

бак при введении per os желчи, содержащей меченую ^{35}S таурохолевую кислоту, в течение 2.5 месяцев после операции не наблюдалось нормализации суммарной скорости всасывания и секреции желчных кислот после резекции как нижней, так и верхней половины тонкой кишки [19]. Однако здесь, вопреки данным Плейоста и соавт. [184], после резекции нижнего отдела тонкой кишки всасывание желчных кислот могло осуществляться на 50%, очевидно, за счет усиления пассивных механизмов всасывания в верхнем отделе тонкой кишки. Этому также должна способствовать отмечаемая задержка эвакуации пищи из верхнего отдела при удалении нижней половины тонкой кишки у собак [34]. На приспособительное увеличение всасывания желчных кислот из проксимального отдела тонкой кишки после резекции подвздошной также указывают Довлинг и соавт. [96], проводя взаимосвязь с гиперплазией слизистой оболочки кишки.

У больных, перенесших резекцию подвздошной кишки, концентрация желчных кислот в просвете тощей кишки может очень колебаться в течение дня. Так, после 12-часового ночного голодания благодаря усиленному печеночному синтезу желчных кислот в желчном пузыре создается достаточно высокая их концентрация. Поэтому при опорожнении желчного пузыря после утреннего приема пищи концентрация желчных кислот в тощей кишке не отличается от нормальной. Однако нарушение всасывания желчных кислот при отсутствии подвздошной кишки сказывается уже при последующих кругооборотах, когда внутрикишечная концентрация желчных кислот резко снижается после следующих приемов пищи [83].

Как показали исследования [70, 93], после массивной дистальной резекции концентрация желчных кислот в полости тощей кишки в ответ на первый прием пищи и количество жира в мицеллярной фазе ультрацентрифугата кишечных проб были нормальными. Однако при втором легком завтраке сказывался внутрикишечный дефицит желчных кислот, что выразилось в снижении содержания жира в мицеллярной фазе и соответствующее увеличение жировой фракции. Такая частичная потеря желчных кислот из печеночно-кишечной циркуляции приводит к постоянному перенапряжению печени, что, возможно, служит одной из причин нарушения синтетической функции печени, часто отмечаемого при обширных резекциях тонкой кишки и различных ее заболеваниях. Нарушение функции печени в свою очередь может привести к уменьшению количества желчных кислот, находящихся в циркуляции, в результате снижения их печеночного синтеза [9, 20, 182].

Таким образом, очевидно, что необходимое количество желчных кислот, нормально присутствующее в печеночно-кишечном кругообороте, обеспечивается тесным взаимодействием ряда факторов: 1) степенью всасывания их из кишечника с помощью ак-

тивных и пассивных механизмов; 2) наличием нормальной микрофлоры в кишечнике; 3) способностью печени синтезировать недостающее количество желчных кислот.

Следует отметить, также, что работами последних лет все более подчеркивается важность печеночно-кишечной циркуляции веществ не только для процессов пищеварения, но и для общего обмена веществ в организме [4, 11, 15, 17, 30, 33, 35, 61].

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамзон М. А., Попова Р. А., Самсонова Л. А. О диагностическом значении определения холатов желчи у больных острым эпидемическим гепатитом. — В кн.: Вопросы патологии печени и поджелудочной железы. Смоленск, 1969, с. 87—89.
2. Бурдакова Е. В., Рубель В. М., Малкисам И. В., Филиппович С. И., Чернышева Г. В., Апанасюк М. П. К вопросу о выделении радиоактивного фосфора со слюной, желудочным и поджелудочным соками. — Труды по применению радиоактивных изотопов в медицине. М., 1953, с. 218—227.
3. Васильева Э. П., Василевская Л. С. Изменение печеночно-кишечной циркуляции веществ желчи после частичной резекции кишечника. — В кн.: Деятельность желчи после частичной резекции кишечника в норме и патологии. Матер. конф. М., 1969, с. 21—24.
4. Гейтшвейг Я. В. Желчные кислоты, как факторы гомеостаза. — В кн.: Физиологическая роль поверхностно-активных веществ. Тез. докл. Всес. симпозиум. Черновцы, 1975, с. 30—32.
5. Горшкова С. М., Курцин И. Т. Механизмы желчевыделения. Л., 1967.
6. Громашевская Л. Л., Постовит В. А., Неборачко В. С. Желчные кислоты в сыворотке крови в норме и при патологических состояниях печени. — В кн.: Успехи генетологии, вып. 3. Рига, 1974, с. 129—143.
7. Замычкина К. С. Материалы к изучению всасывательной способности желчного пузыря. — Бюл. экпер. биол. и мед., 1958, т. 46, № 9, 9—12.
8. Замычкина К. С. О роли пищеварительного тракта в межклеточном обмене веществ в организме. — В кн.: Вопросы физиологии и патологии пищеварения. Труды Ин-та норм. и патол. физиол. АМН СССР, т. 2. М., 1958, с. 213—240.
9. Замычкина К. С. Синтез в печени серосодержащих органических соединений желчи в условиях различного функционального состояния печени. — В кн.: Физиология пищеварения. Тез. докл. 9-й конф., посвящ. 50-летию Великой Октябрьской соц. революции, т. 1. Одесса, 1967, с. 102—103.
10. Замычкина К. С. Скорость всасывания таурохолевой кислоты в кишечнике собаки и выделение ее в желчи. — В кн.: Физиология пищеварения. Тез. докл. 9-й конф., посвящ. 50-летию Великой Октябрьской соц. революции, т. 1. Одесса, 1967, с. 103—104.
11. Замычкина К. С. О значении желчеобразовательной функции печени в липонидном и белковом обмене организма. — Вестн. АМН СССР, 1968, № 12, с. 20—26.
12. Замычкина К. С. Скорость энтерогепатического кругооборота меченой методом биосинтеза таурохолевой кислоты. — В кн.: Механизмы нейротропной регуляции вегетативных функций. Л., 1970, с. 202—209.
13. Замычкина К. С., Гродзенский Д. Э. Судьба фосфорорганических соединений желчи при введении их через рот. — Биохимия, 1955, т. 20, вып. 3, с. 353—359.

- 229 *Weiner J. M., Lack L.* Bile salt absorption, enterohepatic circulation. — In: Handbook of physiology, sect. 6, v. 3, ch. 73. Washington, 1968, p. 1439—1455.
- 230 *Wheeler H. O., Ramos O. R.* Determinants of flow and composition of bile in the unanesthetized dog during constant infusion of sodium taurocholate. — *J. Clin. Invest.*, 1960, v. 39, № 1, p. 161—170.
- 231 *Whitlock R., Wheeler H.* Couple transport solute and water across rabbit gallbladder epithelium. — *J. Clin. Invest.*, 1964, v. 43, № 12, p. 2249—2265.
- 232 *Wilson F. A., Dietschy J. M.* Characterization of bile acid absorption across the unstirred water layer and brush border of the rat jejunum. — *J. Clin. Invest.*, 1972, v. 51, № 12, p. 3015—3025.
- 233 *Wilson T. H., Wiseman G.* The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. — *J. Physiol. (Lond.)*, 1954, v. 123, № 1, p. 116—125.
- 234 *Wingate D. L.* Inhibition of net transport and transmural potential difference across isolated rat ileum and jejunum by glycine-conjugated bile acids (abstract). — *Gastroenterol.*, 1973, v. 64, № 4, p. 824.
- 235 *Wingate D. L., Phillips S. F., Hofmann A. F.* Effect of glycine-conjugated bile acids with and without lecithin on water and glucose absorption in perfused human jejunum. — *J. Clin. Invest.*, 1973, v. 52, № 5, p. 1230—1236.
- 236 *Wollenweber J., Kottke B. A., Owen C. A.* Pool size and turnover of bile acids in 6 hypercholesterolemic patients with and without administration of nicotinic acid. — *J. Lab. a. Clin. Med.*, 1967, v. 69, № 4, p. 584—593.

Глава 10

ВСАСЫВАНИЕ ВИТАМИНОВ

*А. С. Вальдман, Е. А. Циеленс, А. Я. Озол,
Р. Я. Андрушайте*¹

Поскольку витамины в естественных продуктах питания и кормах находятся по большей части в связанном виде, их всасыванию предшествует подготовительный этап обработки пищевых компонентов собственно пищеварительными ферментами при участии желчи, солей, секретов и факторов, создающих условия для предварительного освобождения витаминов, с тем чтобы продолжить этот процесс на мембране кишечного эпителиоцита.

Адсорбция витаминов подобно другим молекулярным соединениям и мономерам происходит при участии промежуточного этапа ассимиляции — мембранного пищеварения. Механизм прохождения этих соединений через мембрану кишечного эпителиоцита еще мало изучен, однако, вопреки существующему мнению, не всегда является простой диффузией, а часто связан со смежными процессами (гидролиз и транспорт при участии специфических гидролаз, синтетаз и высокомолекулярных переносчиков).

10.1. ВИТАМИН А И КАРОТИН

Витамин А выполняет важную физиологическую роль в обмене веществ. Его биохимическая функция лучше изучена пока лишь в отношении зрения. Витамин А в виде его изомера — 11-цис-ретинала совместно с специфическим белком — опсином формирует светочувствительный пигмент зрения — родопсин. В последнее время удалось обнаружить ретинол и

¹ Разделы 10.1, 10.2, 10.4, 10.7, 10.9, 10.10, 10.12—10.14 написаны А. Р. Вальдманом; 10.3, 10.8 — Е. А. Циеленсом; 10.5, 10.6 — А. Я. Озол; 10.11 — Р. Я. Андрушайте.

ретинолевую кислоту во внутриклеточных мембранах [179], что может иметь значение в ферментной деятельности клетки и трансмембранном транспорте. От витамина А зависит сохранение функциональной целостности эпителиальных тканей желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, глазной конъюнктивы, половой системы.

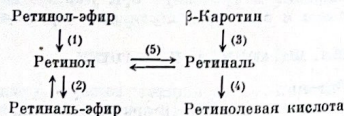
Витамин А (A_1) спирт, или ретинол ($C_{20}H_{38}OH$), — главная природная форма витамина А — содержит β -ионное кольцо и трансконфигурацию изопреновых остатков боковой цепи, встречается в животных жирах, особенно в печени в виде сложных эфиров жирных кислот, главным образом пальмитиновой кислоты.

Разновидность витамина A_2 — ретинол₂ ($C_{20}H_{27}OH$), или дегидроретинол, найдена в печени пресноводных рыб.

Активность витамина А измеряется в международных единицах (МЕ), приравненных к активности 0,3 мкг витамина A_1 (ретинола) или 0,6 мкг β -каротина. Более богаты витамином А жиры печени рыб и морских зверей. Жир печени трески (рыбий жир) в 1 г содержит 250—500 МЕ, жир печени кита 100 000—200 000 МЕ. Синтетические препараты витамина А в масле содержат 100 000—500 000 МЕ в 1 г.

Витамин А альдегид, или ретиналь ($C_{19}H_{27}CHO$), в небольших количествах встречается в сетчатке глаз, в икре рыб, в яйцах птиц, а также в тканях и крови млекопитающих. Возникает при окислении ретинола, а также при трансформации каротина в витамин А (рис. 10.1). При восстановлении ретиналь превращается в витамин-спирт, а при окислении в ретинолевую кислоту ($C_{19}H_{27}COOH$), обнаруживаемую в тканях животных в небольших количествах [13]. Обычно реакция ретиналь—ретинол обратима и сдвинута в сторону ретинола.

Реакция ретиналь—ретинолевая кислота необратима, катализуется альдегидоксидазой и ведет к потере витамина А. Все реакции превращения витамина А и каротина контролируются соответствующими ферментами согласно схеме:



где (1) — ретинилэфиргидролаза, (2) — ретинилэфирсинтетаза, (3) — 15,15'-каротиндиоxygenаза, (4) — альдегидоксидаза (ретиналоксидаза), (5) — алкогольдеhydroгеназа (альдегидредуктаза).

Перечисленные ферменты обнаружены в слизистой оболочке тонкой кишки как на ее поверхности, так и внутриклеточно. Некоторые из них выделены в очищенном виде. Так, каротиндиоxygenаза, выделенная из слизистой оболочки

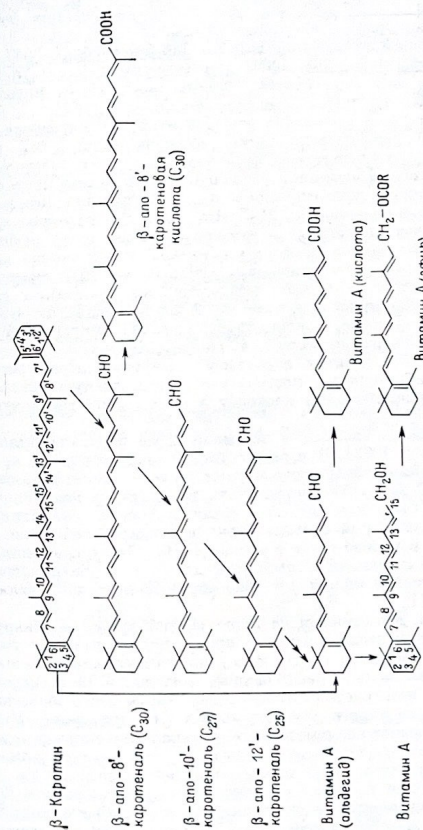


Рис. 10.1. Схема синтеза витамина А из β -каротина.

кишечника крыс [131, 212] и свиней [114, 200], имеет молекулярный вес 100 000—200 000; ферментативная реакция нуждается в молекулярном кислороде и активации сфингомиелином, желчными кислотами, детергентами. Ретиналоксидаза изолирована из кишечника крыс [200], ее молекулярный вес 75 000—80 000, фермент активируется глутатионом, НАД, ингибируется НАДН, нуждается в кислороде воды.

В исчерпанной каемке (на внешней мембране кишечных эпителиоцитов) локализована ретинилэфиргидролаза [182], в то время как ретинилсинтаза локализована внутриклеточно.

Кроме того, в слизистой оболочке тонкой кишки крыс обнаружен фермент, превращающий дисконфигурацию (цисформу) витамина А в трансформу [218]. Это имеет существенное значение, поскольку некоторые океанские пищевые сорта рыбы содержат малоактивные цисформы витамина А. Сказанное позволяет заключить, что природные эфирные формы витамина А (в рыбьем жире, сливочном масле, яичном желтке), а также препараты витамина А — витамин А ацетат, витамин А пальмитат и др. — не могут проникнуть через клеточную мембрану. Только после их расщепления соответствующими эстеразами освобожденный ретинол всасывается. Внутри клетки ретинол вновь этерифицируется, поступает в лимфатическую систему и вместе с хиломикронами проходит в портальную венозную систему.

Возможность биосинтеза витамина А из каротина была доказана Муром [202]. При скармливании авитаминозным крысам β-каротина было обнаружено повышение содержания витамина А в печени. С тех пор каротин стали называть провитамином А. На крысах было показано, что витамин А после скармливания каротина появляется первоначально в слизистой оболочке тонкой кишки и только затем в печени [191]. После скармливания каротина авитаминозным цыплятам витамин А обнаруживается в стенках тонкой кишки и только через 40 мин. он появляется в печени [7].

Известно, что каротин частично абсорбируется и обнаруживается без изменений в тканях, крови, молоке и яйцах только у крупного рогатого скота, птиц, морской свинки и человека. Ткани и молоко коз, овец, свиней, лошадей и крыс каротина не содержат или содержат лишь следы. Тем не менее образование витамина А из каротина у них происходит интенсивно. У этих животных, возможно, отсутствует транспортная система — переносчик каротина. Опыты на крысах и свиньях показали, что скармливание каротина обуславливает появление в лимфе брыжейки витамина А 'эфира и отсутствие' в ней каротина [255]. Последний превращается в витамин А на мембране кишечных эпителиоцитов и образовавшийся витамин-альдегид (очевидно, после восстановления в ретинол) проникает в клетку, где подвергается этерификации.

Эффективность усвоения каротина в биосинтезе витамина А зависит от активности 15,15'-каротиндиоксигеназы, поэтому важное значение имеет уровень белкового питания и качество белка. Максимальная активность 15,15'-диоксигеназы у крыс найдена при рационе, содержащем 10% протеина, а пониженная — при низком, а также очень высоком уровне протеина [262]. Пониженная способность трансформировать каротин в витамин А наблюдается у телят и поросят в раннем возрасте. В этих случаях возникает необходимость в употреблении витамина А, а не каротина. Кроме того, значение имеет функциональное состояние нейрогуморальной системы, температура окружающей среды, другие ингредиенты полноценного питания. Анаболические гормоны андрогенного действия (андрогены каала коров и овец, а также синтетический метиладростендиол), активирующие синтез белка, стимулируют также превращение каротина в витамин А [7, 12]. Добавочное введение в рацион лизина, цистина, метионина, витамина В₁₂, а также FeCl₂ активизирует трансформацию β-каротина в витамин А. Повышенные дозы хлористого железа (2,64 г/кг корма), наоборот, тормозят синтез витамина А из каротина, но стимулируют усвоение ретинилацетата.

Т а б л и ц а 10.4

Сравнительная биологическая эффективность каротина и витамина А для животных и человека [77]

Объект исследования	β-каротин, мг (эквивалентно 1 мг витамина А)	Витамин А, МЕ (эквивалентно 1 мг β-каротина)
Крысы	2	1667
Птицы	3 (2—6)	1112
Крупный рогатый скот	7 (7—10)	476
Овцы	7 (5,8—8,3)	476
Свиньи	7 (6,7—7)	476
Лошади	7 (6—10)	476
Собаки	6 (4—8)	556
Лисицы, норки	12	277
Человек	6 (4—8)	556

Многочисленные опыты, проведенные на лабораторных и сельскохозяйственных животных, показали, что более активный синтез витамина А из каротина наблюдается у крыс и птиц, менее активный — у сельскохозяйственных животных, плохо ассимилируют каротин пушные звери (табл. 10. 1).

Обычные кормовые средства наряду с β-каротином содержат менее активные α- и γ-каротины, поэтому витаминный эквивалент природных кормов будет зависеть от содержания в них изомеров каротина. Из природных кормов и продуктов больше

каротина в красной моркови (100—150 мг/кг), в шпинате, клевере, люцерне (30—50 мг/кг), в травяной муке (150—250 мг/кг) [155].

В настоящее время еще трудно объяснить пониженную способность к ассимиляции каротина в биосинтезе витамина А у сельскохозяйственных животных и пушных зверей в отличие от крыс и птиц. У многожелудочных животных с обильной микрофлорой часть каротина в пищеварительном тракте разрушается. Значение имеет также уровень витаминов в диете. Усвоение витамина А в повышенных дозах из природных источников, а также из препаратов проходит эффективнее, чем усвоение (трансформация) повышенных доз каротина. Характерно, что введение витамина А в повышенных дозах тормозит усвоение собственно каротина, поэтому содержание каротина в тканях и молоке снижается [7]. Сказанное свидетельствует о том, что система эстераз и переноса витамина А функционирует более эффективно, чем система трансформации каротина.

Опыты на крысах показали, что превращение каротина в витамин А происходит не только в стенках кишок, но также и в других тканях. Даже удаление печени, почек, легких, надпочечников, тонкой и толстой кишок, пищевода не прекращало биосинтез витамина А из внутривенно введенного каротина [67, 271]. Видимо, способность трансформировать каротин в витамин А присуща всем тканям организма, но поскольку кишечник является главным путем прохождения каротина, он выполняет основную функцию в снабжении организма витамином А.

Наблюдаются видовые различия в абсорбции собственно каротина. У крупного рогатого скота каротин всасывается сравнительно хорошо. Скармливание богатого каротином зеленого корма приводит к значительному повышению уровня каротина в крови, достигаемому 1100 мкг%. В молоке коров содержание каротина в летнее время достигает 100 мкг% [7]. Не найдено каротина в молоке буйвола, жирафы, кенгуру, кроликов, свиней, коз, овец. Только следы каротина обнаружены в крови кроликов, морских свинок, лошадей, собак [132]. Мало каротина в плазме крови птиц (4—5 мкг%), больше его в желтках яиц (120 мкг%). В плазме крови крыс каротин не найден, но небольшое количество его найдено в печени [125]. В плазме крови человека содержание каротина не превышает 300 мкг%, а витамина А — 150 мкг% [269].

Биологической активностью обладают некоторые ксантофиллы. В желтой кукурузе, яйцах, траве, водорослях найден 3-окси-β-каротин (криптоксантин) и 4-окси-β-каротин (изокриптоксантин), обладающий половинной активностью β-каротина [27].

Превращение каротина в витамин А в процессе абсорбции, а также бактериальное расщепление затрудняют определение истинной его абсорбции. По сообщению Национального комитета по питанию в Канаде [205], а также по данным Департамента сельского

хозяйства США [198], у человека абсорбция каротина из масла колеблется от 25 до 98%. В то же время из зелени, моркови, шпината абсорбция каротина составляет 10—30% (если расчет ведется на поступивший и выделенный в фекалиях). Значение имеет подготовка материала. Из свежей моркови абсорбировалось 25% каротина, из гомогенизированной моркови — 55%. Каротин в масле или маргарине абсорбировался на 75%, в шпинате и капусте на 40%.

Если об абсорбции меченого β-каротина судить по обнаружению его в грудном лимфатическом протоке человека, то в течение 20—22 час. абсорбировалось 8—16% метки, главным образом как витамин-эфир и только 1.7—27.9% как неизменный β-каротин. После введения меченого ретинола или ацетата за этот же промежуток времени возврат колебался от 6.7 до 66.09%. У одного пациента отсутствовала способность синтезировать витамин А, в лимфе обнаруживался только каротин и не обнаруживался витамин А [68, 70].

Однако приведенные цифры у разных исследователей значительно колеблются, что связано с методикой, при которой производились наблюдения, а также с физиологическим состоянием наблюдаемых.

Ассимиляция разных форм витамина А изучена еще мало. Кроме ретинола в качестве промежуточных метаболитов в клетке обнаруживается еще ретиналь. Предполагают, что альдегидная форма является активной формой витамина А, а эфирная — запасной. Известное количество ретиналя всегда обнаруживается в тканях, крови, печени животных. Во время инкубации яиц содержание ретиналя снижается, а ретинил эфира возрастает [219]. Известной биологической активностью обладает ретинолевая кислота. Дефицит протейна снижает печеночные запасы витамина А, если в качестве источника витамина А используется пальмитат витамина А, но не витамин А алкоголь [206]. При протейновом дефиците в диете, видимо, снижается гидролитическая активность эстераз кишечника, расщепляющих эфирную форму витамина А. Если витамин А вводился парентерально в виде алкоголя, пальмитата или ацетата, изменение уровня белка в диете не влияло на содержание витамина А в печени и крови. Витамин А пальмитат, введенный парентерально, медленнее исчезал из кровеносного русла, чем витамин-спирт. В гомогенатах печени и почек витамин-ацетат гидролизует лучше, чем витамин А пальмитат. В гомогенате поджелудочной железы активно гидролизует как ацетат, так и пальмитат витамина А. Предполагают существование двух ферментных систем — одна гидролизует витамин А ацетат, другая витамин А пальмитат.

Активирует усвоение витамина А хлортетрациклин и антиоксидант этоксихин. Добавление аскорбиновой кислоты и витамина Е к корму способствует депонированию витамина А в печени [164, 269] и предохраняет каротин и витамин А от разрушения в кишеч-

нике микрофлорой. Об этом говорят опыты на безмикробных животных. У гнотобионтов крысят, находящихся на А-авитаминозной диете, продолжительность жизни была вдвое больше, чем у обычных животных [66].

Азотистокислые соли (KNO_3) в отличие от азотнокислых солей (KNO_2) в рационе цыплят и индюшат вызывают значительное снижение запасов витамина А в печени [56]. При повреждении эпителия кишечника (гастроэнтеритах, авитаминозах, токсикозах) необходимо, по-видимому, парентеральное применение витамина А. Однако, как показали многочисленные опыты, эффективность парентерального применения витамина А зависит от растворителя. Внутримышечное введение масляных препаратов витамина А оказалось малоэффективным. Более эффективными были водные эмульсии и эмульсии с детергентами [55].

Введение витамина А ягнятам в виде тонкодисперсной водной эмульсии подкожно, внутримышечно, внутрибрюшинно и орально показало, что содержание витамина А в плазме крови было наиболее высоким через 3 часа после внутримышечного и внутрибрюшинного введения (92 и 83 мкг% соответственно) и наиболее низким при подкожном и оральном введении (40 и 59,9 мкг% соответственно). Эта же процедура с эмульсией каротина показала, что при внутрибрюшинном и внутримышечном применении концентрация витамина А плазмы крови через 9 час. увеличилась с 28,7 и 26 до 40,7 и 38,8 мкг% соответственно. Не наблюдалось повышения витамина А в плазме крови при подкожном и оральном введении каротина. Содержание каротина увеличилось при внутримышечном применении, а при оральном не было увеличения [256].

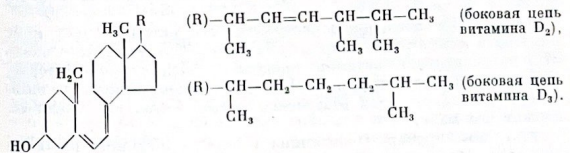
Подытоживая имеющиеся данные [13, 22, 27, 90, 135, 152, 160, 161, 176, 182, 211, 246], можно предложить следующую гипотетическую схему абсорбции витамина А и каротина. Природный витамин А эфир после эмульгирования желчью и включения в мицеллы гидролизует на исчерченной каемке эпителиоцитов слизистой оболочки тонкой кишки ретинилэфиргидролазой, а образовавшаяся алкогольная форма витамина А абсорбируется путем активного транспорта с потреблением энергии. Абсорбированный ретинол внутри кишечного эпителиоцита ретерифицируется и вместе с хиломикронами транспортируется в лимфатическую систему. При белковом дефиците абсорбция ретинил-эфира тормозится, но абсорбция ретинола не меняется. При внутривенном применении как ретинола, так и ретинил-ацетат одинаково скоро ассимилируются и депонируются в печени, в то время как пальмитат ассимилируется медленнее. Обнаружено всасывание ретинола и ретинил-ацетата в желудке крыс, а также в толстой кишке. Каротин, как провитамин А, трансформируется в витамин А на внешней мембране исчерченной каемки кишечного эпителиоцита. 15,15'-каротиндиоxygenазой при этом образуется витамин А

альдегид, который превращается в витамин А спирт альдегидредуктазой, а последний в витамин А эфир эфирсинтетазой, связываясь преимущественно с пальмитиновой кислотой. Часть витамина А альдегида необратимо превращается в ретиноевую кислоту альдегидоксидазой.

Каротин в неизменном виде абсорбируется у крупного рогатого скота, оленей, птиц, морской свинки, человека. Не абсорбируется совсем или абсорбируется в незначительном количестве каротин у коз, овец, свиней, лошадей, крыс. Биологическая роль абсорбированного каротина пока неизвестна. Нет основания предполагать значительную его роль как провитамина в эндогенной трансформации в витамин А.

10.2. ВИТАМИН D

Витамин D — антирахитический витамин. Его функция в минеральном обмене изучена сравнительно хорошо. Дефицит витамина ведет к нарушению нормального процесса костеобразования, вызывает деминерализацию скелета и задерживает рост организма. Существует несколько разновидностей витамина D, из них наибольший практический интерес представляют две его формы: эргокальциферол — витамин D_2 ($C_{28}H_{44}O$) и холекальциферол — витамин D_3 ($C_{27}H_{44}O$):



Оба они контролируют минеральный обмен.

Витамин D_2 — природная форма антирахитического витамина — возникает в живых организмах под влиянием ультрафиолетового облучения солнечного спектра. Получают его также синтетически путем облучений 7-дегидрохолестерина, предшественника этого витамина, выделяемого из моллюсков или синтезируемого из холестерина. Предшественником витамина D_2 является эргостерин, выделяемый из дрожжей и плесневого грибка. После облучения эргостерина ультрафиолетовым светом получают витамин D_2 , по биологической активности мало отличающийся от витамина D_3 у млекопитающих животных. У птиц витамин D_3 значительно активнее витамина D_2 (1 МЕ витамина D_2 и D_3 равна 0,025 мкг).

В настоящее время обе формы витамина D применяются в медицине, животноводстве и птицеводстве в виде масляных концентратов, спиртовых растворов и комплексных белковых препара-

тов (виден). Витамин D₃ находится также в жире из рыбьей печени в виде эфиров жирных кислот [62]. Рыбий жир содержит 50—100 МЕ, синтетические концентраты витаминов D₂ и D₃ 50 000—210 000 МЕ, облученные дрожжи 10 000—50 000 МЕ витамина D в 1 г.

Видимо, эфирная форма витамина D по аналогии с витамином A является запасной формой витамина. Его всасывание также протекает в два этапа: гидролиз эфира с образованием свободного витамина спирта и прохождение последнего через мембрану кишечных эпителиоцитов. Здесь наблюдается известная аналогия с абсорбцией холестерина. В исчерченной каемке кишечных эпителиоцитов обнаружена гидролаза, расщепляющая эфиры холестерина, которая затем вновь этерифицируется [99]. При оральном введении меченых соединений витамина D₃ — эфира олеиновой кислоты — крысам с фистулой лимфатического протока было показано, что витамин D₃ в эфирной форме всасывается медленнее, чем витамин D₃ в свободной форме. В лимфе обнаружен как свободный витамин, так и его эфир, а также более полярные метаболиты [262].

Замедленный характер ассимиляции эфирной формы витамина по сравнению с свободной формой можно объяснить необходимостью в ферментативном гидролизе. Активность витамина D пальмитата, введенного парентерально, эквивалентна активности витамина D спирта.

Около 85% абсорбированного меченого витамина D у крыс найдено в лимфе во фракции хиломикрон. Спустя 72 часа около 67% радиоактивного витамина найдено в печени в эфирной форме, в основном в виде пальмитата. Печень является органом, где витамин D концентрируется в запасной форме. Остальные ткани содержат его мало.

Масляные препараты витамина D, как и масляные растворы витамина A, введенные внутримышечно, менее эффективны, что может быть объяснено замедленным метаболизмом жировых препаратов. Видимо, значение имеет замедленный липолиз жира *in vivo* мышечной ткани.

Холестерин и витамин D, по-видимому, имеют общие (малоспецифичные) эстеразы и эстерифицирующие ферменты, а отсюда — конкурентный характер отношений к субстрату, потребность в общих кофакторах, одинаковая реакция на ингибиторы, а также общий путь их выделения через желчь. Кроме того, они обладают общей транспортной системой (хиломикроны, липопротеиды).

Холестерин в значительном количестве синтезируется в самом организме и является предшественником провитамина D₃ — 7-дегидрохолестерина, также синтезируемого в тканях животных. Холестерин, поступающий с пищей, частично дегидрируется энзимами тонкой кишки и как 7-дегидрохолестерин транспортируется в эпидермис, где под влиянием ультрафиолетового облучения превращается в витамин D₃. Отношения холестерина к 7-дегидро-

холестерину в стенке кишечника морской свинки довольно постоянно — 9 : 1 [40].

Что касается витамина D₂ (эргокальциферола), это чуждое организму вещество в тканях не синтезируется и не трансформируется в витамин D₃. Тем не менее его антирахитическая активность при оральном или парентеральном употреблении доказана. Разница лишь в том, что для птиц в отличие от млекопитающих его требуется в 15—30 раз больше, чем витамина D₃. Пути всасывания, транспорта и метаболизма меченого витамина D₂ аналогичны таковым для меченого D₃ [234].

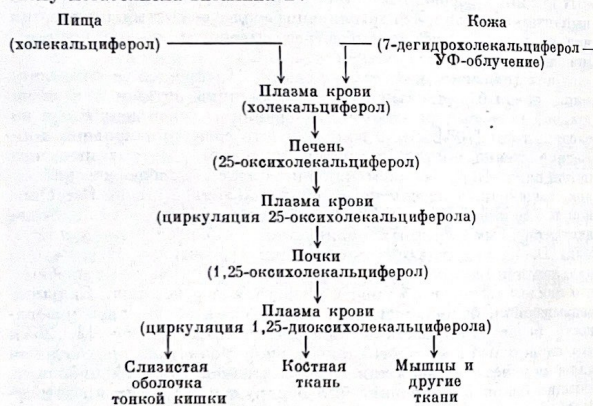
Максимальная абсорбция витамина D наблюдается в проксимальной части тонкой кишки, более интенсивный транспорт в средней ее части. Эргокальциферол поступает в лимфу медленнее, чем холекальциферол. Абсорбцию стимулируют соли желчных кислот, в особенности таурохолат. Внутреннее введение его цыплятам показало, что эргокальциферол и его метаболиты в отличие от холекальциферола быстрее выводятся из организма и меньше депонируются в тканях.

Биохимический механизм функции антирахитического витамина, важный для объяснения ассимиляции витамина, в значительной мере был раскрыт исследованиями, проведенными в последние годы [103]. Было показано, что транспорт кальция в кишечной стенке протекает против градиента электрохимического потенциала. Переносчиком кальция является специфический белок, выделенный из слизистой оболочки тонкой кишки Вассерманом и Тейлором [262, 264]. Этот белок отсутствует в кишечнике авитаминозных животных и появляется лишь после введения витамина D. Было показано, что витамин D стимулирует транспорт кальция как из кишечника в кровь, так и из крови в кишечник, что свидетельствует об общих свойствах переносчика. Кальций-связывающий белок, очевидно, локализован на внешней поверхности исчерченной каемки кишечных эпителиоцитов [2, 264], что свидетельствует о его акцепторной роли при прохождении кальция через мембрану кишечных эпителиоцитов. Кальцийсвязывающий белок в кишечнике был обнаружен у многих представителей животного мира, а также в яйцевом белке птиц и в молочной железе коров [2].

Было, однако, отмечено, что требуется известное время, прежде чем проявится максимальная транспортная функция витамина D. В опытах *in vitro* эффективность витамина D не была обнаружена. Возникло предположение, что для проявления действия витамина необходима его предварительная «активация» в живом организме. Последующие исследования привели к открытию новых, более активных форм витамина D, возникающих в животном организме из введенного с кормом витамина. Особый интерес привлекло открытие 25-оксихолекальциферола, выделенного из плазмы крови свиней и синтезированного впоследствии химически. Антирахитическая активность нового метаболита была в 1,5 раза выше, чем

холекальциферола. Он был активен также в опытах с тканевыми культурами. Обнаружено, что 25-оксихолекальциферол синтезируется в печени [103]. Аналогичный метаболит был выделен из плазмы крови свиней (получавших в корме 500 000 МЕ витамина D₂ ежедневно в течение 26 дней), идентифицированный как 25-оксистероидкальциферол [245]. Его антирахитическая активность превосходила активность эргокальциферола.

Хроматографирование плазмы крови цыплят после внутривенного введения им меченого ³H и ¹⁴C витамина D₂ привело к открытию еще более активного метаболита — 1,25-дихолекальциферола. Он оказался в 2—3 раза активнее 25-оксихолекальциферола и в 4—5 раз активнее холекальциферола. Синтез его осуществляется энзиматически в почках путем окисления 25-оксихолекальциферола [121], что позволило предложить следующую схему метаболизма витамина D:



Сказанное выше позволяет объяснить существование так называемого «резистентного рахита», не поддающегося лечению препаратами витамина D. Чаще всего ему сопутствует кишечный инфантилизм, атрезия желчных путей, почечные остеопатии,² гепатиты [34].

Если витамин D физиологически неактивное соединение, а лишь предшественник для синтеза таких соединений в печени и почках, то активное функциональное состояние указанных органов является необходимым для синтеза этих соединений.

² В клиниках применяют также термины «почечный рахит», «почечный инфантилизм», «нефрогенные остеодистрофии», «нефрогенные остеопатии» и др.

Если целостность слизистой оболочки кишки необходима для гидролиза и абсорбции предшественников витамина D, то лечение резистентных форм рахита должно сводиться к устранению дисфункции печени и почек или применению активных форм витамина D непосредственно. При кишечных заболеваниях и возникающих при этом нарушениях абсорбции (при поносах, авитаминозах) может быть рекомендовано парентеральное применение витамина D.

Что касается клеточных механизмов собственно процесса абсорбции витамина D, они изучены еще мало. О них приходится судить чаще по косвенным показателям.

Часть принятого витамина D выделяется с калом. При высоких дозах его, предлагаемых детям (например, при дисбактериозе желудочно-кишечного тракта, при рахите), с калом выделялось до 20% принятого витамина. Изменение бактериальной флоры кишечника является признаком наступающей дисфункции кишечника и его слизистой оболочки, что, по-видимому, отражается на всасывании витамина D [4]. Скармливание антиоксидантов (этоксихина и α-токоферола) улучшает абсорбцию витамина D и его депонирование в печени [11]. Всасывание витамина D во многом зависит от растворителя витамина. Обнаружено, что более высокой антирахитической активностью обладают водные эмульсии эргокальциферола и холекальциферола и эмульсии в молоке [29]. Крупный рогатый скот более эффективно использует витамин в виде водно-жировой эмульсии [30].

По-видимому, всасывание жировых препаратов витамина D, так же как и жировых веществ вообще, связано с необходимостью их эмульгирования желчью и с образованием мицелл, в состав которых включен также витамин D эфир, освобождающийся далее на мембране кишечных эпителиоцитов эстеразами. Возможно, этим объясняется замедленная абсорбция эфирных форм витамина D по сравнению со свободной алкогольной формой [234].

Использование меченых соединений витамина D в опытах *in vitro* на кишечной петле крыс показало, что максимальная абсорбция витамина D₂ и D₃ наблюдается в проксимальной части тонкой кишки и снижается в дистальной, минимальные величины получены в подвздошной кишке. Аналогичная картина наблюдается и в отношении абсорбции меченого холестерина, однако последний быстрее всасывается в начале тонкой кишки и в значительно меньшей степени во второй ее половине.

Итак, всасывание витамина D может быть представлено следующим образом. Кристаллические формы витаминов D₂ и D₃ всасываются главным образом в проксимальной части тонкой кишки при максимальной абсорбции в средней части тонкой кишки и минимальной абсорбции в подвздошной кишке. После всасывания витамин D обнаруживается в составе хиломикрон, главным

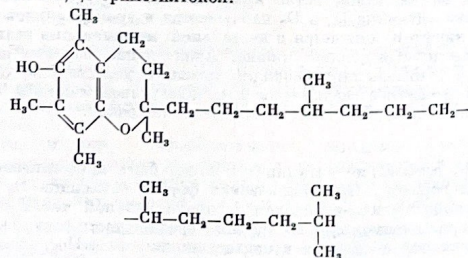
образом в свободном виде и лишь частично в форме эфира. Для абсорбции требуется желчь [37, 62, 68, 73, 99, 103, 121, 262, 264].

При определении содержания витамина D₂ и D₃ в тканях цыплят после скормливания им витамина D₂ или D₃ установлено, что в плазме и печени концентрация витамина D₃ в 3—4 раза выше, чем витамина D₂, в то время как в слизистой оболочке тонкой кишки содержание витамина D₃ лишь на 20% превышает содержание витамина D₂, что должно свидетельствовать о более эффективном транспорте аккумуляированного в слизистой оболочке витамина D₃. Можно предположить также менее эффективный активный транспорт витамина D₂ в клетках слизистой оболочки при сравнении с витамином D₃ [153].

Природные или эфирные формы витамина D₃ (жиры печени рыб и животных) по аналогии с эфиром холестерина, по-видимому, гидролизуются ферментами панкреатического и кишечных секретов на внешней мембране микроворсинок (в содержимом кишечного просвета свободный холестерин не обнаруживается); всасывается свободный витамин D (и холестерин). В кишечном эпителиоците происходит частичный ресинтез эфиров витамина D, обнаруживаемых в лимфе наряду с другими, более полярными метаболитами. Парентерально водные препараты эфиров холекальциферола так же эффективны, как и неэтерифицированный холекальциферол. Масляные препараты витамина D внутримышечно малоэффективны при лечении рахита.

10.3. ВИТАМИН E

К витамину E относятся 8 форм: α-, β-, γ-, δ-токоферолы и α-, β-, γ-, δ-токотриенолы. Токоферолы — бициклические одноатомные фенолы. В структуре каждого токоферола имеется кольцо с группой OH и кольцо дигидропирана с двумя радикалами с общим названием «токол». Кроме того, в ароматическом кольце расположены метильные группы. Самой высокой биологической активностью обладает α-токоферол. Он представляет собой 5,7,8-триметилтокол:



Животные не способны синтезировать витамин E и нуждаются в получении его с пищей. Витамин E поступает в пищеварительный тракт вместе с липидами. В двенадцатиперстной кишке жир с растворенным в нем витамином E подвергается эмульгированию желчью с образованием мицелл. При всасывании токоферолацетата он расщепляется до свободного токоферола. В составе лимфы токоферол попадает в лимфатическую систему и транспортируется вместе с хиломикронами.

В пищеварительном тракте человека и животных витамин E всасывается неполностью. Для наиболее эффективного всасывания витамина E необходимо одновременное присутствие желчи и секрета поджелудочной железы. Всасывание витамина E зависит также от содержания и характера липидов, наличия селена в пище и других факторов [145]. При патологических состояниях (задержка желчевыделения) угнетается образование мицелл и хиломикронов, что препятствует всасыванию витамина [223].

Здоровые люди после получения с пищей меченого α-токоферола в физиологических дозах абсорбировали 51—86% его (в среднем 72%), болеющие стеаторреей абсорбировали 31—83% (в среднем 59%), больные, у которых был рак желудка, абсорбировали 21%, а больные хронической лимфатической лейкемией — 25% введенного витамина [163]. Опыты на крысах показали, что в отсутствие желчи в кишечнике через 12 час. всасывалось 1.5% введенного DL-α-токоферолацетата, а в отсутствие панкреатина — только 0.1%. Панкреатин необходим для гидролиза токоферолацетата [124].

Всасывание токоферола в значительной мере зависит от степени дисперсии эмульсии. Крысам вводили в двенадцатиперстную кишку меченую олеиновую кислоту и меченый α-токоферол и через 24 часа устанавливали количество меченых соединений в лимфе. Найдено, что олеиновая кислота всасывается одинаково интенсивно как в виде эмульсии, так в виде смешанного мицеллярного раствора, в то время как эмульсия α-токоферола всасывается гораздо хуже, чем соответственный мицеллярный раствор. Это свидетельствует о том, что форма и дисперсионность капельки имеют неодинаковое значение при абсорбции полярных и неполярных липидов [178]. Определенное значение для всасывания витамина E имеет состав жиров. Избыток полиненасыщенных жирных кислот препятствует всасыванию токоферола [69]. Опыты, поставленные in vitro на хомьях с применением перфузии по Шнейдеру, подтвердили, что полиненасыщенные жирные кислоты в значительной мере препятствуют прохождению токоферола через стенку кишечника [52]. Особенное значение имеет линолевая кислота [177]. При увеличении доз линолевой кислоты в корме крыс и цыплят необходимо повышать и количество витамина E [259].

При всасывании α-токоферола играет роль длина цепи жирных кислот. Всасывание α-токоферола у крыс, получавших с пищей среднецепочные и длинноцепочные триглицериды, составляло 79

и 62% соответственно, но сами триглицериды всасывались полнее — 99 и 94% [100].

В ряде опытов было обнаружено, что всасывание витамина Е зависит от количества селена в пище [14]. Если в корме цыплят содержалось селена менее 0.02 мг/кг, всасывание жиров и жирорастворимых витаминов тормозилось. Меченый α -токоферол при этом всасывается мало, и его уровень в крови понижен. Прибавление к корму желчных кислот ненадолго улучшало всасывание α -токоферола. Всасывание же жиров оставалось на низком уровне. Недостаток селена влияет на всасывание витамина Е и косвенно, вызывая атрофию поджелудочной железы [254].

Разные формы токоферолов всасываются с неодинаковой интенсивностью. Давно было установлено, что при введении свиньям смеси разных форм токоферолов в сыворотке крови обнаруживается гораздо больше α , чем γ - или δ -токоферолов [78]. При изучении всасывания α - и γ -токоферолов на крысах с капюлем в лимфатических сосудах брыжейки установлено, что α -токоферол всасывался быстрее, чем γ -токоферол. Оба токоферола в неизменном виде появлялись в лимфе. При внутривенном введении α - и γ -токоферолы связывались с хиломикронами и липопротеидами низкой плотности. Оба токоферола одинаково быстро поглощались из плазмы крови эритроцитами и печенью; селезенка предпочитительно поглощала γ -токоферол. Через 24 часа все ткани быстрее теряли γ , чем α -токоферол [214].

Более подробно всасывание главнейших токоферолов изучалось *in vivo* в петле тонкой кишки крыс [215]. За 6 час. из петли всасывалось не более 33% введенных токоферолов. Когда вводились все четыре токоферола вместе, интенсивность их всасывания уменьшалась в следующем порядке: $\alpha > \beta > \gamma > \delta$. При введении же отдельных форм токоферола интенсивность их всасывания была иная, а именно: $\alpha > \gamma > \beta > \delta$. В этих условиях за 6 час. абсорбировалось только 1.8% δ -токоферола. При совместном введении всех форм 30% δ -токоферола всасывалось в течение 4 час. Подобный синергизм существует между D- и L-формами α -токоферола [264]. Крысам вводили меченые D- и L-формы α -токоферола отдельно и в смеси, и в гомогенатах тканей определяли количество меченых соединений. Всасывание значительно повышалось при введении смеси D- и L-форм по сравнению с изолированным введением. В последнем случае быстрее всасывается L-форма токоферола. D-форма α -токоферола лучше всасывается в средней части тонкой кишки, L-форма — в двенадцатиперстной кишке. Всасывание как D-, так и L-форм α -токоферола в двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишках больных мышечной дистрофией цыплят понижено [104].

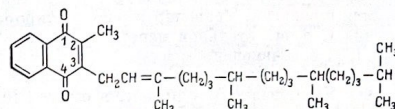
Биохимические механизмы переноса витамина Е через мембрану клетки еще не изучены.

10.4. ВИТАМИН К

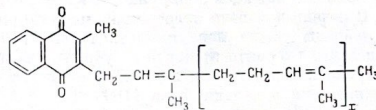
Известное антигеморрагическое вещество, содержащееся в зеленых растениях, было названо витамином К (от слова Coagulation [98]). Витамин К играет важную роль в процессе свертывания крови в составе коферментов, катализирующих образование тромбокиназы и протромбина [54].

Витамины группы К являются производными 2-метил-1,4-нафтохинона и отличаются по структуре числом изопреновых боковых цепей.

Боковую цепь витамина K_1 составляет остаток фитола:



Боковую цепь витамина K_2 состоит из 7 и более изопреновых остатков:



В природе были обнаружены оба аналога витамина, обозначенные как K_1 (филлохинон — $C_{31}H_{46}O_2$) и K_2 (менахинон — $C_{41}H_{56}O_2$). Синтетический витамин получил обозначение K_3 (мегнин, менадион — $C_{11}H_8O_2$), а его натрийбисульфитная соль, синтезированная в СССР, получила название викасол.

Витамин K_1 встречается больше в растительных продуктах. В шпинате и капусте в 1 кг содержится 30—40 мг, в люцерновой муке — 106 мг. Витамин K_2 — продукт микробиологического синтеза и содержит значительное количество изопреновых остатков в боковой цепи. Мука из гниющей рыбы в 1 кг содержит 72 мг витамина K_2 .

Природные витамины K_1 и K_2 растворимы в жирах и жирорастворителях и нерастворимы в воде. Синтетический витамин K_3 (викасол) растворим в воде.

Всасывание витаминов группы K_1 и K_2 в тонкой кишке цыплят является активным процессом, протекающим против градиента концентрации. Быстрее абсорбируются витамины K_1 и K_2 и медленнее K_3 . Абсорбция витаминов K_2 и K_3 не стимулировалась добавлением желчи (0.1%). Витамины K_1 и K_3 , введенные ректально,

снижали протромбиновое время и время свертывания крови, что свидетельствует о всасывании витамина К в прямой кишке [63].

В опытах *in vitro* на крысах с вывернутыми кишечными «мешочками» было показано, что синтетический филохинон-¹⁴C (K₁) из мипелляльного раствора, содержащего желчные кислоты и олеиновую кислоту, всасывается лучше в проксимальной части тонкой кишки и меньше в дистальной [149]. Всасывание ингибируется 2,4-динитрофенолом и бескислородной средой (в атмосфере азота) в проксимальной части тонкой кишки и не ингибируется в дистальной ее части. Это позволило заключить, что главным местом всасывания витамина К₁ являются начальные участки тонкой кишки и оно нуждается в энергии. Транспортируются жирорастворимые формы витамина К в значительной мере посредством лимфатической системы [68] в неизменном виде.

У крыс в опытах *in vivo* установлено, что хуже абсорбируется витамин К₁, чем К₃ (менадион); у цыплят в опытах *in vitro* найдено лучшее всасывание витаминов К₁ и К₂, чем витамина К₃ [136]. Отсутствие данных о локализации переносчиков витаминов К и трансформирующих ферментов не позволяет объяснить наблюдаемые отличия.

В печени свиней и лошадей обнаружен менахинон-7,8,9,10,12 и филохинон. В печени человека преобладает менахинон-7 и филохинон, но найдены также менахинон-8,9,10,11 [110].

Было показано, что синтезируемый в рубце менахинон с 10, 11, 12 и 13 изопреновыми остатками в боковой цепи в неизменном виде обнаруживается в печени быка [189]. Это свидетельствует о том, что синтезированный микрофлорой пищеварительного тракта витамин К₂ всасывается в организме и откладывается в печени. До 50% орально принятого витамина К₁ откладывается в печени в неизменном виде.

При внутривенном введении радиоактивных изотопов уже через час наиболее высокая радиоактивность витамина К₁ обнаружена в печени, витамина К₂ — в содержимом кишечника, а витамина К₃ в мочевом пузыре. Экскреция витаминов с желчью в течение 17 час. составила для витамина К₁ — 8,5, для К₂ — 74,1, для К₃ — 36,6% от введенных. Таким образом, больше удерживается в организме природный пищевой витамин К₁ — филохинон, в то время как синтетический витамин К₃ — менадион и витамин К₂ — менахинон (микробного синтеза) в значительных количествах экскретируются с желчью и мочой [252], при оральном приеме филохинона и менадиона в течение 24 час. крысы выделяют в кал соответственно 60 и 11%. В мочу при этом выделилось 38% менадиона и совсем мало филохинона [136].

В порченном и заплесневевшем клеверном сене и силосе обнаружен антагонист витамина К — 3,3-метилен-бис-(4-гидроксикумарин), или дикумарин. Скармливание такого корма коровам или применение дикумарина орально или внутривенно вызывало гемор-

рагическую септицемию и удлинение времени свертывания крови [133]. Противодействует этому скармливание витамина К или внутривенное его введение. Из этого следует, что дикумарин инактивирует витамин К как в процессе абсорбции, так и после всасывания. В птицеводстве эффективное действие оказало скармливание витамина К₁ при заболевании кокцидиозом. Менее эффективным был витамин К₃ [140].

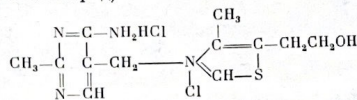
Несмотря на меньшую усвояемость менадиона, его высокую биологическую активность следует объяснить отчасти его превращением в животном организме в витамин К₁ или близкое ему соединение — витамин К₂₍₂₀₎ [26]. Более удобна для практического применения водорастворимая форма менадиона — викасол (натриевая соль бисульфитного производного менадиона).

В медицинской практике снижение скорости свертывания крови наблюдается при заболеваниях кишечника (энтеритах) и печени (болезнь Боткина), когда наблюдается задержка в выделении желчи, а также при злоупотреблении антибиотиками и некоторыми слабительными средствами [6]. Применение витамина К в таких случаях оказывает лечебный эффект.

10.5. ВИТАМИН В₁

Витамин В₁ — тиамин (C₁₂H₁₆N₄OS) — относится к водорастворимым витаминам. Выделен тиамин в комплексе биологически активных веществ из рисовых отрубей польским ученым Функом в 1912 г.

Молекулярная структура тиамина установлена Вильямсом [28]. Молекула тиамина состоит из пиримидинового и тиазольного остатков, соединенных метиленовым мостиком. Пиримидиновая часть молекулы (пиримидин) представляет собой 2-метил-4-амин-5-оксиметилпиримидин, а тиазольная часть (тиазол) является 4-метил-5-(2-оксипропил)-тиазолом. Вследствие наличия в молекуле серы и аминогруппы витамин был назван тиамин. Приводится его хлорная соль (тиаминхлорид):



Тиамин образуется в результате конденсации молекул тиазола и пиримидина. Биогенез тиамина происходит только в растениях и некоторых микроорганизмах. Наиболее богаты тиамином пищевые вещества являются дрожжи (церакарские и кормовые), орехи, пшеничные отруби. Из пищевых продуктов животного происхождения — сердце, почки, печень, головной мозг.

Тиамин в пище присутствует как в свободном виде (главным образом в растительных продуктах), так и в фосфорилированном

(преимущественно в продуктах животного происхождения), а также может быть связан с белком (апоферменты). Активной формой тиамин в биологических системах является его пирофосфорный эфир — тиаминпирофосфат (дифосфотиамин). Перед всасыванием комплексные соединения тиамин гидролизуются и дефосфорилируются, в результате чего в организм из кишечника тиамин поступает в свободном виде [128].

Количество усвояемого в организме человека тиамин зависит от состава клеточной оболочки источника пищевого тиамин. Показано, что трудно всасывается в кишечнике тиамин из свежих дрожжей. Только после кипячения дрожжей тиамин лучше усваивается [195].

Источником тиамин в какой-то степени может служить витамин, синтезированный микрофлорой желудочно-кишечного тракта. Это имеет место главным образом у жвачных и моногастричных животных — копрофагов [127, 183, 194, 273].

О наличии синтеза тиамин микрофлорой в пищеварительном тракте людей свидетельствуют данные, полученные при использовании диеты, не содержащей тиамин. На такой диете суточное количество тиамин, выделенного с экскрементами, составляет 50—700 мкг [269]. Однако о степени использования в организме людей тиамин, синтезированного кишечной микрофлорой, убедительных экспериментальных данных пока не имеется [190]. Микрофлора кишечника крыс синтезирует за день 6—10 мкг тиамин [272]. При введении зондом в пищеварительный тракт крыс ^{35}S было найдено значительное количество метки в составе тиамин в содержимом слепой и толстой кишок. Однако то количество тиамин, которое синтезируется кишечной микрофлорой, не удовлетворяет потребности крыс [273]. При анализе содержания слепых кишок было установлено, что 20% синтезированного тиамин находится в свободной и 80% — в связанной форме. Половина связанного тиамин легко экстрагируется, а остальное количество прочно связано в составе карбоксилазы [272]. Определение степени использования тиамин микробного синтеза показало, что экстрагируемая фракция связанного тиамин становится доступной организму только после копрофагии, а прочно связанный тиамин организм не способен использовать даже при повторном пассаже по кишечному тракту после копрофагии [88, 165].

При определении места всасывания тиамин в пищеварительном тракте было обнаружено, что у людей при оральном введении тиамин всасывается главным образом в начальных отделах тонкой кишки [210]. При введении тиамин в дистальный отдел толстой кишки человека концентрация витамина в крови не увеличилась [239]. При введении тиамингидрохлорида собакам с фистулой по Тири показано, что всасывание его осуществляется в одинаковой мере как в тощей, так и в подвздошной кишках [97]. После орального введения собакам ^{35}S -тиамингидрохлорида через 30 мин.

$1/4$ от введенного количества тиамин была обнаружена в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки [210]. Куваевой [19] в острых опытах на собаках было показано наличие всасывания тиамин из чистого раствора этого витамина (250 мг%) в слизистой оболочке толстой кишки [18].

В опытах на крысах также было показано, что наибольшее количество ^{35}S -тиамин всасывается в первой трети проксимального отдела тонкой кишки. Всасывание ^{35}S -тиамин в средней и дистальной частях тонкой кишки и проксимальной части толстой кишки было незначительным. Всасывания ^{35}S -тиамин в желудке также практически не наблюдалось [210]. Результаты других исследований на крысах показывают, что при пероральном введении ^{35}S -тиамин он всасывается главным образом в двенадцатиперстной кишке и в верхних отделах тощей кишки. Всасывание тиамин в слепой и толстой кишках составляет $1/5$ от количества тиамин, всасывающегося в верхних отделах кишечника [126]. При введении ^{35}S -тиамин в слепую кишку крыс количество витамина B_1 в печени было примерно в 10 раз ниже, чем при пероральном введении [127]. Противоположные результаты были получены при введении тиамин в слепую кишку крыс, содержащихся в условиях апрофагии, при этом было обнаружено, что почти весь тиамин выделяется с фекалиями [170].

При изучении места всасывания тиамин в пищеварительном тракте, в опытах на цыплятах было установлено, что всасывание тиамин, меченного по ^{14}C или ^{35}S , наиболее интенсивно происходит в начальных отделах кишечника, особенно в двенадцатиперстной кишке [220, 221]. Через час после введения ^{14}C -тиамин в изолированных отделах тонкой кишки цыплят (в концентрации 250 мкг/мл) было обнаружено, что 84% от введенного количества абсорбировалось в двенадцатиперстной кишке. В первой и второй трети тонкой кишки и в слепой кишке всасывалось от 7 до 19%. Абсорбция ^{14}C -тиамин в зобе и в нижней трети тонкой кишки была незначительной. При введении тиамин в петлю двенадцатиперстной кишки в дозе от 250 мкг до 10 мг была обнаружена линейная зависимость между введенной дозой и интенсивностью всасывания. При более высоких дозах всасывание происходило, но не пропорционально введенному количеству витамина. После наступления фазы насыщения всасывание резко снизилось.

Таким образом, на цыплятах также установлено, что подобно человеку и крысам, при введении больших доз орально тиамин всасывается главным образом в двенадцатиперстной кишке. Кроме того, у цыплят наблюдается также усиленное выделение тиамин в просвет среднего и нижнего отдела тонкой кишки, что объясняется секретцией витамина из слизистой оболочки тонкой кишки [220]. Интенсивность всасывания тиамин зависит от ряда других экзогенных и эндогенных факторов. Было обнаружено, что при оральных и парентеральных введениях этанола (1.5 г/кг) абсорбция ^{35}S -тиамин снижалась на 50% [253].

В опытах *in vivo* и *in vitro* было найдено повышенное всасывание тиамин в кишечнике крыс при одновременном введении тиамин и экстракта чеснока. При взаимодействии тиамин с экстрактом чеснока образуется стабильное соединение — аллилдисульфид, который всасывается почти в неограниченном количестве [204].

Кроме того, в опытах с ^{35}S -тиамином показано прямое соотношение между активностью АТФазы, щелочной фосфатазы и всасыванием тиамин в тонкой кишке цыплят [20, 21]. В других опытах этого же автора [173] показано, что абсорбция ^{35}S -тиамин из изолированных петель тонкой кишки цыплят стимулируется в присутствии в среде 1 мг/мл глюкозы. Положительный эффект на транспорт тиамин моносахаридов (глюкозы и фруктозы) показан и в других работах [107]. Подобная стимуляция всасывания ^{35}S -тиамин наблюдалась при внутримышечной инъекции 2.5 ед./кг инсулина в день. При повышении концентрации глюкозы в петле кишки до 5 мг/мл абсорбция ^{35}S -тиамин была значительно ингибирована [173].

В опытах с безмикробными и конвенциональными цыплятами было установлено, что у безмикробных цыплят орально введенный тиамин всасывается на 47% больше по сравнению с конвенциональными [116]. При скормлении антибиотиков абсорбция тиамин не улучшается, однако в пищеварительном тракте понижается его разрушение микрофлорой [183, 184].

Величина абсорбции тиамин зависит от величины применяемых доз и способа его введения. Проведенные исследования на людях показали, что максимальная пероральная доза тиамин, после которой не наблюдается дополнительного (по сравнению с нормой) выделения тиамин мочой, составляет 5 мг в день. При низких дозах тиамин экскреция с мочой одинакова как при пероральном, так и при внутримышечном или внутривенном введении [122].

При однократном пероральном введении 4-дневной нормы тиамин (10 мг) значительно снижался темп роста крыс, чего не наблюдалось при подкожном введении эквивалентного количества тиамин. Это указывает на пониженную ассимиляцию повышенных количеств тиамин, введенного орально [126, 190, 197, 203].

Поскольку малые дозы тиамин всасываются относительно лучше по сравнению с большими, было высказано предположение о существовании активного транспорта тиамин [221]. Таким образом, абсорбция тиамин происходит путем диффузии и активного транспорта [257]. Предполагается, что диффузия является главным механизмом при абсорбции больших доз тиамин, тогда как малые дозы тиамин абсорбируются путем активного транспорта [168, 228].

С помощью методики вывернутых «мешочков» тонкой кишки крыс по Уайзману и в опытах *in situ* доказан перенос тиамин против градиента концентрации [227, 258]. Концентрация тиамин

в серозной жидкости препарата против начальной удвоилась. Вывод об активном транспорте тиамин был подтвержден также применением общепринятых ингибиторов метаболизма и транспорта (строфантин, 2,4-динитрофенол, фтористый натрий и др.) и аналогов тиамин (пиритиамин, 2-этилтиамин и др.). Ингибиторы метаболизма и транспорта значительно снизили как активный транспорт, так и содержание фосфорилированного тиамин в серозной жидкости. Структурные аналоги тиамин (пиритиамин) также тормозили активный транспорт, но в большей мере ингибировали фосфорилирование тиамин. В результате было высказано предположение о том, что фосфорилирование сопряжено с процессами активного транспорта тиамин через мембрану кишечных эпителиоцитов. В опытах на крысах *in vivo* было показано, что во время абсорбции тиамин в стенке тонкой кишки значительно увеличивается количество фосфорилированного тиамин (тиаминдифосфата) [229].

В опытах на крысах было показано, что при перевязывании протоков поджелудочной железы абсорбция ^{35}S -тиамин снижается [128]. По мнению указанных авторов, причиной этого является отсутствие фермента тиаминпирофосфокиназы, которая синтезируется поджелудочной железой и вместе с секретом попадает в просвет кишечника. В опытах *in vitro* была показана локализация тиаминпирофосфокиназы в слизистой оболочке тонкой кишки [257]. В процессе инкубации вывернутых «мешочков» тонкой кишки крыс с применением меченого по ^{14}C тиамин было установлено, что тиамин переносится против градиента концентрации от слизистой оболочки к серозной и пассивно переносится от серозной в направлении слизистой оболочки. Было установлено, что фосфорилирование тиамин происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки при переносе тиамин от слизистой к серозной оболочке. Следовательно, тиаминпирофосфокиназа локализована главным образом в кишечных эпителиоцитах слизистой оболочки.

Существование связи между активным переносом и фосфорилированием тиамин было показано при исследовании кинетики этих процессов [257]. Было обнаружено, что величина константы Михаэлиса (K_m) и константы ингибирования (K_i) в процессах фосфорилирования и транспорта тиамин коррелируют.

Роль фосфорилирования в механизме переноса тиамин через мембрану исследовалась в опытах с мутантами *Escherichia coli* [162]. Использовались дефектные мутанты, не способные синтезировать либо тиаминмонофосфат (ТМФ), либо тиаминпирофосфат (ТПФ). Полученные результаты позволили предположить, что у бактерий тиамин сам по себе способен к активному транспорту через клеточную мембрану и что тиаминмонофосфокиназа может выполнять функции удерживания тиамин в цитоплазме в виде ТМФ. При дефиците этого фермента тиамин поступает в обратном направлении.

Чтобы определить роль тиаминокиназ в транспорте тиамина исследовалось влияние ингибиторов транспорта тиамина, пиритиамина и хлорэтилтиамина на активность тиаминокиназы, выделенной из печени крыс [168]. Оказалось, что пиритиамин является сильным ингибитором активности тиаминокиназы. Однако хлорэтилтиамин был малоэффективен. В результате этих исследований был сделан вывод о том, что тиаминокиназа и в связи с этим и фосфорилирование мало связаны с активным транспортом тиамина. В опытах на крысах исследовалось распределение активности пиррофосфокиназы и транспортной активности тиамина вдоль кишечного тракта [167]. Таким образом, что максимум локализации активности пиррофосфокиназы не совпадает с максимумом транспортной активности тиамина.

Изучение субклеточной локализации пиррофосфокиназы показало, что фермент не связан с фракцией, содержащей мембраны микроворсинок клеток слизистой оболочки тонкой кишки. В связи с этим было высказано предположение о малой вероятности того, что пиррофосфокиназа имеет прямое отношение к активному транспорту тиамина [167]. Таким образом, о роли фосфорилирования в активном транспорте тиамина имеются разногласия.

Так как интенсивность активного транспорта веществ в тонкой кишке зависит от присутствия ионов Na^+ , можно было ожидать, что транспорт тиамина будет усиливаться при введении в среду натрия. Это было подтверждено в опытах *in vitro* на крысах и лягушках [113]. В этих опытах инкубировали вывернутые «мешочки» отрезков тонкой кишки крыс в физиологическом растворе с добавлением меченого по ^{14}C тиамина. При частичной или полной замене натрия на маннит значительно снизилось накопление как свободного, так и фосфорилированного тиамина в стенке «мешочка». Однако сам процесс фосфорилирования тиамина не тормозился. Из этого следует, что активный транспорт тиамина через слизистую оболочку тонкой кишки, подобно переносу глюкозы и аминокислот, требует участия ионов Na^+ , а фосфорилирование тиамина в кишечном эпителиоците происходит без их участия. При замене натрия в инкубационной среде ионами K^+ активный транспорт тиамина останавливается и количество всасывавшегося свободного тиамина снижается.

Был сделан вывод о том, что при транспорте тиамина через мембрану кишечного эпителиоцита формируется комплекс переносчик-субстрат-активатор. Ионы K^+ конкурируют с Na^+ за одно и то же место активатора в переносчике, не оказывая влияния на субстрат.

Результаты, которые получены в опытах на крысах, показывают, что содержание тиамина в клетках слизистой оболочки всегда ниже, чем концентрация его в серозном растворе. Следовательно, выход тиамина из клетки осуществляется против градиента концентрации. При недостатке K^+ выход тиамина из клетки,

так же как и проникновение его в нее, тормозится, тогда как процесс фосфорилирования тиамина в клетке не изменяется. В опытах на лягушках при введении внутрь вывернутого «мешочка» двенадцатиперстной кишки раствора строфантина последний ингибировал активность $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -зависимой АТФазы, которая локализована на наружной стороне базальной мембраны, вследствие чего вывод тиамина из кишечных эпителиоцитов также был блокирован. Отсюда было сделано заключение о зависимости выхода тиамина из клетки от присутствия $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -зависимой АТФазы в базальной мембране кишечных эпителиоцитов [113]. Однако возможно, что свободный тиамин в эпителиоците может появляться при фосфорилировании тиамина в самом кишечном эпителиоците. Так как в печени найдена $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -зависимая тиаминпиррофосфатаза, возможно, что недостаток натрия скорее ингибирует процессы дефосфорилирования, чем транспорт тиамина через апикальную мембрану кишечного эпителиоцита [228].

Активный транспорт тиамина, не связанного с присутствием Na^+ , показан в работах японских исследователей [168]. В экспериментах с аккумулирующими препаратами тонкой кишки цыплят было найдено, что при применении ингибиторов метаболизма — 2,4-динитрофенола и азида натрия — аккумуляция тиамина тормозится на 78.7 и 70.4% соответственно, а при использовании ингибитора активного транспорта — строфантина G (оубаина) — аккумуляция тиамина не изменялась. В результате был сделан вывод о том, что транспорт тиамина зависит от энергетического уровня клетки, но не зависит от присутствия Na^+ .

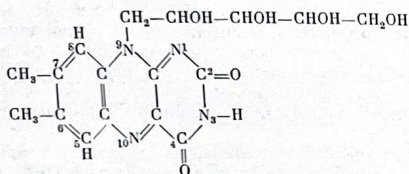
Изучение структуральной базы транспортной системы тиамина показало, что ответственными за транспорт являются аминокислотная группа пиридинной части и четырехвалентный азот тиазольной части молекулы тиамина. На основе этих данных разработана модель транспортной системы тиамина [169].

Итак, тиамин может находиться как в свободном, так и в фосфорилированном виде или быть связанным с белками. В пищеварительном тракте связанные формы тиамина гидролизуются и дефосфорилируются и только свободный тиамин абсорбируется. Тиамин в физиологических дозах абсорбируется путем активного транспорта. Проникновение тиамина в кишечный эпителиоцит, как правило, происходит при помощи переносчиков. Переносчики, однако, до сих пор не идентифицированы. О связи между активным транспортом тиамина и фосфорилированием и дефосфорилированием в клетке имеются разногласия. Часть фосфорилированного тиамина используется в метаболических процессах, а часть дефосфорилируется и путем активного транспорта переносится через базальную мембрану в кровь. При больших

пероральных дозах тиамин он всасывается путем диффузии. В то же время значительное количество тиамин циркулирует из эпителиальных клеток тонкой кишки в полость и обратно.

10.6. ВИТАМИН В₂

Витамин В₂ — рибофлавин (6,7-диметил-9- α -1-рибтил-изоаллоксазин — С₁₇Н₂₀О₆Н₄) — относится к флавионам. Был выделен Куном и сотр. [24] из молочной сыворотки. Вскоре после этого было выяснено строение рибофлавина:



В основе его лежит система изоаллоксазина [3]. Рибофлавин синтезируется растениями и микроорганизмами, особенно *Eremothecium ashbyii* и *Ashbya gossypii* [120], или является промежуточным продуктом их обмена [64]. Синтез рибофлавина также происходит в пищеварительном тракте животных и птиц, в особенности в слепой кишке [89]. Синтез рибофлавина микрофлорой преджелудков жвачных полностью обеспечивает животных рибофлавином.

Рибофлавин в фосфорилированной форме функционирует в организме как составная часть двух коферментов: рибофлавин-5-фосфат-флавиномоноклеотида (ФМН) и флавинадениндинуклеотида (ФАД). В пищевых продуктах рибофлавин находится главным образом в связанном с белками состоянии. Перед всасыванием этот комплекс в пищеварительном тракте гидролизует и дефосфорилируется [174]. Освободившийся рибофлавин всасывается в свободном виде.

Всасывание рибофлавина у людей происходит наиболее интенсивно в проксимальной части тонкой кишки [156, 175]. В опытах на крысах было установлено, что рибофлавин всасывается во всех отделах тонкой кишки и отчасти в слепой кишке. Однако главным местом абсорбции является подвздошная кишка [190].

Имеются также данные [18], что всасывание рибофлавина в толстой кишке крыс составляет 31% от показателя всасывания в верхней части тощей кишки, а в средней части толстой кишки собак — 62% от количества рибофлавина, всасывающегося в тонких кишках.

У людей всасывание свободного рибофлавина, определяемое по выделению витамина с мочой, не изменяется в зависимости

от величины введенной дозы до 20 мг [150, 203]. После введения дозы в 6 мг (в 3 приема в течение нескольких часов) всасывание рибофлавина было таким же, как при однократном приеме 6 мг [203]. Кроме того, было обнаружено, что всасывание больших доз рибофлавина происходит после завтрака интенсивнее, чем натощак [174].

При пероральном введении крысам однократных доз рибофлавина в количестве 1—4 мг экскреция рибофлавина с мочой была пропорциональна введенной дозе и составляла 5% от нее. Общее количество выделенного рибофлавина с мочой и фекалиями составило только 17% от введенной дозы. Следовательно, количество выделяемого рибофлавина у крыс очень низкое по сравнению с людьми [83]. Однако при пероральном введении 4-кратной суточной нормы (в один прием) рибофлавина, меченного по ¹⁴C, у крыс угнетался рост и много рибофлавина выделялось с фекалиями, что указывает на неспособность к всасыванию больших количеств рибофлавина [197]. В пищеварительном тракте собак из-за отсутствия фермента рибофлавиназы свободный рибофлавин не разрушается, тогда как ФМН частично фосфорилируется в желчи и панкреатическом соке [208]. В других работах показано расщепление ФМН в кишечном соке крыс [84]. Дефосфорилирование ФАД в слюне, желчи и панкреатическом соке не происходит, однако около 20% его дефосфорилируется до ФМН в желудочном соке. Наиболее интенсивный процесс дефосфорилирования ФМН и ФАД происходит в слизистой оболочке тонкой кишки [208]. При внутривенном введении ФМН дефосфорилируется также в печени [85].

При пероральном введении людям рибофлавин-5-фосфата (ФМН) в дозах до 20 мг всасывание рибофлавина было пропорционально введенной дозе. При повышении пероральной дозы ФМН от 50 до 500 мг всасывание рибофлавина не только не увеличилось, но даже снизилось, если судить по количеству рибофлавина, выделенного с мочой [156, 171, 244]. Было сделано предположение, что рибофлавин всасывается с помощью системы активного транспорта, функционирование которой прекращается при ее насыщении большими дозами рибофлавина [171, 174, 175, 244].

При всасывании свободного рибофлавина происходит и его фосфорилирование. Синтез ФМН из рибофлавина при участии фосфомонокиназы слизистой оболочки тонкой кишки крыс был показан в опытах *in vitro* [276].

Так как после перорального введения больших доз рибофлавина или ФМН с мочой и фекалиями выделяется небольшое количество свободного рибофлавина (17%) и концентрация рибофлавина в тканях изменяется мало [65], было высказано предположение о значительном катаболизме рибофлавина в организме крыс. После выключения печеночного кровообращения с помощью лигатуры содержание ФМН в крови было выше, чем у крыс с нормальной печеночной циркуляцией [86]. Роль печени в снижении концентрации рибофлавина в крови может быть объяснена или ката-

близком витамину, или его выделением через желчные пути. Выделение рибофлавина с желчью установлено у собак [86]. В опытах на крысах было показано, что большие дозы рибофлавина вызвали усиленное выделение его желчью [58, 207]. После подкожного введения рибофлавина, меченного ^{14}C , в стенке тонкой кишки крыс аккумулировался ФМН, что подтверждает существование энтерогепатической циркуляции рибофлавина и биосинтеза ФМН в тонкой кишке [275].

У детей с обтурацией желчных протоков (камни, глистная инвазия и др.) всасывание рибофлавина было значительно ниже по сравнению с нормальным всасыванием у детей такого же возраста [158]. Предполагается, что рибофлавин, выделенный с желчью, реабсорбируется в кишечнике. При внутривенном введении ФМН экскреция рибофлавина происходит не только в двенадцатиперстной кишке, где открывается желчный проток, но и по всей длине тонкой кишки [85]. Кроме того, можно заключить, что печень является главным органом, в котором происходит разрушение ФМН [86].

Проходя мембрану кишечных эпителиоцитов, свободный рибофлавин связывается со специфическими белками и в таком виде транспортируется в организме. Рибофлавинсвязывающий белок впервые был выделен из альбумина куриных яиц [112]. После этого было обнаружено, что индукцию синтеза рибофлавинсвязывающего белка у цыплят после 8-недельного возраста и у взрослых петухов можно вызвать введением гормона эстрадиола [87].

Для всасывания рибофлавина весьма важно присутствие соляной кислоты желудочного сока [33]. Количество рибофлавина в организме здоровых людей с нормальной кислотностью желудочного сока выше по сравнению с таковым у людей с повышенной или пониженной кислотностью [35]. Возраст людей не влияет на интенсивность всасывания рибофлавина [157].

Всасывание рибофлавина зависит от уровня белка в пищевых продуктах. При недостатке белка рибофлавин усваивается неудовлетворительно. Показано, что при белковой недостаточности наряду с резким уменьшением количества связанного рибофлавина в печени нарушен также синтез динуклеотида [33, 195].

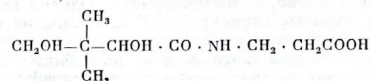
На всасывание рибофлавина в кишечном тракте влияет также микрофлора. В опытах *in vitro* с вывернутыми «мешочками» тонкой кишки безмикробных и обычных цыплят было показано, что рибофлавин у цыплят-гнотобионтов всасывается лучше, чем у обычных цыплят [116].

Таким образом, ассимиляцию рибофлавина в организме можно представить следующим образом. В пище рибофлавин находится главным образом в фосфорилированном и связанном с белками виде. Этот комплекс до всасывания в пищеварительном тракте расщепляется и дефосфорилируется. Свободный рибофлавин вса-

сывается путем активного транспорта. Пероральное применение синтетического рибофлавина в повышенных дозах не ведет к усиленному его выделению с мочой, т. е. всасывание рибофлавина за счет диффузии невелико. Тем не менее его выделение с желчью повышается и содержание свободного рибофлавина в просвете кишечника резко возрастает. Парентеральное введение кристаллического рибофлавина в повышенных дозах усиливает биосинтез ФМН в печени, почках и особенно в стенках тонкой кишки. Синтез ФДН осуществляется главным образом в тканях печени и почек. Итак, рибофлавин после абсорбции совершает в организме энтерогепатический круговорот, благодаря чему экономно используется в метаболических процессах организма.

10.7. ПАНТОТЕНОВАЯ КИСЛОТА

Пантотеновая кислота ($\text{C}_9\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}$) — производное β -аланина и масляной кислоты (α, γ -диокси- β, β -диметил- β -аланилд-масляной кислоты):



— является составным компонентом кофермента А, участвующего в многочисленных каталитических реакциях переноса кислотных остатков (ацилов). В природных продуктах и кормах встречается как свободная форма витамина, так и связанная в виде кофермента.

Наиболее богатыми источниками пантотеновой кислоты являются дрожжи (100 мг/кг), печень (90 мг/кг), пшеничные отруби (25 мг/кг). В зерновых злаках содержится пантотеновой кислоты 5—10 мг/кг, а в бобовых 15—20 мг/кг.

При микробиологическом определении содержания пантотеновой кислоты кофермент и соответствующий фермент должны быть расщеплены пептидазами и фосфатазами для освобождения свободной пантотеновой кислоты. В пищеварительном тракте, очевидно, расщепляются как коферментные, так и другие связанные формы пантотеновой кислоты. При изучении транспорта свободной пантотеновой кислоты через стенку изолированного отрезка тонкой кишки крыс и хомьяков активного транспорта обнаружить не удалось [190, 250].

Пантотеновая кислота хорошо всасывается в тонкой кишке. При введении ее в слепую кишку крысам, находящимся на дефицитной диете, отмечено всасывание витамина также и из слепой кишки [160]. Всасывание пантотеновой кислоты наблюдали в толстой кишке человека [239]. Избыточное количество витамина выделяется с мочой. Определение этого избытка позволяет судить о витаминной обеспеченности организма. Средний показатель выделенной пантотеновой кислоты в суточной моче взрослых здоро-

вых людей составляет 3.42 мг [33]. Известное количество пантотеновой кислоты синтезируется микрофлорой пищеварительного тракта.

Синтез витамина у жвачных животных в 6 раз превышает поступление его с кормом [216].

У 17-дневных конвенциональных цыплят, содержащихся на диете с дефицитом пантотеновой кислоты, обнаружено в слепой кишке 17.6 мкг пантотеновой кислоты, в то время как у безмикробных цыплят отмечались лишь ее следы [89]. Однако синтезированная пантотеновая кислота, очевидно, не усваивалась, так как ее содержание в печени конвенциональных цыплят не было выше, чем у цыплят-гнотобионтов.

На рационе с дефицитом пантотеновой кислоты скормливание антибиотиков стимулировало привесы крыс и цыплят больше, чем на рационе, содержащем пантотеновую кислоту [185]. Скармливание антибиотиков курам увеличивает содержание пантотеновой кислоты в яйцах [249]. Добавление антибиотиков или аскорбиновой кислоты к дефицитной по пантотеновой кислоте диете крыс замедляет наступление авитаминоза [61]. Однако скормливание аскорбиновой кислоты безмикробным животным не оказало эффекта. Эти опыты показывают определенную роль микрофлоры в синтезе пантотеновой кислоты и ее абсорбции.

Другие факторы питания, оказывающие воздействие на микрофлору, будут изменять потребность в пантотеновой кислоте. При рационе с дефицитом витамина B_{12} , потребность в пантотеновой кислоте была выше, а после добавления витамина B_{12} эта потребность снижалась. Яйца при этом содержали повышенное количество пантотеновой кислоты [60].

При дефиците витамина B_6 у крыс запасы пантотеновой кислоты в печени понижаются на 76% [251]. При преобладании патологической флоры в кишечнике (при авитаминозах и белковой недостаточности у человека) пантотеновая недостаточность обостряется, нарушается всасывание и снижается выделение пантотеновой кислоты с мочой. Скармливание синтетической пантотеновой кислоты в таких случаях оказывало положительное влияние [33].

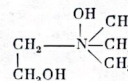
Из производных пантотеновой кислоты биологическое значение имеет пантетин — продукт конденсации пантотеновой кислоты с β -меркаптоэтиламином (цистеамином). В виде пантетина пантотеновая кислота входит в состав кофермента А. Продукт окисления пантетина — пантетин (дисульфит) [23]. Оба соединения биологически активны и встречаются в тканях наряду с коферментом А.

Изучение всасывания пантотеновой кислоты и пантетина у крыс при оральном их применении [213] показало, что общая концентрация пантотеновой кислоты в крови (при микробиологическом определении) оказалось значительно выше от скармливания пантетина. Экскреция с мочой общей суммы пантотеновой

кислоты также была на 60% выше от применения пантетина. Таким образом, усвоение пантетина оказалось выше, чем пантотеновой кислоты. Было сделано заключение, что пантетин гидролизует в пантотеновую кислоту кишечными ферментами слизистой оболочки тонкой кишки. Кроме того, доказано, что в опытах *in vitro* и *in vivo* пантетин (и пантетин) при содействии соответствующих киназ фосфорилируется с образованием пантетина-4'-фосфата, предшественника в биосинтезе кофермента А. Возникает практический интерес к синтетическим производным пантотеновой кислоты как эффективным предшественникам кофермента А.

10.8. ХОЛИН

Холин — $\text{НОСН}_2\text{СН}_2\text{N}^+(\text{СН}_3)_3\text{ОН}^-$, или триметиламинанол:



— представляет метилированное производное β -аминоэтилового спирта. Выделен из желчи уже давно, но отнесен к витаминам только в 1939 г. Холин — кристаллическая масса, хорошо растворимая в воде. Его хлористоводородная соль — холинхлорид — гигроскопичное кристаллическое вещество, употребляется в качестве источника холина при кормлении животных.

Холин является необходимым составным компонентом пищи животных. Высокая потребность в холине появляется у животных в период роста. Некоторые животные сами способны синтезировать холин. Дефицит холина у животных характеризуется замедлением их роста, жировой инфильтрацией гепатоцитов с исходом в цирроз печени, некрозом коры почек, гипертонией.

В натуральных продуктах холин находится как в свободной, так и в связанной форме — в составе фосфолипидов. Если в продуктах животного происхождения почти весь холин находится в фосфолипидах и в свободном виде его почти нет, то в растенных доли свободного холина может быть больше, чем связанного. Фосфатиды в пищеварительном тракте подвергаются гидролизу с освобождением холина.

В пищеварительный тракт холин попадает не только с пищей, но и с желчью и с кишечным соком. В ниже лежащих участках пищеварительного тракта концентрация общего холина в химусе постепенно понижается.

В химусе средней части тонкой кишки количество холина у цыплят падает примерно на 65%, а на участке вблизи слепой кишки потери холина достигают уже 90%. Однако и на этом участке кишки у цыплят содержание холина остается довольно

высоким (200—300 мг%). В химусе слепой кишки холин почти не обнаруживается, не найден он и в канале прямой кишки а также в экскрементах цыплят. Можно предполагать, что, попадая в слепую кишку, холин подвергается здесь интенсивному бактериальному разложению. В нижележащих отделах кишечного тракта свиней количество холина снижается быстрее, чем у цыплят. Характерно, что в химусе цыплят с дефицитом липотропных факторов холина содержалось иногда даже больше, чем у нормальных. По-видимому, высокая концентрация холина в химусе пищеварительного тракта обеспечивается за счет эндогенных ресурсов [44].

Сказанное свидетельствует о существовании внутреннего круговорота холина в животном организме: с пищеварительными секретами и желчью холин поступает в пищеварительный тракт, откуда усваивается вновь.

В пищеварительном тракте холин находится под воздействием микрофлоры [101, 102]. Микрофлора кишечника крысы в значительной мере разрушает холин. Так, при оральном введении крысам холина в дозе 200 мг/кг веса с мочой выделялось 10—66% введенного холина в виде триметиламина. Крысы-протобиотики выделяли с мочой только 0.6% введенного холина [222]. Интенсивность разрушения холина в пищеварительном тракте зависит от состава корма. Прибавление антибиотиков к корму способствует сохранению холина в пищеварительном тракте [43].

Кроме микрофлоры, разрушающей холин, в пищеварительном тракте найдена микрофлора, синтезирующая холин. Этот синтез также зависит от состава корма. Замена сахарозы в бесхолиновом рационе сорбитом предупреждает у крыс почечные поражения. Объясняется это стимуляцией размножения микрофлоры, способной синтезировать холин [45, 46]. Отмечено, что при бесхолиновом рационе изменяется состав микрофлоры кишечника [47]. Если у крыс удалить слепую кишку и кормить пищей с дефицитом холина, ожирение печени усугубляется, что можно объяснить пониженным микробным синтезом тех витаминов, которые способствуют синтезу холина [8].

Интимные механизмы всасывания холина мало изучены. Всасывание холина в кишечнике крыс и хомяков изучалось методом вывернутых «мешочков». Анаэробная среда, 2,4-динитрофенол и пониженная температура ингибировали транспорт холина, что свидетельствует об активном транспорте холина против градиента концентрации. С помощью меченого холина было показано, что часть метки, найденной в серозной жидкости, представляет собой метаболиты холина. В аэробных условиях в серозном экстракте концентрация этих метаболитов была значительно выше, чем при анаэробных условиях [233]. В дальнейшем было выяснено, что основное количество этих метаболитов составляет бетаин. По-видимому, абсорбируясь в кишечном эпителиоците, часть холина превращается в бетаин, большая часть которого вместе с холином транспортируется в серозную жидкость [115].

Результаты исследований разных тканей дают основание предполагать существование переносчика холина через клеточные мембраны. После инкубации диафрагмы крыс в растворе с меченым холином в течении часа обнаруживалось, что концентрация холина в ней возрастала в 6—7 раз по сравнению с исходной. При этом кинетика абсорбции холина при разных концентрациях подчиняется принципу Михаэлиса—Ментен. Из этого сделан вывод, что в абсорбции холина участвует переносчик [51].

Аналогичную систему переноса холина предполагают также в почках [247], головном мозгу [235], эритроцитах [57, 188] синцитосамах [105].

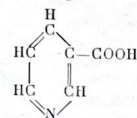
На транспорт холина через мембрану эритроцитов влияют катионы. Способность эритроцитов человека накапливать холин тормозится, если внеклеточный натрий заменяется на цезий, рубидий, калий, литий, и усиливается при замене натрия на магний или кальций. Выход во внешнюю среду, не содержащую холина, усиливается при замене Na^+ на другие однозарядные катионы и существенно подавляется Mg^{2+} и Ca^{2+} . Мартин [188] делает вывод, что переносчиком холина является соединение с высоким средством к холину и катионам: $\text{Cs} > \text{Rb} > \text{K} > \text{Li} > \text{Na}$. Эти катионы могут проникать через мембрану, используя переносчик холина. Сам переносчик холина еще не идентифицирован.

10.9. ВИТАМИН PP — НИКОТИНОВАЯ КИСЛОТА

Никотиновая кислота, или антипеллагрический фактор, излечивает характерное заболевание кожи и слизистой оболочки рта человека. Пеллагра как массовое заболевание людей была известна давно в тех странах, где главным пищевым продуктом служила кукуруза и употреблялось мало животных белков. В 1917 г. на собаках наблюдали схожее заболевание, которое из-за характерного поражения языка получило название «черный язык» (black tongue). Заболевание возникает у животных, находящихся на дефицитной диете, употребляемой человеком.

В опытах на крысах было показано, что пеллагроподобное заболевание животных излечивалось термостабильным веществом дрожжей, которое получило название фактор PP (pellagra preventive — предупреждающий пеллагру) [15].

Никотиновая (пиридин-3-карбоновая) кислота ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$):



— является производной пиридина. Никотиновая кислота представляет собой белые кристаллические иглы с молекулярным весом 125,5, растворима в воде. Сравнительно термостабильна и устойчива к воздействию света, кислорода и термической обработке даже при автоклавировании. Биологически активна также амидная форма никотиновой кислоты — никотинамид. Синтез обеих форм никотиновой кислоты производится промышленным способом и широко используется в медицине и для кормления сельскохозяйственных животных.

После всасывания никотиновая кислота превращается в амид и как никотинамид в соединении с пентозой, аденозином и ортофосфорной кислотой образует: а) никотинамиденинуклеотид — НАД (по старой номенклатуре: дифосфопиридиннуклеотид — ДПН), или коэнзим I; б) никотинамиденинуклеотидфосфат — НАДФ (по старой номенклатуре: трифосфопиридиннуклеотид — ТПН), или коэнзим II.

Коэнзимы I и II в соединении с специфическим протеином (апоэнзимом) выполняют важную биологическую функцию более чем в 150 энзиматических реакциях. Амид никотиновой кислоты в коэнзимах I и II является активной составной частью, выполняющей роль переносчика водорода в реакциях дегидрирования от субстрата к другому коэнзиму (флавопротеину) [91].

Ввиду того что часть никотиновой кислоты синтезируется эндогенно из триптофана и в известной мере также микрофлорой пищеварительного тракта, судить по балансу никотиновой кислоты об обеспеченности организма в витамине весьма затруднительно. Данные выделения метаболитов никотиновой кислоты в моче оказались более ценными показателями. Человек, собаки и крысы никотинамид выделяют в моче как N'-метилникотинамид, в то время как у жвачных животных, кроликов, морских свинок и свиней больше выделяется другой метаболит — никотинуровая кислота (продукт конденсации никотиновой кислоты с глицином) и меньше — метилированные продукты. Известное количество принятого никотинамида выводится в виде 6-пиридона, т. е. продукта окисления N'-метилникотинамида. Принятый с пищей 6-пиридон обычно выделяется с мочой в неизменном виде.

В растениях и зерне из общей суммы витамина PP ниацинамида содержится 20—50%. В животных продуктах (молоко, печень) почти весь ниацин встречается в форме ниацинамида. Наиболее богатый источник никотиновой кислоты — дрожжи, которые содержат ее 280 мг/кг сухого вещества, и пшеничные отруби — 200—240 мг/кг. Некоторые зерновые корма, в особенности кукуруза, содержат прочно связанные с полисахаридами и гликопептидами формы никотиновой кислоты, не гидролизующиеся пищеварительными ферментами. Усвояемость птицами никотиновой кислоты из желтой кукурузы, соевой муки и пшеницы — 30, 100 и 36% соответственно [186]. Никотиновая кислота усваивается лишь после щелочного гидролиза.

Из органов и тканей сельскохозяйственных животных больше всего никотиновой кислоты найдено в печени (120—270 мг/кг) и почках (70—150 мг/кг).

Различная усвояемость никотиновой кислоты из зерновых кормов является причиной противоречивости данных. Для кукурузы при изучении потребности в никотиновой кислоте. Для кукурузы значение имеет также низкое содержание в ней белка и триптофана. Устраняет в известной мере дефицит никотиновой кислоты обогащение рациона триптофаном или замена кукурузы овсом и ячменем. В условиях триптофанового и белкового дефицита обогащение рациона отдельными аминокислотами (лизин, глицин) может усугубить авитаминоз вследствие усиления синтеза белка и снижения катаболизма триптофана в направлении образования никотиновой кислоты.

Синтетические формы витамина PP — никотиновая кислота и никотинамид — всасываются в фундальной части желудка и в тонкой кишке в чистом виде, возможно путем диффузии, так как активный транспорт не был обнаружен [250]. В связи с отсутствием изменения уровня никотиновой кислоты в крови после ее введения в толстую кишку орально или через катетер заключили, что всасывания никотиновой кислоты в толстой кишке не происходит [239]. Несмотря на это, исчезновение витамина PP из толстой кишки наблюдается, возможно вследствие бактериального расщепления. Хорошо всасываются также коэнзимные формы никотиновой кислоты, очевидно после их предварительного расщепления нуклеотидазами и пиррофосфатазами слизистой оболочки кишечника.

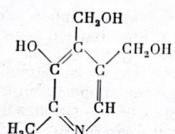
Абсорбция никотиновой кислоты сопровождается амидированием и дезамидированием никотиновой кислоты стенкой кишечника и желудка, а также частично бактериальной флорой [279]. Через час после инъекции меченого никотинамида 50% метки найдено в содержимом кишечника. Неясно значение столь интенсивной циркуляции никотиновой кислоты, так же как неясно значение процесса дезамидирования в пищеварительном тракте. Известно, что никотиновая кислота парентерально является более эффективным предшественником НАД в печени и отчасти кишечника, в то время как никотинамид более эффективно включается в НАД в остальных тканях.

10.10. ВИТАМИН В₆

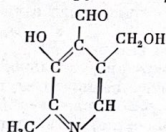
Витамин В₆ — C₈H₁₁O₃N — пиридоксин, называется еще адермином,³ антидерматитным фактором. Пиридоксин синтезирован в 1939 г., он оказался 2-метил-3-окси-4,5-оксиметилпири-

³ В настоящее время, согласно Международной номенклатуре, витамины группы В₆ обозначаются как дериваты пиридина.

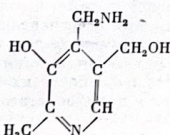
дином. Его дефицит сопровождается кожными изменениями, судорогами и анемией. Пиридоксин



в организме окисляется и аминирован с образованием пиридоксала



и пиридоксамина

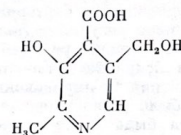


Последние в фосфорилированном виде выполняют функции коферментов в важных каталитических реакциях трансминирования, дезаминирования и в синтезе аминокислот [5, 10].

Пиридоксин и его производные встречаются в природных продуктах питания и кормах. В мясе, печени, яйцах, молоке преобладает пиридоксаль и пиридоксамин, в растительных продуктах — пиридоксин. В зерне пшеницы часть витамина B_6 найдена в виде пиридоксала и пиридоксамина. Витамин B_6 содержится в дрожжах (15—40 мг/кг), пшеничных отрубях (12 мг/кг), в злаковых (2—4 мг/кг).

Витамины группы B_6 пищи и кормов связаны с белками. В процессе пищеварения белки расщепляются, и освобожденные витамины всасываются в тонкой кишке, очевидно после дефосфорилирования, а в печени и почках вновь фосфорилируются. Существование активного транспорта витамина еще не доказано. Получены коррелирующие показатели между величиной доз и абсорбцией путем простой диффузии. При применении небольших оральных доз 3H -пиридоксина у крыс через 15 мин. всасывается 74%, а через 60 мин. — 90% витамина. Большая часть витамина абсорбировалась в тощей кишке, меньшая в подвздошной и очень мало

в толстой кишке. Абсорбированный пиридоксин (34%) найден в моче в неизменном виде. Не всосавшийся витамин найден также в желудке. При применении орально 20 мккюри 3H -пиридоксина у человека максимальная абсорбция наблюдалась между 60-й и 90-й минутами. Резекция части тонкой кишки не снизила абсорбцию. Всасывание витамина B_6 было обнаружено в толстой кишке людей [239]. После приятия 3H -пиридоксина у человека отмечено быстрое выделение его с мочой в течение первого дня и медленное — в течение последующих 30 дней [192]. При оральном применении 100 мг пиридоксина в моче человека обнаруживается пиридоксаль, пиридоксальфосфат и 4-пиридоксалева кислота, ее формула:



Мало обнаруживается пиридоксамина и пиридоксаминфосфата [92]. У собак после введения пиридоксина, пиридоксала и пиридоксальфосфата в изолированные зажимами участки толстой кишки в крови брыжеечной вены был найден только пиридоксаль, последний является показателем дефосфорилирования введенного пиридоксальфосфата в процессе всасывания [19].

В опытах *in vitro* на вывернутых отрезках тонкой кишки хомяков при изучении циркуляции пиридоксина 3H -НСI было установлено, что продвижение пиридоксина через всю стенку кишки со стороны слизистой оболочки осуществляется по градиенту концентрации и не происходит против градиента концентрации [240]. Наблюдалось также обратное прохождение пиридоксина со стороны серозной оболочки в просвет кишки. Это не исключает, однако, активного транспорта со стороны полости кишки в слизистую оболочку.

При всасывании разных форм витамина B_6 известную роль играют компоненты пищи, которые оказывают влияние на популяцию микроорганизмов тонкой кишки. Отмечалось, что пиридоксин, пиридоксамин и пиридоксаль у цыплят были одинаково активны при крахмальной диете; при глюкозной или сахарозной диете хуже абсорбировались пиридоксаль и пиридоксамин. Наибольшая стимуляция роста от скармливания витамина B_6 наблюдалась при пищевом рационе, к которому добавлялось 20% лактозы [260]. Эти опыты косвенно указывают на значение кишечной среды, и в том числе ее микрофлоры, при подготовке витамина B_6 к абсорбции.

Прямыми опытами с безмикробными цыплятами показано, что на диете без витамина B_6 слепая кишка обычных цыплят со-

держала 0.203 мкг витамина В₆, в то время как слепая кишка цыплят-гнотобрионтов содержала лишь следы этого витамина [88].

В льняном семени обнаружен антагонист витамина В₆: 20% льняного жмыха в рационе цыплят вызывает замедление роста и нарушение координированных движений, устраняемых скармливанием синтетического пиридоксина. Из льняного семени антагонист был выделен в чистом виде и назван линатином с элементарным составом С₁₀Н₁₈Н₃О₅. Из синтетических антагонистов следует отметить фтивазид (гидразид изоникотиновой кислоты), применяемый при лечении туберкулеза. Кроме того, антибактериальные фармакологические средства (антибиотики, сульфамидные препараты) могут вызвать симптомы витаминной недостаточности, возможно в связи с торможением бактериального синтеза [33], с нарушением гормональной регуляции (при беременности), а также ингибированием ферментативских реакций, контролирующих абсорбцию, превращения и экскрецию метаболитов витамина В₆ [192].

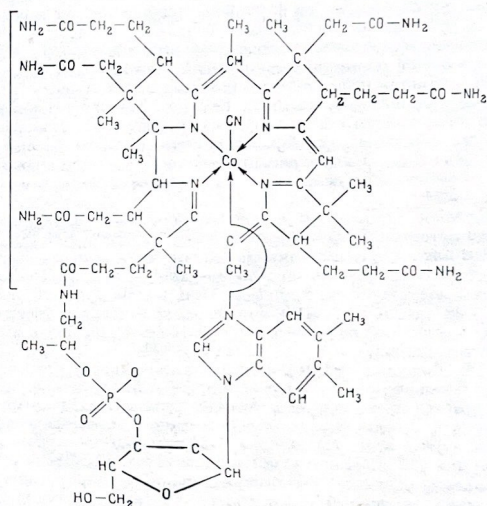
При изучении всасывания ³H-пиридоксина на вывернутых сегментах тонкой кишки было установлено, что интрацеллюлярная концентрация витамина была выше экстрацеллюлярной [248]. Однако обнаружение в кишечной стенке накопления фосфорилированных форм витамина не позволили авторам сделать вывод об активном транспорте пиридоксина. Однако по аналогии с витамином В₁, где был доказан активный транспорт даже после ингибирования фосфорилирования [169], объяснение механизма абсорбции витамина В₆ нуждается в уточнении. Надо учесть, что наряду с фосфорилированием абсорбированного витамина происходит также его дефосфорилирование [19]. Кроме того, следует считаться с обособленным механизмом входа витаминов в кишечный эпителий, их выхода через серозную оболочку и дальнейший транспорт.

10.11. ВИТАМИН В₁₂

Витамин В₁₂, или цианкобаламин (С₆₃Н₈₉Н₁₄О₁₄СoP). — водорастворимый витамин, синтезируемый в природе исключительно микроорганизмами.

Потребность в нем очень невелика: для человека она составляет около 1 мкг в день. Основные известные в настоящее время биохимические функции коэнзимной формы витамина В₁₂ в животном организме следующие: 1) участие в составе метилмалонил-КоА-мутазы в осуществлении превращения метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА, 2) синтез белка и нуклеиновых кислот, 3) синтез метионина и метильных групп для метилирования. Недостаточность витамина В₁₂ проявляется нарушением эритро- и лейкопоэза.

Отличительная черта витамина В₁₂ — весьма сложная структура молекулы и наличие в ней атома металла кобальта, соединенного с четырьмя пиррольными кольцами, а также нуклеотид, содержащего в качестве основания 5,6-диметилбензимидазол:



Радиус молекулы витамина В₁₂ около 0.8 нм, молекулярный вес около 1360 [36, 238].

Вопрос о всасывании особого кроветворного фактора в организме человека и животных уже давно привлекает к себе внимание. Именно нарушения процесса кроветворения породили интерес к этому веществу, и некоторые особенности его абсорбции были обнаружены еще до того, как оно было выделено в чистом виде и получило название витамина В₁₂.

Всасыванию витамина В₁₂ посвящено большое количество работ, написаны десятки обзоров [39, 79, 129, 180], однако механизм этого процесса выяснен далеко не полностью.

Особенностью абсорбции физиологических доз витамина В₁₂ является участие в нем особого вещества — так называемого «внутреннего фактора».

10.11.1. ВНУТРЕННИЙ ФАКТОР

Гипотеза о существовании этого фактора была впервые высказана Кастлом в 1930 г. [79]. Согласно этой гипотезе, нормальный процесс созревания эритроцитов костного мозга мо-

жет осуществляться только при взаимодействии двух факторов: так называемого «внешнего фактора», содержащегося в говяжьей печени и мясе, и так называемого «внутреннего фактора» (ВФ), находящегося в желудочном соке здоровых людей. Причиной заболевания людей пернициозной анемией, или анемией Аддисона-Бирмера, является неспособность больных вырабатывать ВФ [80]. Состояние больных улучшалось, если им давали говяжье мясо вместе с желудочным соком здоровых людей. Определенный этап в изучении «внешнего фактора» закончился, когда из сырой говяжьей печени было выделено кристаллическое вещество с высоким гемопозитическим действием, получившее название витамина В₁₂ [236, 237].

Химическое строение ВФ еще окончательно не установлено. Это мукопротеин с молекулярным весом 50 000—100 000 [134]. В состав ВФ входит 16 аминокислот [40]. ВФ — вещество термолabile [130], нагревание его до 90—100° в течение 5—30 мин. приводит к частичной инактивации. При нейтральном рН и температуре —20° активность ВФ хорошо сохраняется в течение нескольких месяцев. Хранение в кислой среде и при более высокой температуре снижает его активность [129].

Местом образования ВФ у людей является тело и дно желудка. Это было показано рядом авторов [96, 236, 261] путем сопоставления клинических и морфологических данных. Недостаточность всасывания витамина В₁₂ возникала именно при атрофических изменениях в этих отделах желудка [82] или при частичном удалении желудка [181]. Наилучший терапевтический эффект при лечении болезни Аддисона-Бирмера давали препараты, полученные из кардиального и фундального участков желудка [118]. Образование ВФ в желудке было также показано в опытах на различных видах животных [268]. У собак и свиней в отличие от других животных ВФ образуется главным образом в пилорической части желудка [129].

Поскольку до настоящего времени не решен вопрос о химическом строении ВФ, нет ясного представления и о том, какие именно клетки желудочного эпителия его секретируют. Было показано, что у крыс и мышей образование ВФ происходит в главных клетках, в то время как у людей, морских свинок, кошек, кроликов и обезьян — в добавочных клетках. Имеются также данные, свидетельствующие об участии клеток, выделяющих пепсин, в образовании ВФ у людей [129].

Основываясь на большом экспериментальном материале о месте образования ВФ и топографическом расположении клеток слизистой оболочки желудка, Гласс [129] выдвинул предположение, что ВФ образуется как комплекс из двух веществ. Одна часть этого комплекса синтезируется в главных glanduloцитах. Это пептид, который отщепляется от пепсиногена при образовании пепсина и связывается с витамином В₁₂. Другая часть, обеспечивающая адсорбцию комплекса ВФ-В₁₂ на поверхности слизистой

оболочки тонкой кишки, — кислый мукополисахарид, синтезируемый мукоцитами.

При диализе В₁₂-ВФ, меченного по ⁵⁸Со, было показано, что комплекс витамина В₁₂ и ВФ осуществляется за счет двух связей — первичной и вторичной [159]. Более новые данные, однако, свидетельствуют о наличии только одной точки связывания витамина В₁₂ с ВФ [148].

При сравнении способности ВФ связывать другие физиологически активные дериваты витамина В₁₂, в том числе коэнзимную форму витамина, было показано, что она не уступает цианкобаламину. Способность оксикобаламина связываться с ВФ даже немного превышает способность цианкобаламина.

Видовая специфичность образования ВФ нашла подтверждение в работах о его субклеточной локализации. После субклеточного фракционирования слизистой оболочки желудка ВФ у крыс и мышей был обнаружен в легкой осаждаемой фракции гранул, содержащих пепсин, а у обезьян — в митохондриально-лизосомальной фракции [231]. ВФ, полученный из желудка человека и различных животных, активен и для других видов, но в некоторых случаях проявляется его видовая специфичность. Например, морская свинка является универсальным реципиентом, абсорбирующим витамин В₁₂ в комплексе не только с собственным ВФ, но и с ВФ других животных (крысы, свиньи, хомяк, обезьяны) и человека. ВФ морской свинки способствует абсорбции витамина В₁₂ только у нее самой и хомяка [268]. Крысы в свою очередь являются универсальным донором ВФ, способствующим абсорбции витамина В₁₂ у морской свинки, хомяка, кролика, бобра, обезьяны и человека [129].

В результате проведенных опытов *in vivo* и *in vitro* по изучению абсорбции витамина В₁₂, меченного по кобальту (⁵⁷Со), у собак авторы [278] пришли к выводу, что связывающая витамин В₁₂ субстанция, секретируемая желудком собак, по своим иммунологическим, физико-химическим и биохимическим свойствам значительно отличается от ВФ человека и других видов животных. Место образования В₁₂-связывающего вещества у собак (пилорическая часть желудка) иное, чем у других животных. Можно предполагать, что в данном случае имеется более сильно выраженная видовая специфичность строения и функции вещества, ответственного за доставку витамина В₁₂ к месту его всасывания.

В настоящее время принято считать, что ВФ участвует в организме во всех важнейших этапах ассимиляции витамина В₁₂. В пищевых продуктах витамин В₁₂ находится в комплексе с белком. Таким образом, первый этап в процессе проникновения витамина в организм — это освобождение его от связи с белком. Рядом авторов было показано, что благодаря более низкой константе равновесия ВФ разъединяет комплекс белка с витамином В₁₂ и сам соединяется с витамином [79, 94, 193]. Образовавшийся комплекс

ВФ—В₁₂ перемещается в нижележащие отделы пищеварительного тракта.

Комплекс ВФ—В₁₂ гораздо более устойчив к разрушительному воздействию окружающей среды, в том числе к протеолитическим ферментам, чем каждый из них в отдельности [49, 266]. Связанный с ВФ витамин В₁₂ в меньшей мере подвергается разрушительному воздействию микрофлоры [75]. Большая стабильность комплекса ВФ—В₁₂ у человека может быть отчасти объяснена тем, что радиус молекулы комплекса ВФ—В₁₂ меньше (3.28 ± 0.06 нм), чем радиус отдельной молекулы ВФ (3.66 ± 0.02 нм), что свидетельствует об образовании более компактной структуры [147].

Основная функция ВФ заключается в транспорте витамина В₁₂ к месту его всасывания.

10.11.2. МЕСТО ВСАСЫВАНИЯ ВИТАМИНА В₁₂

Как показывают наблюдения над больными с нарушениями всасывания витамина В₁₂ [76], а также после резекции различных отделов тонкой кишки [53], местом всасывания витамина у людей является подвздошная кишка. Всасывание витамина В₁₂ у различных видов животных также происходит в среднем и дистальном отделах тонкой кишки [129]. В опытах на собаках было показано, что пересаженные выше сегменты подвздошной кишки сохраняют свою способность всасывать витамин В₁₂ [109].

10.11.3. МЕХАНИЗМ ВСАСЫВАНИЯ ВИТАМИНА В₁₂

Процесс всасывания витамина В₁₂ может быть разделен на три последовательных этапа.

I этап — это адсорбция витамина на поверхности эпителия кишки. По мнению ряда авторов, образованию комплекса ВФ—В₁₂ на поверхности слизистой оболочки кишки способствует особый рецепторный механизм [141]. Изучение химической природы рецептора показало, что он является белоксодержащим веществом [50]. Рецептор комплекса ВФ—В₁₂ локализуется на мембранах микроворсинок кишечных эпителиоцитов. Если сравнить ВФ—В₁₂-связывающую способность цельного гомогената слизистой оболочки, препарата исчерченной каемки и препарата мембран микроворсинок дистального отдела подвздошной кишки хомяка, то связывающая способность мембраны микроворсинок оказывается самой высокой [106]. По мнению тех же авторов, процесс связывания комплекса ВФ—В₁₂ на поверхности слизистой оболочки не требует присутствия глюкозы и кислорода в инкубационной среде и не зависит от температуры. Связыванию способствует нейтральная среда [142]. В опытах *in vitro* с витамином В₁₂, меченным по ⁵⁷Со, было показано, что комплекс ВФ—В₁₂ имеет очень низкую константу равновесия с поверхностью сли-

зистой оболочки дистального отдела подвздошной кишки [93]. Связь между комплексом ВФ—В₁₂ и кишечными рецепторами может происходить по принципу связи антитела с антигеном [180]. В процессе образования комплекса ВФ—В₁₂ на поверхности кишечника принимают участие ионы кальция, магния и марганца. После перфузии кишечной петли крысы *in vivo* раствором ЭДТА, связывающим соли кальция, всасывание комплекса ВФ—В₁₂ значительно затормаживается [94]. Роль катионов в адсорбции комплекса ВФ—В₁₂ на поверхности кишечных эпителиоцитов в настоящее время остается еще невыясненной. Высказано предположение, что роль ионов Са заключается в связывании фосфорных групп рибонуклеиновой кислоты, входящей в состав рецептора, с ВФ [139].

II этап — проникновение витамина В₁₂ в кишечный эпителиоцит с исчерченной каемкой. Если процесс адсорбции комплекса ВФ—В₁₂ на поверхности кишечного эпителиоцита изучен сравнительно хорошо, то сам процесс проникновения его в эпителиальную клетку до настоящего времени остается неясным. В отличие от I этапа на II этапе процесс зависит от температуры, требует наличия кислорода и глюкозы [243]. Прямых доказательств того, что комплекс ВФ—В₁₂ мог бы целиком проникнуть в клетку, нет. Поскольку радиус мембранных пор около 0.4 нм, а радиус комплекса ВФ—В₁₂ около 3.3 нм, проникновение в клетку цельного комплекса представляется невозможным. Один из предполагаемых путей проникновения витамина В₁₂ в клетку — пиноцитоз [50, 267]. Этот процесс характерен для всасывания высокомолекулярных питательных веществ в эмбриональном и неонатальном периодах. В опытах на крысах было установлено, что всасывание витамина В₁₂ в эмбриональном и неонатальном возрасте осуществляется независимо от ВФ [71, 123]. Уже в двухнедельном возрасте эта способность в значительной мере уменьшается, а в 4-недельном почти полностью исчезает. В первые дни после рождения эпителий желудка крыс выделяет меньше 1% ВФ, выделяемого взрослыми животными. В 4-недельном возрасте выделение ВФ достигает уровня, характерного для взрослых животных [71]. По наблюдениям других авторов [277], смена независимого от ВФ всасывания витамина В₁₂ на механизм, зависящий от ВФ, у крыс происходит между 20-м и 30-м днями жизни, что совпадает с морфологическим развитием всасывающей поверхности подвздошной кишки. Можно предполагать, что пиноцитоз является основным механизмом всасывания витамина В₁₂ лишь на самых ранних стадиях онтогенеза.

Была выдвинута совершенно спекулятивная гипотеза о том, что на поверхности кишечного эпителиоцита может быть расщеплен не только комплекс ВФ—В₁₂, но и сама молекула витамина В₁₂. После проникновения мелких, содержащих кобальт, «активных фрагментов» через мембрану микроворсинок в клетке происходит ресинтез витамина В₁₂ [180]. Экспериментальных фактов, под-

держивающих эту гипотезу, нет. Ранее существовавшее представление о том, что при всасывании связь между ВФ и витамином В₁₂ не нарушается, не подтвердилось [129]. В опытах in vivo на хомяках с применением меченого по кобальту ВФ—В₁₂ свободного витамина В₁₂ не удалось обнаружить ни в эпителиальных клетках слизистой оболочки, ни в кровеносных и лимфатических капиллярах [72]. В крови меченный по ⁵⁷Со витамин В₁₂ находится в комплексе с макромолекулярными соединениями, отличающимися по биохимическим свойствам от ВФ [95]. Было установлено, что 91—97% абсорбированного меченого витамина В₁₂ находится в кровеносных капиллярах, в то время как в лимфе, куда проникают высокомолекулярные соединения, белки и жирные кислоты, найдено всего 3—9% [225]. Этот факт косвенно свидетельствует о том, что при всасывании происходит отщепление витамина В₁₂ от ВФ, что, по мнению ряда авторов [94, 108, 143], контролирует так называемый «освобождающий фактор» — энзимы, содержащиеся в кишечных эпителиоцитах. Попытки сопоставить место адсорбции витамина В₁₂ с локализацией наивысшей активности «освобождающего фактора» [111] показали, что этой активностью обладают все отрезки тонкой кишки крысы. Энзиматический характер отщепления витамина В₁₂ от комплекса с ВФ в дальнейшем был подвергнут критике [209]. Было высказано мнение, что роль «освобождающего фактора» на поверхности кишечных эпителиоцитов может выполнять свободный, не связанный с ВФ витамин В₁₂ [146].

Судьба отщепленного от витамина В₁₂ ВФ остается неизвестной. Некоторыми авторами [144, 199] было отмечено, что присутствие ВФ влияет на поглощение витамина В₁₂ тканями. Это привело к предположению, что ВФ выполняет роль переносчика витамина не только в кишечнике, но также и в крови и в других циркулирующих жидкостях [129]. Однако обнаружить свободный ВФ в эпителиальных клетках кишечника, а также в крови не удалось [95]. В настоящее время существование ВФ в циркулирующих жидкостях подвергается сомнению [180], хотя некоторые авторы [42] склонны это признавать.

III этап — проникновение витамина В₁₂ из кишечных эпителиоцитов в портальный кровоток. Этот процесс не требует участия ВФ и проходит, вероятно, по законам диффузии. В плазме крови имеются две белковые фракции, связывающие витамин В₁₂, — транскобаламин I (ТК-I), относящийся к α-глобулинам, и транскобаламин II (ТК-II), относящийся к β-глобулинам. Первоначально витамин связывается с ТК-II, который захватывает значительно меньше витамина, чем ТК-I. В течение 24 час. витамин освобождается от ТК-II и присоединяется к ТК-I. ТК-II, так же как ВФ, обуславливает переход витамина через биомембраны. Роль ТК-I неизвестна, но предполагается, что он может функционировать как депо витамина В₁₂ [148]. Акцепторы вита-

мина В₁₂ сыворотки крови имеют, очевидно, видовую специфичность. Так, ТК-I и ТК-II обезьян-резусов отличается от транскобаламинов человека [196].

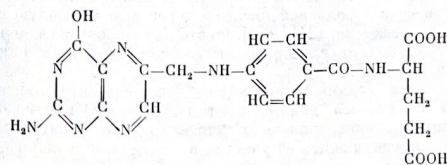
10.11.4. НЕЗАВИСИМОЕ ОТ ВНУТРЕННЕГО ФАКТОРА ВСАСЫВАНИЕ ВИТАМИНА В₁₂

Весь вышеизложенный материал относится к всасыванию физиологических доз (менее 2 мкг) витамина В₁₂. Всасывание больших доз осуществляется независимо от ВФ по принципу диффузии [107, 270]. Этот процесс не зависит от pH и ионов Са, не имеет точной локализации в тонкой кишке. Увеличение дозы витамина В₁₂ очень незначительно или вообще не влияет на эффективность всасывания больших доз витамина [129]. В физиологических условиях этот процесс не имеет практического значения.

Помимо всасывания из кишечного тракта, было отмечено, что всасывание витамина В₁₂ может проходить через слизистые оболочки ротовой и носовой полости [154, 201]. Интерес вызывают также данные об интенсивной абсорбции меченого ⁵⁷Со витамина через кожу крыс и морских свинок [151]. В этих случаях проникновение витамина в организм также происходит по принципу диффузии.

10.12. ФОЛНОВАЯ КИСЛОТА

Фолиевая кислота (птероилглутаминовая кислота, фолацин, витамин В₉) — C₁₉H₁₉N₇O₆:



— плохо растворимые в воде желтые кристаллы. В ее состав входят p-аминобензойная кислота, глутаминовая кислота и птеридиновое ядро. В животных тканях фолиевая кислота встречается главным образом в виде восстановленной производной — тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК). Широко распространенным представителем этих соединений является биологически наиболее активная ⁵N-формил-ТГФК (фолиевая кислота, лейковорин, цитрофорум-фактор) [38]. Ниже приводится формула фолиевой кислоты: