

При обсуждении всех этих вопросов важное значение придается анализу основных кинетических констант транспортируемых аминокислот, характеризующих скорость процесса и средство аминокислоты к транспортному механизму. Транспорт аминокислот осуществляется лишь при наличии у этих соединений определенной стерической структуры, поэтому специальное внимание уделяется характеристике функциональных групп аминокислот, участвующих в образовании комплекса с переносчиком. Значительный интерес представляет изучение интенсивности транспорта аминокислот на разных стадиях онтогенетического развития животных и в различных отделах тонкой кишки. Наконец, сделана попытка обобщить данные, касающиеся возможности существования в кишечных эпителиоцитах транспортных систем, ответственных за выход аминокислот на базальном полюсе клетки и, таким образом, создать возможно полное представление об основных этапах всасывания аминокислот, связанных с их прохождением через слизистую оболочку тонкой кишки.

7.1. ФОРМА ПОСТУПЛЕНИЯ БЕЛКА В КРОВЬ

7.1.1. ИССЛЕДОВАНИЯ IN VIVO

До начала нынешнего столетия существовало мнение, что конечными продуктами гидролиза белка являются альбумины и пептоны, представляющие собой продукты неполного белкового переваривания. В связи с этим полагали, что указанные соединения являются основной формой всасывания белковых молекул. Открытие эрисина [107] — комплекса кишечных пептидаз, которому приписывали основную роль в гидролизе белка до аминокислот, а также обнаружение последних в кишечнике при переваривании белка способствовали формированию новой точки зрения, согласно которой аминокислоты, являющиеся конечными продуктами гидролиза белка, представляют собой основную форму всасывания белковых молекул. Эта гипотеза базируется на таких экспериментальных наблюдениях, как наличие аминокислот в тонкой кишке при переваривании белка, возможность существования животных на диете, содержащей только гидролизованный белок, и способность организма использовать аминокислоты, введенные внутривенно [218, 224, 355]. Однако наряду с данными, свидетельствующими о всасывании аминокислот, не исключалась возможность поступления в плазму крови аминокислотных комплексов (пептидов), не являющихся белками или пептонами. В частности, Абдергальден [63] предполагал, что аминокислоты, образующиеся при гидролизе белка, проходят через кишечную стенку, синтезируются в белки крови, которые в свою очередь являются материалом для образования специфических белков тканей. Однако эта точка зрения оказалась ошибочной и была обусловлена отсутствием точных аналитических методов опре-

деления аминокислот в крови [331]. По мнению Фолина и Дениса [154], белки пищи поступают в кровь в виде свободных аминокислот и в таком виде доставляются к мышцам и другим тканям.

Первые экспериментальные данные, свидетельствующие о поступлении в кровь продуктов полного гидролиза белка, были получены Ван-Слайком и Мейером [331]. Применяя специально разработанный метод определения аминного азота, они показали, что уровень его в брыжеечной и периферической крови кошек после введения аланина или скармливания белка резко повышается. Несколько позднее Эбел и соавт. [64] с помощью метода диализа обнаружили повышение уровня свободных аминокислот (аланина, валина, гистидина) в крови животных после белковой нагрузки. Повышение уровня аминокислот в крови после приема белка отмечали также Фолин и Бергланд [153], Хит и Фалертон [175] в наблюдениях на людях и Болтон и Райт [86] в экспериментах на кошках. Обращает на себя внимание тот факт, что уровень аминного азота в крови людей [155] и в крови цыплят [201] был выше после орального введения гидролизата белка, чем интактного белка. На основании этих данных Фри и Леонард [155] делают вывод, что при переваривании белка лимитирующим фактором является не скорость его гидролиза, а интенсивность всасывания аминокислот.

Для выяснения вопроса о форме всасывания белка в крови после белковой нагрузки определяли не только уровень свободных аминокислот, но и концентрацию в ней пептидов. Кристенсен и соавт. [103] давали испытуемым желатину, содержащую много глицина (25.5%) и аланина (8.7%). После такой нагрузки в периферической крови не отмечали увеличения концентрации глицин- и аланинсодержащих пептидов.

Однако наряду с данными, указывающими на всасывание перевариваемого белка в виде аминокислот, имеются наблюдения, свидетельствующие о возможности поступления в кровь продуктов неполного гидролиза белка — пептидов [20]. Лондон и Кочнева [21] показали, что в период кишечного пищеварения в портальной крови появляются сложные аминокислотные комплексы — полипептиды, уровень которых возрастает параллельно концентрации белка в кишечном химусе. По мнению Лондона и Ловцкого [22], образующиеся пептиды могут служить блоками для синтеза специфических белков организма. Кайори [92], основываясь на низкой активности кишечного сока у собак, недостаточной для переваривания пептона до дипептидов и аминокислот, высказал предположение о том, что всасывание полипептидов в кровь может происходить или частично в нерасщепленной форме, или пептидная активность связана с клетками слизистой оболочки тонкой кишки. Более вероятной представлялась вторая возможность, причем активность кишечного сока в этом случае он связывал с присутствием в нем десквамированных эпителиальных клеток слизистой оболочки.

По мнению Дента и Шиллинга [135], повышение концентрации аминокислот в портальной крови еще не служит доказательством их всасывания в кишечнике. Они полагают, что процесс синтеза тканевых белков из нерасщепленных или частично расщепленных белков пищи может сопровождаться увеличением уровня в венозной крови тех аминокислот, которые не вошли в состав синтезируемых тканевых белков. Исследуя портальную кровь собак после нагрузки различными белками (казеин, мясо, сывороточный альбумин крови человека, плазменные белки крови собаки), авторы пришли к выводу, что гомологичный плазменный белок всасывается или интактно, или в виде крупных фрагментов, а гетерологичные белки главным образом (если не полностью) поступают в кровь в виде свободных аминокислот. В дополнение к этой работе Кристенсен [99] приводит данные, свидетельствующие о присутствии в крови воротной и яремной вен собак небольших количеств пептидов. Однако основная масса белка, по его мнению, всасывается в форме свободных аминокислот.

Левенсон и соавт. [208], повторив опыты Дента и Шиллинга, показали, что у здоровых интактных животных переваривание гомологичных белков плазмы ничем не отличается от переваривания других пищевых белков и происходит путем полного их расщепления до аминокислот. Содержание свободных аминокислот в крови брыжеечных сосудов собак после скармливания плазменных белков было столь же велико, как и у животных, получавших печень.

В середине 50-х годов гипотеза о всасывании интактных или частично расщепленных белков была поддержана Фишером [145—147]. По его мнению, всасывание белков или пептидов является в первую очередь следствием низкой активности кишечного сока, не соответствующей высоким скоростям переваривания белка в организме. Однако, как будет показано ниже, активность кишечного сока действительно играет незначительную роль в переваривании белка. Этот процесс осуществляется почти исключительно ферментами, связанными с клетками эпителия тонкой кишки.

Весь ход последующих исследований, выполненных с применением различных методических подходов, убедительно показал, что в тонкой кишке высших животных полный протеолиз всегда предшествует всасыванию аминокислот в кровь. Так, используя ферментативный метод определения остаточного и аминного азота, Паршин и Рубель [28] обнаружили резкое увеличение этих показателей в фильтрате венозной крови собак и кошек после приема богатой белком пищи. Как в острых, так и в хронических опытах пептиды в крови не были обнаружены. В экспериментах на собаках не наблюдали разницы между метаболизмом меченого лизин- ^{14}C плазменного белка и смеси аминокислот, содержащей эквивалентное количество L-лизин- ^{14}C [357]. При помощи колоночной хроматографии из депротенизированной плазмы

крови человека оказалось возможно выделить 28 нингидрин-положительных соединений, что составляет около 100% аминокислот, однако пептиды в венозной крови как голодных, так и получавших белки животных найдены не были [323]. Дентон и соавт. [136, 137] показали быстрое увеличение концентрации свободных аминокислот в портальной крови собак после скармливания мяса или казеина, а также рациона, в котором источником белка служили аминокислоты. Во всех случаях увеличение содержания аминокислот в крови было пропорционально количеству поступающего белка. Наличие пептидов в венозной крови людей не было обнаружено и после приема меченого ^{15}N дрожжевого белка или его гидролизата [114]. При изучении всасывания в желудочно-кишечном тракте крыс меченого ^{14}C белка хлореллы хроматографическое и автордиографическое исследование показало присутствие в кишечном содержимом радиоактивных пептидов и аминокислот, но в слизистой оболочке кишки и крови отсутствовали даже следы пептидов [130]. Доусон и Портер [131] отмечали, что через 3 часа после кормления ассимилировалось 60% меченого белка водорослей, причем, как показало исследование фракций крови, наиболее значительные изменения ^{14}C -активности отмечались в аминокислотном составе плазмы.

Отсутствие пептидов в крови наблюдали в экспериментах не только с пищевыми белками, но и с модельными пептидами. Так, в опытах Бера и соавт. [81] введенный в двенадцатиперстную кишку валин-октапептид не был обнаружен в циркулирующей крови ни у одного из исследованных животных (собак, кошек, кроликов). Таким образом, в пользу того, что аминокислоты являются единственной формой поступления белка в кровь, свидетельствует не только анализ их прироста в портальной крови, но и отсутствие в ней пептидов.

Однако полученные данные относятся исключительно к животным, находящимся на дефинитивном питании. Исследования, выполненные на новорожденных млекопитающих, показали, что в ранний постнатальный период, когда у человека и животных еще не функционируют механизмы, ответственные за расщепление белка, он может всасываться в интактной форме. В этом случае поступление белка внутрь клеток слизистой оболочки тонкой кишки осуществляется путем пиноцитоза [38, 269, 341, 354]. Таким путем в организм новорожденных поступают, в частности, белки молока и антитела матери. У взрослых особей всасывание интактного белка в норме не имеет места. Оно наблюдается лишь при патологии и часто сопровождается аллергической реакцией [290, 303].

Необходимо отметить, что во всех рассмотренных экспериментах увеличение уровня аминокислот в портальной и периферической крови имело некоторую связь с составом скармливаемого белка. Однако эта зависимость не является прямой, так как аминокислотный состав кишечного содержимого определяется не только

составом перевариваемого белка, но и существенно зависит от содержания эндогенных белков пищеварительных соков, слизи, десквамированных эпителиальных клеток слизистой оболочки тонкой кишки и т. д. [29, 241, 242].

7.1.2. ИССЛЕДОВАНИЯ IN VITRO

Особое место в решении вопроса о роли аминокислот во всасывании белка принадлежит методам *in vitro*, в частности опытам с изолированными отрезками кишки, перфузируемыми оксигенированным солевым раствором [148], и в особенности экспериментам с вывернутыми кишечными «мешочками» [346]. Только благодаря этим экспериментам удалось окончательно решить вопрос о форме поступления белковых веществ в кровь. Правда, в опытах *in vitro* ход транспорта отличается от такового *in vivo*, но сохраняется основной и лимитирующий этап транспорта — прохождение транспортируемого вещества через кишечный эпителиоцит.

Уже в первых модельных экспериментах [71] с перфузией сегмента кишки солевым раствором, содержащим глицилглицин или глицилглицилглицин, в серозной жидкости, окружающей отрезок кишки, обнаруживали глицин и небольшое количество глицилглицина. При использовании в качестве субстрата L-лейцилглицина в серозной жидкости находили свободные аминокислоты и лишь следы дипептида. Аналогичные результаты были получены Ньюи и Смитом [250, 251] при исследовании всасывания глициллейцина, глицилтирозина, DL-аланил-DL-аланина и глицилглицина как в опытах *in vivo*, так и *in vitro*. В крови или серозной жидкости обнаруживали высокий уровень аминокислот; пептиды не были найдены или находились в ничтожных количествах. В опытах с вывернутыми кишечными «мешочками» Виганс и Джонстон [193, 336, 337] также показали, что ни один из исследованных ди- и трипептидов (L-аланил-L-фенилаланин, DL-аланил-DL-фенилаланин, β -аланил-DL-фенилаланин, L-лейцил-L-тирозин, триглицин) не проникал через кишечную стенку. Отсутствие пептидов в кишечной стенке отмечали также Уголев и Кушак [13, 18, 49] при инкубации вывернутых (дигенных активного транспорта) отрезков тонкой кишки крысы, а также Цыплят и карпов в растворах глицил-L-лейцина, глицил-L-тирозина и глицил-DL- α -аланина. В то же время при инкубации аккумулялирующих препаратов слизистой (АПС) [43] в растворах дипептидов (глицил-L-лейцин и глицилглицин) в клетках тонкой кишки обнаруживается высокий уровень аминокислот [45, 16].

Следовательно, эксперименты *in vitro* не только подтвердили данные, полученные в опытах *in vivo*, о невозможности проникновения пептидов в кровь, но и показали их отсутствие уже на уровне кишечных эпителиоцитов. Аминокислоты, таким образом, являются единственной формой транспорта белка в кровяное

русло у человека и животных. Исключение составляют только оксипролиновые пептиды, которые в отличие от других пептидов в значительных количествах обнаруживаются в моче, что, по-видимому, связано с отсутствием в организме ферментативного механизма, расщепляющего эти соединения [215, 273]. Их всасывание, вероятно, происходит путем диффузии. Было подсчитано, что если отношение других аминокислот к оксипролину в пептидах такое же, как и в желатине, то в этом случае из 25 г перевариваемой желатины 2 г будет всасываться в форме пептидов. У людей в день с мочой экскретируется 1 г пептидов, состоящих из 37 различных соединений, 18 из которых содержат оксипролин [232]. Остальные представляют собой β -аспарагиловые и β -глутамиловые пептиды, также устойчивые к ферментативному гидролизу.

По-видимому, в очень ограниченном размере способны проникать через кишечную стенку такие мелкие пептиды, как глицилглицин и, возможно, некоторые другие трудногидролизуемые дипептиды [89]. Как и в экспериментах Агара и соавт. [71], во всех последующих опытах, где использовали глицилглицин или более сложные глицинсодержащие пептиды, в крови или серозном растворе кроме глицина обнаруживали еще около 10% глицилглицина [33, 47, 112, 251, 266, 305, 337].

Итак, представленные эксперименты, выполненные как в условиях *in vivo*, так и *in vitro*, позволили выяснить одну сторону проблемы всасывания белка — форму его поступления в кровяное русло. Однако они не дают ответа на вопрос, где в кишечнике — основном органе пищеварения — происходит протеолиз, т. е. где локализуются ферментные системы, обеспечивающие освобождение аминокислот из белка.

7.2. ФОРМА ПОСТУПЛЕНИЯ БЕЛКА В КИШЕЧНЫЕ ЭПИТЕЛИОЦИТЫ

Как уже отмечалось, вопрос о форме поступления белка в кишечные эпителиоциты с исчерпанной каемкой имеет принципиальное значение для выяснения локализации механизмов, ответственных за транспорт аминокислот. Если аминокислоты поступают в кишечные эпителиоциты в форме пептидов, то механизм транспорта аминокислот должен находиться внутри этих клеток. Если же гидролиз пептидов предшествует транспорту образующихся аминокислот, то можно предположить, что транспортные системы будут связаны с цитоплазматической мембраной.

Этот вопрос волнует исследователей уже с 50-х годов. Основанием для него послужили многочисленные данные, свидетельствующие о несоответствии низкой протеолитической активности кишечного сока и высоких скоростей гидролиза белка в кишечнике [21, 88, 92, 130, 138, 145]. Наблюдения такого рода, а также данные о высокой пептидазной активности клеток эпителия слизистой

оболочки тонкой кишки послужили основанием для гипотезы о внутриклеточном гидролизе пептидов. Это предположение, высказанное Кайори [92], получило свое дальнейшее развитие в работах других авторов [71, 252, 310, 336]. В настоящее время этой точки зрения по-прежнему придерживаются многие исследователи [157, 177, 221, 225, 263, 264, 266, 284].

Согласно гипотезе внутриклеточного пищеварения, пептиды, образующиеся в полости желудочно-кишечного тракта под действием эндо- и экзопептидаз желудочного сока и сока поджелудочной железы, проникают внутрь кишечных эпителиоцитов и расщепляются там под действием интрацеллюлярных пептидаз. Образующиеся при гидролизе аминокислоты транспортируются к базальной мембране или частично выходят обратно в мукозный раствор [254, 310]. Схематически этот механизм можно представить следующим образом: предварительный полостной гидролиз → всасывание пептидов в клетку → окончательный внутриклеточный гидролиз → транспорт аминокислот в кровь [36].

Однако следует заметить, что анализ данных сторонников внутриклеточного пищеварения пептидов по сути дела свидетельствует не о локализации пептидаз во внутриклеточной жидкости, а лишь об их связи с кишечными эпителиоцитами или их структурами. Поэтому многие из указанных авторов не исключали возможности иной локализации пептидаз, в частности связанной с поверхностью кишечных эпителиоцитов [220, 252].

Наряду с гипотезой о внутриклеточном гидролизе пептидов существует и другая точка зрения, согласно которой промежуточные и заключительные этапы расщепления белковых молекул осуществляются не интрацеллюлярно, а с помощью пептидаз, фиксированных на наружной поверхности мембран клеток слизистой оболочки тонкой кишки (теория мембранного или пристеночного пищеварения) [36—38, 40, 42]. Уголевым и его сотрудниками был разработан ряд экспериментальных критериев (конвекционный, концентрационный, диффузионный и др.), позволяющих дифференцировать процессы гидролиза, происходящие внутри кишечных эпителиоцитов и на наружной поверхности клеточных мембран. С их помощью было показано, что у млекопитающих расщепление олигопептидов различной длины и состава (глицил-глицил-L-лейцилглицин, глицил-глицил-D-лейцил, глицил-L-лейцил, DL-аланил-DL-серин, глицил-L-тирозил, глицил-DL-α-аланин) предшествует их всасыванию через клеточную мембрану [10, 18, 31—33, 44, 47—49]. Аналогичный мембранный механизм пептидного пищеварения существует также у птиц [11, 13, 50], рыб и представителей класса беспозвоночных [12, 13, 45, 52].

В соответствии с теорией мембранного пищеварения переваривание белка в организме происходит в три этапа: предварительный полостной гидролиз—мембранный гидролиз—всасывание (рис. 7.1). Как видно из рисунка, мембранное пищеварение является проме-

жуточным звеном между полостным пищеварением и всасыванием и в случае белкового гидролиза выполняет функцию основного поставщика аминокислот для транспорта. Оно осуществляется с помощью ферментов, расположенных на наружной поверхности

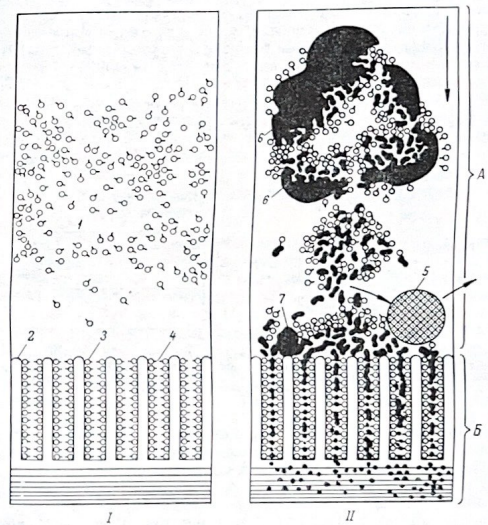


Рис. 7.1. Взаимоотношения полостного и мембранного пищеварения без пищевых веществ (I) и при их наличии (II). (По [35]).

А — полостное пищеварение, Б — мембранное пищеварение и всасывание. 1 — ферменты в полости тонкой кишки, 2 — микроворсинки, 3 — ферменты на поверхности микроворсинок, 4 — поры несчерченной каемки кишечного эпителиоцита, 5 — микробы, 6, 7 — пищевые вещества на разных стадиях гидролиза.

мембран кишечных эпителиоцитов в процессе контакта с ними пищевых субстратов. Сходным образом представляют себе переваривание белка и некоторые другие исследователи [143, 160].

Из представленной на рис. 7.1 схемы мембранного пищеварения следует, что одним из наиболее важных его преимуществ является тесная связь с процессами всасывания. Благодаря тому

что в случае мембранного пищеварения гидролиз пептидов предшествует их всасыванию, создаются чрезвычайно благоприятные условия для сопряжения как в пространстве, так и во времени собственно пищеварительных и транспортных процессов, которое осуществляется, по-видимому, в пределах пищеварительно-транспортного конвейера [36, 38—40, 116—118]. В то же время деятельности внутриклеточного механизма должно предшествовать всасывание пептидов, которое происходит путем диффузии [310]. Правда, в последнее время высказывается предположение, что

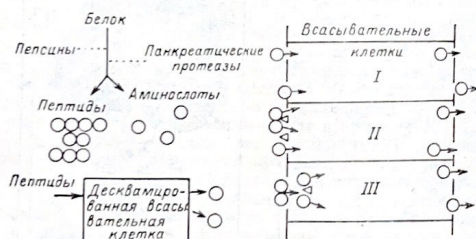


Рис. 7.2. Схема всасывания белка. (По [219]).

I — поступление аминокислот с помощью различных систем; II — поверхностный гидролиз пептидов, сопровождающийся поступлением аминокислот; III — поступление пептидов с помощью одной или нескольких систем транспорта пептидов, сопровождаемое интрацеллюлярным гидролизом.

транспорт пептидов может происходить с помощью тех же систем, что и транспорт свободных аминокислот [221], или с помощью специальных переносчиков пептидов [65, 96].

В последнее время наряду с альтернативой — внутриклеточное или мембранное пищеварение — были высказаны предположения об одновременном функционировании обоих механизмов. В этой связи интересно привести схему Метьюза [219], одного из видных сторонников теории внутриклеточного гидролиза пептидов. Автор допускает возможность освобождения аминокислот как после внутриклеточного, так и после мембранного гидролиза пептидов (рис. 7.2). Аналогичной точки зрения придерживаются Силк и соавт. [305]. Питерс и Мак-Махон [285, 266] также считают, что переваривание пептидов включает в себя (кроме предварительного полостного гидролиза и всасывания) процессы внутриклеточного и мембранного пищеварения. По их мнению, гидролиз олигопептидов осуществляется с помощью аминокислотполипептидаз исчерпанной каемки, а образующиеся дипептиды транспортируются внутрь кишечных эпителиоцитов и расщепляются там под действием интрацеллюлярных дипептидаз.

Совсем недавно было высказано предположение, согласно которому у человека одновременно и независимо функционируют механизмы как мембранного, так и внутриклеточного пищеварения. Олигопептиды, состоящие из нейтральных и основных аминокислот, расщепляются до мономеров пептидазами исчерпанной каемки на поверхности кишечных эпителиоцитов, а аминокислоты, глицины и кислые аминокислоты поступают в клетки в виде пептидов и расщепляются в них под действием внутриклеточных пептидаз [255, 256].

Таким образом, в настоящее время вопрос о форме поступления белка в кишечные эпителиоциты продолжает дискутироваться [261]. Однако все больше исследователей склоняются к тому, что в этом процессе участвуют ферменты, расположенные на поверхности мембран кишечных эпителиоцитов.

7.3. МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА АМИНОКИСЛОТ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

В процессе всасывания пищевых веществ в кишечнике участвуют многочисленные физические и химические факторы, такие как внутриполостное давление, фильтрационное давление, градиент концентраций, осмотическое давление, время контакта, диффузия и мн. др. Однако основными факторами, определяющими всасывание неэлектролитов, и в частности аминокислот, являются организация и свойства самой мембраны эпителиальных клеток кишечника. В этом плане всасывание аминокислот в кишечнике является частным вопросом одной из актуальнейших проблем современной биологии — проблемы проницаемости биологических мембран [4, 5, 25—27, 34, 76, 126, 132, 184, 209, 216, 270, 271, 294, 307, 322].

По своему строению мембрана кишечных эпителиоцитов с исчерпанной каемкой, по-видимому, аналогична элементарной мембране Робертсона [285], состоящей из двух белковых слоев, разделенных липидным слоем, непроницаемым для гидрофильных веществ. Правда, в последние годы появилось большое количество данных, свидетельствующих о глобулярном строении мембраны. По мнению ряда авторов, основным компонентом мембраны являются глобулы белка, в который включены липиды, или она представляет собой мозаику глобулярных белков и липидов, причем последние составляют скелет мембраны [2, 8, 165, 205, 306, 307, 333]. Однако в настоящее время большинство данных находит свое объяснение с точки зрения ламеллярной теории строения мембраны, хотя ряд наблюдений, касающихся, в частности, механизма транспорта, можно с успехом интерпретировать с помощью глобулярной теории. При анализе транспортных процессов, по-видимому, следует учитывать и характер примембранных слоев, содержащих полисахариды, гидрофильные белки и некоторые минорные компоненты и образующих совместно с гидро-

что в случае мембранного пищеварения гидролиз пептидов предшествует их всасыванию, создаются чрезвычайно благоприятные условия для сопряжения как в пространстве, так и во времени собственно пищеварительных и транспортных процессов, которое осуществляется, по-видимому, в пределах пищеварительно-транспортного конвейера [36, 38—40, 116—118]. В то же время деятельности внутриклеточного механизма должно предшествовать всасывание пептидов, которое происходит путем диффузии [310]. Правда, в последнее время высказывается предположение, что

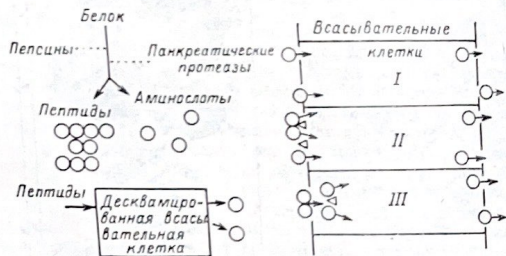


Рис. 7.2. Схема всасывания белка. (По [219]).

I — поступление аминокислот с помощью различных систем; II — поверхностный гидролиз пептидов, сопровождающийся поступлением аминокислот; III — поступление дипептидов с помощью одной или нескольких систем транспорта пептидов, сопровождаемое интрацеллюлярным гидролизом.

транспорт пептидов может происходить с помощью тех же систем, что и транспорт свободных аминокислот [221], или с помощью специальных переносчиков пептидов [65, 96].

В последнее время наряду с альтернативой — внутриклеточное или мембранное пищеварение — были высказаны предположения об одновременном функционировании обоих механизмов. В этой связи интересно привести схему Метьюза [219], одного из видных сторонников теории внутриклеточного гидролиза пептидов. Автор допускает возможность освобождения аминокислот как после внутриклеточного, так и после мембранного гидролиза пептидов (рис. 7.2). Аналогичной точки зрения придерживаются Силк и соавт. [305]. Питерс и Мак-Махон [265, 266] также считают, что переваривание пептидов включает в себя (кроме предварительного полостного гидролиза и всасывания) процессы внутриклеточного и мембранного пищеварения. По их мнению, гидролиз олигопептидов осуществляется с помощью аминокислотидаз исчерченной каемки, а образующиеся дипептиды транспортируются внутрь кишечных эпителиоцитов и расщепляются там под действием интрацеллюлярных дипептидаз.

Совсем недавно было высказано предположение, согласно которому у человека одновременно и независимо функционируют механизмы как мембранного, так и внутриклеточного пищеварения. Олигопептиды, состоящие из нейтральных и основных аминокислот, расщепляются до мономеров пептидазами исчерченной каемки на поверхности кишечных эпителиоцитов, а аминокислоты, глицин и кислые аминокислоты поступают в клетки в виде пептидов и расщепляются в них под действием внутриклеточных пептидаз [255, 256].

Таким образом, в настоящее время вопрос о форме поступления белка в кишечные эпителиоциты продолжает дискутироваться [261]. Однако все больше исследователей склоняются к тому, что в этом процессе участвуют ферменты, расположенные на поверхности мембран кишечных эпителиоцитов.

7.3. МЕХАНИЗМЫ ТРАНСПОРТА АМИНОКИСЛОТ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

В процессе всасывания пищевых веществ в кишечнике участвуют многочисленные физические и химические факторы, такие как внутриполостное давление, фильтрационное давление, градиент концентраций, осмотическое давление, время контакта, диффузия и мн. др. Однако основными факторами, определяющими всасывание неэлектролитов, и в частности аминокислот, являются организация и свойства самой мембраны эпителиальных клеток кишечника. В этом плане всасывание аминокислот в кишечнике является частным вопросом одной из актуальнейших проблем современной биологии — проблемы проницаемости биологических мембран [4, 5, 25—27, 34, 76, 126, 132, 184, 209, 216, 270, 271, 294, 307, 322].

По своему строению мембрана кишечных эпителиоцитов с исчерченной каемкой, по-видимому, аналогична элементарной мембране Робертсона [285], состоящей из двух белковых слоев, разделенных липидным слоем, непроницаемым для гидрофильных веществ. Правда, в последние годы появилось большое количество данных, свидетельствующих о глобулярном строении мембраны. По мнению ряда авторов, основным компонентом мембраны являются глобулы белка, в который включены липиды, или она представляет собой мозаику глобулярных белков и липидов, причем последние составляют скелет мембраны [2, 8, 165, 205, 306, 307, 333]. Однако в настоящее время большинство данных находит свое объяснение с точки зрения ламеллярной теории строения мембраны, хотя ряд наблюдений, касающихся в частности, механизма транспорта, можно с успехом интерпретировать с помощью глобулярной теории. При анализе транспортных процессов, по-видимому, следует учитывать и характер примембранных слоев, содержащих полисахариды, гидрофильные белки и некоторые минорные компоненты и образующих совместно с гидро-

фобным остовом мембраны так называемую «толстую мембрану» [8, 40].

С позиций трехслойного строения мембраны транспорт через нее воды и некоторых низкомолекулярных гидрофильных соединений (мочевина, метанол, этиленгликоль), по всей вероятности, связан с наличием в мембране кишечных эпителиоцитов, так же как и в мембране эритроцитов, белковых пор, эквивалентный радиус которых, по данным Линдемана и Соломона [213], составляет примерно 0,4 нм. Наличие в мембране водорастворимых пор обеспечивает возможность поступления аминокислот в клетку путем диффузии по электрохимическому градиенту. Однако, как будет показано ниже, этот путь транспорта не является единственным и тем более основным способом поступления аминокислот в клетки слизистой оболочки тонкой кишки.

7.3.1. ДИФфуЗИЯ (ПАСИВНЫЙ ТРАНСПОРТ)

Большинство исследователей до 1950 г. придавало этому процессу основное значение во всасывании аминокислот в кишечнике. Так, Болтон и Райт [86], исследуя содержание аминокислот в цельной крови и плазме ряда сосудов кошек, установили, что всасывание аминокислот из кишечника происходит в соответствии с физическим законом диффузии. Детальное исследование этого вопроса было проведено Кратцером [201]. Он вводил анестезированным цыплятам через желудочный зонд растворы аминокислот и через определенное время определял их концентрацию в полости кишечника. Оказалось, что скорость исчезновения аминокислот (глицина, аланина, аспарагиновой кислоты, пролина, глутаминовой кислоты, треонина, гистидина, лизина, лейцина, метионина, аргинина, фенилаланина, тирозина, триптофана, цистина) была обратно пропорциональна молекулярному объему поступающих соединений. Следовательно, всасывание аминокислот у цыплят является функцией скорости и не контролируется никакими клеточными механизмами. Аналогичные результаты были получены другими авторами в опытах на млекопитающих [94, 95, 204, 342].

О роли диффузии в транспорте аминокислот свидетельствуют также одинаковые скорости всасывания их L- и D-стереоизомеров. Так, в опытах на кроликах Джонстон и Льюис [194] не наблюдали различий между скоростями исчезновения из кишечника L- и DL-форм аланина. С одинаковой интенсивностью происходит всасывание у крыс изомеров аланина [342], а также триптофана [83], валина [93], лейцина, изолейцина [95], цистина и метионина [180], а также цистина у собак [78]. Однако следует заметить, что диффузия является медленным процессом и по своей интенсивности не соответствует высоким скоростям всасывания аминокислот в кишечнике. Более того, она прекращается после выравнивания концентраций транспортируемого вещества по обе стороны мем-

браны. Поэтому можно было ожидать, что во всасывании аминокислот кроме диффузии принимают участие иные механизмы, обладающие более высокой активностью.

7.3.2. АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Первые возражения относительно главенствующей роли диффузии во всасывании аминокислот были высказаны Хобером и Хобером [182, 183]. Ими было показано, что всасывание глицина, валина и аланина в изолированной тонкой кишке крысы происходит со скоростью, значительно превышающей скорость диффузии. Кроме того, авторы установили, что, несмотря на близкие молекулярные размеры малонамида и аланина, последний всасывается в 2 раза быстрее. Необычным был и тот факт, что меньшей концентрации аминокислот в кишечнике соответствовала более высокая скорость всасывания, тогда как для диффузии характерна прямая связь между этими величинами. На основании полученных данных было высказано предположение о существовании в кишечнике специального механизма ускоренного всасывания аминокислот. Спустя более 10 лет, Джибсон и Уайзмен [164] в опытах на крысах, используя технику Кори [109] и специальный ферментативный метод для дифференциации стереоизомеров, впервые показали, что всасывание L-изомеров 13 аминокислот из препаратов происходит значительно быстрее, чем соответствующих D-энантиомеров, имеющих аналогичные размеры и вес (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Всасывание L- и D-аминокислот из DL-смеси, введенной в нижнюю часть подвздошной кишки анестезированных крыс (в мкМ) [164]

DL-аминокислота	Введено	Адсорбировано		L/D
		L-формы	D-формы	
Гистидин	232	84	14	6.0
Фенилаланин	156	54	10	5.4
Глутаминовая кислота	192	49	10	4.9
Лизин	168	38	10	3.8
Валин	222	69	22	3.1
Аспарагиновая кислота	206	46	17	2.7
α -Аминомелниновая кислота	244	46	19	2.4
Лейцин	200	48	21	2.3
Аланин	256	48	22	2.2
Изолейцин	184	54	25	2.2
α -Аминоадипиновая кислота	146	31	16	1.9
Норлейцин	282	55	32	1.7
Метионин	272	104	64	1.6

Наиболее высокое соотношение (равное 6) между транспортируемыми формами L- и D-аминокислот было обнаружено для ги-

стидина, наиболее низкое (1.6) — для метионина. Столь высокая интенсивность транспорта L-аминокислот по сравнению с D-формами дает основание считать, что всасывание L-аминокислот не определяется только диффузией, а является активным процессом. Преимущественное всасывание L-изомеров аланина и гистидина по сравнению с D-формами было установлено и в опытах *in situ* на собаках с петлей по Тири—Велла [105]. В экспериментах на кошках Метьюз и Смит [227] показали, что при введении в изолированную петлю тонкой кишки рацематов аланина, фенилаланина или лейцина в оттекающей крови содержится больше L-изомеров аминокислот, чем соответствующих D-форм. Избирательное всасывание L-изомеров аланина, валина, метионина, гистидина, лизина, треонина, изолейцина, триптофана обнаружено также в наблюдениях на людях [202], а L-изомеров гистидина и метионина — в экспериментах на цыплятах с фистулой тонкой кишки по Тири—Велла [258]. Аналогичные результаты были получены и в опытах *in vitro*, причем оказалось, что концентрация L-аминокислот (но не D-изомеров) на серозной стороне кишки в большинстве случаев была выше, чем в растворе, омывающем слизистую оболочку (первоначально концентрация аминокислот в серозном и мукозном растворах была одинаковой).

Избирательное всасывание против градиента концентрации L-изомеров является одной из отличительных черт транспорта аминокислот, свидетельствующей об активной природе этого процесса. Как известно, в случае диффузии содержание аминокислот в клетке не может превышать их уровня в экстрацеллюлярной среде. Агар и соавт. [71] в опытах с изолированными отрезками тонкой кишки крыс наблюдали транспорт против градиента концентрации L-гистидина и L-фенилаланина (но не D-форм соответствующих аминокислот). L-глутаминовая кислота в этих экспериментах транспортировалась без изменения концентрации по обе стороны кишечной стенки. Отсутствие транспорта через стенку кишки глутаминовой и аспарагиновой кислот отметил также Уайзмен [349]. Все другие исследованные L-аминокислоты (аланин, фенилаланин, метионин, гистидин, изолейцин) транспортировались против градиента концентрации, тогда как D-изомеры этих аминокислот такой способностью не обладали. Транспорт против градиента концентраций L-изомеров наблюдали для большинства известных аминокислот как в опытах *in vivo*, так и *in vitro* (табл. 7.2).

Об активной природе всасывания аминокислот свидетельствует и тот факт, что скорость процесса в значительной степени зависит от концентрации транспортируемого вещества. На это обстоятельство одними из первых обратили внимание Цуверкалов и соавт. [55]. Они отмечали, что концентрированные растворы аминокислот всасываются медленнее, чем разбавленные. В дальнейшем аналогичное наблюдение было сделано также Хобером и Хобером [182, 183], а позднее его подтвердили и другие исследователи [276, 302,

Т а б л и ц а 7.2

Транспорт L-аминокислот против градиента концентрации в тонкой кишке животных

Транспортируемое вещество	Метод	Объект исследования	Источник
Гистидин, фенилаланин, глутаминовая кислота, лизин, валин, аспарагиновая кислота, α-аминоизометиловая кислота, лейцин, аланин, изолейцин, α-аминоизопропионовая кислота, порлейцин, метионин	Изолированная петля тонкой кишки	Крыса	[164]
Аланин, гистидин	Изолированная кишечная петля по Тири—Велла	Собака	[105]
Аланин, фенилаланин, изолейцин, валин	Отрезки тонкой кишки <i>in vitro</i>	Крыса	[348]
Аланин, фенилаланин, лейцин	Изолированная <i>in vivo</i> петля тонкой кишки	Кошка	[226, 227]
Гистидин, фенилаланин	Отрезки тонкой кишки	Крыса	[71]
Аланин, фенилаланин, метионин, гистидин, изолейцин	Перфузия тонкой кишки <i>in vitro</i>	Крыса	[349]
Метионин	Вывернутые кишечные «мешочки»	Хомяк, крыса	[345]
Гистидин	Отрезки тонкой кишки	Крыса	[72]
Глицин, пролин, гистидин, метионин	Вывернутые кишечные «мешочки»	Хомяк	[350]
Метионин	То же	Хомяк, крыса	[346]
Аланин, валин, метионин, гистидин, лизин, треонин, изолейцин, триптофан	Оральные нагрузки	Человек	[202]
Гистидин, метионин	Перфузия <i>in situ</i> тонкой кишки	Крыса	[156, 190, 199]
Треонин, аланин, серин, валин, оксипролин, фенилаланин, изолейцин, лейцин	Вывернутые кишечные «мешочки»	Хомяк	[351]
Гистидин, метионин	Фистула по Тири—Велла	Цыпленок	[258]
Цистин, цистеин, ¹⁴ C-моноподтирозин	Перфузия <i>in situ</i> сегмента тонкой кишки, вывернутые кишечные «мешочки»	Крыса	[248]
Тирозин	Вывернутые кишечные «мешочки»	Кролик, хомяк, крыса, цыпленок	[211]
Триптофан	То же	Хомяк	[319]
Фенилаланин	Оральные нагрузки	Человек	[334]

Таблица 7.2 (продолжение)

Транспортируемое вещество	Метод	Объект исследования	Источник
Лизин, орнитин, аргинин	Вывернутые кишечные «мешочки» тонкой кишки	Хомяк	[168]
Пролин, треонин, аланин, глицин, серин, валин, гистидин, оксипролин, фенилаланин, изолейцин, лейцин, метионин	То же	»	[353]
Цистин, гомоцистин	» »	»	[318]
Фенилаланин	Кусочки слизистой оболочки тонкой кишки	Собака	[286, 287]
Валин	Перфузия изолированной по Тирри—Велла кишечной петли	Цыпленок	[7]
Треонин, аланин, серин, гистидин, валин, метионин, фенилаланин, лейцин	Вывернутые кишечные «мешочки»	Золотая рыбка	[234]
Метионин	Фистула по Тирри—Велла	Цыпленок	[207]

326, 347]. При исследовании скоростей транспорта нейтральных аминокислот (начальная концентрация 20 мМ) вывернутыми кишечными «мешочками» крыс Уайзмен [353] обратил внимание на отсутствие транспорта L-триптофана против градиента концентрации. Однако этот процесс наблюдался в случае концентрации аминокислоты 5 мМ [319]. Сходным образом не наблюдали противогradientного транспорта L-лизина и L-орнитина из 20 мМ растворов аминокислот [168], тогда как при более низкой концентрации эти соединения транспортировались против градиента. Следовательно, транспорт аминокислот против градиента концентрации происходит лишь при определенных концентрациях субстрата, не превышающих некоторый критический уровень. В то же время скорость процесса диффузии находится в прямой зависимости от концентрации транспортируемого вещества.

Представленные данные свидетельствуют о том, что всасывание аминокислот в кишечнике высших животных определяется не процессами диффузии, а происходит с помощью иного, более эффективного механизма активного транспорта, обладающего, во-первых, стереоспецифичностью, а во-вторых, способностью транспортировать L-аминокислоты против градиента концентрации, создавая высокий уровень аминокислот в кишечных эпителиоцитах, в крови или серозной жидкости. Интенсивность этого процесса в значительной степени зависит от концентрации транспортируемого вещества.

По-видимому, у взрослых животных диффузия может иметь значение для всасывания аминокислот лишь при нарушении ме-

ханизма активного транспорта. В этих условиях интенсивность всасывания определяется молекулярными размерами аминокислот, проникающих через клеточную мембрану [18, 49].

7.3.3. ТРАНСПОРТ С ПОМОЩЬЮ ПЕРЕНОСЧИКОВ

Для объяснения транспорта неэлектролитов против градиента концентрации предполагается участие в этом процессе специальных соединений, локализованных в мембране и получивших название переносчиков. Химическая структура их еще не установлена. По мнению большинства исследователей, для выполнения транспортных функций переносчикам необходимы следующие свойства: 1) растворимость в липидной мембране и способность перемещаться в ней в обоих направлениях; 2) наличие контактной площад-

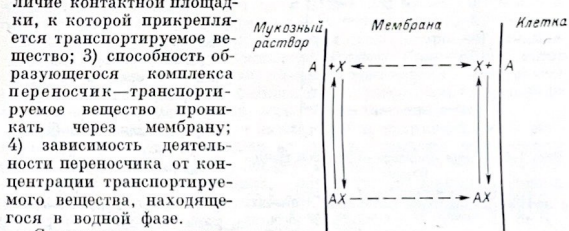


Рис. 7.3. Транспорт с помощью переносчика — модель облегченной диффузии. А — транспортируемое вещество, X — переносчик.

Схематически транспорт с помощью переносчика представлен на рис. 7.3. Транспортируемое вещество на наружной поверхности мембраны соединяется с переносчиком, образуя комплекс переносчик—транспортируемое вещество. Последний перемещается на внутреннюю сторону мембраны и здесь диссоциирует, освобождая вещество в интрацеллюлярный раствор. Свободный переносчик возвращается обратно и соединяется с новой молекулой транспортируемого вещества. Далее цикл повторяется. С помощью переносчиков осуществляются два основных типа транспортных процессов: облегченная диффузия (или облегченный транспорт) и активный транспорт.

Первый из них полностью укладывается в схему, представленную на рис. 7.3. Деятельность переносчика в этом случае не связана с затратой метаболической энергии, движение комплекса его с транспортируемым веществом происходит по градиенту концентрации и продолжается до тех пор, пока содержание исследуе-

мого вещества во внутри- и внеклеточной жидкости не станет равным.

Эффективность механизма активного транспорта значительно выше, чем облегченной диффузии, так как деятельность его не прекращается после достижения в клетке концентрации, равной внеклеточной, а продолжается дальше и обеспечивает движение транспортируемого вещества против градиента концентрации. Для его реализации необходимо присутствие свободной энергии, которая используется для модификации переносчика на внутренней стороне мембраны, вследствие чего движение комплекса переносчик—транспортируемое вещество происходит лишь в одном направлении — против градиента концентрации.

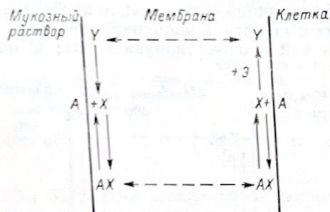


Рис. 7.4. Схема процесса активного транспорта.

ΔE — свободная метаболическая энергия; Y — модифицированная форма переносчика X. Остальные обозначения те же, что на рис. 7.3.

способную связывать транспортируемое вещество. С помощью такой системы осуществляется превращение химической энергии метаболизма в осмотическую работу.

Указанные механизмы облегченной диффузии и активного транспорта характеризуют основные пути поступления аминокислот через мембрану. Более подробно деятельность этих механизмов освещена в специальных обзорах [4, 6, 14, 25, 27, 76, 126, 161, 216, 257, 270, 311, 312, 314, 322, 339].

В настоящее время переносчики (транспортные системы) для аминокислот у высших животных пока еще не выделены. Известно лишь, что они обычно состоят из одного или нескольких транспортных белков (транспортов) с молекулярным весом около 30 000—35 000 каждый [1, 200, 259, 338]. Один из них непременно обладает акцепторными свойствами. В этой связи значительный интерес приобретают исследования, показывающие возможность связывания аминокислот белками исчерченной каемки кишечного эпителиоцита [90, 139, 141, 279]. Такой процесс, по-видимому, является начальным этапом транспорта аминокислот. Участие переносчиков в транспорте аминокислот позволяет во многих

случаях без специальных экспериментов объяснить явления, наблюдаемые при всасывании аминокислот в тех или иных условиях. В частности, отмеченная в предыдущих разделах стереоспецифичность всасывания аминокислот определяется наличием у субстрата определенной стерической конфигурации для связывания с переносчиком; торможение всасывания аминокислот при концентрации, превышающей некоторую критическую величину, возникает вследствие насыщения переносчика транспортируемым веществом. Транспорт аминокислот через клеточную мембрану обладает также рядом других особенностей, определяемых участием в этом процессе переносчиков, которые будут рассмотрены ниже.

7.4. КОНКУРЕНЦИЯ МЕЖДУ L-АМИНОКИСЛОТАМИ

Впервые явление конкуренции при всасывании аминокислот было замечено Кори [110]. Он наблюдал, что скорость исчезновения из желудочно-кишечного тракта крыс смеси глицина и DL-аланина была ниже, чем сумма скоростей утилизации индивидуальных аминокислот. Позднее Пинский и Гейгер [268] показали, что в присутствии L-триптофана наблюдается уменьшение всасывания L-гистидина, тогда как транспорт L-триптофана в присутствии L-гистидина не меняется.

Значительный прогресс в исследовании взаимодействия аминокислот был достигнут после разработки техники вывернутого кишечного мешочка [345, 346]. С помощью этого метода Уайзмен [350] в опытах на хомьях обнаружил, что основные (лизин, орнитин) и кислые (глутаминовая кислота) аминокислоты не влияют на транспорт нейтральных аминокислот. В то же время между нейтральными аминокислотами наблюдаются конкурентные взаимоотношения.

Таблица 7.3

Скорость всасывания L-аминокислоты в чистом виде и из смеси с другой L-аминокислотой [350]

Аминокислота	Скорость всасывания аминокислоты	Скорость всасывания в присутствии эквимоллярных водичств						
		пролина	глицина	гистидина	L-метионина	лизина	орнитина	глутаминовой кислоты
Пролин	14.0	—	11.2	6.0	2.5	—	—	14.5
Глицин	10.1	2.8	—	1.81	0	—	—	—
Гистидин	5.3	3.0	3.4	—	0	5.7	4.1	6.9
Метионин	3.3	4.9	3.3	2.2	—	3.1	2.4	4.9

Примечание. Скорость всасывания — в мл/час на 1 мг сухого веса вывернутого «мешочка» тонкой кишки хомья. Исходная концентрация в мукозном и серозном растворах 20 мМ. Время инкубации 1 час при 37° С.

В присутствии L-метионина резко тормозится или полностью прекращается транспорт L-пролина, L-гистидина и глицина (табл. 7.3). В то же время указанные аминокислоты не влияют на всасывание L-метионина. На основании этих данных Уаймен [350] пришел к выводу, что в тонкой кишке существует специальный механизм для транспорта нейтральных аминокислот. По степени сродства к этому гипотетическому переносчику можно расположить аминокислоты в следующей убывающей последовательности: метионин, гистидин, пролин, глицин; причем сродство к переносчику у метионина в 20 раз выше, чем у глицина. Те аминокислоты, которые обладают низкими скоростями транспорта через кишечную стенку (метионин, гистидин), тормозят всасывание быстро транспортируемых аминокислот (глицин, пролин). Другими словами, медленно транспортируемые аминокислоты обладают более высоким сродством к переносчику, чем быстро транспортируемые.

Аналогичные данные, свидетельствующие о конкуренции между нейтральными аминокислотами при всасывании, были получены и другими авторами [15, 73, 144, 191, 196, 203, 211, 223, 237, 243, 267, 276, 302, 319, 326]. Вскоре после открытия конкуренции между нейтральными аминокислотами аналогичный феномен был обнаружен и для диаминомонокрбонных аминокислот. Хагхир и соавт. [168] в опытах *in vitro* показали, что аргинин, лизин, орнитин, а также цистин активно транспортируются в тонкой кишке хомьяка и конкурируют между собой за переносчик. Оставалось только неясным, почему нейтральная аминокислота цистин, которая транспортируется с помощью переносчика нейтральных аминокислот, использует для транспорта также переносчик основных аминокислот. Специальное изучение этого вопроса с помощью молекулярных моделей аминокислот было проведено Лином и соавт. [210]. Аналогичные данные, свидетельствующие о конкуренции между основными аминокислотами, были получены и в исследованиях на людях. Милл и соавт. [233] у больных цистинурией наблюдали не только недостаточность транспорта цистина, аргинина, орнитина и лизина в почечных канальцах, но и нарушение всасывания последнего в тонкой кишке. В дальнейшем взаимное торможение транспорта основных аминокислот было подтверждено и другими исследователями [203, 278, 280].

Взаимодействие между аминокислотами при всасывании в кишечнике наблюдали не только в экспериментах *in vitro*, но и в опытах *in vivo* при одновременном введении в кишечник двух различных аминокислот и последующем определении их уровня в полости кишки или портальной крови [79, 85, 151, 195, 326, 327, 351]. Показано также наличие определенной последовательности в скоростях всасывания аминокислот из многокомпонентных смесей, имитирующих различные пищевые белки. В зависимости от композиции смеси и концентрации в ней соответствующих аминокислот меняются лишь абсолютные значения скоростей

всасывания аминокислот, относительные их значения остаются без изменения [9, 61, 62, 230].

Однако, несмотря на наличие многочисленных данных, свидетельствующих о конкурентных взаимоотношениях между аминокислотами, Христенсен [102] полагает, что в здоровом организме явление конкуренции между аминокислотами должно быть минимальным. По его мнению, аминокислоты, являющиеся наиболее мощными ингибиторами всасывания других аминокислот, вследствие их высокого сродства к переносчику будут всасываться в верхних отделах кишечной трубки, а аминокислоты, обладающие низким сродством к переносчику, будут всасываться в нижележащих отделах. К аналогичному выводу пришли Смелкман и Гагенхейм [326], отмечавшие, что через 30–60 мин. после пробного завтрака, состоящего из смеси аминокислот, тормозящий эффект лейцина на транспорт изолейцина и валина больше не обнаруживался. Некоторые авторы полагают, что отсутствие конкуренции между аминокислотами может обеспечиваться за счет постоянства их состава в полости тонкой кишки. Этот гомеостаз поддерживается в верхних отделах тонкой кишки за счет секреции панкреатического сока и желчи, а в нижних отделах — благодаря секреции энтероцитов с ацидофильными гранулами (клеток Панета) [162, 163]. Уголев [39] считает, что хотя «конкуренция может рассматриваться как один из способов регулирования физиологических процессов, но значительно чаще она служит признаком их плохой организации (или недостаточного знания о хорошей организации)» (с. 654). Далее он пишет: «...уже сейчас имеются некоторые факты, свидетельствующие о том, что конкуренция на стадии всасывания предотвращается благодаря эффективному сопряжению собственно пищеварительных и транспортных процессов и в особенности благодаря тому, что на стадии, предшествующей всасыванию (т. е. на стадии мембранного гидролиза), имеет место упорядочение пищеварительных процессов как по скорости, так и по последовательности обработки различных пищевых веществ» (с. 655). И действительно, многочисленные данные свидетельствуют о том, что аминокислоты, входящие в состав пептидов, всасываются гораздо быстрее, чем эквивалентные смеси соответствующих аминокислот [15, 19, 30, 68, 69, 97, 111, 113, 225, 304, 305]. По-видимому, в этом случае конкуренция между аминокислотами за переносчик является минимальной. В пользу этого предположения свидетельствует также отсутствие торможения свободной аминокислотой всасывания аминокислот, находящихся в составе дипептидов [289].

7.5. КЛАССИФИКАЦИЯ ТРАНСПОРТНЫХ СИСТЕМ

На основании изложенных выше данных были сформулированы представления о существовании в тонкой кишке двух типов переносчиков — для нейтральных и для основных

аминокислот. Наряду с ними существует еще третий тип переносчиков, который используется пролином, оксипролином, саркозином, N-диметилглицином и бетанином [210]. Пролин и оксипролин могут транспортироваться также с помощью переносчиков нейтральных аминокислот, но средство к ним у данных аминокислот невелико. У птиц, по данным Баррилла и Жернера [91], транспорт пролина на 40% происходит с помощью переносчика нейтральных аминокислот и конкурирует с лейцином; второй системой, участвующей в транспорте пролина, являются переносчики аминокислот.

Помимо трех основных путей транспорта аминокислот Акедо и Кристенсен [74, 101] предполагают существование, по крайней мере у крыс, специального пути для всасывания глицина, хотя он может транспортироваться вместе с нейтральными аминокислотами.

Хагихира и соавт. [169] считают, что для всасывания валина, лейцина и изолейцина наряду с переносчиками нейтральных аминокислот существует еще специальная транспортная система.

Значительный интерес представляют данные ряда авторов [134, 254], которые, исследуя всасывание глицина, пролина и метионина в кишечнике крыс, показали, что для поступления в клетку нейтральных L-аминокислот используются две транспортные системы. Одна из них осуществляет транспорт всех трех аминокислот и обладает более сильным средством к метионину («переносчик метионина»), тогда как другая («переносчик саркозина») используется только глицином и пролином и имеет большее средство к пролину. Авторы полагают, что транспорт исследуемых аминокислот осуществляется двумя переносчиками, каждый из которых обладает своим активным центром, или одним переносчиком с двумя активными центрами. В то же время в опытах на хомьяках Метьюз и Ластер [223] показали, что глицин транспортируется только с помощью транспортной системы нейтральных аминокислот.

По данным Петерсона и соавт. [267], транспорт глицина с помощью второй транспортной системы происходит при низкой концентрации ионов натрия в мукозном растворе. Ее интенсивность составляет примерно 5% от первой транспортной системы. Недавно было показано [134], что оба этих переносчика участвуют также в транспорте изомеров аланина. L-аланин транспортируется преимущественно с помощью «переносчика метионина», β-аланин — с помощью «переносчика саркозина», а D-аланин использует обе транспортные системы. Аналогичные данные были получены также Жернером и Баррилом [206].

Таким образом, в настоящее время существование трех транспортных систем для нейтральных, основных и N-замещенных аминокислот признается большинством исследователей. Однако окончательное количество переносчиков аминокислот, функционирующих в мембране кишечных эпителиоцитов, неизвестно.

Возможно, что оно неодинаково у животных разных видов. Можно предполагать также, что число переносчиков зависит от функционального состояния организма и состава получаемого рациона.

Кажущееся многообразие переносчиков, по-видимому, в значительной степени связано с известным волюнтаризмом в их классификации. Так, например, «переносчик саркозина», названный так за его высокое средство к этой аминокислоте [134, 254], по-видимому, соответствует переносчику N-замещенных аминокислот [210], переносчику аминокислоты [234, 235] или N₂-транспортной системе, описанной Бейкером и Джорджем [80].

В заключение остается только добавить, что наблюдаемое влияние одной аминокислоты на транспорт другой еще не означает, что они транспортируются с помощью одного переносчика. Взаимодействие между аминокислотами может быть аллостерическим и связано с конфигурационными изменениями, вызываемыми одним из переносчиков после присоединения к нему аминокислоты, и влиянием этих изменений на соседние переносчики или контактные площадки того же переносчика, если он является полифункциональным. Нельзя, по-видимому, также исключить возможность конкуренции между аминокислотами за источник энергии и ионы натрия, необходимые для транспорта аминокислот внутри кишечных эпителиоцитов.

7.6. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ НЕЙТРАЛЬНЫМИ И ОСНОВНЫМИ АМИНОКИСЛОТАМИ

Сравнительно недавно было показано, что взаимодействие в процессе транспорта аминокислот в кишечнике осуществляется не только в пределах каждой из групп аминокислот (нейтральные, основные, N-замещенные), но и между группами. Мунк и Шульд [236, 238], а позднее и другие авторы наблюдали, что транспорт основных аминокислот (лизина, аргинина, орнитина) активируется в присутствии нейтральных L-аминокислот (лейцина, метионина, аланина, фенилаланина, но не валина, изолейцина, гистидина). В то же время основные аминокислоты (например, лизин) тормозят всасывание нейтральных аминокислот. Эти данные были получены как в опытах с intactными кишечными препаратами [236, 238, 278, 280], так и с изолированными эпителиоцитами [279, 281, 282] тонкой кишки млекопитающих.

Аналогичные наблюдения были сделаны и в экспериментах с сегментами тонкой кишки цыплят [179]. Полагают, что стимулирующий эффект нейтральных аминокислот обусловлен обменным транспортом между внутриклеточным пулом нейтральных аминокислот и внеклеточным пулом диаминомонокарбоновых аминокислот. В этом процессе различают две фазы, каждая из которых осуществляется с помощью отдельной транспортной системы. Первая из них является зависимой от натрия и обеспе-

чивает транспорт против градиента концентрации нейтральной аминокислоты (переносчик нейтральных аминокислот). Вторая транспортная система непосредственно осуществляет независимый гетерообмен аминокислот. Этот процесс, как следует из соотношения уровней нейтральной аминокислоты в интра- и экстрацеллюлярной жидкости после первой фазы, происходит по градиенту концентрации. Полагают, что отсутствие стимулирующего эффекта некоторых нейтральных аминокислот на транспорт лизина или аргинина связано с их низким сродством к системе обменного транспорта [280].

Специальные эксперименты показали, что в тонкой кишке крыс существуют по меньшей мере две системы обменного транспорта: одна из них осуществляет обмен между нейтральными аминокислотами, а вторая — между нейтральными и основными аминокислотами [282]. Возможно, что процессы обменного транспорта могут иметь известное значение для интенсификации всасывания аминокислот (в частности, незаменимой аминокислоты лизина) в процессе переваривания белка в кишечнике [167].

7.7. ВСАСЫВАНИЕ МОНОАМИНОДИКАРБОНОВЫХ АМИНОКИСЛОТ

В течение длительного времени не могли обнаружить транспорта моноаминодикарбонных аминокислот против градиента концентрации. Между тем было хорошо известно, что они быстро исчезают из инкубационной среды и не аккумулируются в стенке кишечника [71, 349]. В специальных экспериментах Метьюз и Уайзмен [228] с помощью метода бумажной хроматографии показали, что в слизистой оболочке тонкой кишки происходит переаминирование L-глутаминовой и L-аспарагиновой аминокислот. Конечным продуктом этой реакции является аланин, который и обнаруживался в окружающих кишку серозном и мукозном растворах со значительным преобладанием в серозном растворе. Последнее обстоятельство может служить доказательством участия в транспорте дикарбонных аминокислот систем активного транспорта. В опытах с аспарагиновой кислотой наряду с аланином наблюдали также образование небольшого количества глутаминовой кислоты. С другой стороны, ни в одном из окружающих кишку растворов не находили заметных количеств аланина при инкубации кишечных препаратов в среде, не содержащей дикарбонных аминокислот или содержащей гистидин или фенилаланин. Нужно отметить, что на возможность переаминирования глутаминовой кислоты указывали в свое время еще Дент и Шиллинг [135], которые отмечали незначительное ее изменение в портальной крови после кормления животных казеином.

Переаминирование дикарбонных аминокислот было продемонстрировано и в опытах *in vivo*. При введении в изолированную петлю тонкой кишки анестезированных собак раствора глутами-

новой или аспарагиновой кислоты в оттекающей венозной, а также артериальной крови наряду с увеличением уровня дикарбонных кислот наблюдали появление значительных количеств аланина [245, 246]. Аналогичные наблюдения были сделаны также на кошках, кроликах [247] и крысах [262]. Таким образом, дикарбонные аминокислоты используют для транспорта через мембрану весьма своеобразный путь, связанный с их переаминированием в слизистой оболочке тонкой кишки.

Недавно появились дополнительные данные, указывающие на участие специальных переносчиков в транспорте дикарбонных аминокислот. В частности, об этом свидетельствует наличие конкуренции между ними, а также тот факт, что транспорт глутаминовой и аспарагиновой аминокислот зависит от натрия и происходит с насыщением [300]. Однако пока еще остается неизвестным, обслуживаются ли обе аминокислоты одним переносчиком или каждая аминокислота имеет свою транспортную систему.

7.8. ВСАСЫВАНИЕ D-АМИНОКИСЛОТ

До недавнего времени считалось установленным, что D-аминокислоты не способны всасываться против электрохимического градиента и могут поступать в кишечные эпителиоциты только путем диффузии [71—73, 181, 199, 248, 348, 349]. Однако уже в 1956 г. Уайзмен [351], исследуя конкуренцию между L- и D-энантиомерами метионина и гистидина при всасывании в тонкой кишке крыс, наблюдал ее не только между L-аминокислотами, но и между L- и D-изомерами. В частности, L-метионин тормозил всасывание D-гистидина, а D-метионин оказывал слабый тормозящий эффект на всасывание L-гистидина. Несколько позднее Джервис и Смит [190] в опытах на крысах, а также Пей и соавт. [258] в экспериментах на цыплятах отметили четко выраженный тормозящий эффект D-метионина на всасывание L-гистидина.

Сагахарой и соавт. [324] были проведены специальные эксперименты по сравнению эффективности L- и D-изомеров аминокислот в кормлении цыплят. Оказалось, что D-изомеры метионина, фенилаланина, лейцина и пролина почти не отличаются по питательной ценности от L-изомеров; эффективность D-валина составляла половину от L-изомера, а D-изомеры лизина, треонина, аргинина не имели питательной ценности, D-изомеры аланина и аспарагина вызывали замедление роста.

О наличии транспорта D-метионина (но не D-гистидина) против градиента концентрации в тонкой кишке крыс свидетельствуют также наблюдения Джервиса и Смита [192]. Аналогичные данные в отношении D-метионина (но не D-триптофана, D-аланина, D-тирозина) были получены Лином и соавт. [210] в экспериментах на хомьяках (табл. 7.4). В этих опытах количество транспортируемого D-метионина было примерно в 2.5 раза ниже, чем L-формы

Таблица 7.4
Активный транспорт L- и D-аминокислот
вывернутым «мешочкам» тонкой кишки
хотьяка [210]

Аминокислота	Исходная концентрация в музском и серозном растворах, мМ	Транспорт против гра- диента, мг/моль/100 мг сухого веса в час
L-аланин	5	4,6
D-аланин	5	0
L-триптофан	5	1,8
D-триптофан	5	0
L-метионин	5	4,7
D-метионин	5	1,9
L-тирозин	3	4,9
D-тирозин	3	0

этой аминокислоты. Рэндалом и Эвердом [275] получены данные, свидетельствующие об активном транспорте D-серина и D-норвалина.

В экспериментах со второй транспортной системой нейтральных аминокислот (переносчик саркозина) было показано, что D-пролин является столь же эффективным ингибитором транспорта саркозина, как и L-изомер аминокислоты [129]. По-видимому, у млекопитающих D-аминокислоты могут поступать через те же участки кишки, что и L-аминокислоты, только средство к ним у последних значительно выше.

У земноводных, возможно, этот процесс происходит иначе. В опытах *in vitro* на лягушках наряду с активным переносом D-аланина было обнаружено существование ферментативного превращения его, что указывает на наличие в тканях тонкой кишки оксидазы D-аминокислот. Интересно, что присутствие в инкубационной среде кислорода тормозило перенос аминокислоты. На основании этих данных высказывается предположение об участии пастеровского эффекта в анаэробном всасывании и переносе D-аланина [133].

7.9. ЗАВИСИМОСТЬ ТРАНСПОРТА ОТ ЭНЕРГИИ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ

Как уже было сказано, транспорт против градиента концентрации требует затраты энергии. Неудивительно поэтому, что анаэробные условия препятствуют активному транспорту аминокислот через плазматическую мембрану кишечных эпителиоцитов [15, 253, 276, 346]. Однако у плодов и новорожденных кроликов, а также эмбрионов цыплят некоторые аминокислоты,

в частности L-гистидин, L-тирозин и L-валин, транспортируются против градиента концентрации даже при анаэробных условиях [272, 343]. Установлено, что у молодых крыс транспорт ³⁵S-цистина менее чувствителен к аноксии и недостатку натрия, чем у взрослых крыс [321]. Феномен анаэробного транспорта аминокислот у млекопитающих наиболее выражен в течение первой недели жизни и постепенно исчезает к 35-му дню после рождения [343].

Торможение транспорта L-, а также некоторых D-аминокислот наблюдается и после добавления в инкубационную среду ингибиторов тканевого дыхания, таких как 2,4-динитрофенол (ДНФ), цианиды, фтористый натрий, азид натрия и др. В частности, ДНФ тормозит проникновение через кишечную стенку L-фенилаланина и рацемата аланина [71, 156, 287], D- и L-гистидина [71, 72], метионина [190, 258], валина [276]. ДНФ также уменьшает аккумуляцию глицина в кишечных эпителиоцитах до уровня пассивной диффузии [15]. По данным Агара и соавт. [73], ДНФ тормозит только поглощение аминокислот кишечными эпителиоцитами и не влияет на их выход в инкубационный раствор. Сходным тормозящим эффектом на всасывание аминокислот обладают фтористый натрий [18, 49], а также цианид [71, 156, 276, 332]. Указанные соединения блокируют транспорт аминокислот против градиента концентрации, однако не влияют на пассивный перенос через мембрану. Высказывается предположение, что торможение всасывания аминокислот связано главным образом не с нарушением энергетики транспортного процесса, а с повреждающим действием ингибиторов на плазматическую мембрану, где локализируются транспортные системы [144, 253].

Энергетика транспорта, по-видимому, зависит и от доступности АТФ. По данным Керта и соавт. [197], при блокаде синтеза АТФ моноокислосной кислотой содержание ее в кишечной стенке в процессе всасывания глицина уменьшается. Однако следует заметить, что аналогичное уменьшение уровня АТФ наблюдалось и при всасывании мочевины, которое происходит пассивным путем и не требует затраты энергии. Активирующую роль АТФ, а также магния и солей фосфорной кислоты во всасывании аминокислот отмечала также Шишова [58, 59, 61]. По ее мнению, всасывание аминокислот сопряжено с процессом фосфорилирования, в котором активное участие принимает фермент фосфоамидаза [57, 58, 60]. В соответствии с этой точкой зрения механизм всасывания аминокислот через эпителиальные клетки тонкой кишки связан с возникновением градиента концентрации фосфорилированных промежуточных продуктов в базальных участках кишечных эпителиоцитов и их диффузией в ретикулярную соединительную ткань и кровеносные сосуды [62]. На участие фосфорных соединений в процессе всасывания аминокислот указывают также Триантафилопулос и Туба [329] и другие авторы [61, 62]. С другой стороны, Кристенсен [100] не считает присутствие АТФ на наружной стороне мембран необходимым для всасывания ами-

нокислот. Более того, присутствие свободной АТФ в растворе, в который помещены вывернутые «мешочки» тонкой кишки крыс, сопровождается торможением транспорта глицина, лейцина, а также галактозы в серозный раствор [173]. После установления участия переносчиков во всасывании аминокислот гипотеза о роли фосфорилирования в этом процессе постепенно утратила свое значение.

7.10. КИНЕТИКА ТРАНСПОРТА

Существенная информация о механизме транспорта аминокислот была получена при изучении кинетики этого процесса. Благодаря экспериментам в этом направлении стало возможным понять механизм образования и распада комплекса переносчик—транспортимое вещество и объяснить некоторые феномены транспорта, в частности явление конкуренции между аминокисло-

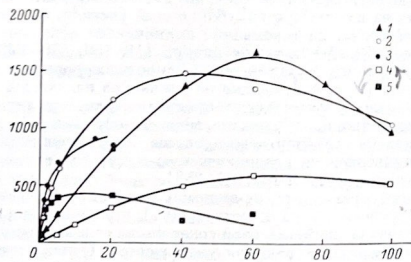


Рис. 7.5. Взаимосвязь между исходной концентрацией аминокислот в мукозном и серозном растворах и скоростью их транспорта в серозный раствор. (По [222]).

По оси абсцисс — исходная концентрация аминокислоты, мМ; по оси ординат — скорость транспорта аминокислоты, мМ/г сухого веса/час. 1 — глицин, 2 — L-аланин, 3 — L-лейцин, 4 — L-лейцин; 5 — аминокислотная кислота.

тами за переносчик. На рис. 7.5 представлены кривые зависимости скорости транспорта пяти аминокислот в серозный раствор от их концентрации в мукозном растворе. Из рисунка видно, что скорость транспорта аминокислоты является функцией от ее концентрации в мукозном растворе. Характерно, что чем ниже исходная концентрация аминокислоты, тем выше отношение между концентрациями ее в серозном и мукозном растворах. Уровень аминокислот в мукозном растворе существенно влияет на соотношение между скоростями их всасывания. Так, при начальной концентрации аминокислот в инкубационной среде, равной 20 мМ, скорость их

всасывания уменьшается в направлении L-аланин → L-валин → L-глицин → L-лейцин → аминокислотная кислота. В то же время при концентрации исследуемых соединений 60 мМ последовательность приобретает следующий характер: глицин → L-аланин → аминокислотная кислота → L-лейцин [222].

Анализируя кинетику транспорта аминокислот, Шилова [62] различает в этом процессе две фазы: 1) динамическую, связанную с адсорбцией молекул аминокислот на положительно заряженной поверхности слизистой оболочки, которая характеризуется зависимостью скорости всасывания от концентрации вещества в полости, и 2) стационарную фазу, которая определяет транспорт аминокислот через кишечную стенку. Ей соответствует постоянная скорость всасывания.

Для расчета кинетических констант транспорта обычно используют графический метод Лайнуивера—Берка [214], применяемый для анализа ферментативных реакций. Уравнения ферментативной кинетики, в частности уравнение Михаэлиса—Ментен, широко применяются для описания кинетики транспортных процессов. В этом случае константа [транспорта — K_t (константа ассоциации-диссоциации) комплекса переносчик—транспортимое вещество] аналогична K_m и характеризует средство переносчика к субстрату. Она равна концентрации субстрата, при которой скорость процесса соответствует половине максимальной скорости транспорта. V_{max} характеризует максимальную скорость транспортного процесса. Типичный пример графического расчета K_t и V_{max} представлен на рис. 7.6. Низкие значения K_t свидетельствуют о легкости насыщения переносчика, т. е. о высоком средстве к нему аминокислоты. Напротив, высокие значения K_t характеризуют слабое средство аминокислоты к переносчику. Отсюда следует, что аминокислоты, имеющие низкие значения K_t , являются более мощными ингибиторами транспорта, чем аминокислоты с высоким значением K_t .

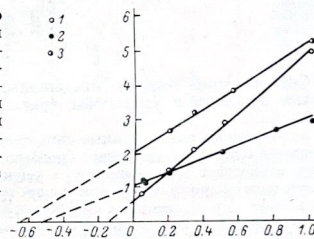


Рис. 7.6. Взаимосвязь между исходной концентрацией аминокислоты и скоростью транспорта L-аланина (1), L-валина (2) и L-лейцина (3), изображенная с помощью метода Лайнуивера—Берка. (По [222]).

По оси абсцисс — величина, обратная концентрации аминокислоты, мМ; по оси ординат — величина, обратная скорости транспорта аминокислоты, мМ/г сухого веса/час. Точка пересечения с осью абсцисс характеризует величину $1/K_t$; на пересечении с осью ординат характеризует величину $1/V_{max}$.

Таблица 7.5

Связь между структурой боковой цепи и константами транспорта нейтральных аминокислот [222]

Аминокислота	Боковая цепь	K_t , мМ	V_{max} , мМ/сухого веса в час
Глицин	H—	43	2600
L-аланин	CH ₃ —	7.5	1700
L-валин	(CH ₃) ₂ CH—	1.3	9600
L-лейцин	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ —	1.5	4900

Существенный интерес представляет сопоставление кинетических констант и структуры транспортируемых аминокислот (табл. 7.5).

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что с увеличением длины боковой цепи сродство аминокислоты к переносчику возрастает и V_{max} процесса уменьшается. Полученные результаты хорошо согласуются с гипотезой Липа и соавт. [210], в соответствии с которой чем более липофильной является боковая цепь, тем легче аминокислота растворяется в мембране и тем эффективнее ее контакт с акцепторными группами переносчика. Эти наблюдения интересно сопоставить с данными, полученными при изучении конкуренции аминокислот за переносчик, где аминокислоты, обладающие высоким сродством к переносчику и низкой скоростью транспорта, обладали выраженным тормозящим эффектом на всасывание быстро транспортируемых аминокислот [223, 243, 276, 350]. Зная кинетические характеристики транспортируемых аминокислот, можно вычислить величину торможения транспорта одной аминокислоты в присутствии другой. Полученные данные оказались весьма близки к экспериментальным [144, 223]. Расчеты такого рода позволяют достаточно просто и надежно определять характер торможения. По аналогии с ферментативной кинетикой изменения K_t в присутствии ингибитора свидетельствуют о конкурентном механизме торможения, а изменение V_{max} при неизменном K_t характеризует некокурентный тип взаимодействия аминокислоты и ингибитора.

Изучение кинетики транспортных процессов представляет значительный интерес и для понимания механизма всасывания D-аминокислот. Исследования Шульцта и соавт. [301] показали, что всасывание D-изомеров аланина, серина, лейцина, гистидина, фенилаланина, триптофана (но не валина) в тонкой кишке кролика происходит с насыщением, так же как и L-изомеров соответствующих аминокислот, только K_t у последних значительно ниже (табл. 7.6).

Эти данные подтверждают более ранние наблюдения, свидетельствующие об общности транспортных систем для D- и L-аминокислот и о более высоком сродстве к ним L-изомеров.

Таблица 7.6

Кинетические параметры поступления аминокислот через эпителициты кишки кролика [301]

Аминокислота	L-форма		D-форма	
	V_{max} , мкмоль/час/см ²	K_t , мкмоль	V_{max} , мкмоль/час/см ²	K_t , мкмоль
Аланин	12	9	12	100
Валин	10	7	∞	∞
Серин	12	12	12	20
Лейцин	6	6.5	8	24
Фенилаланин	6	3.5	5	25
Триптофан	8	6	8	32
Гистидин	7	15	7	50

В настоящее время рассчитаны кинетические характеристики для целого ряда L-аминокислот как у животных [191, 206, 210, 222, 223, 243, 267, 276, 320], так и у человека [66, 151, 293]. Данные такого рода, полученные в опытах на различных объектах и в разных условиях, несут важную информацию не только о скорости усвоения аминокислот в организме, но и о деятельности самого механизма транспорта и характере воздействия на него различных агентов.

7.11. ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТОВ

7.11.1. НАТРИЙ

Имеется большое количество данных, свидетельствующих о зависимости всасывания аминокислот от уровня натрия в экстрацеллюлярном растворе [53, 54, 61, 62, 123, 290, 295] или интрацеллюлярной среде [119—121, 249]. В острых и хронических опытах на животных разных видов было показано, что зависимость от натрия транспорт обычно характерен для аминокислот, транспортируемых против градиента концентрации. Отсутствие натрия в инкубационной среде или замена его другими неорганическими или органическими катионами (Li⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺, холин, трис и др.) сопровождается уменьшением или даже полной остановкой активного транспорта нейтральных аминокислот [77, 106, 152, 174, 243, 277, 296, 309].

Аналогичные данные были получены и в наблюдениях на людях при перфузии тощей кишки растворами, в которых натрий был заменен маннитом [67, 178]. Ионы натрия стимулируют также транспорт основной аминокислоты — лизина, однако некое количество лизина всасывается независимо от него [239]. В отношении других основных аминокислот (аргинина, гомоаргинина, диаминоэтилуксусная кислота и др.) имеются данные,

свидетельствующие о том, что их поступление в кишечные эпителиоциты сопровождается выходом из последних K^+ и Na^+ .

Следует отметить, что если в присутствии натрия поступление аминокислот (аланина) конкурентно тормозится водородом, калием, рубидием и литием, то в отсутствие его водород, калий и рубидий не влияют на всасывание аланина, а литий проявляет даже слабый стимулирующий эффект [159].

Показано, что эффект заменителей натрия не является равноценным. Так, поступление аланина, а также 3-О-метил-D-глюкозы в исчерпывающую каемку кишечного эпителиоцита подвздошной кишки кролика происходит более интенсивно, когда натрий заменяют не калием или литием, а трисом или холином [124, 166]. Значительная информация о роли натрия во всасывании аминокислот была получена при исследовании кинетики этого процесса. В частности, было установлено, что в отсутствие натрия K_1 для аланина значительно выше, чем при его наличии в мукозном растворе. V_{max} в обоих случаях была одинаковой [77, 127, 309]. Следовательно, присутствие экстрацеллюлярного натрия обеспечивает кинетические преимущества для транспортируемой аминокислоты, в частности усиливает ее сродство к переносчику. Близкие данные были получены и при исследовании кинетики транспорта других аминокислот: лейцина и валина [127], глицина [267], лизина [239], фенилаланина [171]. Каррен и соавт. [127] получили прямые доказательства существования стехиометрических отношений между потоками аланина и натрия через исчерпывающую каемку кишечных эпителиоцитов подвздошной кишки кролика. Так, при постоянной концентрации натрия в мукозном растворе наблюдается линейная зависимость между поступлением натрия и аланина. Указанные авторы представили кинетическую модель взаимодействия потоков натрия и аланина в кишечном эпителии.

Эта модель используется также для описания зависимость от натрия транспорта глицина, валина, лейцина, фенилаланина, глутаминовой кислоты и лизина в подвздошной кишке кролика [295]. Графически она показана на рис. 7.7: аминокислота (A) на наружной поверхности мембраны соединяется с переносчиком (X), образуя двойной комплекс (AX). Этот комплекс может или транспортироваться через мембрану, или, присоединяя Na, превращаться в тройной комплекс ($XANa^+$), который переносится через мембрану. По мнению авторов, к числу обязательных условий функционирования этой модели относятся, во-первых, образование вначале двойного комплекса и затем присоединение к нему натрия, во-вторых, одинаковые возможности транспорта через мембрану двойного и тройного комплексов, а также свободного переносчика. Кинетические эксперименты дают основание полагать, что присоединение натрия к двойному комплексу вызывает определенные конформационные изменения или стабилизирует его и создает тем самым более благоприятные условия для

переноса тройного комплекса через мембрану. Моделирование сопряженного однонаправленного транспорта аминокислот и Na^+ проводилось также Хейнцем [176].

Характерно, что не только натрий активирует всасывание аминокислот, но и присутствие аминокислот в инкубационной среде стимулирует активный транспорт натрия [299]. Эти данные были получены как в опытах *in vivo*, так и *in vitro* на препаратах тонкой кишки различных животных [295, 309] и человека [70]. Наличие оубаина в серозном растворе не только тормозило актив-

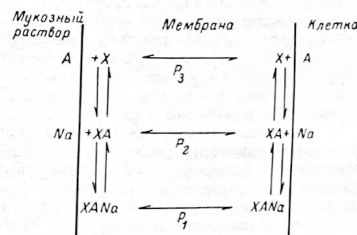


Рис. 7.7. Кинетическая модель взаимодействия между потоками натрия и аланина в исчерпывающей каемке эпителиоцита подвздошной кишки кролика. (По [295]).

A — транспортируемая аминокислота, X — переносчик, P — скорости транспорта свободной аминокислоты, двойного и тройного комплексов.

ный транспорт Na^+ , но и уничтожало стимулирующий эффект аминокислот и сахаров на его всасывание. Наблюдения такого рода позволяют говорить о взаимном сопряжении транспорта неэлектролитов и натрия в эпителиальных кишечных клетках [122, 124, 125, 158, 298].

Для объяснения сопряжения процессов транспорта аминокислот и натрия используется гипотеза Na^+ -градиента, впервые предложенная Крейном [115] для объяснения связи между транспортом сахаров и движением Na^+ через мембрану. В соответствии с этой гипотезой поступление неэлектролитов в клетку обеспечивается за счет градиента концентраций натрия в интра- и экстрацеллюлярной среде. Низкий уровень натрия в клетке поддерживается деятельностью натриевого насоса, расположенного, по-видимому, на базальной стороне клетки. Этот механизм обеспечивает постоянное удаление натрия из клетки и является энергезависимым. Уменьшение интрацеллюлярного уровня натрия сопровождается усилением его транспорта из мукозного раствора через апикальную мембрану в клетку. Поступление натрия в свою

очередь вызывает сопряженный с ним поток аминокислот, сахаров и других неэлектролитов.

Таким образом, в соответствии с гипотезой Na^+ -градиента истинное движение против градиента концентрации, происходящее с затратой метаболической энергии, характерно только для Na^+ . Поступление же неэлектролитов сопряжено с транспортом натрия, и происходит, возможно, с помощью облегченной диффузии. Учитывая это обстоятельство, Смит [311, 312] предложил дифференцировать первичный активный транспорт натрия, происходящий с затратой метаболической энергии, и вторичный активный транспорт, связанный с переносом других соединений. Некоторые исследователи [121] придают натриевому насосу универсальное значение, считая его основным механизмом, обеспечивающим превращение химической энергии в осмотическую работу. Поступление в клетку всех других соединений осуществляется путем сопряжения с этим механизмом.

Гипотеза Na^+ -градиента подтверждается наблюдениями о прекращении активного транспорта неэлектролитов при исчезновении градиента натрия, вызванного торможением выхода натрия из клетки. Показано, что сердечные гликозиды и оубаин, подавляющие выход натрия из клеток и накопление в них калия, тормозят транспорт аминокислот в кишечнике [120, 288, 297].

Следует отметить, что изучение сопряженного транспорта Na^+ и неэлектролитов (в частности, аминокислот) вызывает в настоящее время большой интерес. Обсуждению этого вопроса недавно был посвящен специальный симпозиум (1972 г.) [244].

Наряду с гипотезой Na^+ -градиента имеются и другие гипотезы, пытающиеся объяснить сопряжение транспорта аминокислот и натрия. Как известно, энергия, необходимая для транспортных процессов в клетке, освобождается из АТФ под действием мембранной АТФазы. Этот фермент является Na^+ -чувствительным, и изменения внутриклеточной концентрации натрия, вызванные его выходом из клетки, могут оказывать существенный эффект на скорость транспорта аминокислот. С этой точки зрения влияние ингибиторов транспорта натрия на всасывание аминокислот может быть связано с их эффектом на активность Na^+ - K^+ -чувствительной АТФазы [76, 121, 308, 312, 316].

Некоторые исследователи пытаются связать сопряженный транспорт натрия и неэлектролитов с изменениями электрического потенциала стенки кишки [121].

7.11.2. КАЛИЙ

Эффект калия на всасывание аминокислот тесно связан с действием на этот процесс натрия. Конкуренция между этими двумя ионами за переносчик определяет противоположный характер влияния калия на всасывание неэлектролитов. По данным Натанса и соавт. [243], низкие концентрации K^+ не влияют

на транспорт аминокислот (в частности, моноидтирозина), а высокие — существенно тормозят его. Тормозящий эффект высоких концентраций K^+ в значительной степени обусловлен уменьшением концентрации Na^+ , что является необходимым условием для поддержания постоянного осмотического давления инкубационного раствора. Однако имеются данные, свидетельствующие о существовании конкуренции между ионами натрия и калия за транспортную систему. Так, Харрисон и Харрисон [174] в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки крыс наблюдали торможение всасывания L-тирозина при уменьшении уровня натрия в мукозном растворе. При постоянном уровне натрия добавление калия вызывало дальнейшее падение содержания аминокислот в клетке. Как отмечают Шульц и Каррен [295], при оценке эффекта калия необходимо иметь в виду не только его воздействие на активность натриевого насоса, но и его эффект на ряд ферментативных процессов, в том числе связанных с образованием свободной энергии.

Следовательно, K^+ и в особенности Na^+ являются мощными регуляторами транспорта аминокислот через клеточную мембрану, и при анализе данного процесса необходимо учитывать степень обеспеченности кишечных эпителиоцитов этими ионами.

7.12. РОЛЬ ВИТАМИНОВ

Влияние витаминов на всасывание аминокислот исследовали главным образом в модельных экспериментах как на нормальных животных, так и на животных с дефицитом того или иного витамина. В последнем случае убедительным доказательством их участия в транспорте аминокислот является восстановление нормального хода транспортного процесса после добавления недостающего витамина в корм или парентерального его введения. В настоящее время данные о роли витаминов во всасывании аминокислот весьма ограничены, наиболее изучен в этом отношении витамин B_6 .

7.12.1. ВИТАМИН B_6

Вопрос о значении витамина B_6 для всасывания аминокислот связан с исследованием роли фосфорных соединений в этом процессе. Существует целый ряд данных, свидетельствующих об активирующем влиянии пиридоксальфосфата на транспорт некоторых аминокислот в кишечнике [3, 104, 187, 330]. В то же время нефосфорилированный пиридоксаль, как показал Уаймен [352] в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки хомяка, не влияет на скорость всасывания и градиент концентрации для L-пролина, L-гистидина, L-метионина. Значительный интерес представляют данные, полученные при содержании животных на диете, дефицитной по витамину B_6 , или при введении им антаго-

пистов этого витамина. Так, в опытах на кроликах, получавших V_6 -авитаминозный рацион, интенсивность транспорта аланина через стенку тонкой кишки не отличалась от таковой у контрольных животных [98]. Однако, несмотря на отсутствие эффекта витамина V_6 на всасывание аминокислот, добавление дезоксиридоксина (антагониста пиридоксина) уменьшало всасывание DL-аланина в изолированной тонкой кишке морских свинок [156]. Аналогичный эффект дезоксиридоксина на транспорт метионина, лейцина и глицина наблюдали также в опытах *in situ* с перфузией отрезков тонкой кишки цыплят [328].

При внутривенном введении витамина V_6 крысам с его дефицитом, вызванным обработкой L-пеницилamiном, наблюдали восстановление всасывания L-метионина, L-гистидина, L-лизина. Всасывание D-аминокислот при этом не менялось [75]. Транспорт аминокислот нормализовался и после внутрибрюшинного введения пиридоксина крысам, получавшим дезоксиридоксин [187]. Интересно, что тормозящий эффект ДНФ на всасывание аминокислот исчезал после введения пиридоксальфосфата, но не пиридоксалина. На основании этих данных предполагается, что ДНФ тормозит процесс фосфорилирования пиридоксалина с помощью АТФ и превращение его в пиридоксальфосфат [187, 189].

Таким образом, в хронических экспериментах на животных с дефицитом витамина V_6 введение его в организм оказывает стимулирующий эффект на всасывание аминокислот, тогда как в острых опытах на нормальных животных присутствие витамина V_6 в инкубационном растворе не сопровождается сколько-нибудь заметными изменениями интенсивности транспортного процесса. По-видимому, можно согласиться с предположением Кристенсена [100, 101] о том, что эффект пиридоксина заключается не в непосредственном его влиянии на механизм транспорта аминокислот, а в изменении проницаемости клеточных мембран.

7.12.2. ДРУГИЕ ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ (V_1 , V_2 , С)

По данным Веллера и соавт. [335], у крыс, получавших рацион, не содержащий рибофлавина, ускоряется всасывание в тонкой кишке всех незаменимых аминокислот (за исключением триптофана), в особенности метионина, аргинина и валина. Изменения уровня и соотношения незаменимых аминокислот в крови сопровождалось нарушением азотистого обмена. В отличие от недостаточности витамина V_2 дефицит в рационе витамина V_1 характеризуется уменьшением скорости всасывания незаменимых аминокислот.

Исследования Саундерса и Кирша [291] свидетельствуют о том, что у морских свинок, содержащихся на рационе, дефицитном по витамину С, перенос через стенку тонкой кишки глицина, аланина и лизина как в опытах *in vivo*, так и *in vitro* не

отличается от такового контрольных животных. В то же время Махмуд и Вейджи [217] в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки показали, что у морских свинок, содержащихся в течение 3 недель на скорбутогенном рационе, транспорт глицина уменьшался примерно в 2 раза по сравнению с контролем. После добавления к рациону витамина С транспорт глицина восстанавливался.

7.12.3. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ (D_3 , Е)

В опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки кроликов наблюдали стимуляцию транспорта L-гистидина у животных, получавших внутримышечно витамин D_3 (увеличение V_{max} и уменьшение K_t). У кроликов с явлениями рахита наблюдали увеличение K_t и уменьшение V_{max} транспорта L-гистидина [325].

Исследование эффекта витамина Е на всасывание аминокислот показало, что отсутствие его в рационе цыплят не оказывает существенного влияния на накопление свободного глицина в аккумуляющем препарате слизистой оболочки тонкой кишки [17]. В то же время в опытах на крысах с дефицитом витамина Е было обнаружено торможение транспорта L-валина вывернутыми «мешочками» тонкой кишки [186].

7.13. РОЛЬ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ АМИНОКИСЛОТ

Как уже было отмечено, стереоизомерия является важным фактором, определяющим возможность транспорта аминокислот против градиента концентрации. В клетках слизистой оболочки тонкой кишки высших животных всасываются исключительно природные изомеры L-аминокислоты, хотя имеются данные о возможности транспорта против градиента концентрации и некоторых D-аминокислот.

Механизм транспорта аминокислот высоко специфичен и требует для своего функционирования наличия у молекул аминокислот определенных функциональных групп. Определение их обычно производится в экспериментах с экранированием или модификацией функциональных групп, окружающих атом α -углерода.

7.13.1. α -АМИНОГРУППА

Наличие α -аминогруппы является важным условием активного транспорта аминокислот. Замена ее у аланина гидроксильной группой с образованием молочной кислоты или ацетилирование ее сопровождаются прекращением или значительным уменьшением активного транспорта [207, 340, 344]. Аналогичный эффект наблюдается и при перемещении α -аминогруппы в β -положение, как это имеет место в случае β -аланина [275]. Исследо-

вания кинетики показали, что при замене аминогруппы фенилаланина на водород или гидроксильную группу средство аминокислоты к переносчику уменьшается примерно в 50 раз [171]. При замене одного из атомов водорода аминогруппы активный транспорт продолжается (примером могут служить пролин и N-метилглицин); прекращение функционирования переносчиков нейтральных аминокислот наблюдается при замещении обоих атомов водорода аминогруппы (N-диметилглицин) [170]. По-видимому, имеет значение величина радикала, присоединяемого к водороду аминогруппы, так как фенилглицин в отличие от N-метилглицина активно не транспортируется [317]. Характерно, что в экспериментах такого рода часто появляются соединения, транспорт которых осуществляется с помощью иных транспортных систем. В случае замены α -аминогруппы водородом образуются жирные кислоты (уксусная, пропионовая, масляная), которые транспортируются против градиента концентрации, однако этот процесс происходит с помощью систем, отличных от переносчиков аминокислот [313].

7.13.2. КАРБОКСИЛЬНАЯ ГРУППА

Свободная карбоксильная группа также необходима для активного транспорта аминокислот. Модификация ее с образованием метилового эфира L-гистидина [210] или L-тираммина [243] сопровождается прекращением активного транспорта. Нужно отметить, что α -аминосульфоновая кислота обладает способностью тормозить транспорт моноодитрозина, хотя и в меньшей степени, чем α -аминокарбоновые кислоты [243]. В опытах с фенилаланином было показано, что частичные модификации карбоксильной группы путем метилирования или амидирования уменьшают средство аминокислоты к переносчику в 2 раза, а полная замена ее — в 12 раз.

7.13.3. α -ВОДОРОД

Важную роль для движения аминокислот против градиента концентрации играет α -водород. Замена атома α -водорода на метильную группу существенно понижает или почти полностью тормозит активный транспорт аминокислот [210]. Однако, по данным Акедо и Кристенсена, α -водород может быть замещен на радикал без торможения транспорта [74, 101]. Показано, что 1-аминоциклопентан или 1-аминоциклогексанкарбоновая кислота — соединения, не имеющие свободного водорода у α -углеродного атома, активно переносятся в кишечнике, концентрируются в клетке или слизистой оболочке и конкурируют в процессе всасывания с аминокислотами (валином и лейцином).

7.13.4. БОКОВАЯ ЦЕПЬ

Представленные выше данные свидетельствуют о том, что связывание аминокислот с транспортной системой, по-видимому, происходит в трех точках: через α -аминогруппу, α -карбоксильную группу и, возможно, α -водород. Структура боковой цепи первоначально не рассматривалась в качестве фактора, препятствующего активному транспорту. Однако Липом и соавт. [210] было высказано предположение, согласно которому присутствие липофильного хвоста в молекуле аминокислоты облегчает ее растворение в мембране и тем самым контакт с функциональными группами переносчика. В пользу этого предположения свидетельствуют также данные Рейсера и Кристиансена [276], которые наблюдали, что наиболее интенсивными ингибиторами транспорта L-валина в тонкой кишке крыс являются нейтральные L-аминокислоты, имеющие боковую цепь (L-лейцин, L-изолейцин, L-метметионин, L-триптофан, L-фенилаланин). Они хорошо растворяются в липидах и имеют более низкие значения K_d , чем L-аланин, L-серин, L-треонин. Аналогичные результаты были получены и другими авторами [222, 267] при исследовании кинетики транспорта нейтральных аминокислот.

На основании этих данных полагают, что на акцепторной площадке переносчика имеется гидрофобный участок, который взаимодействует с неполярной боковой цепью аминокислоты [267, 295]. Присутствие заряда у боковой цепи существенно уменьшает скорость аминокислотного транспорта. Было показано [183], что производные тирозина с нейтральной боковой цепью активно транспортировались, тогда как при наличии в цепи ионизированных групп транспорт аминокислоты не наблюдался.

Таким образом, в зависимости от длины боковой цепи меняется средство аминокислоты к переносчику. Одновременно, как показали Даниэлс и соавт. [128], меняется ее способность тормозить транспорт других аминокислот. На основании этих данных становится очевидной важность структуры боковой цепи для транспортных процессов. Считают [123, 171, 301], что для транспорта аминокислот необходимо взаимодействие переносчика как с α -амино- и α -карбоксильной группами, так и с боковой цепью аминокислоты. По мнению этих авторов [301], абсолютная необходимость в α -амино и α -карбоксильной группах свидетельствует о том, что их взаимодействие с механизмом транспорта является кооперативным. По-видимому, присутствие боковой цепи является столь же необходимым для связывания аминокислоты с переносчиком, как и наличие карбоксильной группы [171].

7.14. ТОПОГРАФИЯ ВСАСЫВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ

Боргстрем и соавт. [88] показали, что у здоровых людей 80—90% белка (меченный ^{131}I альбумин сыворотки человека или белки молока) всасывается в проксимальных 100 см тонкой

кишки. Аналогичные результаты были получены и при перфузии тонкой кишки человека растворами чистых аминокислот. Адиди [66] обнаружил, что в верхней части тонкой кишки на расстоянии примерно 80 см всасывается 80—84% введенного лейцина, причем интенсивность его всасывания, а также всасывания треонина в верхнем отделе тощей кишки была выше, чем в верхнем отделе подвздошной кишки. Шедл и соавт. [293] наблюдали более интенсивное всасывание метионина в проксимальном отделе тонкой кишки человека, чем в дистальном. Сходную локализацию транспорта аминокислот отмечали и в опытах на животных. Так, Каулафиан [195] в хронических экспериментах на собаках отмечал максимальную скорость всасывания метионина и лейцина в проксимальном отделе тонкой кишки и уменьшение ее в дистальном направлении. В специальных экспериментах с ингибиторами им было показано, что в двенадцатиперстной и тощей кишках всасывание аминокислот происходит с помощью механизма активного транспорта, а в подвздошной и толстых кишках — путем диффузии. В верхних отделах тонкой кишки крысы наблюдали также максимум всасывания L-цистина и L-цистеина [248] и L-валина [276]. При исследовании аккумуляции лизина в препаратах тонкой кишки цыплят было показано, что интенсивность этого процесса уменьшается в следующей последовательности: тощая, подвздошная, двенадцатиперстная, толстая, прямая и слепая [332].

В то же время Шенкерман [56] наблюдал одинаковую интенсивность всасывания метионина в двенадцатиперстной и тощей кишках цыплят и уменьшение ее в нижележащих отделах. Для L-лизина отмечается отсутствие транспортной активности в двенадцатиперстной кишке птиц и одинаковая интенсивность транспорта в тощей и подвздошной кишках [442].

Однако, по данным большинства исследователей, максимум транспорта аминокислот происходит не в проксимальном, а в среднем и среднестральном отделах тонкой кишки, т. е. там, где наблюдается более высокая пептидазная активность [38, 40, 87, 212, 315]. Биологическая целесообразность совместной локализации гидролитических ферментов и транспортных систем является вполне очевидной, так как таким путем достигается пространственное сопряжение мембранного гидролиза пептидов и транспорта образующихся аминокислот [15, 16, 30, 40, 41]. В модельных препаратах из среднего отдела тонкой кишки хомяка наблюдали более интенсивный транспорт L-триптофана [319], L-тирозина [211] и L-фенилаланина [320], чем в краинальном и каудальном отделах кишечника.

Метьюз и Лестер [222] в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки хомяков отмечали низкую интенсивность транспорта глицина, L-аланина, L-валина, L-лейцина, аминокислоты в двенадцатиперстной кишке и повышение ее в средней части тонкой кишки.

Ларсен и соавт. [203] указывают, что активный транспорт нейтральных и основных аминокислот происходит по всей длине тонкой кишки крыс, однако наиболее высокая интенсивность этого процесса отмечается в нижнем отделе тощей и верхнем отделе подвздошной кишок. Аналогичную локализацию транспорта 7 нейтральных аминокислот (метионин, бетаин, лейцин, аланин, пролин, глицин, α -аминомасляная кислота) у крыс наблюдали также Бейкер и Джордж [80]. Максимум всасывания L-¹³¹I-моноид-тирозина в нижней части подвздошной кишки регистрировали Натас и соавт. [243]. Рейзер и Кристьянсен [278] отмечали оптимум всасывания глицина, валина, лизина в среднестральном отделе тонкой кишки. Аналогичную локализацию всасывания глицина у крыс и морских свинок обнаружили Кушак и соавт. [15, 49] в опытах с аккумулялирующими препаратами слизистой оболочки. В экспериментах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки цыплят наблюдали нарастание транспорта 11 L-аминокислот (гистидина, глицина, аланина, треонина, серина, фенилаланина, лейцина, валина, метионина, изолейцина, лизина) от двенадцатиперстной к подвздошной кишке [292].

Некоторые исследователи [274] отмечают не один, а два пика максимального транспорта для нейтральных (аланин, лейцин, фенилаланин, глицин), основных (аргинин, лизин) и N-замещенных аминокислот (саркозин, пролин): один — в проксимальном, а другой — в дистальном концах тонкой кишки. Однако кислые аминокислоты наиболее интенсивно транспортировались только в дистальном отделе подвздошной кишки.

Таким образом, несмотря на противоречивость сведений о локализации систем транспорта аминокислот в тонкой кишке, большинство исследователей отмечают максимум их активности в средней части кишки. Неоднозначность экспериментальных данных, по-видимому, зависит от вида животного, его функционального состояния, возраста, состава рациона, метода исследования и других факторов. Так, в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки хомяков максимальный транспорт L-аргинина, DL-орнитина и L-лизина наблюдался в дистальных отделах тонкой кишки, однако при использовании сегментов кишечника интенсивность аккумуляции L-лизина была одинаковой в различных отделах кишечника [229]. У 1.5-недельных цыплят наблюдали увеличение интенсивности транспорта L-лизина в направлении от двенадцатиперстной к подвздошной кишке [292], а у взрослой птицы скорость транспорта этой аминокислоты в тонкой кишке уменьшалась в проксимо-дистальном направлении. Характерно, что ни один из исследователей не наблюдал активного транспорта аминокислот в толстой кишке [84, 108].

7.15. ЗАВИСИМОСТЬ ВСАСЫВАНИЯ АМИНОКИСЛОТ ОТ ВОЗРАСТА

Обзор факторов, влияющих на всасывание аминокислот в живом организме в процессе его индивидуального развития, был сделан Мищенко [23]. Поэтому нам остается лишь остановиться на экспериментах, посвященных изучению влияния возраста непосредственно на механизм транспортного процесса в кишечных эпителиоцитах. Детальное исследование этого вопроса проведено Рейсером, Кристиансенем и Фиджеральдом [149, 150, 283]. Ими было показано, что в тонкой кишке 2-5-дневных крыс интенсивность аккумуляции L-валина, L-лизина и глицина в 1.5—2 раза выше, чем у взрослых крыс [149, 283]. В тонкой кишке молодых крыс наблюдался также активный транспорт оксиаминокислот, гистидина и основных аминокислот, причем транспорт последних у них происходил интенсивнее, чем у половозрелых или старых животных [150, 260]. В отличие от переносчиков нейтральных и основных аминокислот транспортная система для N-замещенных аминокислот у новорожденных животных еще не развита, и транспорта бетаина и саркозина против градиента концентрации у них не происходит. Однако у двухдневных крыс, так же как и у взрослых животных, обнаружен феномен обменного транспорта аминокислот, проявляющийся в стимуляции транспорта лизина аланином и лейцином [150]. Мищенко и соавт. [24], изучавшие транспорт валина и гистидина в тонкой кишке 1—24-месячных крыс, наблюдали два периода его падения: ко времени достижения половой зрелости и в старческом возрасте, причем по мере старения роль Na^+ в транспорте аминокислот возрастала. Об интенсивном функционировании транспортных систем для L-пролина в тонкой и даже толстой кишках новорожденных крыс и мышей свидетельствуют также данные Бета и Шахтера [82]. У цыплят максимум аккумуляции L-валина и L-лизина наблюдали в день вылупления, а глицина — на 2—3-й день после него. В последующий период происходило уменьшение транспортной активности, и у взрослых птиц она была в 2—4 раза ниже, чем у новорожденных [272]. Близкие результаты были получены и в отношении глутаминовой кислоты. Интенсивность ее транспорта у 39-дневных цыплят была в 2 раза ниже, чем у 12-дневных [332].

Для выяснения причины столь значительного замедления транспорта аминокислот с возрастом исследовалась кинетика этого процесса у новорожденных и у половозрелых животных. Исследования показали, что K_t для валина у взрослых и двухдневных крыс не отличались между собой, тогда как V_{max} у последних была значительно выше. В связи с этим предполагается, что молодые крысы характеризуются скорее большим числом переносчиков аминокислот, чем более высокой прочностью комплекса перенос-

чик—транспортимое вещество [283]. Аналогичные результаты были получены и при определении кинетических констант для L-валина у одно- и 10-дневных цыплят [272].

7.16. ТРАНСПОРТ ЧЕРЕЗ БАЗАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ

Представленные выше данные касались главным образом поступления аминокислот через апикальную мембрану эпителиоцитов или ткань тонкой кишки в целом. Не менее важным и интересным (но менее изученным) является вопрос о транспорте аминокислот через клетку и прохождении ими базальной клеточной мембраны. Эксперименты с применением метода автордиографии показали наличие в кишечных эпителиоцитах апикально-базального градиента всасывания. Максимальная концентрация аминокислот и сахаров наблюдается всегда в районе исчерпанной каемки кишечных эпителиоцитов и постепенно уменьшается по направлению к базальной мембране [198].

В процессе всасывания аминокислот концентрация их в клетке всегда выше, чем в серозном растворе или плазме крови. На основании этих данных можно думать, что выход аминокислот из эпителиальных клеток тонкой кишки осуществляется путем диффузии по градиенту концентрации. Однако некоторые исследователи [188, 189] считают, что в кишечных эпителиоцитах наряду с транспортными системами, локализованными в апикальной клеточной мембране и ответственными за поступление аминокислот в эпителиоцит, существует специальная транспортная система, находящаяся в базальной мембране и обеспечивающая выход аминокислот в кровь или серозный раствор. Ими показано, что ингибиторы транспорта тормозят главным образом деятельность переносчика, расположенного на базальной мембране. Так, при внутрибрюшинном введении ДНФ или дезоксиридоксина уровень L-тирозина в тканях кишечной стенки не меняется, однако всасывание из полости тонкой кишки уменьшается [189]. Эспозито и соавт. [140] в опытах с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки крыс не наблюдали параллелизма между нарастанием концентрации L-фенилаланина в кишечных клетках и серозном растворе и на основании этого считают, что диффузия, или пассивный перенос с током воды, не обеспечивает эффективного выхода аминокислот из кишечных эпителиоцитов. Аналогичные наблюдения были сделаны также Вайном [347] при введении L-фенилаланина в изолированную петлю тощей кишки крыс, находящихся под наркозом. С увеличением концентрации фенилаланина в перфузате отмечалось насыщение им кишечных эпителиоцитов, однако в портальной крови уровень аминокислоты не менялся.

Данные, свидетельствующие о существовании в кишечных эпителиоцитах дополнительной транспортной системы, были получены также Мунком и Шульцем [238] в опытах на кроликах. Ими было показано, что стимулирующий эффект лейцина на

транспорт лизина осуществляется благодаря усиленному выходу последнего через базальную и (или) латеральные мембраны. Механизм, осуществляющий этот процесс, не зависит от натрия и работает, по-видимому, по принципу облегченной диффузии. Сходные результаты были получены и в экспериментах на черешках [172]. У этих животных выход ^3H -аланина через серозную поверхность изолированной тонкой кишки не зависел от концентрации Na^+ внутри клеток эпителия слизистой оболочки и во внеклеточной среде (в отличие от поверхности слизистой оболочки, где в отсутствие Na^+ происходил выход аминокислот из клетки). Авторы считают, что транспорт аланина через серозную мембрану осуществляется с помощью переносчиков, не зависящих от Na^+ , тогда как транспорт через слизистую оболочку нуждается в этом катионе.

Аналогичные транспортные механизмы, участвующие в переносе через базальную и латеральную мембраны, предполагаются и для сахаров. Так же как и переносчики аминокислот, они обладают низким сродством к субстрату и не зависят от присутствия натрия [27, 51].

Следовательно, в кишечных эпителиоцитах с исчерпанной каемкой наряду с транспортной системой, связанной с апикальной мембраной и ответственной за поступление аминокислот, внутрь клеток, существует еще другая транспортная система, расположенная в базальной мембране и осуществляющая выход транспортируемого вещества. Деятельность этих двух систем должна быть тесно связана, так как благодаря их согласованной работе осуществляется быстрый и эффективный перенос аминокислот из содержимого кишечника в кровь или серозный раствор. Оба этих механизма работают с помощью переносчиков, но с той разницей, что механизм «выхода» является энергозависимым, тогда как транспорт через базальную мембрану представляет собой процесс облегченной диффузии. Эта принципиальная разница между ними определяет и целый ряд других отличий (разная скорость процесса, зависимость от натрия и др.). Если подтвердятся данные, свидетельствующие о существовании отдельных механизмов «входа» и «выхода», то, по-видимому, придется пересмотреть ряд представлений, касающихся механизма транспорта аминокислот. В этом случае окажется, что все имеющиеся данные (за исключением тех, которые получены при изучении аккумуляции аминокислот в кишечных эпителиоцитах) отражают не работу переносчиков, ответственных за поступление аминокислот в клетки, а являются результатом интегральной деятельности двух или большего числа транспортных систем, расположенных в различных ее частях. Однако имеющиеся в нашем распоряжении данные, в частности полученные при сопоставлении результатов аккумуляционных и обычных транспортных экспериментов, где исследовался перенос аминокислот из мукозного раствора в серозный, позволяют предположить, что основные закономерности транспорта аминокислот, характеризующие их зависимость от

концентрации субстрата и натрия, присутствия других аминокислот, энергии и т. д., не претерпят существенных изменений. По-видимому, это обусловлено более высокой эффективностью механизма «входа», чем «выхода», и той ролью, которую играет апикальная цитоплазматическая мембрана, отделяющая внутреннюю «биосферу» клетки от внешней среды.

Представленные выше данные характеризуют не только непосредственно процесс всасывания аминокислот, но и стадии, предшествующие их появлению в тонкой кишке. Аминокислоты, являющиеся у высших организмов основным продуктом белкового пищеварения, поступающим в кровь, образуются благодаря деятельности механизмов полостного и мембранного пищеварения. Последний тесно связан с процессами всасывания. Интеграция пищеварительных и транспортных процессов обеспечивает чрезвычайно быструю и эффективную передачу продуктов гидролиза с ферментами, участвующих в заключительных стадиях расщепления белка, на «входе» транспортных систем, осуществляющих перенос образующихся аминокислот через плазматическую мембрану эритроцитов. Уже в первые минуты после введения белка или свободных аминокислот в пищеварительный тракт последние обнаруживаются в плазме крови [240, 354, 356]. Столь высокая интенсивность транспорта аминокислот обеспечивается благодаря функционированию систем активного транспорта, характеристика которых представлена в настоящей главе. Следует отметить, что скорость транспорта аминокислот не остается постоянной на протяжении жизни и существенно меняется в различных отделах кишечной трубки. Интенсивность всасывания аминокислот зависит не только от скорости их поступления внутрь кишечных клеток, хотя этот этап и является наиболее лимитирующим, но и от прохождения ими через ряд других барьеров, лежащих между клетками кишечного эпителия и кровью. Их анализ представляет самостоятельный интерес и, по-видимому, должен стать предметом специального обсуждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В. К. Транспортные белки и проницаемость мембран. — Изв. АН СССР, 1970, № 6, с. 823—837.
2. Биофизика. Т. 4. Методы изучения структуры биологических мембран. М., 1975.
3. Браунштейн А. Е., Виленкина Г. Я., Брисова Л. В. Об участии триплексфосфата в активном переносе аминокислот через клеточные мембраны. — Вopr. мед. хим., 1963, т. 9, вып. 5, с. 475—480.
4. Васильев Ю. М., Маленков А. Г. Клеточная поверхность и реакция клеток. Л., 1968.
5. Владимиров Ю. А., Поглазов А. Ф. Структурная организация мембран. — В кн.: Биологические мембраны. М., 1973, с. 7—47.

Глава 8

ВСАСЫВАНИЕ ЛИПИДОВ

М. Ю. Черняговская, С. К. Чурина

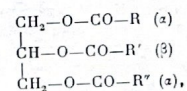
В живом организме все биохимические превращения осуществляются в водной среде. Липиды и продукты их переваривания, большинство из которых в воде не растворяется, должны подвергнуться определенным биохимическим превращениям для проникновения в водную среду организма. В этом отношении исключительная роль принадлежит процессам, протекающим в желудочно-кишечном тракте. Они обеспечивают не только переваривание липидов; именно в тонкой кишке создаются условия для перехода водонерастворимых пищевых жиров и продуктов их распада в водорастворимые физико-химические формы, которые в свою очередь обеспечивают как ферментативный гидролиз жира, так и всасывание продуктов этого гидролиза в кишечнике. Далее, в кишечных эпителиоцитах с исчерпанной каемкой тонкой кишки происходят сложные биохимические превращения, в результате которых из всосавшихся продуктов гидролиза пищевых жиров любого происхождения (растительного, животного, синтетического) синтезируются жиры, специфические для данного организма. И, наконец, клетки тонкой кишки контролируют заключительный этап переваривания липидов, а также транспорт всосавшихся и ресинтезированных жиров в лимфу или кровь.

8.1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВЫХ ЖИРОВ

Одной из наиболее обширных и важных групп пищевых жиров являются триглицериды (или нейтральные жиры) — важный объект при изучении проблемы переваривания жиров. Это обусловлено не только тем, что они составляют основную массу жиров пищи человека, но и тем, что они являются наиболее типичными представителями липидов вообще. Главное отличитель-

ное свойство липидов — нерастворимость в воде — у триглицеридов выражено в большей степени, чем у других пищевых жиров. Кроме того, триглицериды составляют значительную долю в многообразии пищевых жиров растительного и животного происхождения. И, наконец, для триглицеридов характерен высокий калорический коэффициент, который отличает жиры от белков и углеводов.

По своей химической природе триглицериды представляют собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина и жирных кислот:



где R, R', R'' — радикалы жирных кислот. В тех случаях, когда в глицерине замещены жирными кислотами не все три гидроксильные группы, а две или одна, образуются соответственно диглицериды или моноглицериды. В молекуле глицеридов спирт глицерин является постоянным компонентом, тогда как характер жирных кислот может быть самым разнообразным. Основными насыщенными жирными кислотами в пищевых триглицеридах являются пальмитиновая (C₁₆) и стеариновая (C₁₈), а из ненасыщенных — олеиновая (C₁₈), линолевая (C₁₈), линоленовая (C₁₈) и арахидоновая (C₂₀) жирные кислоты. В некоторых жирах, таких как сливочное масло и маргарин, в значительных количествах могут присутствовать жирные кислоты с короткой углеродной цепью, например масляная (C₄).

В молекуле триглицеридов все три гидроксильные группы могут быть замещены одной жирной кислотой (гомогенные триглицериды) и разными жирными кислотами (смешанные триглицериды). Эти жирные кислоты могут иметь различную длину цепи, находиться в различном положении, иметь различную степень насыщенности и т. д. Отсюда становится понятным большое разнообразие триглицеридов в природе.

В настоящее время количество природных триглицеридов превышает 600. Известно о существовании 420 различных триглицеридов растительного происхождения, 80 видов жиров наземных животных и свыше 100 видов жиров водных животных [124].

В состав пищевых рационов могут входить различные жиры. Они отличаются по содержанию жирных кислот и по физическим свойствам. Животные жиры преимущественно состоят из насыщенных жирных кислот; наличие большого количества ненасыщенных жирных кислот характерно для жиров растительного происхождения. На усвоение жиров оказывают существенное влияние их физические свойства. Так, тугоплавкие жиры перевариваются медленнее и всасываются хуже, чем легкоплавкие.