

УДК 612.386.75:(577.164.11+577.164.15):616.092.11.9

О. Г. Кирилюк, Ю. В. Хмелевський

ВСМОКТУВАННЯ ТІАМІНУ ТА НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ В КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ ПРИ ГОЛОДУВАННІ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ

Однією з можливих причин ендогенної вітамінної недостатності є порушення всмоктування вітамінів у кишечнику [10, 20]. У клініці описаний синдром недостатності всмоктування, який супроводжує багато захворювань [1, 9]. Проте особливості всмоктування вітамінів у кишечнику при патології недостатньо вивчені, так само як і роль окремих процесів, що забезпечують транспорт вітамінів крізь мембрани клітин кишечника.

Ми вивчали особливості всмоктування тіаміну і нікотинової кислоти в тонкому кишечнику щурів при голодуванні та у тварин у стані іммобілізаційного стресу. Водночас досліджували активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази кишечника експериментальних тварин як мембранного ферменту [6, 13], що забезпечує активний транспорт деяких речовин крізь мембрани епітеліальних клітин кишечника [4, 12].

Методика досліджень

Досліди проведені на 50 білих щурах-самцях вагою 200 ± 20 г, яких утримували на звичайному раціоні віварія. Вивчали особливості всмоктування тіаміну і нікотинової кислоти в умовах іммобілізаційного стресу та голодування.

Імобілізація щурів на 24 год у горизонтальному положенні призводила до вкривання шлунка тварини численними виразками. На розтині шлунок часто був наповнений кров'ю, що характерно для іммобілізаційного стресу [17].

Щури другої групи не одержували їжі протягом 72 год (без обмеження води) перед експериментом. За цей час вага щурів зменшувалась у середньому на 15%, вага кишечника не змінилася.

Дослідження всмоктування тіаміну в кишечнику щурів здійснювали з допомогою модифікованого нами методу перфузії кишечника [14]. Під гексеналовим наркозом у щура розтинали черевну стінку, ізолювали відрізок кишечника довжиною 5 см на рівні верхньої третини тонкого кишечника, не пошкоджуючи брижу. Перфузію відрізка здійснювали 0,9% розчином хлористого натрію, що містить тіамін у концентрації 3,1 мкМ. Швидкість перфузії становила 0,75 мл/хв. Перфузат фракційно збирали через кожні 2 хв протягом 10 хв дослідження. Всмоктування тіаміну визначали за убутом тіаміну з перфузату. Тіамін у пробах визначали за [3].

Всмоктування нікотинової кислоти визначали за ступенем зникнення мітки C^{14} при введенні міченої C^{14} нікотинової кислоти у відрізок тонкого кишечника довжиною 5 см, ізолюваного на рівні верхньої третини тонкого кишечника. У відрізок вводили 1 мл 0,9% розчину хлористого натрію, що містить C^{14} нікотинову кислоту в концентрації 40 мкМ (активність препарату 10 мКюри/г). Через 10 і 60 хв розчин вилучали з просвіту кишечника і визначали ступінь зникнення мітки з вмісту відрізка кишечника та кількість мітки у слизовій оболонці. Радіоактивність проб вивчали на торційному лічильнику установки ПСТ-100. Результати виражали в імн/г/хв.

Активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази визначали за методом, запропонованим Говоровою та ін. [2]. Результати виражали в мкг фосфору/г тканини/год.

Результати оброблені біометрично [5].

Вивчення всмоктування тіаміну при перфузії його просвіту дозволило встановити, що після голодування всмоктування тіаміну з перфузату підвищується.

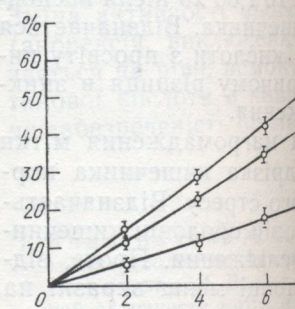


Рис. 1. Всмоктування тіаміну в кишечнику щурів (в % до загальної кількості тіаміну в перфузаті). 1 - контрольні тварини, 2 - тварини в стані іммобілізаційного стресу, 3 - тварини, голодували протягом 72 год.

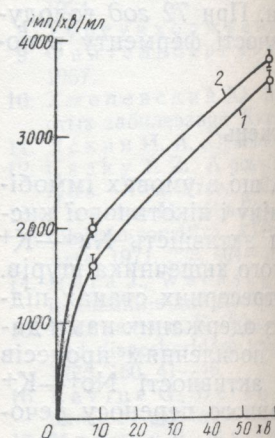


Рис. 3. Всмоктування нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів. Умовні позначення див. рис. 1.

після голодування всмоктування тіаміну з перфузату підвищується на 28%, а всмоктування нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів збільшується на 25% (рис. 1).

Однакову направленість змін всмоктування тіаміну з перфузату та нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів спостерігали протягом 10 хв (рис. 2). Після голодування всмоктування тіаміну з перфузату підвищується на 28%, а всмоктування нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів збільшується на 25% (рис. 3).

елевський

КОТИНОВОЇ КИСЛОТИ І ГОЛОДУВАННІ МУ СТРЕСІ

ї вітамінної недостатності е
нику [10, 20]. У клініці опи-
я, який супроводжує багато
октування вітамінів у кишеч-
само як і роль окремих про-
крізь мембрани клітин ки-

тіаміну і нікотинової кислоти
ї та у тварин у стані імобілі-
активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази
ембранного ферменту [6, 13],
речовин крізь мембрани епі-

ень

агою 200 ± 20 г, яких утримували
смоктування тіаміну і нікотинової
ання.

у положенні призводила до вкри-
озтині шлунок часто був напов-
ресу [17].

м 72 год (без обмеження води)
алась у середньому на 15%, вага
щурів здійснювали з допомогою
]. Під гексеналовим наркозом у
шечника довжиною 5 см на рівні
брижу. Перфузію відрізка здійс-
тіамін у концентрації 3,1 мкМ.
фракційно збирали через кожні
ну визначали за убутком тіаміну

тупенем зникнення мітки C^{14} при
кого кишечника довжиною 5 см,
ника. У відрізок вводили 1 мл
отинову кислоту в концентрації
і 60 хв розчин вилучали з про-
з вмісту відрізка кишечника та
проб вивчали на торційному лі-
т/г/хв.
ом, запропонованим Говоровою
и/год.

Результати досліджень

Вивчення всмоктування тіаміну у відрізок тонкого кишечника щурів при перфузії його протягом 10 хв розчином тіаміну (3,1 мкМ) дозволило встановити, що після 24 год імобілізації тварин всмоктування тіаміну з перфузату підвищується на 12% (рис. 1). Якщо в контрольній гру-

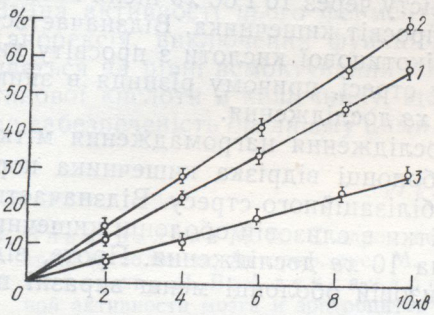


Рис. 1. Всмоктування тіаміну в кишечнику щурів (в % до загальної кількості тіаміну в перфузаті).

1 — контрольні тварини, 2 — тварини при імобілізаційному стресі, 3 — тварини, які голодували протягом 72 год.

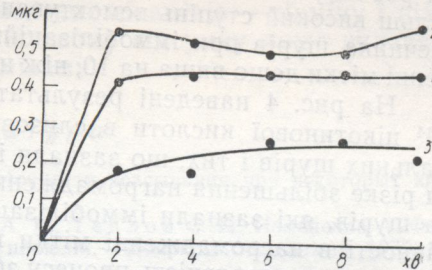


Рис. 2. Швидкість всмоктування тіаміну в кишечнику щурів (в мкг тіаміну за 1 хв).

Умовні позначення див. рис. 1.

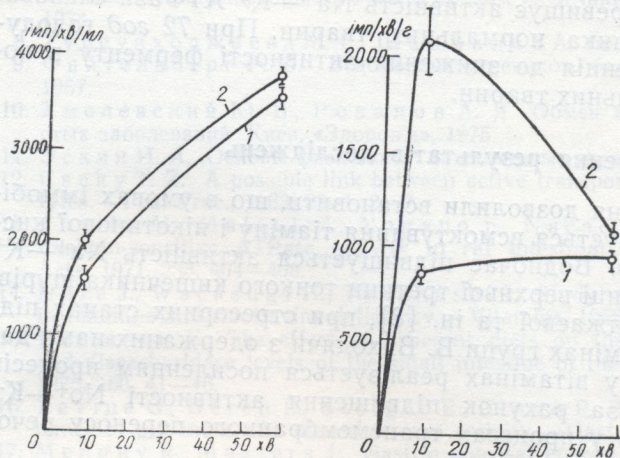


Рис. 3. Всмоктування нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів.

Умовні позначення див. рис. 1.

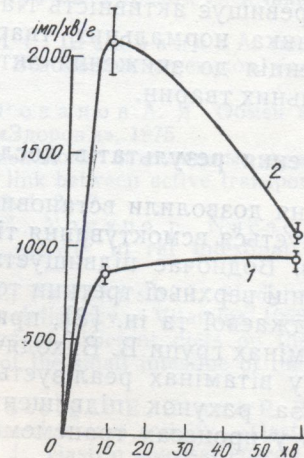


Рис. 4. Нагромадження нікотинової кислоти в слизовій оболонці кишечника щурів при всмоктуванні з просвіту кишечника.

Умовні позначення див. рис. 1.

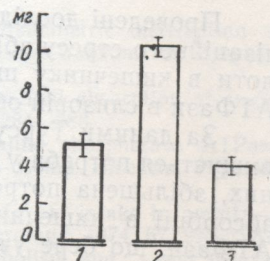


Рис. 5. Активність $\text{Na}^+ \text{K}^+$ АТФази в слизовій оболонці тонкого кишечника щурів.

Умовні позначення див. рис. 1.

пі тварин із загальної кількості тіаміну (7,5 мкг) за 10 хв всмоктується 4,25 мкг тіаміну, то у щурів, які зазнали імобілізації, — 5,25 мкг. Навпаки, у тварин, які голодували протягом 72 год, всмоктування тіаміну знижене на 28%, а із загальної кількості тіаміну (7,5 мкг) всмоктувалося лише 2,25 мкг (рис. 1).

Однакову направленість з наведеними даними має й зміна швидкості всмоктування тіаміну, яку визначали через 2 хв інтервали часу протягом 10 хв (рис. 2). Швидкість всмоктування тіаміну підвищується при

імобілізаційному стресі до 0,55 мкг/хв і знижується у тварин, які голодували, до 0,23 мкг/хв при нормі 0,45 мкг/хв тіаміну в перфузованому відрізьку тонкого кишечника.

Всмоктування нікотинової кислоти ми визначали в тонкому кишечнику нормальних щурів та у тварин, які зазнали імобілізаційного стресу. На рис. 3 наведені результати дослідів, що характеризують ступінь зникнення мітки C^{14} з люмінального вмісту через 10 і 60 хв після введення розчину C^{14} нікотинової кислоти в просвіт кишечника. Відзначається більш високий ступінь всмоктування нікотинової кислоти з просвіту кишечника щурів при імобілізаційному стресі, причому різниця в зникненні мітки дещо вища на 10, ніж на 60 хв дослідження.

На рис. 4 наведені результати дослідження нагромадження мітки C^{14} нікотинової кислоти в слизовій оболонці відрізка кишечника нормальних щурів і тих, що зазнали імобілізаційного стресу. Відзначається різке збільшення нагромадження мітки в слизовій оболонці кишечника щурів, які зазнали імобілізації, на 10 хв дослідження. Проте, відмінності в нагромадженні мітки в слизовій оболонці менш виразні на 60 хв , хоч направленість процесу зберігається.

Вивчення $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази показало, що активність ензиму в слизовій оболонці кишечника щурів залежить від стану організму тварини. На рис. 5 наведені результати визначення активності $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази слизової оболонки кишечника щурів в умовах імобілізаційного стресу та у голодних тварин в порівнянні з нормальними щурами. При імобілізації на 24 год активність досліджуваного ферменту різко підвищується і майже на 50% перевищує активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази слизової оболонки тонкого кишечника нормальних тварин. При 72 год голодуванні проявляється тенденція до зниження активності ферменту в порівнянні з групою контрольних тварин.

Обговорення результатів досліджень

Проведені дослідження дозволили встановити, що в умовах імобілізаційного стресу збільшується всмоктування тіаміну і нікотинової кислоти в кишечнику щурів. Водночас підвищується активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази в слизовій оболонці верхньої третини тонкого кишечника щурів.

За даними Турсунходжаєвої та ін. [8], при стресорних станах підвищується потреба у вітамінах групи В. Виходячи з одержаних нами даних, збільшена потреба у вітамінах реалізується посиленням процесів абсорбції в кишечнику за рахунок підвищення активності $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази, що бере участь у процесах трансмембранного переносу речовин [4].

Відомо, що $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФаза є мембранним фрагментом [6], локалізованим переважно на латеральній і базальній плазматичних мембранах ентероцитів [7, 13]. З функціонуванням цього ферменту пов'язаний, очевидно, вихід тіаміну в кров і лімфу [18]. Видимо, активність цього ферменту перебуває під гормональним контролем, оскільки встановлена можливість активації $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази в деяких тканинах тварин під впливом кортикостероїдів [13], вміст яких підвищений при стресі [11].

Зменшення всмоктування тіаміну в умовах голодування тварин слід пояснити зниженням активності $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази в слизовій оболонці кишечника. Слід відзначити, що деякі автори вказують на зниження активності ферментів кишечника, які беруть участь у перетравлюванні і всмоктуванні речовин, при припиненні перорального надходження поживних речовин в організм [15] або в умовах парентерального харчу-

вання [16], що супроводжує кишечника.

Отже, всмоктування тіаміну при невеликих фізіологічних від активності мембранної $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази транспорт речовин крізь плазматичну мембрану цього ферменту. Зміна активності цього ферменту (анорексія, виключення функції) чинить вплив на рівні всмоктування нікотинової кислоти в кишечнику та на забезпеченість організму

1. Виноградова М. А. Стрессовые болезни. Автореф.
2. Говорова Л. В., Алейникова Н. И. Активность мозга и эри...
3. Елисеева Г. Д. Флуорографическое исследование бифлавинов в биологических...
4. Лисовская Н. П. Аденозинтрифосфатаза. В сб.: Успехи биол. химии, 1971, 10, 1-10.
5. Плохинский Н. А. Биохимия. М., 1971, 1-10.
6. Рид Э. Мембранные ферменты. М., 1971, 1-10.
7. Ташмухамедов Б., Давидович Л. И. Активация транспортной АТФазы. Докл. АН СССР, 1974, 234, 1-2.
8. Турсунходжаева М. А. Функциональное состояние ферментов. Автореф. диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 1967.
9. Файтельберг Р. О. Активность ферментов. М., 1967, 1-10.
10. Хмелевский Ю. В. Роль витаминов в патогенезе стрессовых заболеваний. Киев, 1971, 1-10.
11. Эскин И. А. Основы физиологии. М., 1971, 1-10.
12. Csaky T. Z. A possible role of thiamine in the regulation of the activity of the enzyme. — Fed. Proc., 1963, 22, 1-10.
13. Fuyita M., Matsui I. Ouabain-sensitive ATPase. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 404-408.
14. Hara J., Wacacugi H. The effect of thiamine and riboflavin on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
15. Heitanen E. The effect of thiamine on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
16. Levine G., Deren L. The effect of thiamine on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
17. Menguy R., Master J. The effect of thiamine on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
18. Rindi G., Ventura G. The effect of thiamine on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
19. Srastny F. Corticosteroid-induced changes in the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.
20. Thomson A., Baker J. The effect of thiamine on the activity of the enzyme. — J. Biol. Chem., 1971, 246, 1-10.

Кафедра біохімії
Київського медичного інституту

знижується у тварин, які голо-

дуються, що характеризує ступінь стресу. Через 10 і 60 хв після введення вітаміну в кишечника. Відзначається зниження активності ферменту, причому різниця в зник-

нення нагромадження мітки в кишечника нор-мального стресу. Відзначається в слизовій оболонці кишечни-

хв дослідження. Проте, від-мінності менш виразні на-як. що активність ензиму в сли-

досліджень

овити, що в умовах іммобі-лізації тіаїну і нікотинної кис-лоты активність $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ в тонкому кишечнику щурів.

при стресорних станах під-тримки з одержаних нами да-даних посилення процесів

голодування тварин слід-но вказують на зниження часті у перетравлюванні

вання [16], що супроводжується зниженням всмоктувальної здатності кишечника.

Отже, всмоктування тіаїну і нікотинної кислоти в кишечнику щурів при невеликих фізіологічних концентраціях (3,1 і 40 μM) залежить від активності мембранної $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ АТФази, що забезпечує активний транспорт речовин крізь плазматичні мембрани клітин кишечника [12]. Зміна активності цього ферменту під впливом гормонів або інших дій (анорексія, виключення функціональної діяльності кишечника) позначається на рівні всмоктування коферментних вітамінів — тіаїну і нікотинної кислоти в кишечнику, що в кінцевому підсумку може впливати на забезпеченість організму цими вітамінами.

Література

1. Виноградова М. А. Синдром недостаточности всасывания при некоторых внутренних болезнях. Автореф. дис., М., 1968.
2. Говорова Л. В., Александрова А. Е., Теплов С. И. Изменение АТФазной активности мозга и эритроцитов при гипоксии. — Вопросы мед. химии, 1975, 21, 23—26.
3. Елисеева Г. Д. Флуорометрическое определение тиамин, кокарбоксылазы и рибофлавина в биологических объектах. — В сб.: Витамины, Киев, 1953, 1, 38—57.
4. Лисовская Н. П. Аденозинтрифосфатаза клеточных мембран и перенос ионов. — В сб.: Успехи биол. химии, М., 1967, 8, 93—116.
5. Плохинский Н. А. Биометрия. М., 1970.
6. Рид Э. Мембранные ферменты. — В кн.: Цитология ферментов. М., 1971.
7. Ташмухамедов Б., Далимова А., Бекмухамедова З. Изучение локализации транспортной АТФазы в тонком кишечнике. — Биофизика, 1969, 14, 1032—1034.
8. Турсунходжаева М. С., Шадрманов А. (цит. за 10).
9. Файтельберг Р. О. Всасывание углеводов, белков и жиров в кишечнике. Л., 1967.
10. Хмелевский Ю. В., Розанов А. Я. Обмен витаминов при сердечно-сосудистых заболеваниях, Киев, «Здоров'я», 1975.
11. Эскин И. А. Основы физиологии эндокринных желез. М., 1975.
12. Csaky T. Z. A possible link between active transport of electrolytes and nonelectrolytes. — Fed. Proc., 1963, 22, 1, 3—7.
13. Fuyita M., Matsui H., Nagano p., Nacao M. Asimmetric distribution of ouabain-sensitive ATPase activity in rat intestinal mucosa. — Biochim. et Biophys. Acta, 1971, 233, 404—408.
14. Hara J., Wacasugi H., Takahashi I. Study on intestinal absorption of sugar in thiamine and riboflavine deficiency. — Vitamins, 1968, 37, 284—288.
15. Heitanen E. The effect of different diets on the alkaline phosphatase, ATPase and disaccharidase levels of the small intestine of the rat. — Comp. Biochem. Physiol., 1975, 150, 41—46.
16. Levine G., Deren L., Steiger E., Zinno R. Role of oral intake in maintenance of gut mucus and disaccharidase activity. — Gastroenterology, 1974, 67, 975—982.
17. Menguy R., Masters J. Gastric mucosal energy metabolism and "stress ulceration". — Ann. Surg., 1974, 180, 538—546.
18. Rindi G., Ventura U. Thiamine intestinal transport. — Physiol. Rev., 1972, 52, 821—827.
19. Srastny F. Corticosteroid regulation of the $\text{Na}^+ - \text{p}^+$ ATPase activity in the chick embryo cerebral hemispheres. — Ontogenesis Brain. Praha, 1974, 87—98.
20. Thomson A., Baker H., Leevy C. Patterns of S^{35} thiamine hydrochloride absorption in the malnourished alcoholic patients. — J. Lab. Clin. Med., 1970, 76, 34—45.

Кафедра біохімії
Київського медичного інституту

Надійшла до редакції
2.ІІ 1976 р.

ABSORPTION OF THIAMINE AND NICOTINIC ACID IN RATS INTESTINE AT FASTING AND IMMOBILIZED STRESS

Summary

By perfusion of the isolated intestine section with the solution containing thiamine in a concentration of $3.1 \mu\text{mol}$ it was established that in the animals fasted for 72 h thiamine absorption lowered by 28% whereas in the rats after 24 h immobilization its absorption increased by 12%. Besides, in the animals after immobilization absorption of label in intestinal mucosa increased. The activity of Na-K-ATPase in intestinal mucosa increased. The activity of Na-K-ATPase in intestinal mucosa lowered by 10% during fasting and it rose with immobilization of the animals. Evidently, the activity of Na-K-ATPase in the intestinal mucosa cells determined the absorption rate of thiamine and nicotinic acid at the level of vitamin transport through the plasmatic membranes of enterocytes.

Department of Biochemistry,
Medical Institute, Kiev

P. O. Φ

ЗАЛЕЖНІС
ВІД ВМІСТУ МІ
І АМІН

Всмоктування заліза ну увагу патофізіологів, зорбції заліза, деякі аві всмоктується в кишечни ферментних систем [4]. ліза здійснюється проти [7, 12]. Резорбоване за. Гольджі, в лізосомах [2 і в мітохондріях ентеро туються в кишечнику за від ступеня насичення н

Всмоктування залізу з їжі відбувається в двох формах: гем і негем. Гем залізо поглинається в основному в дванадцятипалій кишці, а негем залізо поглинається в основному в тонкому кишечнику. Негемний залізо поглинається в основному в дванадцятипалій кишці, а негем залізо поглинається в основному в тонкому кишечнику. Негемний залізо поглинається в основному в дванадцятипалій кишці, а негем залізо поглинається в основному в тонкому кишечнику.

Незважаючи на ве
заліза в шлунково-киш
ментів, що вводять раз
сі не з'ясованим. Мало
лот на всмоктування з

Ми досліджували (кобальту, міді, марганцю, *d*-ксилози), амінокислот, вільного та кислого заліза в тонко-

Досліди (1080) прове-
з ізольованою петлею поре-
лю кишки вводили 40; 54;
води на 15 хв. Ми обрали
повністю за цей проміжок
речовин, які стимулюють в

Про всмоктування за-
ченого з петлі кишки мет-
осадження білків до вилу-
дифеніламіну, 10 мл сірча-
ної кислоти. Потім здійс-
фіолетового забарвлення.

Паралельно з цим в
дом за Генрі з використан