

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ В ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШКАХ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ТРИТАРГА И ВИТАМИНА В₆

**Жмакин А.И., Павлюковец А.Ю.,
Смирнов В.Ю., Шейбак В.М.**

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра биологической химии
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии им. С. И. Гельберга

Актуальность. Слизистая оболочка кишечника находится в постоянном взаимодействии с огромным количеством микроорганизмов и биологически активных соединений. Лимфоидная ткань кишечника (пейеровы бляшки, аппендикс, регионарные лимфоузлы, собственная пластинка (*lamina propria*), эпителиальные клетки слизистой оболочки кишечника и интраэпителиальные лимфоциты) играет ключевую роль в развитии системного иммунного ответа организма. Структуры иммунной системы желудочно-кишечного тракта интегрированы в общую иммунную систему организма, в том числе вследствие способности иммуноцитов к миграции. Лимфоциты, праймированные антигеном в пейеровых бляшках, рекрутируются в регионарные лимфатические узлы, затем в грудной проток и вновь возвращаются в собственную пластинку, где осуществляется эффекторная стадия иммунного ответа (синтез антител и цитокинов). Продукция провоспалительных цитокинов в этих клетках запускает реакции со стороны других структур иммунной системы [1].

В настоящее время отдельные аминокислоты и их комбинации широко используются не только с заместительной целью, но и для целенаправленной метаболической коррекции. Регуляторные эффекты, вызываемые отдельными аминокислотами или их сочетанием, на уровне отдельных тканей и органов приводят к изменению общего содержания свободных аминокислот и их производных в плазме крови, что влияет на метаболизм организма в целом. Это проявляется изменением скорости экспрессии отдельных генов и трансляции белков, воздействием на конкурирующий транспорт соединений различного типа, физико-химические свойства мембран и т. д. [2]. Воздействие отдельных аминокислот на клетки иммунной системы (иммуномодуляторы) характеризуется изменением профиля секретируемых цитокинов, хемокинов и молекул клеточной адгезии. Выброс этих соединений в циркуляцию вызывает системные эффекты, которые, в зависимости от физиологической (патофизиологической) ситуации носят противовоспалительный или воспалительный характер.

Лимитирующим кофактором метаболизма аминокислот часто является тканевой дефицит коферментной формы витамина В₆ (пиридоксальфосфат). В качестве кофермента фосфопиридоксаль необходим для оптимальной активности аминотрансфераз, декарбоксилаз аминокислот, ферментов транссульфирования цистатионинсинтазы и цистатионинлиазы, ферментов кинуренинового пути метаболизма триптофана – кинурениназы и кинуренинтрансферазы. Таким образом, с участием витамина В₆ происходят реакции не-протеиногенного превращения аминокислот, приводящие к образованию широкого спектра соединений, во многом обеспечивающие регуляторно-метаболические эффекты экзогенно вводимых отдельных аминокислот и их смесей [3].

Представляется целесообразным изучение эффектов отдельных аминокислот или их композиций начинать с анализа изменений, происходящих в отдельных субпопуляциях клеток желудочно-кишечного тракта. Среди огромного массива клеток выделяются скопления лимфоидной ткани (пейеровы бляшки), которые инициируют эффекты иммунной системы на компоненты пищи.

Целью работы явился анализ влияния аминокислотно-микроэлементной композиции «тритарг» (аргинин, таурин, триптофан и цинка аспартат) и пиридоксинфосфата на свободные аминокислоты и их азотсодержащие метаболиты в пейеровых бляшках.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 30 белых-беспородных крысах массой 120-140 г. Животные были разделены на 4 группы: 1 – контрольная группа получала эквивалентное количество физиологического раствора, 2, 3, 4 – животные получали внутрижелудочно аминокислотно-микроэлементную композицию (аргинин, таурин, триптофан и цинка аспартат) в дозе 500 мг/кг массы +5мг/кг массы пиридоксинфосфата (тритарг В), в обоих экспериментах. Животных декапитировали через 1 ч, 3 ч после однократного и через 24 ч после 10-кратного введения композиций. Определение свободных аминокислот в пейеровых бляшках производили методом обращенно-фазной 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 обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Математическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты. Однократное внутрижелудочное введение аминокислотной композиции тритарг В в пейеровых бляшках через 1 ч увеличивало уровни аспартата (с 2581 ± 117 до 3220 ± 102 нмоль/г), глутамата (с 4452 ± 123 до 4942 ± 108 нмоль/г), тирозина (с 232 ± 11 до 345 ± 23 нмоль/г), γ -аминомасляной кислоты (с 281 ± 18 до 463 ± 31 нмоль/г) и орнитина (с 85 ± 5 до 104 ± 3 нмоль/г), одновременно снижало концентрации аспарагина (с 703 ± 38 до 575 ± 22 нмоль/г), серина (с 1042 ± 48 до 901 ± 24 нмоль/г), гистидина (с 189 ± 11 до 111 ± 15 нмоль/г), аланина (с 2996 ± 113 до 2578 ± 62 нмоль/г), валина (с 562 ± 34 до 470 ± 22 нмоль/г), лизина (с 495 ± 31 до 390 ± 27 нмоль/г), β -аминомасляной кислоты (с $52,5 \pm 3,16$ до $31,9 \pm 2,58$ нмоль/г).

Через 3ч после однократного введения тритарга В повышались концентрации аспартата (с 2581 ± 117 до 3181 ± 92 нмоль/г), фосфоэтаноламина (с 1592 ± 101 до 2019 ± 73 нмоль/г), треонина (с 1151 ± 98 до 1477 ± 87 нмоль/г), снижались уровни аспарагина (с 703 ± 38 до 565 ± 26 нмоль/г), серина (с 1042 ± 48 до 898 ± 26 нмоль/г), глутамина (с 1015 ± 52 до 762 ± 26 нмоль/г), этаноламина (с 249 ± 13 до 202 ± 15 нмоль/г), цистатионина (с 162 ± 10 до 109 ± 7 нмоль/г), β -аланина (с $52,45 \pm 3,16$ до $31,69 \pm 3,40$ нмоль/г).

Изменения содержания свободных аминокислот в пейеровых бляшках, вероятно, обусловлены стимуляцией синтеза белка (цитокиннов), а также о повышенной потребностью клеток в энергетических субстратах (особенно глутамине).

Курсовое введение тритарга В привело в пейеровых бляшках к повышению уровня орнитина (с 85 ± 5 до 114 ± 12 нмоль/г), γ -аминомасляной кислоты (с 281 ± 18 до 380 ± 19 нмоль/г), к снижению концентрации этаноламина (с 249 ± 13 до 188 ± 19 нмоль/г).

Следует отметить, что во все изучаемые сроки вводимые в составе композиции аминокислоты аргинин, таурин, триптофан не изменялись.

Выводы. Таким образом, несмотря на то, что как однократное, так и курсовое внутрижелудочное введение тритарга В не изменяет аминокислотный баланс в пейеровых бляшках, наблюдается стимуляция энергетического обмена (увеличение аминокислот-предшественников метаболитов цикла Кребса), наработка полиаминов (предшественник – орнитин) и падение концентраций аминокислот, аминокислотная группа которых используется в биосинтезе азотистых оснований (аспарагин, глутамин).

Литература

1. Brandtzaeg, P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. / P. Brandtzaeg // Scand J Immunol. – 2009. – Vol. 70. – P. 505-515.
2. Hulmi, J.J. Effect of protein/essential amino acids and resistance train-

ing on skeletal muscle hypertrophy: A case for whey protein. / Hulmi J.J., Lockwood C.M., Stout J.R. // Nutr Metab (Lond). – 2010. – Vol. 7. – P. 51.

3. Leuendorf J.E. Vitamin B6: A Long Known Compound of Surprising Complexity / Leuendorf J.E., Hendrickson C., Hellmann H. // Molecules. – 2009. – Vol. 14. – P. 329-351.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Козлова А.И., Тапальский Д.В.

Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Актуальность. *Klebsiella pneumoniae* является одним из основных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В настоящее время известны две эволюционные ветви клебсиелл: классические *Klebsiella pneumoniae* (сКР – classical *K. pneumoniae*) и гипервирулентные *Klebsiella pneumoniae* (hвКР – hypervirulent *K. pneumoniae*). Группа сКР характеризуется быстрым накоплением различных детерминант устойчивости к антибиотикам. Большинство классических полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*, выделяемых от госпитализированных пациентов, являются продуцентами β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и/или карбапенемаз в комбинации с резистентностью к фторхинолонам и аминогликозидам. Группа hвКР обладает обширным набором факторов вирулентности. Характерным признаком большинства штаммов hвКР является гипермукоидность, выявляемая с помощью string-теста [1]. Изучение биологических свойств hвКР установило их способность продуцировать капсульный полисахарид (КПС), принадлежность к K1, K2, K5, K20, K54 и K57 серотипам, наличие генов вирулентности (*gmpA*, *magA*, *uge2*, *fimH*, *allS*, *kfu*, *wabG*, *iucA*, *iroN*, *terB* и других), а также большую устойчивость к бактерицидной активности комплемента и нейтрофилов. Антибиотикорезистентность большинства гипервирулентных *K. pneumoniae* остается на низком уровне, однако в настоящее время в мире уже описаны единичные штаммы hвКР, обладающие повышенным уровнем резистентности к антибиотикам (БЛРС- или карбапенемаза-продуцирующие штаммы), что может представлять серьезную угрозу для общества [2].

Цель. Сравнение биологических свойств классических и гипервирулентных клинических изолятов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 153 клинических изолята *K. pneumoniae*, выделенных в 2013-2017 гг. от