

УДК 577.152.3

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОГО В₁ГИПОВИТАМИНОЗА
НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ НЕОКИСЛИТЕЛЬНОГО ЗВЕНА
ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ЦИКЛА

Кубышин В. Л., Томашева Е. В.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

Эндогенный дефицит тиамин вызывает, прежде всего, снижение активности ТДФ-зависимых ферментов. Наиболее ранние признаки В₁-гиповитаминозного состояния у животных распознают по снижению активности транскетолазы (ТК) в эритроцитах, которая, по мнению некоторых авторов, определяет тиаминный статус тканей животных [1]. Транскетолаза представляет собой сложный фермент, структура которого состоит из двух идентичных субъединиц, связанных двумя молекулами тиаминдифосфата (ТДФ), выполняющего роль кофермента. В этой связи внутриклеточный уровень тиамин является одним из факторов, определяющим ферментативную активность ТК.

Обеспеченность организма витамином В₁ и явления, вызванные нарушением обмена тиамин, остаются актуальны по сегодняшний день.

Цель данной работы заключалась в изучении регуляции активности ТК в зависимости от обеспеченности фермента тиамином.

Активность ТК и других ферментов ПФП (р-5-фи, риб-5-фэ, НАДН-оксидазы) в печени животных определяли спектрофотометрически при длине волны 340 нм по скорости окисления НАДН в сопряженных реакциях с использованием α -глицерофосфатдегидрогеназы, ТФИ, («Реанал», Венгрия), пентозофосфатметаболизирующих ферментов и выражали в микромолях НАД⁺, концентрация которого изменялась в реакционной среде за 1 минуту при 30°C [2]. Активность неокислительных ферментов ПФП определяли в условиях скорости лимитирующих сопряженных реакций. Белых беспородных крыс содержали на обычном рационе вивария, бестиаминовой диете и бестиаминовой диете+тиамин. Длительность эксперимента 10, 20, 30 суток соответственно. Инъекции тиаминазы, выделенной по методу [3], осуществляли белым беспородным крысам внутривенно в общей дозе 1.5 ед. с двухразовым введением с интервалом 72 часа.

У животных, содержащихся на бестиаминовой диете в течение десяти дней, активность ТК снизилась \approx на 15%. При более длительном содержании в аналогичных условиях активность фермента снизилась до \approx 30%, на фоне недостоверного изменения активности рибозо-5-фосфатизомераз и рибулозо-5-фосфатэпимеразы.

Таблица – Активность ферментов неокислительной ветви ПФП в зависимости от содержания животных на бестиаминовой и обогащенной тиамином диете. Ферментативная активность, мкмоль/мин/г ткани

Условия эксперимента	НАДН-оксидаза	ТК	Р-5-ФИ	Риб-5-ФЭ
Обычн. рацион (10 сут)	0,95±0,047	1,9±0,095	17,6 ±0,88	23,2 ±1,16
Бестиамин. рацион(10 сут)	0,40 ±0,02	1,6 ±0,08*	20,0 ±1	27,8 ±1,39
Диета + тиамин (10 сут)	0,48 ±0,024	2,3 ±0,115*	21,5 ±1,07	23,5 ±1,17
Обычн. рацион (20 сут)	0,72 ±0,036	1,9 ±0,095	19,4 ±0,97	22,8 ±1,14
Бестиамин.рацион(20 сут)	0,62 ±0,031	1,3 ±0,065	18,6 ±0,93	28,7 ±1,43
Диета + тиамин (20 сут)	0,75 ±0,037	2,1 ±0,105*	20,0 ±1	24,2 ±1,21
Диета + тиамин (30 сут)	0,41 ±0,02	2,3 ±0,115*	20,4 ±1,02	28,2 ±1,41

* $P < 0,05$

Содержание животных на диете, обогащенной тиамином, привело к увеличению активности ТК в течение 10 суток на 40-44%. Эта величина не зависела от длительности эксперимента, что, вероятно, характеризует насыщение ТК тиамином, а также влияние тиамин на биосинтез апо-ТК.

В экспериментах *in vitro* в течение 36 часов действия сверхвысоких доз антимаболита (400 мг/кг массы животного) активность ТК снизилась почти на 50% по сравнению с контрольной группой животных. Инактивация ТК характеризуется максимальным насыщением апофермента

антикоферментом к 24 часам. Более длительное воздействие антиметаболита, в условиях насыщения, вызывало снижение активности фермента до 60% от величин контрольных животных.

Инъекции тиаминазы-1 приводили к снижению активности фермента (1.40 ± 0.11 – контроль; 0.68 ± 0.04 мкмоль/мин – опыт), что соответствует 144 часам, в течение которых активность фермента снизилась на 50%, что приближается к времени полужизни белковой части фермента, по разным данным: 192 [6] и 161 часов [4], и время полуобновления кофермента – 153 часа [5].

Наблюдаемые кинетические характеристики снижения активности ТК в независимых экспериментах устанавливают различные механизмы инактивации фермента. При пищевом и тиаминазном гиповитаминозе снижение активности фермента происходит за счет уменьшения уровня свободного тиамина в тканях животных. При окситиаминном гиповитаминозе наблюдается усиление деградации модифицированного ОТ фермента, а также и возможной конкуренции ОТДФ и ТДФ за активные центры на холо-ТК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wood, T. The pentose phosphate pathway // – O.: Academic Press, 1985. – 204p.
2. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. // – М: Высшшпк, 1980. – С.90–92.
3. Пузач С. С. Выделение и некоторые свойства тиаминазы-1 // Лаб.дело 1982 – №9. – С. 540-542.
4. Горбач В. В. Специфические и метаболитные эффекты окситиамина // Укр. биохим. журнал. – 1981. – Т. 53. – № 6. – С. 69-74.
5. Egan, R.M. Transketolase kinetics. The slow reconstitution of the holoenzyme is due to rate-limiting dimerization of the subunits / R.M. Egan, Y.Z. Sable // J. Biol. Chem. – 1981. – Vol. 256, № 10. – P. 4877–4883.
6. Внутрислеточный синтез и распад транскетолазы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы печени крысы / Ю. М. Островский [и др.] // Доклады АН БССР. – 1983. – Т. 27. – № 4. – С. 375-377.