

Наиболее богаты фолиевой кислотой дрожжи (30 мг/кг), печень (4—8 мг/кг), злаковые (0,5—2 мг/кг), люцерновая мука (1,5—3 мг/кг). Производные фолиевой кислоты участвуют в биосинтезе многочисленных ферментных систем переноса односторонних соединений пиримидинового и пуринового ядер нуклеиновых кислот, метионина и холина, в обмене гистидина, в образовании форменных элементов крови и синтезе гемоглобина.

В растительной пище фолиевая кислота встречается обычно в виде полиглутаматов (содержащих от 3 до 7 связанных остатков глутаминовой кислоты). Полиглутаматы не могут усваиваться и ферментативно освобождаются до моноглутаматов карбоксипептидазой (фолат-кофьюгазой), найденной в стенке тонкой кишки. Всасывается свободная фолиевая кислота хорошо, в основном в тонкой кишке и частично в подвздошной. Нарушается всасывание фолиевой кислоты при поражении аппарата ворсинок кишечных эпителиоцитов. Лучше, однако, всасываются восстановленные и метилированные фолаты (печени), чем кристаллическая птероилглутаминовая кислота [137].

В изотопных опытах с вывернутыми кишечными мешочками крыс трансфузия фолиевой кислоты через всю кишечную стенку происходит диффузно [241, 250], но это не исключает возможность активного транспорта в эпителиоциты слизистой оболочки из кишечника содержимого.

Клеточный механизм абсорбции фолиевой кислоты изучен мало, а имеющиеся данные противоречивы. Обнаружение на исчерпанной каемке кишечных эпителиоцитов фолаткофьюгазы позволяет предположить ее участие в расщеплении полиглутаматов до моноглутаматов в процессе абсорбции [135].

Было показано, что существует термостабильный фактор, вырабатываемый тонкой кишкой и необходимый для абсорбции фолиевой кислоты. При атрофии кишечных ворсинок (при тропической и нетропической формах спру) фолиевая кислота не всасывается. Абсорбция восстанавливается после скармливания экстракта тонкой кишки человека или теленка. Это позволило предположить, что транспорт фолиевой кислоты через мембрану слизистой оболочки контролируется специальным механизмом типа переносчиков. В опытах с синтетическими птероилполиглутаматами — птероилдиглутаматом (диоптерином) и птероил-

триглутаматом (тероптерином) — было установлено, что у здоровых испытуемых людей абсорбируются все формы фолиевой кислоты. У больных с удаленной тощей кишкой абсорбция птероилмоноглутаминовой кислоты сохранялась, но нарушалось всасывание полиглутаматов. Был сделан вывод о том, что только тощая кишка содержит фолат-кофьюгазы, требуемые для деконъюгирования полиглутаматов фолиевой кислоты пищи [59].

Процесс абсорбции фолиевой кислоты сопряжен не только с деконъюгированием птероилполиглутаматов, но также с синтезом активных метаболитов витамина: фолиновой кислоты — ⁶N-формил-ТГФК и ⁵N-метил-ТГФК в кишечнике [190]. Злокачественное малокровие сопровождается пониженной активностью фолат-кофьюгазы кишечника [217].

В пище встречаются различные формы связанной с белками фолиевой кислоты. Фолатсвязывающая сила белков молока коз в 4 раза больше, чем молока коров. Абсорбция этой фолиевой кислоты на 20% ниже свободной, и резорбционный максимум сдвинут в дистальную часть тонкого кишечника.

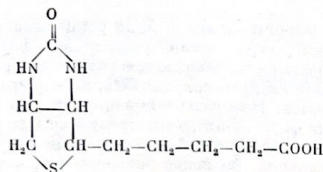
При рождении козлят плазма содержит мало фолиевой кислоты (1 нг/мл), но на 2-й день после рождения ее содержание уже достигает 28 нг/мл. Предполагается, что фолат-белковый комплекс молозива переходит в кровь без изменений. На 21-й день после рождения фолатсвязывающий белок крови отличается от аналогичного белка молозива [117]. Дети на 14-й день после рождения содержат в плазме крови всего 0,2 нг фолиевой кислоты, обогащение молока птероилмоноглутаминовой кислотой и птероилполиглутаминовой кислотой в одинаковой степени повышает содержание витамина в плазме крови до 0,54—0,58 нг, что позволяет предположить способность кишечника новорожденных расщеплять полиглутаматные формы фолиевой кислоты [232].

Признано, что анемия Аддисона—Бирмера возникает на почве нарушения одновременного всасывания фолиевой кислоты и витамина В₁₂ [38]. В эксперименте на птицах было показано, что всасыванию фолиевой кислоты и ее отложению в яиче способствует скармливание витамина В₁₂ [155].

Птероилмоноглутаминовая кислота у людей всасывается также в толстой кишке, независимо от того, вводится ли витамин orally или через катетер [239].

10.13. БИОТИН

Биотин в кристаллическом виде был выделен из яичного желтка, а в 1937 г. было показано его значение как фактора, предупреждающего поражения кожи крыс, если последним скармливался рацион, содержащий белок куриного яйца. Элементарный состав биотина C₁₀H₈O₃N₂S. Молекула биотина — гетероциклическое соединение, состоит из тифенового и глиоксилидного колец с присоединенной *n*-валерьяновой кислотой:



Синтетически получены 4 рацемические формы биотина, из них только DL-β-биотин обладает 50%-й биологической активностью природного биотина. Природный D-β-биотин, выделенный из печени, имеет цис-конфигурацию и кристаллизуется в виде игольчатых бесцветных кристаллов, растворимых в воде.

При щелочном гидролизе образуется неактивный для животных дестиобиотин, но активный для дрожжей и некоторых других микроорганизмов. Биотин входит в состав энзимов, основная роль которых сводится к переносу углекислоты на органические кислоты в реакциях карбоксилирования и транскарбоксилирования. Эти реакции широко распространены в животном организме при синтезе белков, жиров и углеводов и в окислительных процессах [3, 31, 172].

Больше биотина содержится в дрожжах (1500—2000 мкг/кг), в жмыхах и протее (600—1800 мкг/г), меньше — в зерновых кормах (100—125 мкг/кг).

Свободный биотин — ²H- и ¹⁴C-биотин — в опытах in vitro на участках вывернутой тонкой кишки хомяков и мышей всасывается активным транспортом против градиента концентрации [240], однако в тонкой кишке крыс, кроликов и морских свинок активный транспорт доказать не удалось [241].

Первая половина, и в особенности первая треть, тонкой кишки является наиболее активным участком всасывания биотина. Всасывание его было обнаружено также в толстой кишке человека [239]. Абсорбция биотина тормозится авидином, биоцитином, дестиобиотином, метиловым эфиром биотина, диаминобиотином и другими антагонистами — аналогами биотина.

Единственным известным пока природным источником антагониста биотина — авидина — являются яйца кур, индеек, уток и гусей. Авидин — белок с молекулярным весом около 53 000; 1 мг авидина связывает 13,8 мкг биотина, не расщепляемого кишечными ферментами. Из общего количества авидина, найденного в белке куриного яйца (19 мкг), доля свободного авидина, не связанного с биотином, составляет 62% [172]. Поэтому употребление свежих яичных белков вызывает авидиноз. Меченый биотин, введенный цыплятам внутримышечно в дозе 100 мкг/кг живого веса, через 3 часа обнаруживается (в основном в связанном виде) в почках — 15%, в печени — 17%, в мышцах — 14,6% от введенного количества. Около 30% введенного биотина найдено

470

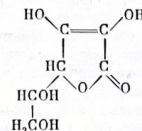
в кале и моче. Печень цыплят содержит биотина в норме 0,875 мкг/г, при его дефиците — только 0,291 мкг/г. В животных кормах и продуктах питания, а также дрожжах биотин находится в основном в связанном виде, и только растения содержат наряду со связанным также и свободный биотин.

Интерес привлекло соединение биотина с лизином, изолированное из дрожжей, с элементарным составом C₁₆H₂₃N₄O₄S (ε-N-биотинил-L-лизин), названное биоцитином и синтезированное химически [274]. В опытах на крысах с вывернутыми «мешочками» кишки было показано, что биоцитин абсорбируется слизистой оболочкой кишечника так же интенсивно, как и свободный биотин. Это объясняется тем, что в стенке тонкой кишки, в печени и в других тканях, а также в микроорганизмах кишечника содержится фермент, расщепляющий биоцитин и названный биоцитиназой. Из Streptococcus faecalis биотинидаза была выделена в чистом виде [166]. Таким образом, процесс абсорбции биоцитина сопряжен с его расщеплением биоцитиназой, синтезируемой кишечными эпителиоцитами слизистой оболочки и локализованной, по-видимому, на наружной поверхности мембран исчерпанной каемки. Аналогичный фермент был обнаружен в крови и назван биоцитиназой [172].

После инъекции ¹⁴C-биотина крысам в течение суток в моче обнаружено 85% метки, из них биологически активные метаболиты составили лишь половину. Среди метаболитов найдены сульфоксид биотина, нейтральный кетон, бис-норбиотин [138]. Видимо, у млекопитающих в отличие от бактерий метаболизм биотина не затрагивает глубокое расщепление кольцевой структуры.

10.14. ВИТАМИН С

Витамин С, или аскорбиновая кислота (C₆H₈O₆), в чистом виде был выделен в 1928 г., он оказался лактоном 2,3-дигидрогулоновой кислоты. Аскорбиновая кислота

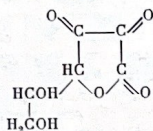


— бесцветное, хорошо растворимое в воде кристаллическое вещество, являющееся составной частью всех тканей человека и животных.

Витамин С излечивает у человека гиповитаминоз и авитаминоз — цингу. Кроме человека, цингой болеют морские свинки, приматы и некоторые виды синантропной птицы, а из млекопитающих — летучие мыши. Домашние сельскохозяйственные

471

животные и птицы витамин С синтезируют в своем организме и обеспечивают таким образом потребность в этом витамине. Витамин С обладает выраженным окислительно-восстановительным свойством. В тканях, отдавая водород, он окисляется и превращается в дегидроаскорбиновую кислоту:



которая вновь восстанавливается в аскорбиновую кислоту при участии доноров водорода. Найдена также ферментная система — трансдегидрогеназа, переносящая водород от восстановительного никотинамидаденин-динуклеотида (НАД-Н) к кислороду. В качестве свободного радикала, трансдегидрогеназа содержит монодегидроаскорбиновую кислоту [40, 187].

У морской свинки наиболее интенсивное всасывание витамина С наблюдается в дистальной части тонкой кишки, при этом требуются аэробные условия и наличие ионов натрия; тормозится всасывание ингибиторами тканевого дыхания (цианидом и др.) [242]. Это определяет существование активных трансмембранных переносчиков витамина С. Ингибирует всасывание также глюкоза [9].

В опытах *in vitro* с вывернутой тонкой кишкой хомяков, способных синтезировать витамин С, активный транспорт ^{14}C -аскорбиновой кислоты через стенку кишки не обнаружен [240]. Это, однако, не исключает активного перенос аскорбиновой кислоты из просвета кишки в эпителиоциты слизистой оболочки. Синтетический витамин хорошо всасывается в тонкой кишке, но более интенсивно в тощей кишке. При резекции тощей кишки абсорбция наблюдается и в подвздошной кишке человека. Не обнаружено всасывание в толстых кишках [239].

У морской свинки после интраперитонеальной инъекции наблюдали значительное выделение аскорбиновой кислоты в моче, а также в просвете тонкого кишечника и желудка и небольшое в толстой и слепой кишках [224].

Витамин С нестойкое, легко окисляющееся соединение, которое, попадая в желудочно-кишечный тракт, подвергается частичному разрушению (особенно при ахилии) раньше, чем он успеет абсорбироваться. Наименьшая доза витамина С, вызывающая его повышенное выделение с мочой, названа критической. Для морской свинки она составляет 100 мг/кг веса, а при внутривенном введении 2 мг/кг. Для крыс она составляет 10 мг/кг при оральном введении и 1 мг/кг при внутривенном [16].

У человека для оценки витаминной обеспеченности предложен

метод выделения аскорбиновой кислоты за 1 час (утром натощак). При этом нормальным признается выделение 0.85 мг аскорбиновой кислоты. Пользуются также нагрузочной методикой, при которой человек получает одновременную нагрузку в 200—300 мг аскорбиновой кислоты, после чего учитывается выделение витамина С в течение 3 час. По этой методике установлено, что при повышенной и в особенности при пониженной кислотности желудочного сока резервы витамина С в организме значительно понижены [35].

Опыты с морскими свинками, получавшими частично цинговую диету, показали, что авитаминоз развивается позже у безмикробных животных по сравнению с нестерильными. Это также свидетельствует о разрушении (или потреблении) витамина С микроорганизмами пищеварительного тракта.

Ткани сельскохозяйственных животных содержат витамин С. Его уровень в крови, молоке и внутренних органах весьма стабилен и зависит от синтеза в самом организме. Кроме того, наблюдается видовая специфичность. Так, молоко коров содержит 1.7—2 мг% витамина С и редко выходит за эти пределы. Молоко кобыл и свиной содержит 10—12 мг% витамина С [7]. Содержание витамина С в молоке морской свинки может достигать 70 мг% [7, 48]. Молоко женщин содержит в среднем 5—7 мг% витамина С и редко превышает это количество.

Локализация синтеза витамина С не совсем еще ясна. При исследовании механизма биосинтеза витамина С у разных животных обнаружено отсутствие таких микросомальных ферментов, как глюкоксидаза и гулоксидаза, участвующих в биосинтезе витамина С в печени морских свинок и человека, а также у некоторых синантропных видов дикой птицы. Найдены эти ферменты в печени сельскохозяйственных животных и в почках домашней птицы [230]. Было сделано заключение о локализации биосинтеза витамина С в этих двух органах [81].

В таком случае должен существовать интенсивный межклеточный транспорт витамина С. Действительно, активный процесс транспорта, нуждающийся в источниках энергии и ионах натрия, обнаружен в сетчатке глаз у крыс, которая аккумулирует значительное количество аскорбиновой кислоты.

Активное поглощение $\text{L-}^{14}\text{C}$ -дегидроаскорбиновой кислоты обнаружено в опытах *in vitro* на тромбоцитах морской свинки, облегченная диффузия наблюдалась для $\text{L-}^{14}\text{C}$ -аскорбиновой кислоты [40].

* * *

Всасывание питательных веществ и витаминов в физиологических концентрациях не является простым процессом диффузии по градиенту концентрации, а в большинстве случаев, по крайней мере на первом этапе абсорбции (прохождение плазматической

мембраны энтероцита слизистой), является активным процессом, нуждающимся в переносчике и затрате энергии.

Мембрана кишечного энтероцита — не только активный проводник питательных элементов, но одновременно и носитель ряда пищеварительных ферментов, завершающих расщепление олигомеров пищи, поступающих из содержимого тонкой кишки и осуществляющих также дефосфорилирование и дезацетификацию природных форм витаминов. Только мономеры и свободные формы витаминов могут проходить через мембрану кишечных энтероцитов. Понятие «пищеварение» для витаминов и минеральных веществ считалось малопримемлемым, так как предполагалась их ассимиляция лишь на уровне всасывания. В настоящее время абсорбция витаминов привлекла внимание благодаря обнаружению весьма сложного механизма их усвоения. Ферменты, расположенные на мембране кишечных энтероцитов, оказались многофункциональными, осуществляющими не только гидролиз связанных форм витаминов (например, ретинил-эфира) и дефосфорилирование (например, тиаминпирофосфата и никотинамиддифосфата), но также и синтез (ретинола и ретиналя из каротина).

Ферменты эти вырабатываются как кишечными энтероцитами, так и поджелудочной железой с последующим их сорбированием на поверхности мембраны исчерпанной каемки энтероцита. Можно предполагать, что ряд экзогенных ферментов поджелудочной железы вырабатывается в неактивном состоянии (трипсиноген, α -амилаза) и активируется после их включения в мембрану исчерпанной каемки.

Особенно сложно абсорбируется витамин B_{12} (в желудке образуется комплекс B_{12} -ВФ, на мембране исчерпанной каемки витамин B_{12} освобождается от внутреннего фактора и присоединяется к переносчику).

Свободные витамины, проникнув в цитоплазму кишечного энтероцита, вновь ретицируются и фосфорилируются и в таком виде транспортируются дальше. Биологическая целесообразность такого превращения пока неизвестна. Предположение, что при этом снижается внутриклеточная концентрация исходного вещества, способствуя его диффузному переходу в клетку по градиенту концентрации, не оправдалось [167, 169].

Подтверждается механизм активного транспорта как жирорастворимых, так и водорастворимых витаминов, по крайней мере внутрь кишечного энтероцита (аккумуляция).

Столь сложная организация мембраны слизистой оболочки кишечника с исчерпанной каемкой ее энтероцитов, и гликокаликсом, возникшая в процессе эволюции, потребовалась для выполнения главной физиологической функции — прохождения питательных веществ внутрь организма. Ее функционирование в свою очередь зависит от обеспечения полноценного питания, при этом как недостаточный, так и избыточный прием

тех или иных питательных веществ оказывает влияние на устойчивость и целостность мембран, следовательно, и на их пропускную способность.

Поскольку гидролитические процессы на мембране кишечных энтероцитов более активны, чем процессы переноса, продукты гидролиза частично могут проникнуть в просвет кишечника, что наблюдается при высоких нагрузках субстрата, создавая при этом иллюзию ферментативных процессов, якобы происходящих в полости кишки. Так, например, наблюдали гидролиз и синтез эфиров витамина А в просвете кишки при больших нагрузках эфиров витамина А в пищу.

Так как жирорастворимые и некоторые водорастворимые витамины (холин) являются структурными компонентами мембран, их нормальная деятельность зависит от обеспеченности диеты витаминами. При дефиците витамина Е снижается контрастность внешних мембран митохондрий и содержание полиненасыщенных жирных кислот. При рахите отмечено снижение содержания витамина B_{12} в подвздошной кишке и в печени [1].

Холин является структурной субъединицей фосфолипидов, играющих «важную роль в проявлении каталитических свойств мембраносвязанных ферментов» [32]. Избыток жирорастворимых витаминов также понижает стабильность мембран, в том числе и внутриклеточных (например, митохондрий и лизосом), регулирующих синтез и транспорт ферментов клеточного «пищеварения». Предложено рассматривать жирорастворимые витамины как «настройщики» свойств биологических мембран, а высокие концентрации этих витаминов следует причислить к «физиологическим детергентам, разобщающим ферментные комплексы с липидными компонентами мембран» [32].

В ряде опытов было обнаружено, что по аналогии с углеводами и белками связанные эфирные, полиглутаматные и полимерные формы витаминов усваиваются лучше, чем свободные. В соответствии с гипотезой Уголева [41] это можно объяснить особым характером организации на мембране кишечных энтероцитов гидролизно-транспортного конвейера, который функционирует как единый механизм. Образующиеся продукты ферментативного расщепления перехватываются непосредственно переносчиками и сразу транспортируются через мембрану. Мономерные и свободные формы субстрата в поисках переносчика нуждаются во времени и, кроме того, подвергаются микробному расщеплению.

Таким образом, природные витамины в пищеварительном тракте не претерпевают заметных изменений, а подвергаются лишь освобождению от связующих веществ и растворителей и подготавливаются для абсорбции. Основной процесс всасывания происходит на кишечном энтероците, главным образом на его апикальной мембране, гидролизующими и трансформирующими

ферментами при участии неидентифицированных переносчиков. Несмотря на большое практическое значение молекулярных механизмов этого процесса, они изучены все еще недостаточно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрушайте Р. Я., Бауман В. К. Усвоение витамина В₁₂ в организме цыплят в зависимости от обеспечения витамином D. — В кн.: Всасывание и обмен питательных веществ в организме животных. Рига, 1975, с. 3—8.
2. Бауман В. К. Современные представления о механизме действия и обмене витамина D в организме животных (обзор). — Прикл. биохим. и микробиол., 1972, т. 8, вып. 2, с. 131—140.
3. Березовский В. М. Химия витаминов. М., 1959.
4. Вилас Л. М. Экскреция витамина D при дисбактериозах. — В кн.: Биохимия, химия и технология производства витаминов D, их применение в медицине и животноводстве. Матер. 2-го симпозиума. Киев, 1972, с. 62—64.
5. Браунштейн А. Е. На путях к познанию реакций и ферментов переноса амногруппы. Рига, 1974.
6. Бремнер С. М. Витамины. М., 1966.
7. Вальдман А. Р. Значение витаминов в питании сельскохозяйственных животных и птиц. Рига, 1957.
8. Гаджиев Х. Э., Шамош И. А. Изменение печени у крыс с удаленной слепой кишкой при холиновой недостаточности. — Вопр. питания, 1964, т. 23, вып. 4, с. 50—54.
9. Гладких С. П., Ажгин И. С., Авакумов В. М., Клементьева И. В. Влияние глюкозы и Na-лаурилсульфата на всасывание аскорбиновой кислоты в тонком кишечнике морских свинок. — Матер. 2-го Всес. симпозиума по физиол. и патол. всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973, с. 18—19.
10. Горячкова Е. В. Витамин В₃ (пиридоксин). — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 236—263.
11. Девинская Л. М., Большаченко Р. А. Влияние антиокислителей на обеспеченность цыплят-бройлеров витаминами группы D. — В кн.: Биохимия, химия и технология производства витаминов D, их применение в медицине и животноводстве. Матер. 2-го симпозиума. Киев, 1972, с. 69—70.
12. Дмитриевский А. А., Розенберг Д. Л. Влияние анаболических андрогенов на усвоение β-каротина у крыс. — Изв. АН ЛатвССР, 1972, № 5, с. 65—69.
13. Дмитриевский А. А., Соловьева Н. В. Эпизматическое окисление ретинола в ретиноевую кислоту и усвоение витамина А и β-каротина. — Прикл. биохим. и микробиол., 1973, т. 9, вып. 3, с. 418—424.
14. Ермаков В. В., Ковальский В. В. Биологическое значение селена. М., 1975.
15. Ефремов В. В. Витамин РР (никотиновая кислота). — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 336—370.
16. Кадиков Б. И., Рамтер Г. С. Особенности обмена аскорбиновой кислоты в зависимости от способности организма синтезировать витамин С. — Вопр. питания, 1966, т. 25, № 5, с. 7—9.
17. Косачев К. С. Клиническая биохимия. Л., 1967.
18. Куцаева И. Б. Всасывание некоторых витаминов группы В в толстой кишке. — Физиол. ж. СССР, 1967, т. 53, № 7, с. 835—839.
19. Куцаева И. Б. Всасывание тиамина, пиридоксина, пиридоксала, пиридоксаль-фосфата и рибофлавина в толстом кишечнике. — Матер. 2-го Всес. симпозиума по физиол. и патол. всасывания в желудочно-кишечном тракте. Одесса, 1973, с. 67—70.
20. Лазаров И. Резорбция на витамин В₁₂. 2. Активность на АТФ-азата и на алкалната фосфатаза и резорбцията на ³⁵S-тиамин в хранимозилателния канал на пилета бройлери в норма. — Животновъдни науки, 1973, г. 10, № 5, с. 11—17.
21. Лазаров И. Резорбция на витамин В₁₂. 3. Влияние на активността на цитовидната жлеза върху резорбцията на ³⁵S-тиамин. — Животновъдни науки, 1973, г. 10, № 8, с. 61—66.
22. Леуцкий К. М. Витамин А. Черновицы, 1959.
23. Лизцер И. Б., Спиричев В. Б. Пантотеновая кислота. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 371—383.
24. Масленникова Е. М. Витамин В₂. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 214—235.
25. Манусис И. И. Витамин С (аскорбиновая кислота). — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 384—432.
26. Манусис И. И., Богданов И. Г. Витамин К. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 151—172.
27. Натансон А. О. Витамин А. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 46—88.
28. Островский Ю. М. Витамин В₁. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 173—213.
29. Петрова Э. А., Гордеева Н. П., Богословский Н. А. Биологическая активность витаминов D. — В кн.: Биохимия, химия и технология производства витаминов D, их применение в медицине и животноводстве. Матер. 2-го симпозиума. Киев, 1972, с. 7—8.
30. Петухова Е. А. Витамин D в питании сельскохозяйственных животных. — В кн.: Биохимия, химия и технология производства витаминов D, их применение в медицине и животноводстве. Матер. 2-го симпозиума. Киев, 1972, с. 67—79.
31. Познанская А. А., Лизцер И. Б. Биотин. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 433—450.
32. Покровский А. А. Роль биохимии в развитии науки о питании. М., 1974.
33. Рымс С. М. Витамины. Л., 1963.
34. Селякина К. А., Худяк А. М., Рассолова М. А. Рахит. М., 1964.
35. Силс Л. Резервы витаминов в организме при патологии желудка. — В кн.: Вопросы питания. Рига, 1969, с. 109—112. (На латыш. яз.).
36. Смит Л. Витамин В₁₂. М., 1962, с. 176.
37. Спиричев В. Б. Витамин D. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 89—124.
38. Степанова Е. А. Фолиевая кислота. — В кн.: Витамины. М., 1974, с. 302—335.
39. Труфанов А. В. Всасывание витамина В₁₂ в кишечнике млекопитающих. — Вопр. питания, 1967, т. 26, № 4, с. 3—7.
40. Труфанов А. В. Биохимия витаминов и авитаминозов. М., 1972.
41. Уголев А. М. Мембранное пищеварение. Поднеубстратные процессы, организация и регуляция. Л., 1972, с. 358.
42. Хитарев М. З. Внутренний фактор Кастла. Л., 1970.
43. Циеленс Э. А. Влияние антибиотиков и диспептических факторов на динамику холина в организме цыплят и свиней. — В кн.: Физиология и биохимия питания сельскохозяйственных животных. Рига, 1962, с. 213—221.
44. Циеленс Э. А. Метаболизм холина и реакции переметилирования. Рига, 1971, с. 67—205.
45. Черкес Л. А., Динерман А. А. Влияние сорбита на течение холиновой недостаточности. — Биохимия, 1959, т. 24, вып. 2, с. 329—335.
46. Черкес Л. А., Динерман А. А. Превентивный эффект, оказываемый продолжительной дачей сорбита при холиновой недостаточности. — Биохимия, 1960, т. 25, вып. 1, с. 102—105.
47. Шамош И. А. О составе нормальной кишечной микрофлоры крыс и ее динамика под влиянием некротенной и пирогенной диет. — Вопр. питания, 1963, т. 23, вып. 4, с. 30—34.
48. Шмидт А. А. Аскорбиновая кислота, ее природа и значение в живом организме. М.—Л., 1941.

270. Wolff R., Nabet P. Immunological essay of the intrinsic factor. — *Compt. rend. Soc. biol.*, 1964, v. 158, № 4, p. 869—872.
271. Worker N. A. Site of conversion of carotene into vitamin A in the rat: further studies on aqueous dispersions administered intravenously. — *Brit. J. Nutr.*, 1957, v. 11, № 1, p. 44—46.
272. Westmann B. S., Knight P. L., Kan D. F. Thiamine in germfree and conventional animals: effect of the intestinal microflora on thiamine metabolism of the rat. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1962, v. 98, № 2, p. 516—527.
273. Westmann B. S., Knight P. L., Keeley L. L., Kan D. F. Metabolism and function of thiamine and naphthoquinones in germfree and conventional rats. — *Federat. Proc.*, 1963, v. 22, № 1, p. 120—124.
274. Wright L. D., Cresson E. L., Skeggs H. R., Wood Th. R., Peck R. L., Wolf D. E., Folkers S. Isolation of crystalline biocytin from yeast extract. — *J. Amer. Chem. Soc.*, 1952, v. 74, № 8, p. 1996—2006.
275. Yagi K., Nagatsu T., Nagatsu-Ishibashi I., Ohashi A. Migration of injected C¹⁴-labelled riboflavin into rat tissues. — *J. Biochem.*, 1966, v. 59, № 3, p. 313—315.
276. Yagi K., Okuda J. Phosphorylation of riboflavin by transferase action. — *Nature*, 1958, v. 181, № 4624, p. 1663—1664.
277. Yamada S., Horio S., Kimura S. Change of the system for the adsorption of vitamin B₁₂ to intestinal mucosa homogenate in growing rats. — *Tohoku J. Exptl. Med.*, 1972, v. 106, № 4, p. 363—371.
278. Yamaguchi N., Weisberg H., Glass G. B. J. Intestinal vitamin B₁₂ absorption in the dog. — *Gastroenterol.*, 1969, v. 56, № 5, p. 914—936.
279. Yu-Chiang-Lee, McKenzie R. M., Gholson K., Raica N. A comparative study of the metabolism of nicotinamide and nicotinic acid in normal and germ-free rats. — *Biochim. et biophys. acta*, 1972, v. 269, № 1, p. 59—62.

Глава 11

ПИЩЕВАРИТЕЛЬНО-ТРАНСПОРТНЫЙ КОНВЕЙЕР

А. М. Уголев, Л. Ф. Смирнова

Большинство пищевых веществ представлено в виде сложных органических структур, входящих в состав тканей и клеток различных источников пищи животного и растительного происхождения. Подавляющее большинство биополимеров нуждается в предварительном ферментативном гидролизе, для того чтобы преодолеть кишечный барьер. Таким образом, пищеварение и всасывание являются двумя необходимыми последовательными этапами усвоения пищи гетеротрофными организмами.

В последнее десятилетие благодаря успехам гастроэнтерологии, основанной на использовании новых методов исследования, взаимоотношение пищеварительных и резорбтивных процессов получило новое освещение. Стало ясно, что системы, завершающие пищеварение, и системы, осуществляющие начальные этапы всасывания, структурно и функционально интегрированы. В результате такой интеграции достигается чрезвычайно высокая эффективность гидролитической и всасывательной деятельности желудочно-кишечного тракта. Создается своеобразный пищеварительно-транспортный конвейер.

В этой главе основное внимание уделено феноменологии и механизмам взаимодействия систем, сопрягающих пищеварительные и транспортные процессы на поверхности мембраны микроворсинки кишечного эпителиоцита с исчерченной каемкой.

Существование мембранного пищеварения было установлено еще в 1958 г. [28, 29, 31—33]. Оно осуществляется в момент контакта пищевых субстратов с ферментами, локализованными на внешней поверхности мембран микроворсинок кишечных эпителиоцитов, при этом начальные стадии гидролиза происходят в пищеварительных полостях. Продукты промежуточного гидро-

лиза элиминируются из кишечной полости в зону исчерченной каемки, где гидролиз продолжается и образуются мономеры, которые всасываются транспортными системами микроворсинки. В результате клеточная поверхность становится пищеварительно-транспортной.

Как впервые показал Ито [81], мембрана микроворсинной покрыта многочисленными филаментами, образующими дополнительный примембранный слой — гликокаликс. Толщина слоя гликокаликса довольно значительна и достигает 100 нм, а в некоторых случаях даже 500 нм. Предполагается, что гликокаликс существенно влияет на протекание процессов мембранного гидролиза и транспорта [9, 82].

Как можно видеть из рис. 11.1, энзиматические процессы на поверхности микроворсинки обеспечиваются ферментами двоякого происхождения — адсорбированными из химуса и энтеральными, которые синтезируются в кишечном эпителиоците и с помощью неизвестного пока механизма включаются в состав поверхности.

На поверхности исчерченной каемки адсорбированы многочисленные ферменты, главным образом панкреатического происхождения. Наиболее подробно исследованы закономерности адсорбции α -амилазы. Было показано, что она может связываться как с мукополисахаридными, так и с липопротеиновыми структурами поверхности посредством физической и химической адсорбции [8, 29, 33, 71]. Вероятно, существует «многослойная» адсорбция, которая объясняет механизм проникновения относительно крупных молекул через гликокаликс к поверхности трехслойной мембраны. Благодаря локализованным здесь ферментам перемещение пищевых субстанций по гликокаликсовому пространству связано с их интенсивной деполимеризацией.

К числу ферментов энтерального происхождения должны быть отнесены ди- и трисахаридазы (α - и β -глюкозидазы) и γ -амилаза [67, 120, 132—134]. С внешней поверхностью мембраны связаны также многочисленные тетра-, три- и дипептидазы, аминоксипептидазы [78, 116], а также изоэнзимы щелочной фосфатазы [100—102] и моноглицеридлипаза [41, 44, 45].

Таким образом, энтеральные ферменты представлены большей частью экзогидролазами, расщепляющими в основном олигомеры и димеры с образованием транспортируемых продуктов (в дальнейшем будет показана тесная связь гидролаз, завершающих пищеварение, с входами в транспортные системы). Это заставляет предполагать преимущественную локализацию собственно кишечных ферментов на внешней поверхности трехслойной мембраны.

Природа связей таких ферментов с мембраной микроворсинки кишечных эпителиоцитов в большинстве случаев не выяснена. Известно, что они довольно прочные. В отличие от адсорбированных ферментов собственно кишечные ферменты не подвергаются спонтанной солюбилизации, за исключением некоторых дипеп-

тидаз. Эффективность протеолитических ферментов в качестве солюбилизующих агентов позволяет предположить, что в образовании фермент-мембранных связей принимают участие пептидные

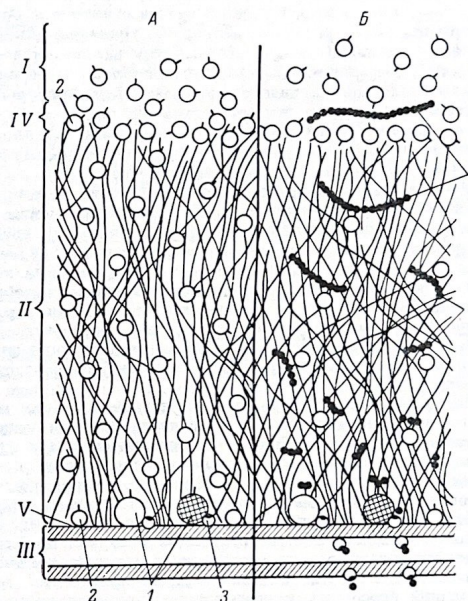


Рис. 11.1. Энтеральные и адсорбированные ферменты при мембранном пищеварении (схематическое изображение фрагмента люминальной поверхности микроворсинки). (По [35]).

А — распределение ферментов, Б — взаимоотношение ферментов, переносчиков и субстратов. I — просвет тонкой кишки, II — гликокаликс, III — трехслойная мембрана, IV — люминальная поверхность гликокаликса, V — люминальная поверхность трехслойной мембраны. 1 — собственно кишечные ферменты, 2 — адсорбированные ферменты, 3 — переносчики, 4 — субстраты.

мостики. Кроме того, эффективность детергентов типа тритона X-100 говорит о важной роли гидрофобных взаимодействий.

Таким образом, соединение фермента с мембраной может осуществляться за счет двух различных типов связей, из которых один чувствителен к действию протеаз, а другой — к действию

детергентов. Последовательность и функциональное значение этих связей остаются неизвестными.

В образовании фермент-мембранных комплексов следует выделять два этапа: 1) синтез энтеральных ферментов в кишечной эпителиальной клетке, включающий в себя все процессы образования ферментативно-активного белка; 2) транслокация, осуществляемая с помощью малоизвестных процессов, связанных с присоединением ферментов к структуре мембраны и перемещением таких комплексов на внешнюю поверхность микроворсинки.

В большинстве случаев эти этапы хорошо согласованы. Однако при воздействии некоторых стрессоров (например, теплового, эмоционального) было отмечено резкое нарушение транслокации диспептидаз без заметного влияния на их синтез [5, 26, 40].

Каким образом происходит включение ферментов в мембрану, пока не вполне ясно. Ранее предполагалось, что фрагменты мембраны внутри клетки соединяются с ферментами и встраиваются в микроворсинки как функционально и морфологически целостные структуры [33]. Возможно, что в основе этого процесса лежит обратный пиноцитоз (более подробно эти вопросы разобраны в монографии Уголева [35]). Необходимо только отметить, что мембранное пищеварение осуществляется в стерильных условиях, благодаря чему в значительной мере предупреждается ассимиляция способных к транспорту мономеров бактериями тонкой кишки.

Как было отмечено, мембранное пищеварение — это механизм не только заключительных стадий переваривания пищевых веществ, но и интеграции собственно пищеварительных и транспортных процессов. Однако каким образом осуществляется такая интеграция, в настоящее время известно мало. Раскрытие механизмов сопряжения пищеварительных и транспортных процессов является проблемой будущего, тем не менее уже сейчас имеется много ценных сведений, позволяющих в первом приближении охарактеризовать работу систем, сопрягающих собственно пищеварительные и собственно транспортные процессы.

Образование способных к всасыванию продуктов гидролиза пищи является необходимым, но недостаточным условием совершенного перехода от пищеварения к всасыванию. Последнее также требует наличия специальной структурной и функциональной организации. В основе такой организации, по-видимому, должно лежать взаимодействие ферментов, завершающих гидролиз пищевых веществ, с входами в транспортные системы. Те и другие в большинстве случаев локализованы на внешней поверхности мембраны кишечного эпителиоцита, превращая ее в пищеварительно-транспортную поверхность.

Для того чтобы лучше понять те преимущества, которые создает мембранное пищеварение для работы транспортных систем, интересно сопоставить условия всасывания в случаях, когда 1) транспортируемые вещества образуются в результате

полостного пищеварения; 2) транспортируемые вещества образуются в процессе внутриклеточного пищеварения; 3) транспортируемые вещества образуются в результате мембранного пищеварения.

До конца 40-х годов большинство исследователей полагало, что взаимодействие между пищеварением и всасыванием ограничивается тем, что в результате гидролитических процессов, происходящих в полости тонкой кишки, образуются вещества, подлежащие транспорту [1, 10, 16—18, 21, 43]. В этом случае (рис. 11.1) резорбирующая мембрана и освобождающиеся в процессе гидролиза мономеры разделены значительным расстоянием. Таким образом, требуется определенное время, чтобы образующиеся мономеры достигли поверхности всасывающей клетки. Кроме того, бактерии, присутствующие в полости тонкой кишки, могут перехватывать продукты гидролитического расщепления еще до того, как они достигнут поверхности мембраны. Необходимо учитывать и то обстоятельство, что концентрация конечных продуктов переваривания, образующихся в полости, должна существенно снижаться вследствие разведения в больших объемах химуса. Скорость же всасывания в широких пределах зависит от концентрации резорбируемых субстратов.

Мембранное пищеварение имеет ряд серьезных преимуществ по сравнению с полостным. Конечные стадии гидролиза и начальные этапы всасывания осуществляются системами, локализованными на внешней поверхности мембраны микроворсинки, в результате чего они максимально сближены в пространстве и времени. Кроме того, разведение мономеров, образующихся в исчерпанной каемке кишечного эпителиоцита (по сравнению с полостью), по-видимому, незначительно. Была, например, показана высокая концентрация глюкозы, образующейся при гидролизе мальтозы, сахарозы и крахмала у мыши [29, 33, 43]. Сильно развитая пищеварительно-транспортная пористая поверхность слизистой оболочки тонкой кишки имеет очень небольшую емкость, что предупреждает сколько-нибудь значительное разведение конечных продуктов переваривания [35]. Таким образом, вероятность всасывания мономеров, освобождающихся в процессе мембранного пищеварения, становится очень высокой.

Внутриклеточное пищеварение, возможно, эффективно для многих одноклеточных и низших многоклеточных организмов, где резорбирующая клетка обеспечивает в основном свои собственные пищевые потребности. Однако у высших животных каждая резорбирующая клетка обеспечивает нормальную жизнедеятельность 100—100 000 других клеток. Столь высокая транспортная активность клеток слизистой оболочки кишки не может быть обеспечена процессами фагоцитоза и пиноцитоза из-за медленности последних.

В конце 50-х и первой половине 60-х годов многие авторы допускали возможность проникновения олигомеров через мемб-

рану исчерченной каемки в нерасщепленном виде [48—50, 58—60, 68, 74, 80, 97—99, 103].

Проникновение олигомеров внутрь кишечных эпителиоцитов с достаточно высокими скоростями могло бы осуществляться двумя путями: 1) пассивной диффузией и 2) транспортом с помощью специфических переносчиков. Поскольку пассивная проницаемость мембраны для водорастворимых веществ лимитирована порами с эффективным радиусом около 0.4—0.6 нм [83, 127, 128], то проникновение олигомеров внутрь клеток маловероятно, так как большинство олигомеров, в том числе дисахариды и дипептиды, более крупные, чем разрешающий радиус пор.

Активный транспорт олигомеров, возможно, распространен среди микроорганизмов [136], однако у высших животных, вероятно, не существует селективных переносчиков для транспорта олигомеров и полимеров. Тем не менее ряд авторов высказывают предположение, что некоторые олигопептиды, например β -аланилгистидин [46], и пептиды, состоящие из глицина и метионина [91, 93, 95], всасываются эпителиоцитами в нерасщепленном состоянии с помощью транспортных механизмов, используемых и свободными аминокислотами.

Скорость мембранного гидролиза не лимитирована фаго- и пиноцитозом, а также в широких пределах и величиной молекул, если последние не превышают размеров пор гликокаликса. Активно транспортируемые мономеры образуются на внешней поверхности мембраны — основного диффузионного сопротивления, преодолеваемого благодаря присутствию здесь специальных транспортных систем.

Суммируя сказанное, можно заключить, что последовательность полостное пищеварение—мембранное пищеварение—всасывание является основным принципом работы пищеварительной системы у животных.

11.1. СООТНОШЕНИЕ ТРАНСПОРТА МОНОМЕРОВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ГИДРОЛИЗЕ ОЛИГО- И ПОЛИМЕРОВ, И ГОТОВЫХ МОНОМЕРОВ

Благодаря тому, что мембрана микроворсинок кишечных эпителиоцитов обеспечивает как пищеварительные, так и транспортные функции, переход от одного процесса к другому оказывается максимально сближенным в пространстве и времени. Показателем эффективности этого механизма могло бы служить сопоставление скоростей всасывания при введении в кишку в одних случаях мономеров (например, моносахаридов или аминокислот), а в других — эквивалентных количеств полимеров или олигомеров (например, олигосахаридов или олигопептидов), в процессе гидролиза которых освобождаются соответствующие мономеры.

До недавнего времени было распространено представление (являвшееся, вероятно, неизбежным следствием классической концепции пищеварения), согласно которому гидролиз завершается в полости кишки. Считали, что если процесс пищеварения требует какого-то определенного времени для того, чтобы конечные продукты гидролиза встретились с всасывающей поверхностью кишечных эпителиоцитов, то процесс усвоения мономеров, введенных в кишку, должен происходить значительно быстрее, чем усвоение тех же мономеров, образующихся в результате гидролиза соответствующих полимеров. На основании этого возникло представление о нецелесообразности орального введения глюкозы вследствие ее очень быстрой утилизации, а также опасение, что введение аминокислот в качестве заменителей белков будет сопровождаться более резким, чем в норме, повышением их содержания в крови.

Однако эти гипотезы не были подтверждены. Уже в 50—60-х годах появились первые данные, показавшие, что скорость транспорта мономеров, образующихся в процессе гидролиза полимеров и олигомеров, практически не отличается от скорости транспорта эквивалентных количеств свободных мономеров. Так, Уилсон и Винсент [137] показали, что глюкоза и фруктоза, освобождающиеся при гидролизе сахарозы, переносятся через кишечную стенку так же быстро, как и эквивалентная смесь этих моносахаридов.

Чейн и соавт. [51] исследовали транспорт ряда меченых моно-, ди- и полисахаридов и наблюдали аналогичную закономерность.

Парсонс и Причард [111] изучали всасывание некоторых дисахаридов и глюкозы при перфузии тонкой кишки амфибий. Скорость всасывания регистрировали по концентрации глюкозы в перфузируемых сосудах кишки. Авторы наблюдали, что скорость появления глюкозы в сосудистом перфузате была примерно одинаковой как в тех случаях, когда в полости тонкой кишки присутствовала глюкоза, так и в тех, когда туда вводилась мальтоза. При низких концентрациях дисахаридов эффективность транспорта молекул освобождающейся при гидролизе глюкозы выше, чем глюкозы, вводимой внутрь кишки.

Аналогичные данные были получены также в области изучения белкового и пептидного транспорта. Гушта и соавт. [76] исследовали кишечное всасывание при следующих условиях. Крысам давали пробные завтраки, содержащие 15% целого белка в одних экспериментах и 15% смеси аминокислот — в других. Предполагалось, что азот аминокислот будет всасываться быстрее, чем азот белка. Однако этим авторам не удалось уловить существенных различий в скоростях исчезновения азота из кишки в тех опытах, где применяли белок, и в тех, где использовалась смесь аминокислот.

Крейн и Ньюбергер [58] изучали скорость переваривания и всасывания белков у здоровых людей. Скорость всасывания определялась по появлению метки ^{15}N в моче. В одних исследованиях использовался дрожжевой белок, меченный по азоту, в других — гидролизат этого белка. Гидролизат содержал 61% расщепленных с помощью пепсина и панкреатина пептидных связей. Оказалось, что и неизмененный дрожжевой белок, и его гидролизат всасывались примерно с одинаковой скоростью.

В опытах по изучению пептидного транспорта Нью и Смит [105, 107] показали, что скорости всасывания глицилглицина и эквивалентного количества глицина тонкой кишкой крысы *in vivo* и *in vitro* являются очень сходными.

Таким образом, описанные эксперименты демонстрируют, что транспорт веществ, требующих предварительного гидролиза, происходит с такой же скоростью, как и транспорт эквивалентной смеси готовых мономеров. Эти данные подтверждают гипотезу пищеварительно-транспортного конвейера, в котором, как во всяком идеальном конвейере, последовательные операции должны быть хорошо координированы.

Однако уже в начале 60-х годов был обнаружен парадоксальный факт более быстрого всасывания гексоз при введении в тонкую кишку белых крыс сахарозы по сравнению со скоростью всасывания эквивалентной смеси глюкозы и фруктозы [8, 33].

Значительный интерес представляют данные Думеша [6], который провел обширное исследование на человеке. Он сопоставил повышение уровня гексоз в крови через различные интервалы времени у здоровых и больных людей после введения в желудочно-кишечный тракт глюкозы и эквивалентного раствора сахарозы и крахмала. Так как при гидролизе сахарозы образуются глюкоза и фруктоза, из которых активно транспортируется только первая, то можно было бы ожидать, что повышение уровня гексоз в крови должно быть более высоким после введения глюкозы, чем после введения сахарозы. В действительности, однако, первые этапы всасывания, которые более всего отражают скорость транспортных процессов, характеризуются более высокими цифрами после введения сахарозы, чем после введения глюкозы.

Сопоставление скоростей всасывания готовых моносахаридов и моносахаридов, освобождающихся при гидролизе крахмала, мальтозы, сахарозы, трегалозы, лактозы и других олиго- и полисахаридов, было проведено в течение последнего десятилетия и другими исследователями [14, 15, 66, 69, 70, 86, 90, 96, 97, 112].

Кроме человека были изучены крыса, хомяк, лягушка, жаба. Различными были и использованные разными авторами методы исследования. Проведенные эксперименты включали в себя технику *in vivo* и *in vitro*. Исследовали скорости исчезновения углеводов из полости кишки, скорости накопления моносахаридов в тканях кишки, скорости поступления резорбируемых

веществ в кровь, скорости поступления резорбируемых веществ в омывающую изолированные препараты кишки серозную жидкость.

Типичные взаимоотношения между всасыванием дисахаридов и моносахаридов иллюстрируются на рис. 11.2, где показано изменение концентрации гексоз в крови после введения в верхний

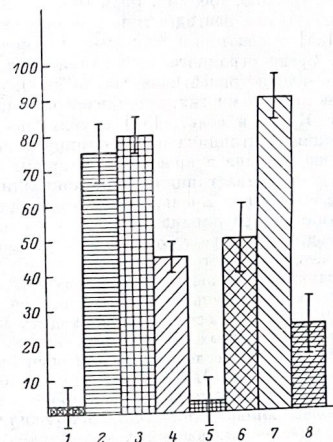


Рис. 11.2. Прирост концентрации гексоз (в мг%) в крови белых крыс через 15 мин. после введения в тонкую кишку различных моно-, ди- и полисахаридов (эквивалентных 200 мг глюкозы). (По [33]).

1 — раствор Рингера, 2 — глюкоза, 3 — мальтоза
4 — крахмал, 5 — целлобиоза, 6 — глюкоза + фруктоза, 7 — сахароза, 8 — лактоза.

segment тонкой кишки крысы *in vivo* различных моно-, ди- и полисахаридов. Скорости всасывания глюкозы и сахарозы практически одинаковы. Сахароза всасывается примерно в 2 раза быстрее, чем эквивалентная смесь глюкозы и фруктозы. Крайне медленно всасываются, особенно лактоза, значительно медленнее (в последних двух случаях процесс транспорта лимитирован низкими скоростями гидролиза).

В настоящее время продемонстрирована более высокая скорость всасывания не только для олигосахаридов по сравнению с эквивалентными смесями составляющих их моносахаридов.

но и для различных пептидов по сравнению со свободными аминокислотами.

Мы не будем затрагивать спорный до настоящего времени вопрос о том, в какой форме всасываются продукты белкового гидролиза. Большинство авторов признают, что основной транспортируемой формой являются аминокислоты [29, 31, 33, 42, 73, 108, 113, 118, 125, 130, 136, 139, 140]. Исключение, возможно, представляют небольшие пептиды типа глицилглицина [20, 27, 38, 103, 109, 135] и некоторые пептиды, содержащие оксипролин [79, 115]. Среди огромного количества всевозможных дипептидов (около 400) и трипептидов (около 8000) было исследовано всасывание лишь немногих, в состав которых наиболее часто входил глицин. Крафт и соавт. [55] опубликовали работу по всасыванию глицина, диглицина и триглицина у человека. Оценивая содержание глицина в крови после приема пептидов или эквивалентного количества глицина, они показали, что последний быстрее всасывается в кровь, когда он вводится в кишку в составе диглицина и триглицина. Последующие опыты на крысах [91, 93] подтвердили результаты, полученные у человека.

Поскольку пептиды, состоящие из глицина, не являются типичными продуктами белкового переваривания, так как если они и образуются в естественных условиях, то в очень небольших количествах [104], следует осторожно подходить к интерпретации описанных выше данных. Поэтому та же группа авторов [54, 95] включила в свои исследования олигопептиды метионина и смешанные олигопептиды: L-метионилглицин, глицил-L-метионин и L-метионилглицил-L-метионин, а также эквивалентные смеси составляющих аминокислот. Они обнаружили, что всасывание *in vivo* аминокислот, вводимых в тонкую кишку крысы в составе этих олигопептидов при низких концентрациях (25—50 мМ), происходит примерно с той же скоростью, что и из эквивалентных растворов составляющих аминокислот. Но при высоких концентрациях (100—200 мМ) «олигопептидные» аминокислоты всасываются быстрее, чем эквивалентные смеси свободных.

При исследовании всасывания L-метионина и глицина вывернутыми кольцами тонкой кишки крысы *in vitro* из растворов, содержащих как свободные аминокислоты, так и их дипептиды, также было показано [53], что, за исключением самых низких концентраций, скорости транспорта «пептидных» аминокислот являются наиболее высокими.

Соотношение между скоростями транспорта свободного L-метионина и L-метионина, образующегося при гидролизе L-метионил-L-метионина, в зависимости от концентрации субстрата в инкубационной среде демонстрирует рис. 11.3.

Недавно в экспериментах *in vitro* с использованием техники вывернутого «мешочка» [138] были сопоставлены скорости всасывания глицина тонкой кишкой крысы в тех случаях, когда

со стороны слизистой оболочки подавались эквивалентные растворы одного глицина, дипептида глицил-L-лейцина и смеси глицина и L-лейцина [22, 23] (рис. 11.4). Как можно видеть, и в этом случае скорость транспорта глицина из среды, содержащей глицил-L-лейцин, когда обе аминокислоты образуются при гидролизе непосредственно на поверхности мембран микроворсинок, превышает скорость транспорта глицина из раствора эквивалентной смеси глицина и L-лейцина.

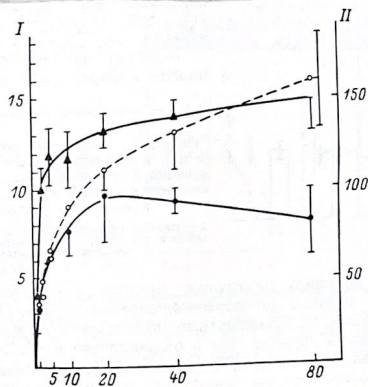


Рис. 11.3. Всасывание метионина (в расчете на 1 г сухой массы кишки) из эквивалентных растворов L-метионина и L-метионил-L-метионина и общий гидролиз L-метионил-L-метионина при ряде концентраций. (По [53]). По оси абсцисс — содержание метионина в среде, мкмоль/мл; по оси ординат: I — всасывание метионина, мкмоль/г за 5 мин.; II — общий гидролиз, мкмоль пептида/г за 5 мин.

Представляют интерес также данные о том, что в экспериментах *in vivo* трипсиновый гидролизат казеина исчезал почти в 2 раза быстрее из перевязанных петель тонкой кишки крысы, чем эквивалентная смесь аминокислот [56, 57].

Помимо человека и крысы аналогичные исследования были проведены и на других объектах: на хорьке, кролике, морской свинке и мыши [84]. Указанные авторы установили, что у всех животных, за исключением мыши, метионин всасывается быстрее в том случае, когда в тонкую кишку вводится L-метионил-L-метионин, а не эквивалентное количество свободной аминокислоты.

Что касается липидов, то здесь также есть указания на более быстрое всасывание мономеров (жирных кислот), освобождая

ющихся в процессе гидролиза, по сравнению с готовыми мономерами. Барри и соавт. [47] показали, что ацетат, образующийся при гидролизе моноацетина, транспортируется значительно быстрее, чем ацетат, добавленный в среду.

Лонг и Брукс [85], сопоставляя скорости всасывания меченого ^{14}C триолеина и свободной олеиновой кислоты у собак, обнаружили, что олеиновая кислота, образующаяся при гидролизе триолеина, всасывается быстрее, чем свободная олеиновая кислота.

Подытоживая накопленные во многих лабораториях данные, по-

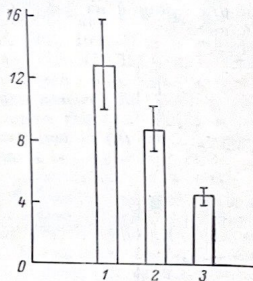


Рис. 11.4. Концентрация глицина (в мМ) в серозной жидкости после инкубации в течение 60 мин. вывернутых «мешочков» тонкой кишки белых крыс в различных растворах.

1 — раствор глицина (10 мМ), 2 — глицин-L-лейцина (10 мМ), 3 — эквивалентной смеси глицина и L-лейцина.

лученные с помощью различных методов на разнообразных объектах (от амфибий до человека), следует сделать вывод, что пищеварительные и транспортные процессы в тонкой кишке сопряжены таким образом, что в большинстве случаев всасывание продуктов гидролиза происходит не только не медленнее, чем при введении этих же продуктов, но значительно быстрее. Этот феномен «облегченного» транспорта после процесса гидролиза привлек всеобщее внимание и послужил основой для ряда гипотез, которые будут рассмотрены ниже.

11.2. УСЛОВИЯ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СООТНОШЕНИЕ ТРАНСПОРТА ОЛИГОМЕРОВ И МОНОМЕРОВ

Для лучшего уяснения механизмов, обеспечивающих сопряжение гидролитических и транспортных процессов, необходимо обратить внимание на некоторые противоречия, касающиеся соотношения транспорта мономеров и олигомеров, обусловленные важными особенностями пищеварительных и транспортных функций эпителия слизистой оболочки тонкой кишки.

Прежде всего надо иметь в виду, что на соотношение транспорта готовых мономеров и мономеров, образующихся в процессе гидролиза олигомеров, оказывает влияние наличие в тонкой кишке проксимо-дистального градиента (рис. 11.5). Данные, полученные Логиновым и Уголевым [15], иллюстрируют

соотношение транспорта свободной глюкозы и глюкозы, образующейся при гидролизе мальтозы, в 6 последовательных сегментах тонкой кишки крысы. При всех сроках инкубации транспорт «мальтозной» и свободной глюкозы в наиболее дистальном сегменте практически одинаков. В верхних и средних отделах подвздошной кишки транспорт «мальтозной» глюкозы намного выше, чем свободной.

Мэтьюз и соавт. [92] показали, что места максимального всасывания в тонкой кишке для свободных аминокислот и «пептидных» не совпадают. Область максимального всасывания для L-метионина находится в дистальном отделе тонкой кишки.

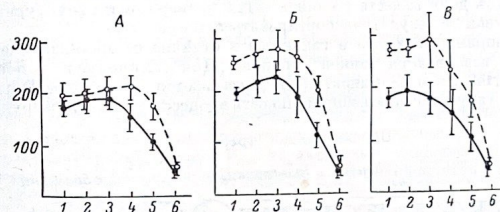


Рис. 11.5. Транспорт глюкозы (сплошная линия) и мальтозы (пунктирная линия) сегментами тонкой кишки крысы при трех последовательных инкубациях: 0—30 (А), 30—60 (Б) и 60—90 мин. (В).

По оси абсцисс — сегменты тонкой кишки от начала тощей до конца подвздошной; по оси ординат — концентрация глюкозы, перенесенной в серозный раствор, мг%.

тогда как для L-метионил-L-метионина она находится в проксимальном отделе. В тощей кишке всасывание из раствора дипептида происходит в 3 раза быстрее, чем из раствора эквивалентного количества свободной аминокислоты, тогда как в дистальном отделе подвздошной кишки как «пептидные», так и свободные аминокислоты всасываются приблизительно с одинаковыми скоростями. Сходные результаты были получены при использовании трипсинового гидролизата казеина (состоящего главным образом из небольших пептидов) и эквивалентной смеси аминокислот [57].

Далее на транспорт мономеров и олигомеров существенно влияет также продолжительность работы кишки. Как можно видеть из рис. 11.5, при длительной резорбции соотношение транспорта мономеров и олигомеров в некоторых отделах тонкой кишки существенно меняется. В частности, в передних отделах тонкой кишки после продолжительной резорбтивной работы (между 60-й и 90-й минутами) наблюдается значительное и достоверное преобладание «мальтозного» транспорта над глюкозным.

Таким образом, эффективность сопряжения гидролитических и транспортных процессов может варьировать в зависимости от ряда условий, меняющих функциональное состояние и ход процесса.

11.3. КИНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСПОРТА МОНОМЕРОВ, ОБРАЗУЮЩИХСЯ ПРИ ГИДРОЛИЗЕ ОЛИГОМЕРОВ

Важной особенностью кишечного транспорта является его высокая специфичность. Под ней подразумевается способность двух веществ с одинаковыми размерами и структурным сходством молекул транспортироваться по-разному.

Например, глюкоза и галактоза в отличие от маннозы очень легко всасываются тонкой кишкой. Для аминокислот показано [140], что L-аминокислоты всасываются легче, чем D-изомеры. Такую высокую избирательность процесса всасывания трудно

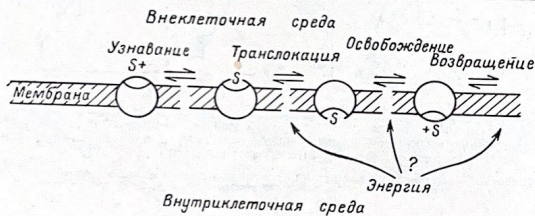


Рис. 11.6. Ступени транспорта. (По [110]).
S — субстрат.

объяснить одними размерами пор. Наиболее приемлемым объяснением, по-видимому, является концепция существования в мембране кишечных эпителиоцитов высокоспецифических переносчиков. Идея переносчиков была выдвинута в начале 30-х годов и позднее развита многими исследователями [61—64, 88, 108, 110].

Суть этой концепции состоит в том, что существуют специальные вещества — переносчики, которые способны проходить через мембрану. Предполагается, что такие переносчики имеют специфические контактные площадки для присоединения транспортируемого вещества, которые в процессе диффузии сообщаются с водными фазами по обе стороны мембраны. Процессы присоединения субстрата к переносчику, транслокации через мембрану и освобождения субстрата на внутренней стороне мембраны схематически изображены на рис. 11.6. Переносчик не

обязательно диффундирует через мембрану, он может быть вращающимся или растягивающимся белком, способным двигаться таким образом, чтобы осуществлялся контакт с разными фазами.

Помимо высокой специфичности существуют и другие доказательства того, что один или более компонентов транспортных систем должны иметь белковую природу [110, 129, 130]. Одно из этих доказательств состоит в том, что кинетика активного транспорта весьма сходна с кинетикой ферментативного действия.

В связи с этим при изучении процессов транспорта большое значение имеет определение константы K_t (аналогичной константе Михаэлиса для ферментативных процессов) и V_{max} . Смысл и сложность интерпретации этих констант рассмотрены в специальных обзорах [108, 126, 140]. Но поскольку транспорт, как уже говорилось, осуществляется специализированными системами, имеющими конечное количество воспринимающих и переносящих молекул, K_t и V_{max} оказываются очень полезными для характеристики транспортных механизмов. В частности, имея в виду специфичность переносчиков, можно рассматривать K_t как приближенную характеристику средства последних к транспортируемому субстрату. V_{max} характеризует максимальную емкость данной транспортной системы и пропорциональна общему количеству переносчика.

Определение основных кинетических констант, характеризующих всасывание олиго- и мономеров, полезно и для понимания механизмов взаимодействия мембранного гидролиза и транспорта.

В настоящее время существует несколько работ, характеризующих K_t и V_{max} для транспорта мономеров, образующихся при гидролизе олигопептидов и олигосахаридов [91, 95, 96, 111, 112, 117].

Таблица 11.1

Кинетические характеристики транспорта моносахаридов, образующихся при гидролизе дисахаридов и введенных в тонкую кишку в виде мономеров

Транспортируемое вещество	K_t	V_{max}	Объект исследования	Метод исследования	Источник
Мальтоза . . .	$0.45 \cdot 10^{-3}$ М	71 мкМ	Лягушка	Перфузия [in vitro]	[111]
Глюкоза . . .	$0.32 \cdot 10^{-3}$	83	Человек	Интубация, in vivo, длина киш-ки, 30 см	[96]
Мальтоза . . .	2.9 г/100 мл	0.59 г/мин.			
Глюкоза . . .	2.9	0.59			
Лактоза . . .	2.15	0.36			
Мальтоза . . .	0.38 мМ	86.7 мкМ	Лягушка	Перфузия, [in vitro]	[112]
Глюкоза . . .	0.45	137			[112]
Мальтоза . . .	0.45 мМ	70 мкМ	Жаба	То же	[112]
Глюкоза . . .	0.54	76			
Третагоза	0.88 мМ	204 мкМ	Лягушка		
Глюкоза . . .	0.83	233			

Парсонс и Причард [112] показали (табл. 11. 1), что транспорт глюкозы, образующейся при гидролизе мальтозы, в кишке лягушки характеризуется более низкими K_t и V_{max} , чем свободной глюкозы. У жабы различия между V_{max} глюкозного и «мальтозного» транспорта выражены значительно меньше, однако K_t «мальтозного» транспорта несколько ниже, чем глюкозного. Если рассматривать K_t как меру сродства субстрата к переносчику, то можно сделать вывод, что при транспорте «мальтозной» глюкозы оно выше, чем при транспорте свободной глюкозы.

Таблица 11.2

Кинетические характеристики транспорта аминокислот, образующихся при гидролизе олигопептидов и введенных в тонкую кишку крысы в виде мономеров

Транспортируемое вещество	K_t , мМ	V_{max} , мкмоль/см	Метод исследования	Источник
Глицин	91	5.5	Инкубация субстрата в изолированных петлях тонкой кишки, <i>in vivo</i> ; время инкубации 5 мин.	[91]
Диглицин	328	10.0		
Триглицин	260	8.3		
Глицин	233	9.9	То же; время инкубации 10 мин.	[95]
Метионин	66	4.8		
Диметионин	137	7.1		
Глицин из глицилметионина	62	5.5		
Метионин из глицилметионина	88	7.0		

Очень сложные и противоречивые результаты были получены при исследовании пептидного транспорта (табл. 11.2). Как можно видеть, K_t и V_{max} для транспорта диглицина выше, чем для транспорта глицина, но эти показатели ниже для триглицина по сравнению с диглицином [91]. Таким образом, степень полимеризации, вероятно, также является фактором, влияющим на кинетику транспорта олигомеров.

При введении в изолированную петлю тонкой кишки крысы глицилметионина Мэтьюз и соавт. [95] обнаружили, что K_t глицина, освобождающегося при гидролизе дипептида, ниже, чем K_t свободной аминокислоты (соответственно 62 и 233 мМ), тогда как K_t метионина, образующегося из дипептида, напротив, несколько выше, чем свободного. K_t метионина, освобождающегося из глицилметионина и диметионина, также существенно различаются между собой.

Рубино и соавт. [117] исследовали влияние концентрации Na^+ на K_t и V_{max} для глицина, освобождающегося из глицилпролина, и свободного глицина. Они показали, что при транспорте свободной аминокислоты уменьшение концентрации Na^+ в кишечной полости увеличивает K_t без изменения V_{max} . На основании этого было постулировано, что скорости транслокации комплекса переносчик-аминокислота и комплекса переносчик-аминокислота- Na^+ приблизительно одинаковы. Функция Na^+ здесь, по-видимому, состоит в том, чтобы стабилизировать комплекс с наружной стороны мембраны, заставляя тем самым большую часть переносчиков находиться в комплексной форме.

В отношении всасывания глицина, образующегося из глицилпролина, было показано следующее: уменьшение полостной концентрации Na^+ приводит к уменьшению V_{max} и оказывает незначительный эффект на K_t . Это, по мнению авторов, можно объяснить тем, что действие Na^+ заключается не в том, чтобы стабилизировать комплекс переносчик-субстрат, а в том, чтобы облегчить его транслокацию через мембрану.

Таким образом, из сопоставления кинетических характеристик олигомерного и мономерного транспорта можно сделать следующий важный вывод: перенос готовых мономеров и олигомеров, освобождающихся в процессе гидролиза ди- и олигомеров, осуществляется неидентичными по своим свойствам системами.

11.4. МЕХАНИЗМЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ СОПРЯЖЕНИЕ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ И ТРАНСПОРТНЫХ ПРОЦЕССОВ

Для понимания механизмов, обеспечивающих эффективное сопряжение пищеварительных и транспортных процессов в тонкой кишке, необходимо учитывать те реально существующие особенности кишечного всасывания, которые стали известны после многочисленных морфологических и электронномикроскопических исследований. Теоретический анализ движения мономеров и олигомеров из тонкой кишки в зону исчерпанной каемки и последующее проникновение веществ через апикальную мембрану кишечных эпителиоцитов показывает, что облегченный транспорт освобождающихся по ходу гидролиза мономеров может достигаться лишь на некоторых, а не на всех участках этого пути. Вероятно, совершенная работа пищеварительного транспортного конвейера является интегральным результатом действия нескольких взаимодействующих механизмов, причем нарушение одного из них может отрицательно повлиять на конвейерный процесс в целом.

Поскольку под всасыванием понимается вся совокупность процессов, обеспечивающих поступление веществ из полости тонкой кишки во внутреннюю среду организма (кровь и лимфу), рассмотрим пути движения абстрактных олигомера и мономера

из «мукозной» жидкости к поверхности мембраны, а также переход через мембрану во внутриклеточную среду поэтапно.

С самого начала целесообразно выделить три среды, которые неоднородным образом сообщаются друг с другом: энтеральную, куда входит содержимое полости тонкой кишки, за исключением той его части, которая находится в промежутках между микроворсинками, затем интервиллярную (или межворсинчатую) и, наконец, интрацеллюлярную (или внутриклеточную).

На первом этапе вещества, поступающие в тонкую кишку, должны пройти энтеральную среду до поверхности толстой мембраны, т. е. до энтеральной поверхности гликокаликса. Здесь в перемещении частиц большую роль могут играть конвективные потоки, возникающие вследствие моторной деятельности тонкой кишки.

Второй этап — движение веществ через интервиллярную среду (от энтеральной поверхности гликокаликса до трехслойной мембраны), т. е. путь через гликокаликсное пространство. По-видимому, потоки в полости тонкой кишки мало влияют на передвижение веществ через гликокаликс. Интервиллярная среда скорее контролируется диффузионными и резорбционными потоками, возникающими здесь в результате всасывания кишечными эпителиоцитами солей и воды. Диффузионное сопротивление гликокаликса для мелких молекул мало отличается от диффузионного сопротивления растворителя, поэтому в первом приближении перемещение олиго- и мономеров на втором этапе весьма сходно и осуществляется либо с помощью процессов пассивной диффузии (в соответствии с уравнением Фика), либо как движение растворенных веществ в потоке растворителя. Следует, однако, иметь в виду, что гликокаликс является сильно ионизированным мукополисахаридом и образуемая им сеть может выполнять функции ионообменника и молекулярного сита, избирательно накапливающего некоторые типы молекул.

Из сказанного следует, что интенсивность перехода веществ из глубины химуса к поверхности трехслойной мембраны должна быть примерно одинаковой для мономеров и олигомеров, если только молекулярные объемы последних не настолько велики, чтобы гликокаликс становился эффективным сопротивлением. Таким образом, больших различий в скоростях переноса этих веществ на первых двух этапах всасывания не существует.

По-другому обстоит дело в отношении обратных мембранокавитальных потоков. При нахождении олигомеров на внешней поверхности мембраны (при мембранном гидролизе) и во внутриклеточной жидкости (в случае внутриклеточного пищеварения) происходит образование мономеров и создается их максимальная локальная концентрация. Если учесть, что концентрация продуктов полного гидролиза в полости кишки очень низка, то существуют чрезвычайно благоприятные условия для обратного выхода веществ в полость по концентрационному градиенту.

Особенно значительными должны быть потери конечных продуктов переваривания из исчерпанной каемки в мукозную жидкость при мембранном гидролизе, тогда как при внутриклеточном пищеварении трехслойная липопротеиновая мембрана служит дополнительным диффузионным сопротивлением, снижающим эти потери. Выход веществ из исчерпанной каемки после их мембранного гидролиза могут предупреждать три механизма. Во-первых, это структурные особенности исчерпанной каемки, так как поры ее резко увеличивают вероятность столкновения образовавшихся мономеров с резорбирующей поверхностью мембраны [29]. Гамильтон и Мак-Мичел [77] обратили внимание на возможную роль гликокаликса в этом процессе. Во-вторых, это направленный в сторону мембраны поток жидкости, который, по-видимому, «прижимает» освобождающиеся при мембранном гидролизе мономеров к поверхности, создавая обогащенный готовыми к всасыванию веществами примембранный слой. И, наконец, в-третьих, это совершенная передача веществ с гидролитических систем мембраны на транспортные, что, очевидно, играет наиболее существенную роль. Подавляющее большинство исследователей полагает, что именно этот последний механизм является наиболее существенным для понимания эффективности пищеварительно-транспортного конвейера.

В случае пассивного транспорта из-за малого эффективного радиуса пор проникновение олигомеров через мембрану будет сопровождаться большей потерей в скорости по сравнению с мономерами. Если учесть системы селективного транспорта, то окажется, что эти различия должны в большинстве случаев еще более возрастать, так как системы переносчиков, по крайней мере у высших животных, эффективны только в отношении мономеров.

Следовательно, эффективность трансмембранного переноса мономеров вновь возвращает нас к концепции, согласно которой гидролиз пищевых веществ должен осуществляться снаружи апикальной мембраны, и приводит к выводу, что именно мембранное пищеварение является наиболее эффективным механизмом сопряжения гидролитических и транспортных процессов.

Существует большое число гипотез, объясняющих высокую эффективность пищеварительно-транспортного конвейера кишечной клетки [29, 31, 33—35, 61, 64—66, 77, 87—89, 91, 95, 105—107, 114, 119, 123]. В большинстве случаев авторы поддерживают концепцию мембранного гидролиза и допускают, что переход от пищеварения к транспорту осуществляется на внешней поверхности мембраны. Однако некоторые авторы предполагают, что олигомеры могут проникать через мембрану исчерпанной каемки и гидролизироваться внутриклеточно. Такого рода гипотезы относятся главным образом к объяснению некоторых сложных явлений, связанных с транспортом олигопептидов.

Нью и Смит [105, 107] объясняют почти одинаковые скорости транспорта глицилглицина и эквивалентного количества глицина тонкой кишкой крысы следующим образом: мембрана кишечных клеток содержит переносчики, которые способны присоединять как свободную аминокислоту, так и дипептид. Этот механизм, который зависит от притока энергии, был назван авторами «входным» механизмом. Далее происходит внутриклеточный гидролиз дипептида, и образующийся в ходе него глицин взаимодействует с другим транспортным механизмом, который локализуется внутри клетки на некотором расстоянии от места гидролиза и транспортирует аминокислоты против градиента концентрации. Таким образом, по мнению Нью и Смита, гидролиз глицилглицина происходит в клетке где-то между «входным» и «выходным» механизмами, и освобождающийся глицин диффундирует либо в полость кишки, либо на серозную сторону. Приблизительно по половине образуемого при гидролизе глицина диффундирует в обоих направлениях. «Выходной» транспортный механизм поддерживает низкую концентрацию глицина со своей стороны, и поэтому по направлению к нему диффузия происходит постоянно. Обратная диффузия имеет место потому, что мукозная жидкость в начале эксперимента не содержит свободного глицина, и даже в конце экспериментального периода концентрация его там невелика.

Мэтьюз и соавт. [91] также предполагают подобный механизм для всасывания глицина, диглицина и триглицина. Они допускают, что все три соединения используют для трансмембранного переноса, предшествующего гидролизу, один и тот же транспортный механизм. Различия в K_t между глицином и двумя упомянутыми пептидами не противоречат этой гипотезе, так как они могут иметь место и для аминокислот, использующихся заведомо один и тот же транспортный путь [94].

Гипотеза внутриклеточного гидролиза пептидов, состоящих из глицина, находит косвенное подтверждение в том, что глицилглицилдипептидаза в отличие от большинства других дипептидаз локализована не на внешней поверхности мембраны, а внутриклеточно [20, 27, 38, 75, 109, 133].

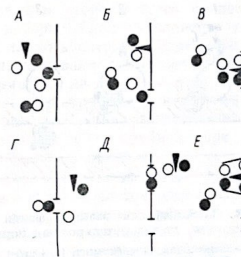
В дальнейшем, однако, гипотеза внутриклеточного гидролиза была использована также и для объяснения более высоких скоростей всасывания тонкой кишкой таких олигопептидов, как метионилметионин, глицилметионин, метионилглицин, метионилметионин, по сравнению с эквивалентными смесями составляющих аминокислот.

По мнению Мэтьюза и соавт. [95], олигопептиды глицина и метионина имеют большее сродство к начальной транспортной ступени, чем любая из составляющих их аминокислот. Этот вывод был сделан на основании определения основных кинетических констант для пептидного и аминокислотного транспорта.

Однако несколько позднее Ченг и соавт. [52, 53] обнаружили, что общий гидролиз дипептидов в тонкой кишке происходит с очень высокой скоростью по сравнению с транспортом. Это заставило их предположить, что большая часть гидролиза дипептидов осуществляется на поверхности. С другой стороны, анонсия ингибировала как всасывание свободного метионина, так и всасывание L-метионил-L-метионина в одинаковой степени [53]. Кроме того, анонсия подавляла гидролиз дипептида интактной кишкой, но не оказывала никакого влияния на его гидролиз гомогенизированной тканью. Это, по мнению авторов, означает,

Рис. 11.7. Гипотетические схемы транспорта аминокислот, образующихся в процессе гидролиза пептидов. (По [89]).

Области слева от центральных линий — кишечная полость (выход — транспортные механизмы), справа — внутриклеточная среда, килье изображают гидролиз. А — внутриполостной гидролиз, Б — гидролиз на поверхности тонкой кишки с освобождением образующихся аминокислот в свободный раствор, В — гидролиз на поверхности с передачей аминокислот непосредственно на места аминокислотного транспорта, Г — всасывание интактного пептида посредством транспортного механизма аминокислот, Д — всасывание интактного пептида посредством специфического пептидного транспортного механизма, Е — гидролиз пептида с непосредственной передачей аминокислот на места транспорта, чувствительные только к аминокислотам, освобожденным из пептидов соответствующей гидролизом.



что мембрана кишечного эпителиоцита содержит «входной» транспортный механизм для небольших пептидов, который зависит от источников энергии. Таким образом, некоторые авторы [53, 89] допускают существование двух возможных механизмов транспорта аминокислот, образующихся при гидролизе олигопептидов: 1) гидролиз на поверхности кишечной клетки, осуществляемый системами, тесно связанными с транспортными механизмами для аминокислот, и 2) вход пептидов внутрь клеток посредством специальных транспортных механизмов, за которым следует внутриклеточный гидролиз. Эти, а также другие имеющиеся в литературе гипотезы, предложенные для объяснения транспорта аминокислот, освобождающихся при гидролизе пептидов, схематически представлены на рис. 11.7.

В настоящее время, когда достоверно установлено, что заключительные стадии гидролиза пищевых биополимеров происходят на поверхности мембраны микроворсинок, где локализованы также и транспортные системы, нетрудно представить себе, как осуществляется переход от пищеварения к всасыванию. Вероятнее всего, высокая эффективность пищеварительно-транспортного конвейера может быть достигнута на этапе передачи

продуктов реакции с фермента на вход транспортной системы. Этот малоизученный этап, на котором интегрируются пищеварительные и транспортные функции, по-видимому, в недалеком будущем станет одной из центральных проблем гастроэнтерологии. Теоретически возможны два основных принципа передачи конечных продуктов гидролиза с фермента, их образующего, на вход транспортной системы: 1) образующиеся в процессе мембранного гидролиза вещества попадают в водную фазу, откуда путем диффузии поступают на те точки поверхности, где локализованы соответствующие переносчики; 2) вещества передаются с фермента на переносчик или непосредственно, или через

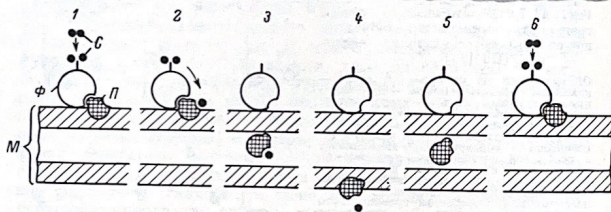


Рис. 11.8. Ступени взаимодействия конечного фермента и переносчика в пищеварительно-транспортном конвейере. (По [35]).

П — переносчик, Ф — фермент, С — субстрат, М — мембрана. 1 — исходное состояние, 2 — образование комплекса субстрат-переносчик, 3 — транслокация, 4 — распад комплекса, 5, 6 — возвращение переносчика.

промежуточную (адапторную) молекулу без выхода в водную фазу [34, 35] (рис. 11.8). По-видимому, высокая эффективность пищеварительно-транспортного конвейера лучше согласуется со вторым предположением, так как поступление конечных продуктов гидролиза из истерченной каемки кишечного эпителия в водную фазу резко увеличивает вероятность их потери для транспорта.

Большинство авторов, изучавших гидролиз и транспорт углеводов, полагают, что в конечном итоге сопряжение пищеварительных и транспортных функций является результатом того, что мономеры, освобождающиеся в процессе гидролиза, передаются непосредственно с фермента на вход транспортной системы (без выхода в водную фазу и без рассеивания в ней).

Прямая передача продуктов гидролиза с конечного фермента на вход транспортной системы возможна при контакте фермента и переносчика. В ходе такого контакта фермент и вход в транспортную систему должны постоянно или периодически образовывать комплекс (например, четвертичную структуру) [3, 15, 30, 34, 119—121, 124]. Косвенными доводами в пользу такой

гипотезы являются некоторые сведения о трансферной функции финальных ферментов, участвующих в мембранном пищеварении [119—122].

Недавно было показано, что флоридзин, блокирующий транспортные системы на внешней поверхности мембраны, в большей степени угнетает «мальтозный» транспорт, чем транспорт свободной глюкозы [15, 34, 66]. Это может иметь место лишь в том случае, если связывание переносчиком глюкозы, образующейся в процессе гидролиза мальтозы, является процессом более эффективным, чем связывание переносчиком готовой глюкозы.

Несмотря на большие успехи, достигнутые в исследовании активного транспорта, многие важные стороны этого процесса все еще неясны. Все гипотезы, которые были предложены для объяснения работы переносчиков, имеют некоторые общие пункты. Предполагается, что переносчики связываются с транспортируемыми молекулами и дальше с помощью не вполне ясного механизма переходят с внешней стороны мембраны на внутреннюю, где освобождают эти молекулы (рис. 11.6). Работа переносчиков является, таким образом, циклической и по крайней мере на одном из этапов нуждается в свободной энергии.

Гипотеза мобильного переносчика является наиболее распространенной и будет рассматриваться ниже. К настоящему времени из мембран бактерий, реже из мембран высших животных известны попытки выделения белков, осуществляющих функцию переносчиков [110]. Эти белки оказались сравнительно небольших размеров, с молекулярным весом примерно от 10 000 до 70 000, чаще всего около 30 000. Количество таких белковых молекул на одну бактериальную клетку достигало в большинстве случаев нескольких тысяч.

При пищеварительно-транспортном конвейере в момент передачи продуктов гидролиза переносчик должен быть связан с гидролазой, которая по отношению к переносчику выполняет функцию адаптора. Можно предположить, что между последним ферментом и переносчиком существуют взаимодействия аллостерического типа, которые облегчают присоединение субстрата к контактной или акценторной площадке переносчика [34]. Такое представление иллюстрирует рис. 11.9, на котором отражен синтез современных данных о мембранном гидролизе, высокоэффективном пищеварительно-транспортном конвейере и мобильном переносчике.

Продукты сопрягаемой реакции получают на этапе транспорта преимущества перед другими веществами, даже если последние обладают высоким сродством к переносчику. Однако на пути к более глубокому пониманию механизма деятельности пищеварительно-транспортных конвейеров есть одно принципиальное затруднение. Если существует прямая передача субстрата с фермента на переносчик, то должна быть также обратная

регулирующая связь между транспортной системой и работой фермента.

Поскольку работа конвейера циклична, то передача субстрата должна происходить лишь в те фазы цикла, когда взаимодействуют фермент и переносчик. В противном случае основная часть продуктов реакции будет рассеиваться в водной среде. В связи с этим на протяжении последних лет неоднократно делались попытки обнаружить влияния транспортной системы и продуктов реакции на работу гидролаз. Однако такие попытки долго не

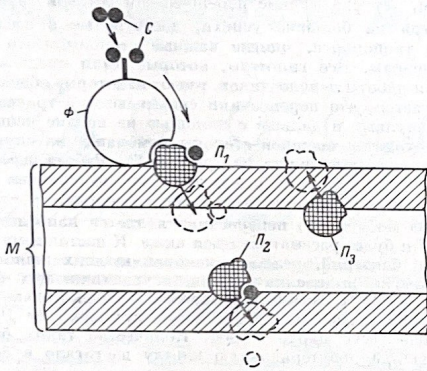


Рис. 11.9. Ферментно-переносчиковый цикл. (По [35]).
 П₁, П₂, П₃ — переносчики, образующие транспортный конвейер, Ф — фермент, С — субстрат, М — мембрана.

удавались. В частности, не подтвердилось предположение, что образование комплекса переносчика с флоридзином будет влиять на свойства фермента-донора [119, 121]. Между тем ясно, что если существует контакт между переносчиком глюкозы и дисахаридами (например, инвертазой), то введение флоридзина, образующего комплекс с переносчиком глюкозы на внешней поверхности мембраны, должно влиять на активность фермента, с которым взаимодействует переносчик. Если бы флоридзин менял активность фермента, то можно было бы думать не только о прямом контакте фермента и входа в транспортную систему, но и о том, что переносчики могут быть регуляторами активности или интенсивности мембранного пищеварения.

Все предшествующие попытки воздействовать на инвертазную активность флоридзином осуществлялись на гомогенатах

512

кишечных эпителиоцитов и солюбилизованных ферментах. Недавно разработан способ [4, 19, 39], позволяющий получать значительное количество изолированных кишечных эпителиоцитов, сохраняющих свою жизнеспособность.

Эксперименты, осуществленные на живых изолированных кишечных эпителиоцитах, дали некоторые результаты, свидетельствующие о наличии обратной связи между процессами транспорта и работой гидролитической системы [2, 36]. Оказалось, что флоридзин в условиях оксигенации достоверно умень-

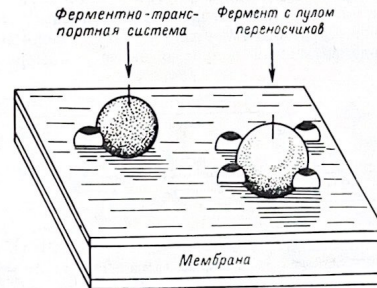


Рис. 11.10. Возможные пространственные отношения между ферментами и переносчиками. (По [35]).

шает активность инвертазы целых клеток. Не менее важно то обстоятельство, что наблюдаемый эффект значительно меньше, если фермент отделен от мембраны с помощью детергента — тритона X-100.

Таким образом, в условиях хорошей сохранности пищеварительно-транспортных механизмов кишечных эпителиоцитов удалось показать взаимодействие между переносчиком и ферментом. Приведенные данные позволяют представить себе этот механизм следующим образом: 1) флоридзин соединяется с транспортным компонентом комплекса фермент-переносчик, меняя конформацию последнего и тем самым аллостерически меняя активность фермента, или 2) флоридзин соединяется с переносчиком, предупреждая образование комплекса инвертаза-переносчик. На основании того, что конечные ферменты и транспортные системы функционально тесно интегрированы, было постулировано существование на поверхности мембраны пищеварительно-транспортных ансамблей [3, 34] (рис. 11.10).

В пределах такого ансамбля фермент пространственно и структурно связан с одним или несколькими переносчиками.

513

Предполагается далее, что система переносчиков неоднородна. Часть из них транспортирует мономеры с участков внешней поверхности мембраны, не содержащих ферментативной активности. В то же время другие группы переносчиков включены в состав соответствующих ансамблей, например мальтазного, мальтазно-инвертазного, лактазного, различных пептидазных и др. Сейчас неясно, являются ли функции каждого переносчика жестко фиксированными, или в зависимости от функциональной нагрузки он может участвовать в работе нескольких ферментов, переходя из одного ансамбля в другой (рис. 11.11). Конкретное описание пищеварительно-транспортных ансамблей в настоящее время еще затруднительно, так как пока невозможно ответить на фундаментальный вопрос о числе взаимодействующих

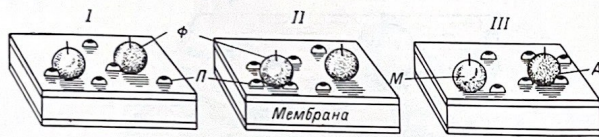


Рис. 11.11. Схема интегрирующих индукций. (По [34]).

Гипотетическое распределение переносчиков на внешней поверхности мембраны: I — исходное распределение (в присутствии мономера глюкозы), II — формирование мальтазно-транспортного пула (в присутствии мальтозы), III — формирование γ -амилазно-транспортного пула (в присутствии крахмала). М — мальтаза, А — γ -амилаза, Ф — фермент, П — переносчик.

в пределах одного ансамбля молекул ферментов и переносчиков. По-видимому, фермент, например мальтаза, обслуживается по меньшей мере двумя переносчиками, которые необходимы для того, чтобы акцептировать две образующиеся молекулы глюкозы. Однако число переносчиков, входящих в состав мальтазно-транспортного ансамбля, может быть и большим (рис. 11.11).

В рамках гипотезы ферментно-транспортного ансамбля находят свое объяснение различия K_t и V_{max} для транспорта готовых мономеров и мономеров, образующихся в процессе гидролиза олигомеров.

Кроме того, прямая передача продуктов гидролиза с фермента на вход в транспортную систему в пределах пищеварительно-транспортного ансамбля приводит к появлению отдельных путей переноса образующихся мономеров, что может предупредить или значительно уменьшить конкуренцию за обладание одной контактной площадкой переносчика. Каким образом может быть достигнуто уменьшение конкуренции за общий переносчик между продуктами мембранного гидролиза, демонстрирует рис. 11.12.

В настоящее время в литературе имеются некоторые данные, подтверждающие высказанную точку зрения в отношении кон-

курентного ингибирования. Это прежде всего данные Ньюи и Смита [106], которые обнаружили, что метионин, являющийся одним из самых сильных ингибиторов кишечного транспорта

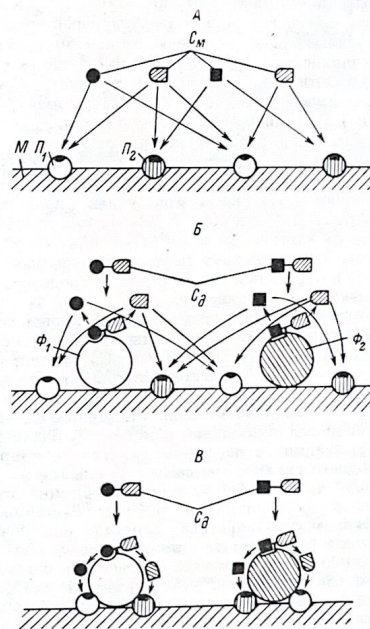


Рис. 11.12. Роль ферментно-транспортных ансамблей в предупреждении конкуренции на стадии всасывания (гипотетические модели). (По [35]).

А — конкуренция между различными мономерами за контактные площадки переносчиков, В — конкуренция между конечными продуктами гидролиза за контактные площадки переносчиков, С — пищеварительно-транспортный ансамбль: передача конечных продуктов гидролиза с фермента на переносчик (конкуренция устраняется). П₁, П₂ — переносчики, С₁ — мономеры, С₂ — димеры, Ф₁, Ф₂ — ферменты, М — мембрана.

нейтральных аминокислот, различно влияет на всасывание глицилглицина и глицина. Если в инкубационной среде (эксперименты *in vitro*) присутствуют глицилглицин и метионин, то количество глицина, транспортируемого на серозную сторону, уменьшается на 10%. Если дипептид эквивалентно заменяется

глицином, то транспорт последнего подавляется на 43%. Авторы объяснили этот феномен тем, что метионин ингибирует транспорт глицина на входе в клетки слизистой оболочки, т. е. на свободной поверхности мембраны, но не влияет на всасывание глицилглицина, имеющего другой транспортный путь.

Сходные данные были получены также при исследовании транспорта аминокислот, образующихся при гидролизе метионилглицина, глицилметионина и метионилглицилметионина, а также эквивалентных смесей аминокислот, составляющих эти пептиды [53, 54, 95]. Было показано, что при использовании смешанных олигопептидов конкурентное ингибирование транспорта глицина метионином, которое всегда имеет место в соответствующих аминокислотных смесях, частично или полностью устраняется. Авторы объясняют полученные ими факты, подобно Ньюи и Смитту, допуская, что пептиды в нерасщепленном состоянии проникают внутрь клетки, где затем происходит их расщепление. Предполагается, что смешанные пептиды используют транспортные системы, к которым они имеют большее сродство, чем любая из составляющих их аминокислот.

Рубино и соавт. [117] исследовали взаимодействие в процессе всасывания между глицилпролином и глицином, а также между ними и различными аминокислотами и пептидами. Они показали, что 1) большой избыток глицина в мукозной среде не влиял на всасывание глицина, образующегося при гидролизе глицилпролина; 2) большой избыток глицилпролина в мукозной среде не ингибировал всасывание глицина; 3) большие избытки фенилаланина, лейцина и метионина заметно ингибировали всасывание свободного глицина, но совсем не оказывали или оказывали небольшое действие на всасывание глицина из раствора глицилпролина и 4) значительные избытки L-метионил-L-метионина и L-фенилаланил-L-пролина заметно ингибировали всасывание глицина из раствора глицилпролина, но оказывали очень незначительное действие на всасывание свободного глицина. Авторы сделали вывод, что всасывание свободного глицина и глицина, образующегося при гидролизе глицилпролина, осуществляется различными путями.

Поскольку еще существует неясность в соотношении гидролиза и транслокации для олигопептидов, которые были использованы в описанных экспериментах, важно исследовать всасывание таких пептидов, гидролиз которых на поверхности мембраны микроворсинков является твердо установленным фактом. Большинство изученных пептидов участвует в мембранном, а не во внутриклеточном гидролизе.

Для того чтобы установить, в какой степени гидролиз на внешней поверхности мембраны предупреждает явление конкуренции, были проведены эксперименты [22, 23], в которых методом вывернутого «мешочка» тонкой кишки исследовался транспорт глицина, когда со стороны слизистой оболочки нахо-

дились растворы глицина, глицил-L-лейцина и эквивалентной смеси глицина и лейцина (рис. 11.4). Во многих работах [11—13, 20, 24, 25, 27, 30, 37, 38] показано, что гидролиз глицил-L-лейцина происходит на внешней стороне клеточной мембраны. Если сравнить транспорт глицина в присутствии и в отсутствие лейцина (рис. 11.5), то можно видеть, что лейцин резко тормозит всасывание глицина (примерно на 60%). Это торможение достоверно уменьшается в том случае, если с поверхностью слизистой оболочки контактирует дицетид.

Таким образом, на основании всего сказанного можно прийти к выводу, что включение переносчиков в состав различных пищеварительно-транспортных ансамблей может приводить к облегчению транспорта мономеров (аминокислот и гексоз), освобождающихся при гидролизе олигомеров в пределах одного ансамбля, а также к понижению сродства переносчиков к мономерам, образованным другими пищеварительно-транспортными ансамблями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биков К. М. Лекции по физиологии пищеварения. Л., 1940.
2. Гозите И. К. Характеристика пищеварительных функций изолированного кишечного эпителия. — В кн.: Физиология и патология тонкой кишки. Матер. Всес. конф. гастроэнтерологов. Рига, 1970, с. 50—53.
3. Гозите И. К., Груздков А. А., Егорова В. В., Иезуитова Н. Н., Логинов Г. И., Митюшова Н. М., Нурке Я. Я., Смирнова Л. Ф., Тимофеева Н. М., Тилляганова Е. Х., Уголев А. М., Цветкова В. А., Черняховская М. Ю., Щербак Г. Г. Организация и регуляция процессов мембранного пищеварения и транспорта. — XI съезд Всес. физиол. о-ва, т. II. Л., 1970, с. 280.
4. Гозите И. К., Митюшова Н. М., Уголев А. М. Методика изоляции эпителиальных клеток и щеточной каймы слизистой тонкой кишки. — Матер. IV конф. физиологов республик Ср. Азии и Казахстана, т. II. Алма-Ата, 1969, с. 76—78.
5. Домбровская М. П., Иезуитова Н. Н., Тимофеева Н. М., Уголев А. М. Влияние иммобилизационного (эмодонального) стресса на пищеварительные функции кишечных клеток. — VIII науч. конф. по кортико-висцеральным взаимоотношениям в физиол., мед. и биол., посвящ. 50-летию Великой Октябрьской соц. революции. Тез. докл., вып. 1. Л., 1967, с. 52—53.
6. Думеш М. И. Некоторые клинические, биохимические и морфологические исследования тонкой кишки при хронических болезнях и Симпоз. по клин. биохим. болезням печени. Рига, 1968, с. 19.
7. Иезуитова Н. Н., Де Лей П., Уголев А. М. Jesuitova N. N., De Laey P., Ugolev A. M. Digestion of starch in vivo and in vitro in a rat intestine. — Biochim. et biophys. acta, 1964, v. 86, № 2, p. 205—210.
8. Иезуитова Н. Н., Надирова Т. Я., Торובה Н. В., Уголев А. М. Характеристика поступления гексоз в кровь при введении поли-, олиго- и моносахаридов в желудочно-кишечный тракт. — В кн.: Физиология и патология пищеварения. Кратк. содерж. докл. науч. конф. Львов, 1965, с. 102—105.
9. Комиссарчик Я. Ю., Уголев А. М. Ультраструктура и возможное функциональное значение гликокаликса микроворсинок кишечных клеток. — ДАН СССР, 1970, т. 194, № 3, с. 731—733.
10. Коштоянц Х. С. Основы сравнительной физиологии, т. 1. М.—Л., 1950.

**ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ТОПОГРАФИЯ
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ И ТРАНСПОРТНЫХ
ПРОЦЕССОВ В ТОНКОЙ КИШКЕ**

А. М. Уголев, Н. М. Тимофеева, Н. Н. Незутова,
А. А. Груздков, В. М. Лесогор

В последнее время изучение пищеварительных и транспортных функций эпителия тонкой кишки стало одним из важных и быстро развивающихся направлений современной физиологии. Первоначально эти исследования касались главным образом характеристики ферментативных активностей тех или других отделов тонкой кишки. В дальнейшем все большее место стали занимать работы, характеризующие функциональную топографию ферментативных и транспортных процессов в тонкой кишке.

Многочисленные исследования, посвященные распределению ферментативных и транспортных функций вдоль тонкой кишки животных и человека, свидетельствуют о функциональной неравноценности различных сегментов этого важного органа [22, 24, 25, 29, 34, 36, 52, 55, 56, 70, 94, 102, 111, 115, 131, 144, 145, 158, 160].

Впервые понятие о проксимо-дистальном градиенте распределения функций вдоль тонкой кишки было сформулировано Альваресом [40], который обнаружил, что интенсивность моторной активности уменьшается в каудальном направлении. Он считал, что многочисленные свойства тонкой кишки могут быть объяснены постепенным уменьшением различных активностей вдоль кишки, начиная с конца тощей.

Впоследствии в исследованиях на кишечных препаратах крыс в условиях *in vitro* Фишер и Парсонс [77], Уилсон и Уайзман [159] и Смит и Тейлор [143] поддержали идею о том, что разные области тонкой кишки обладают различными уровнями

активностей, по крайней мере в отношении потребления O_2 , транспорта глюкозы и воды. Был обнаружен более высокий уровень этих показателей в тощей кишке по сравнению с подвздошной. Эти данные были подтверждены и другими авторами [45, 47, 150].

Проведенные в последнее десятилетие многочисленные исследования позволили дать сравнительную характеристику пищеварительных и транспортных функций различных отделов желудочно-кишечного тракта человека и животных.

**12.1. ПРОКСИМО-ДИСТАЛЬНАЯ ТОПОГРАФИЯ
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ АКТИВНОСТЕЙ**

Многие авторы наблюдали, что концентрация ферментов в кишечной полости убывает от двенадцатиперстной

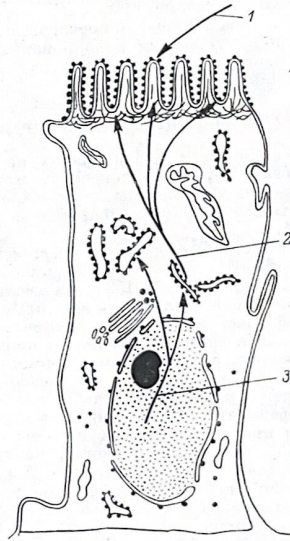


Рис. 12.1. Пути образования ферментного аппарата, осуществляющего мембранное пищеварение.
1 — адсорбция ферментов из химуса, 2 — транслокация энтеральных ферментов, 3 — синтез.

кишки в каудальном направлении [3, 43, 60, 66, 97, 144]. Это позволило сделать вывод о существовании проксимодистального градиента полостного пищеварения.

В 1959 г. Уголевым было открыто мембранное пищеварение, которое осуществляется ферментами, локализованными на внешней поверхности мембран клеток кишечных эпителиоцитов. Было показано двоякое происхождение этих ферментов. С одной стороны, к ним относятся панкреатические ферменты, адсорбированные на поверхности слизистой оболочки тонкой кишки, с другой стороны — собственно кишечные ферменты, синтезируемые кишечными эпителиоцитами (рис. 12.1).

Согласно концепции Уголева, начальные стадии гидролиза пищевых биополимеров у человека и высших животных осуществляются в полости тонкой кишки, а промежуточные и заключительные — посредством мембранного пищеварения [22—24, 27].

В дальнейшем было показано существование проксимодистальной топографии мембранного пищеварения, причем это было обнаружено как в отношении сорбированных на поверхности тонкой кишки панкреатических ферментов, так и в отношении собственно кишечных.

12.1.1. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КАРБОГИДРАЗ

Иезуитова и соавт. [7] в опытах на крысах с помощью метода краевой перфузии показали, что наибольшая активность адсорбированной амилазы наблюдалась в проксимальных сегментах тощей кишки, а наименьшая в дистальных отделах подвздошной.

Много работ посвящено исследованию распределения собственно кишечных ферментов вдоль тонкой кишки человека и различных животных. Блэр и Туба [53] при исследовании распределения инвертазы вдоль тонкой кишки крыс обнаружили, что тощая кишка обладает наибольшей ферментативной активностью, в то время как в двенадцатиперстной кишке активность была значительно меньше, а в подвздошной минимальная.

Малхотра и Филип [109] изучали распределение мальтазы, инвертазы и трегалазы вдоль тонкой кишки коз и свиней. Авторы показали, что ферментативные активности в основном локализованы в тощей и проксимальной части подвздошной кишки. Исключение составила инвертаза у свиней, максимум которой проявляется в подвздошной кишке. Позднее Малхотра и Филип [110] исследовали также топографию мальтазной, инвертазной, лактазной и трегалазной активностей вдоль тонкой кишки крыс, белок, морских свинок, кроликов и собак. Было показано, что наибольшая мальтазная активность отмечается в верхнем сегменте тощей кишки у собак и морских свинок. У крыс и кроликов максимальная активность была обнаружена в нижней части тощей и начальных отделах подвздошной кишки. У белок

наибольшая мальтазная активность определялась в двенадцатиперстной кишке, а наименьшая — в тощей.

Максимальная инвертазная активность отмечалась в нижней части двенадцатиперстной и верхнем сегменте тощей кишки у собак и кроликов; у морских свинок определялась низкая активность во всех отделах тонкой кишки, за исключением тощей, где она была несколько выше. У крыс инвертазная активность была обнаружена в нижней части тощей и верхнем участке подвздошной кишки, а у белок активность инвертазы в подвздошной кишке была выше, чем в тощей.

У собак, морских свинок, кроликов и белок максимальная лактазная активность определялась в двенадцатиперстной и верхней части тощей кишки, затем наблюдалось постепенное снижение ее в каудальном направлении. У крыс наибольшая лактазная активность была обнаружена в средних отделах тонкой кишки.

Самая высокая трегалазная активность у собак, морских свинок, крыс и белок наблюдалась в двенадцатиперстной и в верхней части тощей кишки; у кроликов же максимальная активность отмечалась в верхнем отделе подвздошной кишки.

Надировой [18] наибольшая мальтазная активность обнаружена в среднем отделе тонкой кишки крыс, тогда как максимальная инвертазная активность отмечена в проксимальном отделе. Активность обеих дисахаридаз уменьшалась в дистальном направлении. Беччиолини и соавт. [49, 50] наблюдали максимальную лактазную, инвертазную и мальтазную активности в средней части тонкой кишки крыс.

При изучении распределения некоторых дисахаридазных активностей в тонкой кишке свиней Далквист [66] показал, что наивысшая активность лактазы и трегалазы наблюдалась в проксимальной части кишки, а инвертазы, изомальтазы и мальтазы — в дистальной.

Харрисон и Вебстер [85] в опытах на изолированных кишечных эпителиоцитах, выделенных из различных кишечных сегментов крыс, обнаружили высокий уровень инвертазной активности в проксимальном отделе, которая увеличивалась в два раза в средней части тощей кишки, достигая пика, и затем падала до нуля в дистальном участке.

Хембри и соавт. [88] исследовали топографию амилазной и мальтазной активностей в тонкой кишке овец. Авторы отметили, что обе активности значительно выше в тощей кишке по сравнению с двенадцатиперстной и подвздошной.

В отношении глюкоамилазы было показано, что способность к ее синтезу у людей выше в проксимальных отделах тонкой кишки [6]. При исследовании распределения карбогидразных активностей вдоль тонкой кишки свиней Стивенс и Киддер [147] обнаружили сходное распределение трегалазы и лактазы с пиком активности в проксимальной четверти с последующим падением

до незначительных величин в дистальной половине этого органа. Максимум активности инвертазы и глюкоамилазы наблюдался в середине тонкой кишки с последующим небольшим уменьшением инвертазной активности в дистальной части и более выраженным падением глюкоамилазной. Что касается α -амилазы, адсорбированной на поверхности кишки, то она не показала регулярности в распределении.

У рыб и птиц было обнаружено, что максимальная мальтазная активность отмечается в среднем отделе тонкой кишки; в про-

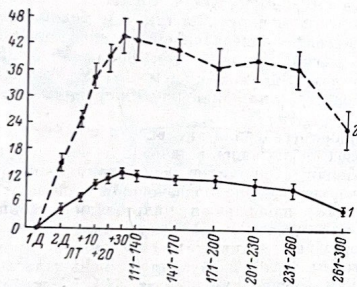


Рис. 12.2. Распределение инвертазной (1) и мальтазной (2) активностей в тонкой кишке человека (данные биопсии). (По [120]).

По оси абсцисс: 1Д и 2Д — соответственно первый и второй участки двенадцатиперстной кишки; ЛТ — лимфатический узел; от +10 до +30 — расстояние от ЛТ, см; 111—300 — расстояние от зубов, см; по оси ординат — активность ферментов в расчете на 1 г алиментарного веса ткани.

ксимальном и дистальном отделах рыб эта активность практически одинакова. У птиц же активность мальтазы была гораздо выше в дистальном отделе, чем в проксимальном [37].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что нет единого мнения по поводу топографии карбогидразных активностей вдоль тонкой кишки как у различных животных, так и у одного и того же вида. Вместе с тем большинство авторов считают, что максимум дисахаридазных активностей отмечается в проксимальной части тощей кишки.

Сходные данные о распределении дисахаридаз были получены также у людей. Начальная часть двенадцатиперстной кишки человека практически не обладает инвертазной, изомальтазной и лактазной активностями [83]. Местом наиболее интенсивного гидролиза дисахаридов у человека является проксимальный

отдел тощей кишки. Это было подтверждено при исследовании распределения вдоль тонкой кишки мальтазы, инвертазы, лактазы, трегалазы (рис. 12.2) [42, 61, 67, 81, 90, 120].

12.1.2. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДГИДРОЛАЗ

Показано, что гидролиз белков и продуктов его расщепления в различных отделах тонкой кишки происходит неравномерно [22, 24, 25, 27, 158, 160].

У крыс типичным распределением протеолитической активности является преобладание ее в дистальных сегментах тонкой кишки [97, 129]. Робинсон и Шоу [134] исследовали топографию распределения ряда пептидгидролазных активностей вдоль тонкой кишки крыс. В качестве субстратов были использованы L-лейцилглицин, глицилглицин, глицил-L-лейцин и глицил-L-аланин. Скорость гидролиза всех субстратов увеличивалась в каудальном направлении. Разница между уровнем ферментативной активности в двенадцатиперстной кишке и подвздошной по L-лейцилглицину и глицил-L-лейцину значительна, для двух других дипептидов она менее выражена. Наименьшая активность для всех субстратов наблюдалась в двенадцатиперстной кишке. Следует подчеркнуть, что изменения в распределении пептидазных активностей вдоль тонкой кишки постепенны и не очень заметны между соседними участками.

Джозефсон и Линдберг [99] изучали распределение пептидгидролазных активностей по L-аланил-L-глутаминовой кислоте, глицилглицину, глицил-L-лейцину и глицил-L-валину вдоль тонкой кишки свиней (рис. 12.3). Оказалось, что топография ферментативных активностей по L-аланил-L-глутаминовой кислоте, глицилглицину и глицил-L-валину по длине тонкой кишки практически одинакова. На протяжении большей части проксимального отдела двенадцатиперстной кишки активность отсутствовала, затем постепенно увеличивалась и достигала максимального уровня в тощей кишке и проксимальном участке подвздошной. К концу подвздошной кишки отмечалось медленное уменьшение активностей, однако в области, примыкающей к илеоцекальной заслонке, их уровень был высоким.

Распределение глицил-L-лейцилдипептидазы вдоль тонкой кишки свиней было иным. Активность была обнаружена в двенадцатиперстной кишке, повышение ее уровня вдоль тонкой кишки было более медленным, максимальная активность наблюдалась в более узкой зоне. У крыс Джозефсон и Линдберг [100] обнаружили также сходное распределение ряда дипептидаз (по L-аланил-L-пролину, L-аланил-L-глутаминовой кислоте, глицилглицину, глицил-L-лейцину и глицил-L-валину) вдоль тонкой кишки. Высокая активность наблюдалась на протяжении проксимального участка двенадцатиперстной кишки. Увеличение

ферментативных активностей отмечалось вдоль тонкой кишки, где оно достигало максимальных уровней в проксимальной и средней части подвздошной кишки, что согласуется с данными Робинсон и Шоу [134].

У собак была обнаружена наивысшая активность глицил-L-лейцилдипептидазы в средней части тонкой кишки [4]. У людей Линдберг [106] наблюдал низкую дипептидазную активность в двенадцатиперстной кишке при использовании тех же пяти

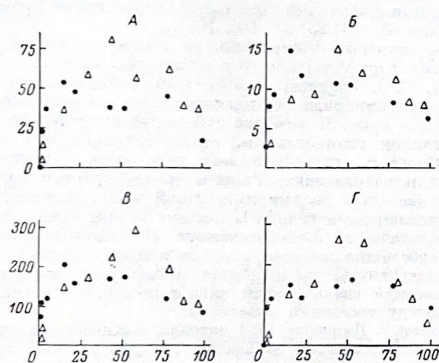


Рис. 12.3. Распределение вдоль тонкой кишки свиной активностей дипептидаз, специфичных к L-аланил-L-глутаминовой кислоте (А), глицил-глицину (В), глицил-L-лейцину (С) и глицил-L-валину (D). (По [99]).

По оси абсцисс — длина кишки, % от всей длины; по оси ординат — активность ферментов, усл. ед./мг азота. Черные кружки соответствуют длине кишки 23 см, треугольники — 17 см.

субстратов, что и у крыс. Максимальный уровень активностей был обнаружен в дистальном участке подвздошной кишки.

Следовательно, распределение дипептидазных активностей вдоль тонкой кишки у людей было иным по сравнению с животными. У крыс и свиней в отличие от людей максимальные величины ферментативных активностей были отмечены в средней части тонкой кишки. Симонс и Джоунс [150] провели исследование распределения L-лейцилглицилдипептидазы, глицил-L-лейцилдипептидазы вдоль тонкой кишки овец. Топография распределения дипептидаз по длине кишки была идентичной. Наблюдалось прогрессивное увеличение дипептидгидролазных активностей по направлению от двенадцатиперстной кишки до средней части подвздошной. В дистальном отделе подвздошной кишки актив-

ности были слегка ниже, оставаясь, однако, на более высоком уровне, чем в двенадцатиперстной кишке и тощей.

Таким образом, в отношении топографии дипептидгидролазных активностей получены также неоднозначные результаты. Однако большинство авторов считают, что распределение дипептидаз вдоль тонкой кишки млекопитающих имеет выраженный проксимо-дистальный градиент с максимумом активностей этих ферментов в каудальных отделах подвздошной кишки.

12.1.3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ДРУГИХ ФЕРМЕНТОВ

Нордстром и Далквист [124, 126] показали преимущественную локализацию энтерокиназы во фракции мембран микроворсинок кишечных эпителиоцитов у крыс и обнаружили активность этого фермента вдоль всей длины тонкой кишки, за исключением дистальных отделов подвздошной кишки, где ферментативная активность отсутствовала. У морских же свинок энтерокиназа присутствует только в проксимальном отделе тонкой кишки [92].

На изолированных эпителиальных клетках, полученных у крыс из различных кишечных сегментов с помощью вибрационной техники, обнаружено равномерное распределение лейцин-аминопептидазной и эстеразной активностей от двенадцатиперстной кишки до средней части тощей с последующим постепенным падением в дистальном направлении [86].

Авторы, изучавшие распределение щелочнофосфатазной активности вдоль тонкой кишки млекопитающих, также обнаружили наличие проксимо-дистального градиента. Малхотра и Филип [109, 110] наблюдали максимум щелочнофосфатазной активности у крыс, собак, морских свинок и белок в двенадцатиперстной и верхней части тощей кишки, после чего отмечалось ее падение в дистальном направлении. Аналогичные данные были получены у крыс Беччиолли и соавт. [49].

Однако у кроликов наибольшая активность была обнаружена в верхнем сегменте подвздошной кишки. Тем не менее большинство авторов считают, что максимальная активность щелочной фосфатазы наблюдается в проксимальных отделах тонкой кишки с последующим снижением в каудальном направлении [21, 72, 73, 86, 96, 115, 122, 154].

Максимальная активность наблюдалась в средних отделах тонкой кишки собак, крыс и морских свинок. У кроликов и белок было обнаружено два пика ферментативной активности — в двенадцатиперстной и подвздошной кишках. Для коз характерно равномерное распределение активности кислой фосфатазы вдоль тонкой кишки.

Проксимо-дистальная топография различных функций тонкой кишки у разных животных и человека изучалась многими авторами, однако условия экспериментов, объекты исследования и