. Количество свободного метионина в исходном препарате было равно 11,74±0,05 мкМ/г, а после инкубации в растворе только с метионином возросло до 18,10±0,07 мкМ/г (+54,2%). После инкубации АПС в растворе с содержанием треонина и метионина количество

метионина в ткани тонкой кишки составило $16,22 \pm 0,06$ мкМ/г, что несколько меньше (на 16,2%), чем при инкубации в присутствии только метионина. Таким образом, можно говорить о некоторой конкуренции данных веществ при всасывании, хотя между данными аминокислотами не отмечается ярко выраженного антагонистического взаимодействия. Сходные результаты были отмечены у некоторых других авторов [9].

Характер взаимодействия треонина и триптофана в процессе всасывания существенно отличается от его взаимодействия с лизином и метионином. Анализ показал, что триптофан выступает антагонистом треонина при энтеральном переносе, ингибирует его всасывание. Характер взаимодействия данных аминокислот был следующим: после инкубации АПС в растворе с присутствием треонина и триптофана количество треонина в АПС существенно (на 27,4% ($p \leq 0,05$)) уменьшилось и стало составлять $81,39 \pm 0,38$ мкМ/г при том, что в АПС после инкубации в растворе только с треонином накапливалось $102,18 \pm 1,84$ мкМ/г треонина при $75,85 \pm 0,92$ мкМ/г. Таким образом было установлено, что свободный триптофан ингибирует процесс резорбции свободного треонина.

Количество свободного триптофана в исходном препарате было равно $10,19 \pm 0,08$ мкМ/г, а после инкубации в растворе с триптофаном возросло до $35,55 \pm 0,21$ мкМ/г (в 3,5 раза). После инкубации АПС в растворе с содержанием треонина и триптофана количество триптофана в ткани тонкой кишки составило $43,18 \pm 0,31$ мкМ/г, что достоверно ($p \leq 0,05$) больше (на 74,9%), чем при инкубации в присутствии только триптофана. Данный результат может свидетельствовать о том, что присутствие треонина в инкубационном растворе стимулировало процесс всасывания триптофана.

Полученные в нашем исследовании результаты дают основание предполагать, что при использовании в пищу неполноценного для питания белка и улучшения его состава с помощью биологически активных добавок со свободными аминокислотами (например при вегетарианском питании) можно использовать добавки с треонином для улучшения усвоения лизина и триптофана. В то же время, при значительном дефиците треонина который возникает при питании преимущественно зерновыми продуктами [4], добавка свободного триптофана может снизить степень усвоения треонина, что повлечет за собой усиление общего дисбаланса по аминокислотному составу пищи.

ВЫВОДЫ

1. Обнаружено взаимное усиление всасывания свободных аминокислот лизина и треонина в процессе энтерального переноса.

2. В процессе всасывания в тонком кишечнике свободных аминокислот треонина и метионина существуют конкурентные взаимоотношения в процессе энтерального переноса. без выраженного антагонизма.

3. Свободный триптофан ингибирует процесс резорбции свободного треонина в тонком кишечнике.

4. Свободный треонин стимулирует процесс всасывания триптофана в тонком кишечнике.

Список литературы

1. Справочник по диетологии / Под ред. Самсонова Е.А., Покровского А.А. – М.: Медицина, 1992. – 464 с.
2. Уголев М.А. Пищеварение и его приспособительная эволюция. – М.: Высшая школа, 1961. – 302 с.
3. Вальдман А.Р. Транспортные и обменные процессы в кишечнике животных. – Рига: Зинатне, 1984. – 228 с.
4. Zebrowska T., Buraczewska L. Wplym pozicmu blankaw diecie na przebieg trawienia w jelicie cienkim swin. Cz. 11. Scybkosc trawienia I wchlaniaania aminokwasow // Pocz.Nank. Rol, 1972. – В.94, – N1. - P. 99-109.
5. Басова Н.А., Фелдмане А.М., Кушак Р.И. Усвоение «пептидного» и свободного триптофана у цыплят, получавших диеты с различным уровнем белка // Всасывание и обмен веществ у животных. - Рига: Зинатне, 1980. – С. 36 - 42.
6. Басова Н.А., Берзинь Н.И., Марков Ю.Г. Особенности транспорта аминокислот в тонкой кишке цыплят в условиях А-авитаминоза // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова, 1996. - Т.18, № 7. - С.40-47.
7. Wiseman G. Absorbption of protein digestion product // J. Physiol.Lond, 1956. - N 133. - P. 625-238.
8. Манк Дж. Транспорт аминокислот // Белковый обмен и питание. - М.: Колос, 1973. - 428 с.
9. Уголев А.М., Жигуре Д.А., Нуркс Е.Е. Аккумулирующий препарат слизистой - новый метод исследования начальных этапов переноса веществ через кишечную стенку // Физиологический журнал СССР. – 1970. – Т.56, № 11. – С. 27 - 36.

Поступила в редакцию 20.05.2006 г