

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ КОНЦЕНТРАЦИЙ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МИКРОБНО-ТКАНЕВОМ КОМПЛЕКСЕ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЖИВОТНЫМ ИНФЕЗОЛА40

Шейбак В. М. (*vsheibak@gmail.com*), Павлюковец А. Ю., (*anastasiayk@mail.ru*),  
Смирнов В. Ю. (*vit\_sm@mail.ru*), Николаева И. В. (*nikolayeva\_i@mail.ru*),  
Шейбак Л. Н. (*lsheibak@gmail.com*), Олехнович Е. В. (*olehnovich.katyusha@mail.ru*)  
УО «Гродненский государственный медицинский университет» Гродно, Беларусь

*Инфезол – это сбалансированный аминокислотный раствор с относительно низкой осмолярностью, отвечающий современным стандартам, что позволяет использовать его для стимуляции синтеза белков.*

*Цель исследования – анализ спектра аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс в динамике после внутрижелудочного введения Инфезола40.*

*Материал и методы. Эксперимент проводился на 30 крысах массой 120-140 г, которым внутрижелудочно вводили раствор Инфезол40 в дозе 20 мл/кг массы, декапитация животных осуществлялась через 10 мин., 20 мин., 30 мин. или 45 мин., соответственно. Определение свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника производили методом обращеннофазной ВЭЖХ.*

*Результаты. Внутрижелудочное введение Инфезола40 приводит к увеличению общего количества протеиногенных аминокислот в МТК тонкого кишечника, которое сохраняется на протяжении 45 минут.*

*Выводы. Введение смеси аминокислот модулирует процессы абсорбции из просвета кишечника, следствием чего является непропорционально большее увеличение концентрации фенилаланина, что в свою очередь стимулирует биосинтетические процессы в МТК тонкого кишечника, о чем свидетельствует увеличение уровня тирозина, не входящего в состав Инфезола40.*

**Ключевые слова:** Инфезол40, свободные аминокислоты, микробно-тканевый комплекс тонкого кишечника.

### Введение

Процессы абсорбции аминокислот в желудочно-кишечном тракте человека и животных и их распределения по тканям организма во многом зависят от индивидуальных концентраций и состава вводимых смесей. Растворы аминокислот являются одним из компонентов для проведения парентерального питания, однако в ряде ситуаций они могут быть использованы для энтерального питания, особенно в раннем детском возрасте, поскольку при его полном отсутствии у новорожденных развивается некротический энтероколит [1]. Стандартные аминокислотные растворы содержат, как правило, 18-20 L-аминокислот (или их производных) с добавками основных электролитов или без них. В некоторых растворах имеются компоненты энергетического обеспечения (сорбитол или ксилитол). Содержание общего азота в этих растворах колеблется от 6,3 до 18 г/л. [2]. Один из таких растворов – инфезол. В состав инфезола входят незаменимые и заменимые аминокислоты, ксилитол и электролиты (калий и магний) (табл. 1). Соотношение заменимые/незаменимые аминокислоты составляет 0,95. Низкое содержание ароматических аминокислот позволяет использовать его в схеме парентерального питания при патологии печени, а ксилитол – для метаболических превращений, в которых не тре-

буется инсулин. Его введение уменьшает протеолиз и предупреждает образование кетоновых тел. В целом инфезол – это сбалансированный аминокислотный раствор с относительно низкой осмолярностью, отвечающий современным стандартам, что позволяет использовать его для стимуляции синтеза белка в комплексном лечении пациентов широкого профиля [3]. Вместе с тем в литературе отсутствуют сведения о динамике изменений аминокислотного профиля в структурах тонкого кишечника после энтерального введения данной смеси аминокислот.

**Целью** исследования стал анализ спектра аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс в динамике после внутрижелудочного введения Инфезола40.

**Таблица 1.** – Содержание свободных аминокислот в растворе Инфезола40 г/л (мкмоль/л)

Заменимые аминокислоты		Незаменимые аминокислоты	
Аспарагиновая кислота	2,0 (15025)	Треонин	1,6 (13432)
Глутаминовая кислота	5,0 (33984)	Валин	2,25 (19206)
Гистидин	1,35 (8701)	Метионин	1,75 (11728)
Глицин	7,0 (93251)	Триптофан	0,5 (2448)
Аргинин	4,55 (26119)	Фенилаланин	3,15 (19069)
Аланин	4,0 (44898)	Изолейцин	2,1 (16010)
		Лейцин	2,75 (20965)
		Лизин	2,0 (13681)

### Материал и методы

Эксперимент проводился на 30 беспородных крысах массой 120-140 г, при свободном доступе животных к корму (стандартный рацион вивария) и воде. Животные были разделены на 5 групп (по 6 животных в группе): в 1-й, контрольной группе, животным внутривенно вводили физиологический раствор (хлорид натрия), в группах 2, 3, 4, 5 – внутривенно Инфезол40 (№ серии 42005012, BERLIN-CHEMIE MENARI № 1, 12489, Берлин, Германия) в дозе 20 мл/кг массы, что соответствует 800 мг смеси аминокислот на 1 кг массы животного. Декапитацию животных осуществляли через 10 минут, 20 минут, 30 минут или 45 минут, соответственно. Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета. Для анализа использовали микробно-тканевый комплекс тонкого кишечника [4]. Определение свободных аминокислот производили методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Определение ароматических аминокислот (тирозина и триптофана) проводили методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм – для триптофана). Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработку данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01 [5]. Математическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0, в таблицах представлены средняя и ошибка средней (критерий Стьюдента).

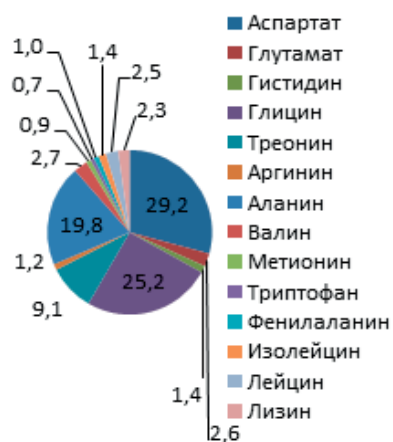
### Результаты и обсуждение

Микробно-тканевый комплекс (МТК) тонкого кишечника представляет собой единую морфо-

функциональную систему, объединяющую кишечную микрофлору, пищевые волокна, слизь, гликокаликс, эпителий, клеточные элементы и компоненты межклеточного матрикса стромы слизистой оболочки кишечника с питающими ее сосудами, лимфоидными фолликулами, клетками APUD-системы и окончаниями сплетений энтеральной нервной системы. Он содержит свободные аминокислоты, которые поступают в клетки из просвета кишечника (образованные в результате переваривания пищевых и эндогенных белков, а также синтезированные местной микробиотой) [6, 7].

После внутривенного введения Инфезола40 во все изучаемые сроки в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника увеличивается общее количество протеиногенных аминокислот, суммарное содержание заменимых и незаменимых аминокислот, в том числе аминокислот с разветвленной углеродной цепью (изолейцин, лейцин, валин), ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин), коэффициента соотношения аргинин/орнитин, аргинин/цитруллин и суммы глутамат+глутамин (рис. 1а, табл. 2). После введения данной дозы Инфезола40 в МТК тонкого кишечника повышаются концентрации заменимых аминокислот: глицина (рис. 1д), аргинина (рис. 1г) и тирозина; незаменимых аминокислот триптофана и фенилаланина, а также уровни азотсодержащих производных аминокислот цистатионина и гидроксизилина. Одновременно снижается общее количество азотсодержащих производных аминокислот, концентраций α-аминоадипиновой кислоты, β-аминомасляной кислоты, таурина и α-аминомасляной кислоты (табл. 3). В течение 20 минут после введения Инфезола40 наблюдали увеличение общего количества аминокислот и их азотсодержащих производных в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника (табл. 2).

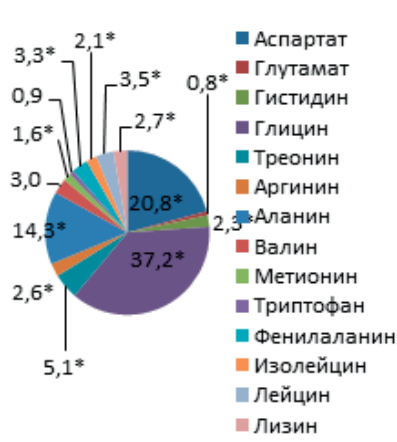
На быструю абсорбцию и метаболизм аминокислот в компонентах МТК тонкого кишечника



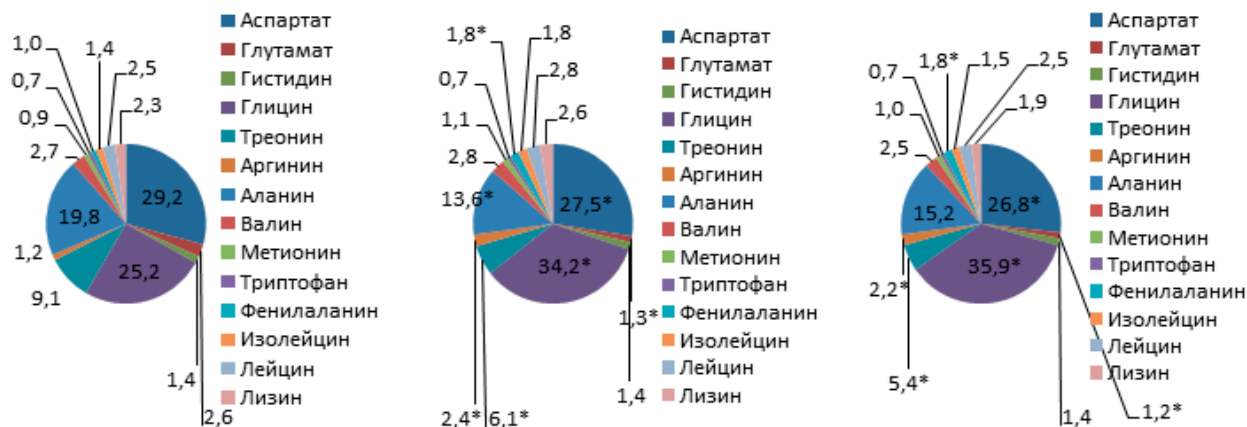
а. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40 (контроль)



б. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40, через 10 мин. после его введения



в. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40, через 20 мин. после его введения



а. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40 МТК (контроль)

д. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40, через 30 мин. после его введения

е. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40, через 45 мин. после его введения

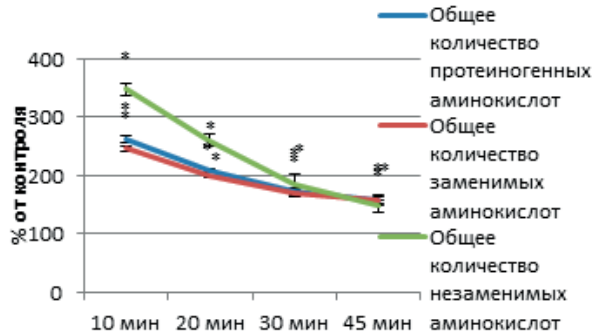
Рисунок 1. – Относительное количество свободных аминокислот в МТК, входящих в состав Инфезола40

Таблица 2. – Структура пула свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс после внутривидового введения Инфезола40 (20мл/кг) М±m, мкмоль/г

МТК	контроль	Инфезол40 10 мин.	Инфезол40 20 мин.	Инфезол40 30 мин.	Инфезол40 45 мин.
Общее количество аминокислот и их азот-содержащих производных	47,3±0,66	71,3±3,40*	57,7±1,74*	50,8±2,12	49,3±2,42
Общее количество протеиногенных аминокислот	18,7±1,01	49,1±2,99*	38,9±1,22*	32,2±2,53*	29,2±2,18*
Общее количество заменимых аминокислот	15,7±1,10	38,7±1,83*	31,1±0,70*	26,6±1,84*	24,8±1,88*
Общее количество незаменимых аминокислот	3,0±0,22	10,4±1,21*	7,8±0,86*	5,5±1,05*	4,4±0,51*
Общее количество азот-содержащих производных аминокислот	28,7±1,40	22,2±0,77*	18,8±1,42*	18,6±1,48*	20,0±1,22*
Протеиногенные/ азот-содержащих производные аминокислот	0,7±0,07	2,2±0,13*	2,1±0,18*	1,8±0,23*	1,5±0,15*
АРУЦ	1,0±0,10	4,2±0,56*	3,0±0,45*	2,1±0,503	1,7±0,18*
ААА	0,5±0,05	2,4±0,32*	1,7±0,23*	1,1±0,24*	0,9±0,12*
Общее количество серосодержащих аминокислот серосодержащие	19,4±1,21	14,2±0,61*	12,9±0,96*	12,5±1,11*	13,5±0,94*
Аргинин/орнитин	3,0±0,88	10,6±1,26*	13,6±1,23*	14,9±2,92*	18,0±4,18*
Аргинин /цитруллин	0,5±0,10	3,2±0,61*	2,3±0,48*	1,8±0,30*	1,3±0,12*
Глутамат +глутамин	5,0±0,32	8,2±0,38*	8,0±0,48*	8,3±0,35*	7,5±0,84*
Глутамат/глутамин	10,9±0,98	16,6±0,78*	13,9±1,91	13,8±1,82	10,7±0,53

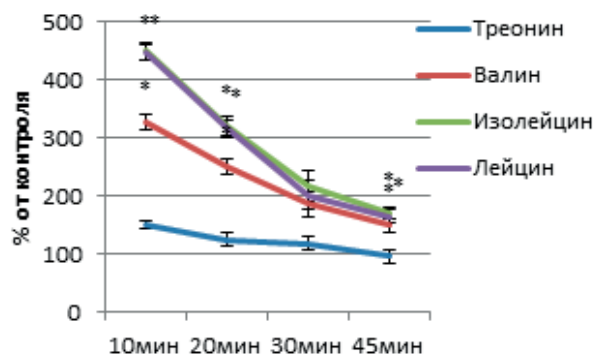
Примечание: здесь и в таблице 3 \* – статистически значимые различия относительно контрольной группы (p<0,05)

указывает увеличение уже через 10 минут после введения Инфезола40 соотношения глутамат/глутамин, концентраций аспартата, аланина, метионина, валина, изолейцина, лейцина и лизина (рис. 2б и 2в; табл. 2 и 3). Через 20 минут достоверно повышается содержание глутамата, гистидина, цитруллина, аланина, метионина, валина, изолейцина, лейцина и лизина, цистеиновой кислоты, снижается содержание серина, фосфоэтанолamina, β-аланина, γ-аминомасляной кислоты, этаноламина (рис. 1б и 1в; табл. 3).

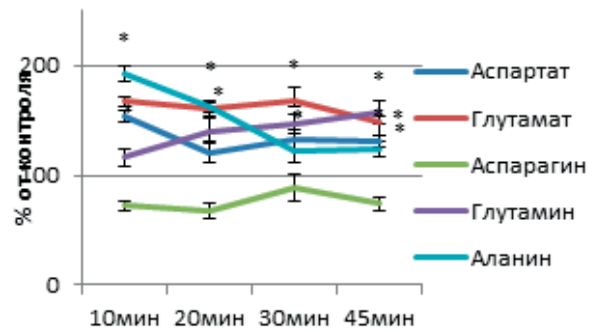


а. Изменение общего количества свободных протеиногенных аминокислот в МТК крыс после введения Инфезола40.

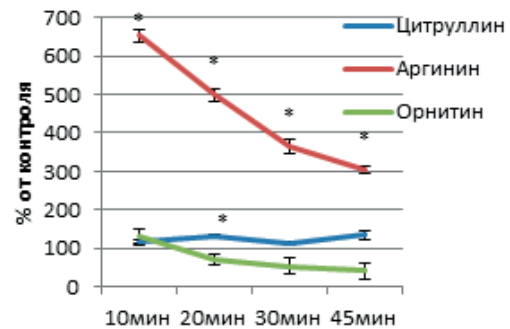
Примечание: здесь и рисунках 2б-2д \* – статистически значимые различия относительно контрольной группы ( $p < 0,05$ )



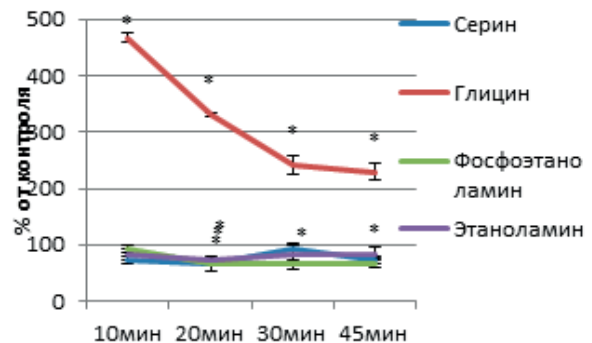
б. Изменение концентраций треонина, валина, изолейцина и лейцина в МТК крыс после введения Инфезола40



в. Изменение концентраций аспартата, глутамата, аспарагина, глутамина и аланина в МТК крыс после введения Инфезола40



г. Изменение концентраций аргинина, цитруллина и орнитана в МТК крыс после введения Инфезола40



д. Изменение концентраций серина, глицина, фосфоэтанолamina и этаноламина в МТК крыс после введения Инфезола40

Рисунок 2. – Изменение концентраций свободных аминокислот в МТК тонкого кишечника крыс после введения Инфезола40

Через 30 мин. в МТК тонкого кишечника повышались уровни глутамата, глутамина и лизина, а содержание цистеиновой кислоты, фосфоэтанолamina, β-аланина снижалось (рис. 2в, табл. 3). Через 45 мин. после внутрижелудочного введения Инфезола40 в МТК регистрировалось увеличение аспартата, глутамата, глутамина, аланина, валина, метионина, изолейцина, лейцина, но оставалось сниженным содержание цистеиновой кислоты и фосфоэтанолamina (рис. 1б и 1в, табл. 3).

Анализ изменений концентраций аминокислот, вводимых в составе Инфезола40, показал, что уровень поступающего в наибольшем количестве глицина (27,6% от всех входящих в состав раствора аминокислот), увеличивался в МТК тонкого кишечника через 10 мин. – в 4,7 раза, через 20 мин. – в 3,3 раза, через 30 мин. – в 2,4 раза, через 45 мин. – в 2,3 раза (рис. 2 а-е). При этом особо следует отметить, что в МТК тонкого кишечника в первые 20 мин. в большей степени изменялось содержание фенилаланина, составляющего 5,6% от количества входящих



**Таблица 3.** – Концентрации свободных аминокислот в микробно-тканевом комплексе тонкого кишечника крыс после внутрижелудочного введения Инфезола40 (20мл/кг)  $M \pm m$ , мкмоль/г

МТК	контроль	Инфезол40 10 мин.	Инфезол40 20 мин.	Инфезол40 30 мин.	Инфезол40 45 мин.
Цистеиновая кислота	0,08±0,002	0,07±0,006	0,03±0,002*	0,03±0,002*	0,04±0,001*
Аспаргат	1,6±0,16	2,4±0,14*	1,9±0,18	2,1±0,18	2,03±0,12*
Глутамат	4,6±0,37	7,7±0,34	7,4±0,46*	7,7±0,39*	6,8±0,78*
Серин	1,1±0,16	0,8±0,05	0,7±0,03*	1,0±0,10	0,8±0,05
$\alpha$ -аминоадипиновая кислота	0,08±0,003	0,06±0,002*	0,05±0,002*	0,05±0,004*	0,06±0,003*
Глутамин	0,41±0,035	0,47±0,041	0,57±0,066	0,60±0,055*	0,64±0,067*
Гистидин	0,22±0,037	0,92±0,058	0,81±0,101*	0,41±0,092	0,36±0,064
Глицин	4,0±0,34	18,6±1,45*	13,2±0,45*	9,6±1,53*	9,1±1,41*
Фосфо-этанолламин	7,6±0,31	7,1±0,36	5,0±0,51*	5,0±0,40*	5,1±0,40*
Цитруллин	0,33±0,03	0,38±0,025	0,43±0,026*	0,37±0,011	0,44±0,045
Аргинин	0,18±0,044	1,2±0,21*	0,91±0,151*	0,67±0,123*	0,56±0,052*
$\beta$ -аланин	0,11±0,005	0,12±0,006*	0,09±0,007*	0,09±0,003*	0,11±0,014
Аланин	3,1±0,15	6,0±0,47*	5,1±0,23*	3,8±0,41	3,9±0,27*
Таурин	19,2±1,20	13,2±0,57*	12,2±0,95*	12,0±1,11*	13,0±0,93*
$\beta$ -аминомасляная кислота	0,01±0,003	0,008±0,001*	0,002±0,0004*	0,002±0,0004*	0,002±0,0003*
$\gamma$ -аминомасляная кислота	0,44±0,057	0,43±0,070	0,25±0,054*	0,29±0,050	0,40±0,073
Тирозин	0,20±0,025	0,30±0,019*	0,29±0,030*	0,36±0,050*	0,29±0,032*
$\alpha$ -аминомасляная кислота	0,09±0,0005	0,07±0,008*	0,06±0,006*	0,06±0,007*	0,06±0,013*
Этанолламин	0,49±0,038	0,40±0,042	0,35±0,024*	0,40±0,063	0,41±0,042
Валин	0,43±0,039	1,4±0,18*	1,1±0,15*	0,79±0,183	0,63±0,065*
Метионин	0,15±0,02	0,83±0,125*	0,55±0,098*	0,32±0,08	0,27±0,029*
Цистатионин	0,07±0,002	0,12±0,007*	0,14±0,002*	0,13±0,012*	0,15±0,001*
Триптофан	0,11±0,010	0,38±0,048*	0,30±0,037*	0,20±0,030*	0,17±0,0014*
Фенилаланин	0,16±0,021	1,68±0,256*	1,15±0,181*	0,50±0,161*	0,47±0,09*
Изолейцин	0,23±0,024	1,02±0,155*	0,73±0,126*	0,49±0,127	0,39±0,042*
Гидроксизин	0,06±0,005	0,13±0,007*	0,18±0,006*	0,13±0,016*	0,16±0,017*
Лейцин	0,39±0,039	1,73±0,227*	1,23±0,181*	0,78±0,194	0,64±0,071*
Лизин	0,36±0,034	1,21±0,165*	0,97±0,103*	0,74±0,135*	0,48±0,093

в раствор аминокислот (через 10 мин. – в 10,7 раза, 20 мин. – в 7,3 раза), а в последующие сроки эксперимента – 30 мин. и 45 мин. аргинина (7,7% в смеси аминокислот) (3,7 и 3,0 раза, соответственно) (рис. 2 а-е).

**Выводы.** Внутрижелудочное введение Инфезола40 приводит к увеличению общего количества протеиногенных аминокислот в МТК тонкого кишечника, которое сохраняется на протя-

жении 45 минут. Очевидно, что введение смеси аминокислот модулирует процессы абсорбции [8] из просвета кишечника, следствием чего является непропорционально большое увеличение концентрации фенилаланина, что, по всей вероятности, стимулирует биосинтетические процессы в МТК тонкого кишечника, о чем свидетельствует увеличение уровня тирозина, не входящего в состав Инфезола40.

### Литература

1. Gut mucosal atrophy after a short enteral fasting period in critically ill patients / G. Hernandez [et al.] // J. Crit. Care. – 1999. – Vol. 14, № 2. – P. 73-77.
2. Салтанов, А. И. Современные требования к растворам аминокислот для парентерального питания в онкологии / А. И. Салтанов // Интенсивная терапия. – 2003. – № 5. – С. 6-22.
3. Schricker, T. Strategies to attenuate the catabolic response to surgery and improve perioperative outcomes / T. Schricker, R. Lattermann // Can. J. Anesth. – 2007. – Vol. 54, № 6. – P. 414-419.

4. Аминокислотный состав микробно-тканевого комплекса тонкого кишечника крыс при энтеральном введении смесей аминокислот / В. М. Шейбак, И. В. Николаева, О. Б. Островская, В. Ю. Смирнов, Д. А. Горшкова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т. 15, № 3. – С. 5-11.
5. 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 : Республиканская научная конференция по аналитической химии с международным участием : сборник тезисов докладов. – Минск, 2010. – С. 126.
6. Гриневич, В. Б. Современные представления о значении кишечного микробиоценоза человека и способы коррекции его нарушений / В. Б. Гриневич, М. М. Захарченко // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2003. – № 3. – С. 13-20.
7. Turner, J. R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease / J. R. Turner // Nat. Rev. Immunol. – 2009. – Vol. 9. – P. 799-809.
8. Bröer, S. Amino Acid Transport Across Mammalian Intestinal and Renal Epithelia / S. Bröer // Physiological Reviews Published. – 2008. – Vol. 88, № 1. – P. 249-286\
1. Hernandez G, Velasco N, Wainstein C, Castillo L, Bugeo G, Maiz A, Lopez F, Guzman S, Vargas C. Gut mucosal atrophy after a short enteral fasting period in critically ill patients. *J. Crit. Care.* 1999;14(2):73-77.
2. Saltanov AI. Sovremennye trebovaniya k rastvoram aminokislot dlja parenteralnogo pitaniya v onkologii. *Intensivnaja terapija.* 2003;5:6-22. (Russian).
3. Schrickler T, Lattermann R. Strategies to attenuate the catabolic response to surgery and improve perioperative outcomes. *Can. J. Anesth.* 2007;54(6):414-419.
4. Shejbak VM, Nikolaeva IV, Ostrovskaja OB, Smirnov VJu, Gorshkova DA. Aminokislотноy sostav mikrobnотканевого комплекса тонкого кишечника крыс при jентеральном введении смесей аминокислот. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoj medicinskoj akademii.* 2016;15(3):5-11. (Russian).
5. Doroshenko EM. Metodologicheskie aspekty i trudnosti analiza svobodnyh (fiziologicheskikh) aminokislot i rodstvennyh soedinenijah v biologicheskikh zhidkostjah i tkanjah. *Analitika RB-2010 : Respublikanskaja nauchnaja konferencija po analiticheskoj himii s mezhdunarodnym uchastiem : sbornik tezisov dokladov.* Minsk; 2010. p. 126. (Russian).
6. Grinevich VB, Zaharchenko MM. Sovremennye predstavlenija o znachenii kishechnogo mikrobiocenoza cheloveka i sposoby korrekcii ego narushenij. *Novye Sankt-Peterburgskie vrachebnye vedomosti.* 2003;3:13-20. (Russian).
7. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2009;9:799-809.
8. Bröer S. Amino Acid Transport Across Mammalian Intestinal and Renal Epithelia. *Physiological Reviews Published.* 2008;88(1):249-286.

### References

## DYNAMICS OF CHANGES IN FREE AMINO ACIDS CONCENTRATIONS IN THE MICROBIAL-TISSUE COMPLEX AFTER ADMINISTRATION OF INFESOL40 TO ANIMALS

*Sheibak V. M., Pauliukavets A. Yu., Smirnov V. Yu., Nikolayeva I. V., Sheibak L. N., Olekhnovich E. V.*

Educational Institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

*Infazol is a balanced meeting modern standards amino acid solution with low osmolarity, which makes it possible to use it for stimulating protein synthesis in complex treatment of a wide range of patients.*

*The aim of the study was to analyze the dynamics of changes in the spectrum of amino acids in the microbial-tissue complex (MTC) of rat small intestine after intragastric administration of Infazol40.*

*Material and methods. The experiment was carried out on 30 rats weighing 120-140 g, which were administered intragastrically Infazol40 at a dose of 20 ml/kg body weight. Decapitation was performed over 10, 20, 30 or 45 min, respectively. Determination of free amino acids in the microbial-tissue complex of the small intestine was performed by the reversed-phase HPLC method.*

*Results. Intragastric administration of Infazol40 lead to an increase in the total amount of proteinogenic amino acids in the MTC of the small intestine, which persisted for 45 minutes.*

*Conclusions. The introduction of the amino acid mixture modulates absorption processes from the intestinal lumen, resulting in a disproportionate increase in the concentration of phenylalanine, which in turn may stimulate biosynthetic processes in the small intestine MTC, as evidenced by an increase in the level of tyrosine which is not included in the composition of Infazol40.*

**Keywords:** *Infazol40, free amino acids, microbial-tissue complex of the small intestine.*

Поступила: 17.03.2017

Отрецензирована: 07.04.2017