

Л. Ф. СМИРНОВА, член-корреспондент АН СССР А. М. УГОЛЕВ

**СООТНОШЕНИЕ ТРАНСПОРТА
НЕКОТОРЫХ ГЛИЦИНСОДЕРЖАЩИХ ПЕПТИДОВ
И ЭКВИВАЛЕНТНЫХ СМЕСЕЙ СОСТАВЛЯЮЩИХ ИХ
АМИНОКИСЛОТ В ТОНКОЙ КИШКЕ КРЫСЫ IN VITRO**

При сопоставлении скоростей всасывания мономеров, образующихся в процессе гидролиза полимеров и олигомеров, и соответствующих мономеров, вводимых в желудочно-кишечный тракт как таковых в эквивалентном количестве, был обнаружен парадоксальный феномен: оказалось, что мономеры, в частности моносахариды (¹⁻⁴) и аминокислоты (⁵⁻⁹), образующиеся при гидролизе соответствующих олигосахаридов или олигопептидов, во многих случаях всасываются быстрее, чем свободные.

Механизм, обеспечивающий преимущества на стадии всасывания для мономеров, образующихся в процессе гидролиза, по сравнению с эквивалентными смесями готовых мономеров остается неясным.

Установлено, что конечные стадии гидролиза и начальные этапы всасывания осуществляются главным образом системами, локализованными на внешней поверхности мембраны, и, следовательно, эти два процесса оказываются максимально сближенными в пространстве и времени. Недавно в экспериментах на активных изолированных кишечных клетках (¹⁰) было обнаружено прямое взаимодействие фермента и переносчика, на основании чего постулировано существование ферментативно-транспортного ансамбля. В пределах такой интегрированной системы мономеры, освобождающиеся в процессе гидролиза, могут передаваться непосредственно с фермента на вход транспортной системы (без выхода в водную фазу и без рассеивания в пей).

В настоящей работе проведен дальнейший анализ механизмов, осуществляющих сопряжение пищеварительных и транспортных процессов на поверхности тонкой кишки. Для этого были сопоставлены гидролиз и транспорт двух дипептидов, из которых один гидролизуеться на внешней поверхности мембраны, а другой внутриклеточно. Большинство дипептидов гидролизуеться на внешней поверхности мембраны микроворсинок, в том числе и глицил-*l*-лейцин, тогда как редким примером внутриклеточного гидролиза является глицилглицин (¹¹⁻¹⁴).

В настоящих экспериментах исследовали мукозно-серозный транспорт глицина из среды, содержащей либо упомянутые дипептиды, либо эквивалентные количества составляющих их аминокислот.

Эксперименты были выполнены на взрослых белых крысах (самцы) линии Вистар, содержащихся на обычном пищевом рационе и предварительно голодавших в течение 18—20 час.

В качестве метода исследования была использована техника «вывернутого мешка» Уилсона и Уайзмана (¹⁵), в модификации Уголева и Логина.

Отрезки тонкой кишки длиной около 10 см выворачивали слизистой наружу, заполняли 1 мл бикарбонатного раствора Кребса — Рингера, рН 7,4 (¹⁶) и инкубировали в 50 мл того же, но оксигенируемого раствора, содержащего исследуемый дипептид (концентрация 10 ммол/л) или экви-

валентную смесь составляющих его аминокислот. Инкубацию проводили при 37° в течение 1 часа.

По окончании срока инкубации в серозной жидкости определяли концентрацию глицина с помощью специфического калориметрического метода (17).

Экспериментальные данные были обработаны статистически по методу Стьюдента и Фишера. Оценка достоверности производилась с использованием критерия *t*.

Как можно видеть из табл. 1, добавление к раствору свободного глицина другой аминокислоты — лейцина в той же концентрации приводит к резкому торможению транспорта глицина (примерно в три раза по срав-

Таблица 1

Мукозно-серозный транспорт глицина по градиенту концентрации вывернутыми мешками тощей кишки крысы из растворов глицина, смеси глицина и лейцина, глицил-*L*-лейцина и глицилглицина

Транспортируемые субстраты	Начальная концентрация в мукозной среде (ммол/л)	Конечная концентрация в серозной среде (ммол/л)	Всасывание, %	Торможение лейцином транспорта глицина, %
Глицин	10	12,9±2,8 (6) *	100	0
Глицин + лейцин	10	4,4±0,3 (6)	39,0	61,0
Глицил- <i>L</i> -лейцин	10	8,7±1,2 (6)	73,4	26,6
Глицин	10	10,6±1,7 (5)	—	—
Глицин	20	15,9±1,8 (5)	100	—
Глицил-глицин	10	14,9±2,5 (5)	87,6	—

* В скобках — число исследованных животных.

нению с исходным). Факт взаимного ингибирования транспорта различных аминокислот хорошо известен, и многими исследователями (обзоры (18, 19)) было показано, что как аминокислоты, так и моносахариды конкурируют между собой за общий переносчик. Известно также (и наши данные подтверждают это), что глицин и лейцин используют общий транспортный механизм, к которому лейцин имеет большее средство, чем глицин. Поскольку в постоянных экспериментах область выбранных начальных концентраций такова, что всасывание глицина происходит в условиях, близких к насыщению транспортных систем (можно сравнить по табл. 1 транспорт свободного глицина при его начальных концентрациях в мукозной среде 10 и 20 ммол/л), то конкуренция между глицином и лейцином за общий переносчик выражена достаточно отчетливо.

Скорость мукозно-серозного транспорта глицина из среды, содержащей глицил-*L*-лейцин, когда обе аминокислоты образуются при гидролизе непосредственно на поверхности мембран микроворсинок, превышает скорость транспорта глицина из раствора эквивалентной смеси глицина и лейцина ($p < 0,01$), но несколько ниже, чем из раствора чистого глицина. Сопоставление этих результатов позволяет сделать важное заключение о механизмах облегчения пептидного транспорта. По-видимому, происходит не истинное «облегчение» транспорта исследуемой аминокислоты, когда она включается в состав дипептида, а скорее имеет место значительное уменьшение конкуренции со стороны другой аминокислоты (в данном случае лейцина) за общий транспортный механизм.

Исследования, проведенные с другим дипептидом — глицилглицином, показали, что скорость мукозно-серозного транспорта глицина из среды, содержащей этот дипептид, приблизительно равна скорости транспорта

свободного глицина, вводимого в мукозную среду в эквивалентном количестве ($p > 0,05$), что также было продемонстрировано и другими авторами⁽²⁰⁾. Иными словами, в этом случае «пептидные» аминокислоты не получают никакого преимущества во всасывании, по сравнению со свободными.

Таким образом, сравнение всасывания глицина в тех случаях, когда со стороны слизистой находится: а) глицил-*l*-лейцин или эквивалентная ему смесь составляющих аминокислот и б) глицилглицин или эквивалентное количество глицина, приводит к заключению, что «облегчение» при всасывании наблюдается для аминокислот, образующихся в процессе мембранного, но не внутриклеточного гидролиза дипептида.

Для объяснения уменьшения конкуренции за общий переносчик между аминокислотами, образующимися в процессе мембранного гидролиза, может быть предложена следующая гипотеза. Как уже упоминалось выше, в пределах ферментативно-транспортного ансамбля происходит прямая передача конечных продуктов гидролиза с фермента непосредственно на переносчик⁽¹⁾. Было допущено, что один фермент может обслуживаться более чем одним переносчиком. Например, дипептидаза передает продукты гидролиза — аминокислоты одновременно на два переносчика. Это приводит к появлению отдельных путей переноса образующихся мономеров, что может предупредить или значительно уменьшить конкуренцию за обладание одной контактной площадкой переносчика.

Предполагается также, что система переносчиков в мембране энтероцита неоднородна. В то время как одна их часть включена в состав предлагаемых ферментативно-транспортных ансамблей, например, глицил-*l*-лейцилдипептидазного, другая транспортирует мономеры с участков внешней поверхности мембраны, не обладающих ферментативной активностью. В последнем случае распределение мономеров между переносчиками будет происходить по вероятностным законам.

Понятно, что включение переносчиков в состав различных пищеварительно-транспортных ансамблей может приводить, во-первых, к облегчению транспорта мономеров, освобождающихся при гидролизе олигомеров в пределах данного ансамбля (в частности, в результате ослабления конкуренции между мономерами за переносчик), и, во-вторых, к понижению сродства переносчиков к мономерам, образуемым другими ферментативно-транспортными ансамблями.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
17 V 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Уголев, Физиология и патология пристеночного пищеварения, «Наука», 1967. ² A. Dahlqvist, D. L. Thomson, J. Physiol., **167**, 193 (1963). ³ C. D. Holdsworth, A. M. Dawson, Clin. Sci., **27**, 371 (1964). ⁴ D. S. Parsons, J. S. Prichard, Nature, **208**, 1097 (1965). ⁵ I. L. Craft, D. Geddes et al., Gut, **9**, 425 (1968). ⁶ D. M. Matthews, I. L. Craft et al., Clin. Sci., **35**, 415 (1968). ⁷ D. M. Matthews, M. T. Lis et al., Clin. Sci., **37**, 751 (1969). ⁸ B. Cheng, D. M. Matthews, J. Physiol., **210**, 37 (1970). ⁹ B. Cheng, F. Navab et al., Clin. Sci., **40**, 247 (1971). ¹⁰ А. М. Уголев, I. K. Gozitte, In: XXV Intern. Congr. of Physiological Science, **9**, Munich, 1971, p. 573. ¹¹ Р. Ноак, В кн.: Матер. XVI научн. сессии Инт. питания АМН СССР, М., 1966, стр. 147. ¹² Р. И. Кушак, А. М. Уголев, ДАН, **168**, 477 (1966). ¹³ А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова и др., Nahrung, **11**, 595 (1967). ¹⁴ E. V. Fern, R. C. Hider, D. R. London, Biochem. J., **114**, 855 (1969). ¹⁵ T. H. Wilson, G. Wiseman, L. Physiol., **123**, 116 (1954). ¹⁶ P. P. Cohen, In: Manometric Techniques, Burgess, 1957, p. 149. ¹⁷ А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова и др., В кн.: Исследование пищеварительного аппарата у человека, «Наука», 1969, стр. 178. ¹⁸ G. Wiseman, In: Handbook of Physiology, Sect. 6. Alimentary Canal, **3**, 1968, p. 1277. ¹⁹ R. K. Crane, ibid., **3**, p. 1323. ²⁰ H. Newey, D. H. Smyth, J. Physiol., **164**, 527 (1962).