

**ВЛИЯНИЕ КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ АМИНОКИСЛОТНО-МИКРОЭЛЕМЕНТНОЙ
КОМПОЗИЦИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОНДА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ
СОЕДИНЕНИЙ В МИКРОБНО-ТКАНЕВОМ КОМПЛЕКСЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА
И МИКРОБИОТУ ТОЛСТОГО КИШЕЧНИКА КРЫС**

Николаева И.В, Шейбак В.М.

*Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь*

Реферат. Проанализирована структура аминокислотного фонда, индивидуальные концентрации свободных аминокислот и их азотсодержащих производных и метаболитов в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс после курсового внутрижелудочного введения

аминокислотно-минеральной композиции (АМК-Г), содержащей треонин, аргинин, таурин и цинка аспартат.

Ключевые слова: аминокислоты, микробиота, кишечник.

Summary. The analysis of the structure of the pool individual concentrations of free amino acids and nitrogen-containing metabolites in the microbe-tissue complex small intestines and microbiota large intestines of rats was carried out after the course of intragastric administration of amino acid-trace element composition (AAMC-G) containing threonine, arginine, taurine and zinc aspartate.

Keywords: amino acids, microbiota, intestine.

Введение. Одной из основных аминокислот, метаболизируемых энтероцитами и микробиотой, является глутамин. В экспериментах *in vitro* показано, что глутамин динамически модулирует метаболизм бактериями других аминокислот, включая аргинин, серин, аспартат. Влияние глутамина на метаболизм в тонком кишечнике обусловлено иницированием сигнальных путей, связанных биосинтезом белка и его ролью в качестве окислительного субстрата и источника азота для других важных азотсодержащих метаболитов [4]. Треонин составляет примерно 11% от всех аминокислот в мушине. В физиологических условиях клетки кишечника используют треонин более активно, чем другие незаменимые аминокислоты. Недостаточное энтеральное поступление треонина у крыс снижает синтез муцина, в то время как в целом синтез белка в кишечнике остается неизменным [6]. Аргинин, как правило, является незаменимым фактором роста для молодых млекопитающих [7]. Профилактическое введение таурина мышам с экспериментальным колитом ограничивает поражение кишечника, снижает интенсивность воспаления и повышает активность антиоксидантной системы [5]. Дефицит цинка приводит к угнетению синтеза белков, в т. ч. инсулина, клетками поджелудочной железы и эпителиальными клетками кишечника, к дефициту пищеварительных ферментов и транспортных белков для поглощения питательных веществ, снижению аппетита и нарушению пищеварения у различных видов животных [9].

Цель исследования — выявление эффектов курсового введения аминокислотно-микроэлементной композиции (АМК-Г) на формирование фонда азотсодержащих соединений в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника и микробиоту толстого кишечника крыс.

Материалы и методы. Эксперименты были выполнены на 22 белых беспородных крысах-самцах массой 100–120 г, содержащихся на стандартном рационе вивария и имевших свободный доступ к питьевой воде. Животные были разделены на 2 группы: контрольную ($n = 12$), получавшую энтерально 0,95%-й раствор хлорида натрия, и опытную ($n = 10$), животным которой вводили пищевую добавку (аминокислотно-микроэлементную композицию, не содержащую глутамин (АМК-Г)), состоящую из треонина, аргинина, таурина и цинка аспартата в дозе 325 мг/кг массы, в виде 5%-го водного раствора ежедневно в течение 10 дней. Через 24 ч после последнего введения животных декапитировали, асептически вскрывали брюшную полость, выделяли микробно-тканевый комплекс толстого и тонкого кишечника по стандартной методике [3]. Образцы толстого кишечника (по одному от каждой крысы) собирали в стерильные флаконы и немедленно доставляли в бактериологическую лабораторию для исследования пристеночной микробиоты по стандартной методике [2]. Образцы микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника использовали для количественной и качественной идентификации свободных аминокислот и их дериватов методом обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью хроматографической системы Agilent 1100 с 4-градиентной системой подачи растворителя [1].

Полученные результаты анализировали с использованием непараметрической статистики по Манну–Уитни (программа Statistica 6.0). В описательной статистике для каждого показателя определяли значение Me , 25 и 75 квартилей. Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Через 24 ч после последнего введения АМК-Г в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника наблюдалась тенденция к увеличению общего количества свободных аминокислот (на 32%) и их азотсодержащих производных и метаболитов (на

37%, $p = 0,03$), в результате чего соотношение протеиногенные аминокислоты/азотсодержащие производные снизилось в 1,5 раза. Анализ индивидуальных аминокислот выявил увеличение концентраций заменимых аминокислот: аспарагина (на 18%), глутамина (на 60%, $p = 0,01$), гистидина и аланина (на 30%), а также незаменимых аминокислот треонина и лизина (на 50 и 32% соответственно). Следствием значительного повышения глутамина явилось достоверное ($p = 0,02$) уменьшение соотношения глутамин/глутамат (на 22%). Вероятно, курсовое введение композиции АМК-Г влияет на интенсивность синтеза фосфолипидов в энтероцитах тонкого кишечника, поскольку повышаются уровни этаноламина (на 37%) и снижается соотношение серин/этанолламин (на 25%), что имеет непосредственное отношение к метаболизму фосфатидилэтанолламина и фосфатидилсерина [10]. Одновременно в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника увеличено содержание α -аминомасляной кислоты (в 2 раза, $p = 0,03$), которое может быть продуктом бактериальной ферментации аминокислот. Выше контрольных значений (в 2 раза) регистрировали концентрации глутатиона ($p = 0,003$). Несмотря на то, что достоверных изменений индивидуальных концентраций азотсодержащих производных и метаболитов в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника выявлено относительно немного, следует отметить тенденцию к повышению 3-метилгистидина (в 2 раза), цитрулина (на 49%), ансерина (на 41%), таурина (на 38%), и орнитина (на 80%). Ниже контрольных значений были соотношения аргинин/цитруллин и аргинин/орнитин (на 23 и 52% соответственно), что может свидетельствовать об активации антиоксидантной системы, пролиферативных процессов и использования аргинина как синтазой оксида азота, так и аргиназой в клетках тонкого кишечника [8].

Обеспечение субстратами микробиоты толстого кишечника может осуществляться как через апикальную и базальную мембраны эпителиоцитов, так и пассивным пассажем из верхних отделов кишечника. Между тем через 24 ч после последнего введения АМК-Г достоверных количественных изменений со стороны бифидо-, лактобактерий и эшерихий с нормальной ферментативной активностью выявлено не было. Однако имело место увеличение суммарного количества анаэробов ($p = 0,03$).

Заключение. Таким образом, исследование показало, что курсовое внутрижелудочное введение АМК-Г приводит к изменению содержания протеино- и непротеиногенных аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника. Введение АМК-Г модулирует концентрации биологически активных азотсодержащих метаболитов, принимающих участие как в антиоксидантной защите клеток, так и в стимуляции пролиферативных процессов (ансерин, глутатион, орнитин, этанолламин). Кроме того, учитывая комплексный характер изменений, нельзя исключить воздействия АМК-Г на секрецию гормонов и пептидов желудочно-кишечного тракта и ее последующее воздействие на процессы пищеварения. Энтеральное введение АМК-Г в течение 10 сут не вызывает значимых количественных изменений микрофлоры толстого кишечника.

Литература

1. Дорошенко, Е.М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Е.М. Дорошенко // Аналитика РБ-2010: Респ. науч. конф. по аналитической химии с междунар. участием: сб. тез. докл. — Минск, 2010. — С. 126.
2. Штаммовая общность пристеночного муцина желудочно-кишечного тракта биологической модели / М.Л. Корнеев [и др.] // Человек и его здоровье. — 2006. — № 2. — С. 18–24.
3. Микробиоценоз толстого кишечника и содержание свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе крыс / В.М. Шейбак [и др.] // Вестн. Витебск. гос. мед. ун-та. — 2014. — № 3. — С. 50–58.
4. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport and inflammation / J. Berke [et al.] // Gut. — 2003. — Vol. 52, № 3. — P. 439–451.
5. Potential for amino acids supplementation during inflammatory bowel diseases / M. Coëffier [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. — 2010. — Vol. 16, № 3. — P. 518–524.
5. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats / M. Faure [et al.] // J. Nutr. — 2005. — Vol. 135, № 3. — P. 486–491.

6. Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates / W.S. Jobgen [et al.] // *J. Nutr Biochem.* — 2006. — Vol. 17, № 9. — P.571–588.

7. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill / M.J. Morowitz [et al.] // *Surg. Clin. N. Am.* — 2011. — Vol. 91, № 4. — P. 771–785.

8. Effect of Zinc Deficiency on the Ultrastructure of the Pancreatic Acinar Cell and Intestinal Epithelium in the Rat / I. Sung, [et al.] // *J. Nutr.* — 2014. — Vol. 7, № 5. — P. 896 – 908.

9. Vance, J.E. Formation and function of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells / J.E. Vance, G. Tasseva // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2013. — Vol. 1831, № 3. — P. 543–554.

10. Dietary requirements of synthesizable amino acids by animals: a paradigm shift in protein nutrition / G. Wu [et al.] // *J. Anim. Sci. Biotechnol.* — 2014. — Vol. 5, № 1. — P. 34–51.