Матэрыяльныя ўмовы жыцця. Біяхімія. Малекулярная біялогія. Біяфізіка

УДК 577.164.11:612.82

Т. Г. Кудырко, Т. Л. Лучко, И. К. Колос, И. М. Русина, В. А. Гуринович, А. Ф. Макарчиков

МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНА B_1 В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И ГИПОКСИИ-РЕОКСИГЕНАЦИИ

Во введении отмечена связь гипоксии с патогенезом различных заболеваний, изложены представления о возможном участии витамина B_1 в биохимических механизмах адаптации при гипоксии. Цель работы состояла в исследовании содержания производных тиамина в головном мозге крыс при острой гипобарической гипоксии и гипоксии-реоксигенации. В основной части представлены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что острая 4-минутная гипоксия, вызванная «подъемом» крыс на высоту 11000 м, не приводит к существенным изменениям концентраций производных тиамина в ткани головного мозга. В то же время содержание тиаминдифосфата в мозге крыс, испытавших гипоксию-реоксигенацию, на 14 % выше ($p < 0,01$), чем у контрольных животных, и на 15 % выше, чем в группе «гипоксия». Уровень тиаминтрифосфата (ТТФ) в головном мозге крыс после гипоксии-реоксигенации вырос на 44 % ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 28 % ($p < 0,01$) относительно животных с гипоксией. В клетках головного мозга животных, переживших эпизод острой гипобарической гипоксии, уже через несколько минут происходит усиление процессов фосфорилирования тиамина; при этом также повышается суммарное содержание витамина B_1 по сравнению с контрольной группой. На основании анализа литературных данных сделан вывод о том, что рост концентрации ТТФ в головном мозге крыс при гипоксии-реоксигенации является следствием метаболической адаптации его клеток к недостатку кислорода. В заключении отмечено, что результаты работы способны послужить фундаментом для дальнейших поисков некоферментной функции тиамина и оценки возможностей применения витамина B_1 в качестве средства, обладающего антигипоксическим действием.

Ключевые слова: метаболизм витамина B_1, производные тиамина, гипобарическая гипоксия, гипоксия-реоксигенация, головной мозг крысы.

Введение. Гипоксия сопровождает течение широкого круга заболеваний (ишемическая болезнь сердца, нарушения функций мозга, печени, почек, легких, апноэ и др.), нередко определяя их исход. Гибель клеток и повреждения тканей, обусловленные низким производством энергии в митохондриях в результате развивающейся гипоксии, являются важнейшим фактором патогенеза критических состояний организма (инфаркт миокарда, инсульт, остановка кровообращения, травмы, кровопотери, шок). В таких случаях ситуация может усугубляться тем, что приток кислорода в клетку после ишемического эпизода вызывает

Кудырко Татьяна Геннадьевна, ст. преподаватель каф. химии ГГАУ (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно, Беларусь; e-mail: tatyana5882263@mail.ru

Лучко Татьяна Александровна, науч. сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики ИББАС НАН Беларуси (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Беларусь; e-mail: office@bioch.bas-net.by

Колос Ирина Казимировна, ассистент кафедры химии ГГАУ (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно, Беларусь; e-mail: kolosik_2210@mail.ru

Русина Ирина Михайловна, канд. биол. наук, доц., доц. каф. технологии хранения и переработки растительного сырья ГГАУ (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно, Беларусь; e-mail: rimih_2010@mail.ru

Гуринович Валерий Александрович, канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник отдела витаминологии и нутрицевтики ИББАС НАН Беларуси (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Беларусь; e-mail: gva77@list.ru

Макарчиков Александр Фёдорович, д-р биол. наук, доц., зав. каф. химии ГГАУ (Беларусь).
Адрес для корреспонденции: ул. Терешковой, 28, 230008, г. Гродно, Беларусь; e-mail: a_makarchikov@yahoo.com

© «Гродзенскі дзяржаўны ўніверсітэт імя Янкі Купалы», 2019

усиленное образование свободных радикалов; как следствие реоксигенации развивается сильный окислительный стресс, приводящий к еще большим поражениям ткани. Хорошо известно, что основной формой витамина B_1, которая присутствует в клетках млекопитающих, является ТДФ, выполняющий коферментные функции. Наряду с ТДФ в клетке содержится нефосфорилированный тиамин, ТМФ и в очень низких концентрациях – ТТФ и АТТФ, биохимическая роль которых в настоящее время не установлена. Данные, полученные на *E. coli*, указывают на возможное участие АТТФ и ТТФ в сигнальных либо регуляторных механизмах; в частности, было показано, что концентрация ТТФ в бактериальной клетке возрастает при гипоксии [1; 2]. В связи с этим не исключено, что система метаболизма тиамина вовлечена в регуляцию внутриклеточных процессов при гипоксии посредством некоферментного механизма. В ряде исследований была также продемонстрирована способность производных тиамина служить непосредственными скэвенджерами свободных радикалов [3]. Влияние гипоксии и гипоксии-реоксигенации на метаболизм витамина B_1 практически не изучалось, в связи с чем отсутствуют четкие представления о молекулярных механизмах, в которых могли бы быть задействованы производные тиамина при данных состояниях клетки.

Цель данной работы заключалась в исследовании содержания витамина B_1 в головном мозге крыс при гипобарической гипоксии и гипоксии-реоксигенации.

Материалы и методы исследований. Гипоксию моделировали на крысах-самцах массой 210–230 г путем имитации подъема животных в замкнутой камере в течение 3 мин на 11 000 м с 4-минутной задержкой на высоте и резким «спуском» за 45 с. Для реоксигенации осуществлялся спуск продолжительностью 7 мин. Каждая группа включала по 6 животных.

Содержание производных тиамина в ткани головного мозга крыс определяли методом ион-парной обращенно-фазовой ВЭЖХ [4], идентифицируя пики по времени удерживания соответствующих стандартов. Образцы мозга гомогенизировали в 5 объемах охлажденной до +4 °С 12 % ТХУ в гомогенизаторе со стеклянным пестиком 10 циклами и центрифугировали 5 мин при 15 000 g. Для удаления кислоты супернатант обрабатывали трехкратным объемом насыщенного водой эфира, повторяя экстракцию 3 раза. Перед инжекцией в хроматограф пробы окисляли с помощью 4,3 мМ феррицианида калия в 15 % КОН. Разделение осуществлялось на хроматографе Agilent 1100 при скорости потока 0,5 мл/мин на аналитической колонке PRP-1 (Ø 4,1 × 150 мм, поли(стирол-дивинилбензол), размер частиц 5 мкм; Hamilton Co) с протекторным колоночным картриджем (Ø 2,3 × 25 мм). Мобильная фаза состояла из 50 мМ К-фосфатного буфера, pH 8,5, содержащего 25 мМ тетра-*н*-бутиламмонийгидрогенсульфат и 4 % тетрагидрофурана. Производные тиохрома детектировали по флуоресценции при длине волны возбуждения 365 нм, эмиссии – 433 нм.

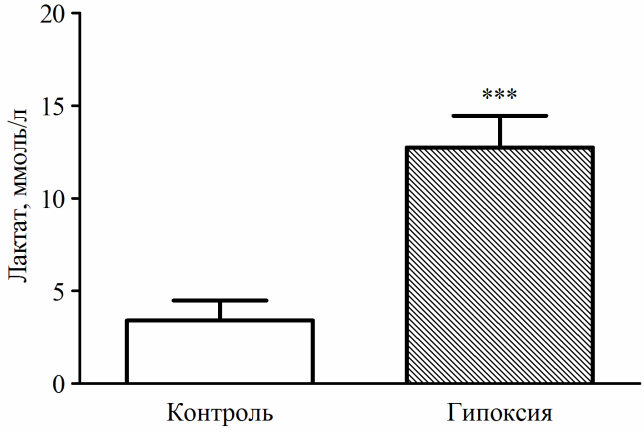
Концентрацию глюкозы в крови измеряли глюкозооксидазным методом с помощью набора «Глюкоза ФС “ДДС”» (ЗАО «Диакон-ДС», Россия).

Концентрацию лактата в крови определяли ферментативным методом с помощью ЛДГ из свиной мышцы. Инкубационная смесь для определения лактата включала 0,085 М глицин–0,128 М гидразиновый буфер, pH 9,0, 0,5 мМ $НАД^+$, 0,02 мл фермента и 0,02 мл обработанной крови в общем объеме 1,02 мл. Реакцию проводили при 37 ºС до прекращения роста оптической плотности при 340 нм (время инкубации – 60 мин). Концентрацию лактата рассчитывали по калибровочному графику, построенному с известными количествами молочнокислого кальция.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы GraphPad Prism 5.0, достоверность разности оценивали, применяя t-критерий Стьюдента.

В работе использованы ТДФ «AppliChem»; ТМФ «Fluka»; сефадекс G-10 «Pharmacia»; SP-сефадекс C-25, DEAE-сефадекс A-25, ТХУ «SigmaAldrich»; тиамин, тетра-*н*-бутиламмоний гидрогенсульфат «Acros Organics»; тетрагидрофуран «Fisher»; $НАД^+$, ЛДГ «Reanal»; остальные реагенты производства «Реахим» квалификаций ч.д.а и х.ч. Химический синтез и очистку ТТФ осуществляли, как описано в работе И. П. Черникевич с соавторами [5].

Результаты и обсуждение. О развитии гипоксии судили по уровню молочной кислоты в сыворотке крови. Как показано на рисунке 1, концентрация лактата в крови животных опытной группы по сравнению с контролем возрастала в 3,7 раза.



Пояснение: *** – $p < 0{,}001$ (M ± SD, $n = 6$).

Рисунок 1 – Концентрация лактата в крови животных контрольной и опытной групп

Данные о влиянии гипоксии и гипоксии-реоксигенации на содержание производных тиамина в головном мозге экспериментальных животных представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание производных тиамина в органах и тканях крыс при гипобарической гипоксии и гипоксии-реоксигенации (M ± SD, $n = 6$)

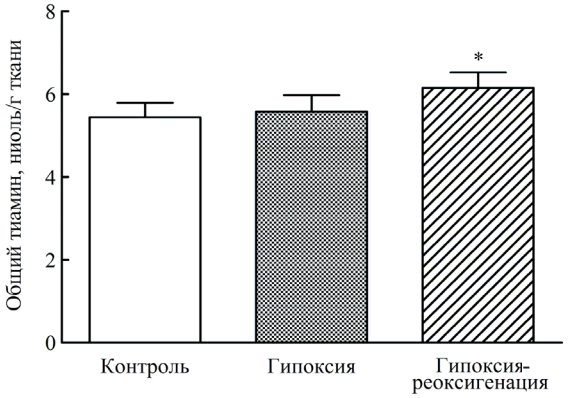
Группа	Производные тиамина, нмоль/г ткани			
	Тиамин	ТМФ	ТДФ	ТТФ
Контроль	0,20 ± 0,04	0,37 ± 0,07	4,86 ± 0,34	0,016 ± 0,002
Гипоксия	0,19 ± 0,04	0,36 ± 0,12	4,80 ± 1,19	0,018 ± 0,002
Гипоксия-реоксигенация	0,24 ± 0,05	0,35 ± 0,08	5,53 ± 0,31 **	0,023 ± 0,002 ***,##
Примечание: * – $p < 0{,}05$; ** – $p < 0{,}01$; *** – $p < 0{,}001$ по сравнению с контролем; ## – $p < 0{,}01$ по сравнению с гипоксией.				

Анализируя полученные результаты, можно сказать, что в условиях данной модели острая 4-минутная гипоксия не приводила к существенным изменениям концентраций производных тиамина в ткани головного мозга. В то же время, как видно из таблицы 1, содержание ТДФ в мозге крыс, испытавших гипоксию-реоксигенацию, на 14 % выше ($p < 0{,}01$), чем у контрольных животных, и на 15 % выше, чем в группе «гипоксия». Уровень ТТФ в головном мозге крыс после гипоксии-реоксигенации вырос на 44 % ($p < 0{,}001$) по сравнению с контролем и на 28 % ($p < 0{,}01$) относительно животных с гипоксией.

Хотя визуально различия в концентрациях ТДФ между экспериментальными группами не выглядят значительными, следует иметь в виду, что они касаются изменений концентрации свободного ТДФ. По некоторым данным [6], доля несвязанного с белками ТДФ, формирующего быстро оборачиваемый пул (t = 1–3 ч), в головном мозге крысы составляет лишь 5–10 % от общего содержания кофермента; оставшаяся его часть (90–95 %) находится в протеидизированной форме (интегрирована в состав ТДФ-зависимых ферментов), образуя пул со временем оборота 6–20 ч. Учитывая это, несложно рассчитать, что концентрация свободного ТДФ, служащего субстратом для биосинтеза ТТФ, должна увеличиваться в головном мозге крыс при гипоксии-реоксигенации в 2,3–3,6 раза. Так как временной интервал, по ходу которого имели место выявленные изменения, весьма непродолжителен (14 мин), единственное разумное их объяснение, по-видимому, состоит в том, что при гипоксии-реоксигенации усиливается транспорт тиамина через гемато-энцефалический барьер посредством белков-

переносчиков ThTr1 и ThTr2 с последующим его быстрым фосфорилированием в цитозоле клеток тиаминпирофосфокиназой.

На данном этапе исследований интерпретация наблюдаемого феномена в терминах биохимических механизмов представляется весьма затруднительной. Прежде всего, неясно, каким фактором обусловлены обнаруженные различия – реоксигенацией либо собственно гипоксией. Возможно, что рост содержания производных тиамина в ткани мозга связан с активацией свободнорадикальных процессов на фоне притока кислорода. Нельзя также исключить, что здесь имеет место адаптационный ответ на недостаток кислорода, развивающийся в силу инерционности системы внутриклеточной регуляции не мгновенно, а с некоторой задержкой. В любом случае очевидно, что в клетках головного мозга животных, переживших эпизод острой гипобарической гипоксии, уже через несколько минут происходит усиление процессов фосфорилирования тиамина; при этом также повышается суммарное содержание витамина B_1 по сравнению с контрольной группой (рисунок 2).



Пояснение: * – $p < 0{,}05$ по сравнению с контролем (M ± SD, $n = 6$).

Рисунок 2 – Влияние острой гипоксии и гипоксии-реоксигенации на уровень общего тиамина в головном мозге крыс

Биохимическая роль производных тиамина, за исключением ТДФ, выполняющего коферментные функции, в настоящее время неизвестна. Вместе с тем данные, полученные на простейшем модельном организме – бактерии *E. coli*, дают почву для рассуждений о возможном участии ТТФ и АТТФ в краткосрочной адаптации клетки к изменениям условий внешнего окружения. В частности, было показано, что концентрация ТТФ, в норме в бактериальных клетках практически отсутствующего, многократно возрастает при гипоксии и переносе культуры из богатой питательной среды в минимальную, содержащую глюкозу, пируват или некоторые интермедиаты цикла трикарбоновых кислот [7]. Если же культуру *E. coli* перенести из богатой LB-среды в минимальную среду M9 без источника углерода, в клетке начинает активно синтезироваться АТТФ, концентрация которого может достигать 15 % от общего содержания витамина B_1 [1]. Все это является указанием на то, что ТТФ и АТТФ присущи сигнальные либо регуляторные функции. Особого внимания, на наш взгляд, заслуживает возможная связь ТТФ с метаболизмом глюкозы. О наличии такой связи свидетельствует анализ научной литературы, касающейся содержания ТТФ в биологических объектах. Это производное тиамина было впервые выявлено A. Rossi-Fanelli и др. [8] в 1952 г. в печени крысы. Дальнейшие исследования показали, что ТТФ широко распространен в живых организмах – дрожжах, бактериях, растениях и тканях животных [9–11]. Однако возможность получить надежные данные о его количестве в различных объектах живой природы приобрела реальные черты лишь в конце 1970-х гг. с внедрением в практику биохимических исследований метода ВЭЖХ, позволившего разделять производные тиамина и флуоресцирующие примеси, которые мешают проведению анализа [12]. Из всех

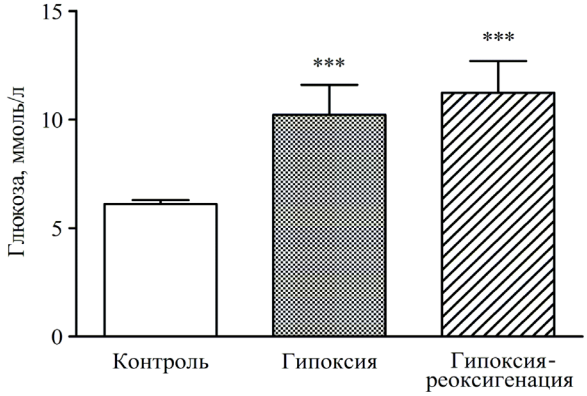
работ, цель которых заключалась в определении концентрации ТТФ в биологическом материале, непосредственный интерес применительно к обсуждаемому здесь вопросу представляют исследования, результаты которых изложены в статьях [4; 13–15].

T. Matsuda и др. [13] установили, что у нескольких видов млекопитающих концентрация ТТФ в быстрой мышце (*m. extensor digitorum longus*), построенной в основном из гликолитических волокон, значительно выше по сравнению с медленной мышцей (*m. soleus*), в которой преобладают волокна окислительного типа. В процессе индивидуального развития крысы отмечались разнонаправленные изменения системы метаболизма тиамина в мышечных фенотипах. У двухнедельных животных не было выявлено сколько-нибудь существенных различий между *m. soleus* и *m. extensor digitorum longus* по активности ОГДК и концентрациям тиаминфосфатов. Однако в процессе дальнейшего роста имела место дивергенция большинства исследуемых показателей, при этом к шестой неделе жизни активность ОГДК, концентрации ТДФ и ТМФ в *m. soleus* увеличились соответственно в 2,1, 1,9 и 1,7 раза, тогда как в *m. extensor digitorum longus* подобные изменения практически отсутствовали. Концентрация ТТФ, наоборот, в быстрой мышце возрастала в 7 раз, а в медленной – только в 1,6 раза [14]. Хотя сами авторы каких-либо определенных выводов не сделали, на наш взгляд, вполне очевидно, что все эти изменения сопутствуют дифференциации мышечных волокон в процессе онтогенеза на гликолитические и окислительные [16]. В работах L. Bettendorff и др. [4; 15] приведены результаты исследований, свидетельствующие о различиях в концентрации ТТФ в клетках нейронального и глиального происхождения. По данным ВЭЖХ в первичной культуре гранулярных клеток мозжечка крысы содержание ТТФ в 5 раз выше, чем в культуре астроцитов коры полушарий [15], и это рассматривается как свидетельство особой роли ТТФ в функциональной активности нейронов. Данный феномен, однако, можно объяснить и по-другому, тем, что среда для культивирования гранулярных клеток содержала инсулин, глюкозу и пируват вместо лошадиной сыворотки. С позиций взаимосвязи ТТФ с метаболизмом глюкозы может также найти объяснение тот факт, что концентрации ТТФ в культурах нейробластомы и глиомы в 3–6,9 раза выше, чем в первичных культурах нейронов и астроцитов [4]. Действительно, для опухолевых клеток гликолиз даже в присутствии кислорода служит основным источником энергии [17].

Одним из физиологических эффектов острой гипоксии является повышение уровня глюкозы в крови. Так, например, по данным Rafacho и др. [18] концентрация сывороточной глюкозы у крыс, подвергнутых острой прерывистой гипоксии (10 эпизодов изобарической гипоксии (6 % O_2 в дыхательной смеси O_2/N_2) по 45 с, перемежающихся с 5-минутным интервалами нормоксии) на фоне 12–14 ч голодания, возрастает на 24 % (с 5,37 до 6,67 ммоль/л). Более выраженная гипергликемия имела место у крыс в проведенной нами модели острой гипобарической гипоксии и гипоксии-реоксигенации. Как видно на рисунке 3, после имитации подъема животных на высоту 11 000 м и пребывания на ней в течение 4 мин уровень глюкозы в сыворотке крови увеличился на 68 % ($p < 0{,}001$). В еще большей степени этот показатель возрастал в группе «гипоксия-реоксигенация» – на 84 % ($p < 0{,}001$). Кажется вполне очевидным, что быстрый всплеск концентрации глюкозы в крови обусловлен физиологическим адаптационным механизмом, который реализуется на уровне организма и направлен на поддержание энергопродукции в тканях, наиболее зависимых от парциального давления кислорода, усиливая к ним приток энергетического субстрата. Прежде всего, это касается головного мозга, чувствительность которого к недостатку O_2 в 5–7 раз выше по сравнению, например, с печенью или почками и в 20–30 раз выше по сравнению со скелетными мышцами [19]. В норме энергетический метаболизм мозга, как известно, практически всецело зависит от его снабжения глюкозой, транспортируемой в кровь из желудочно-кишечного тракта после приемов пищи или образующейся в печени в процессе глюконеогенеза из неуглеводных субстратов. В условиях острой гипоксии источником дополнительных количеств глюкозы, поступающих в кровяное русло, служит активация гликогенолиза в печени [18].

По современным представлениям, на клеточном уровне развитие гипоксии активирует транскрипционные факторы HIF-1 и HIF-2, результатом чего является индукция экспрессии ферментов гликолиза, транспортеров глюкозы и ряда других генных продуктов, повышающих

выживаемость в гипоксическом окружении [20]. Рост концентрации ТТФ в головном мозге крыс при гипоксии-реоксигенации, надо полагать, также является следствием метаболической адаптации его клеток к недостатку кислорода. По крайней мере, такое предположение согласуется с уже существующими экспериментальными данными в рамках концепции о роли ТТФ в регуляции энергетического обмена [7].



Пояснение: *** – $p < 0{,}001$ по сравнению с контролем (M ± SD, $n = 6$).

Рисунок 3 – Влияние острой гипоксии и гипоксии-реоксигенации на уровень глюкозы в головном мозге крыс

Заключение. Подводя итог изложенному выше, хотелось бы отметить, что в настоящей работе впервые представлены результаты, свидетельствующие об изменениях концентрации ТТФ в головном мозге животных при физиологических условиях, отличных от нормы. Рост содержания ТТФ в ткани головного мозга при гипоксии-реоксигенации может указывать на связь ТТФ с утилизацией клетками глюкозы. Эти результаты, на наш взгляд, способны послужить основой для дальнейших поисков биохимической роли тиамина, не относящейся к его коферментным функциям. Перспективной также представляется оценка в моделях на животных возможности использования витамина B_1 в качестве средства, обладающего антигипоксическим действием.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

АТТФ – аденозин-тиаминтрифосфат, АТФ – аденозинтрифосфат, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, ЛДГ – лактатдегидрогеназа, НАД$^+$ – никотинамидадениндинуклеотид, ОГДК – оксоглутаратдегидрогеназный комплекс, ТМФ – тиаминмонофосфат, ТДФ – тиаминдифосфат, ТТФ – тиаминтрифосфат, ТХУ – трихлоруксусная кислота.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Discovery of a natural thiamine adenine nucleotide / L. Bettendorff [et al.] // Nat. Chem. Biol. – 2007. – Vol. 3, No. 4. – P. 211–212.

2. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / A. F. Makarchikov [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60, No. 7. – P. 1477–1488.

3. Окисленные производные тиамина: образование, свойства, биологическая роль / Ю. М. Пархоменко [и др.]. // Укр. биохим. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 5–24.

4. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method / L. Bettendorff [et al.] // Anaytical Biochemistry. – 1991. – Vol. 198, No. 1. – P. 52–59.

5. Синтез, очистка и стабилизация тиаминтрифосфата / И. П. Черникевич [и др.] // Доклады АН БССР. – 1990. – Т. 34, № 3. – С. 274–278.

6. *Bettendorff, L.* Thiamine derivatives in excitable tissues: metabolism, deficiency and neurodegenerative diseases / L. Bettendorff, P. Wins // Recent Res. Devel. Neurochem. – 1999. – Vol. 2, Pt. 1. – P. 37–62.

7. *Макарчиков, А. Ф.* Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина B_1 / А. Ф. Макарчиков. – Минск : Белорус. наука, 2008. – 433 с.

8. *Rossi-Fanelli, A.* On the presence of triphosphothiamine (TPT) in the liver / A. Rossi-Fanelli, N. Siliprandi, P. Fasella // Science. – 1952. – Vol. 116, No. 3026. – P. 711–713.

9. *Yusa, T.* Thiamine triphosphate in yeasts and some plant materials / T. Yusa // Plant Cell Physiol. – 1961. – Vol. 2, No. 4. – P. 471–474.

10. *Rossi-Fanelli, A.* On the distribution and transformation of thiamine and its phosphoric esters in biological material / A. Rossi-fanelli, P. L. Ipata, P. Fasella // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1961. – Vol. 4, No. 1. – P. 23–27.

11. *Rindi, G.* The content of thiamine and its mono-, di-and triphosphoric esters in different biological materials / G. Rindi, L. De Giuseppe // Int. Z. Vitaminforsch. – 1961. – Vol. 31, No. 3. – P. 321–326.

12. *Sanemori, H.* Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of thiamine phosphate esters at subpicomole levels / H. Sanemori, H. Ueki, T. Kawasaki // Analytical Biochemistry. – 1980. – Vol. 107, No. 2. – P. 451–455.

13. Difference in thiamine metabolism between extensor digitorum longus and soleus muscles / T. Matsuda [et al.] // Comp. Biochem. Physiol. – 1989. – Vol. 94B, No. 2. – P. 399–403.

14. Postnatal development of thiamine metabolism in rat skeletal muscle / T. Matsuda [et al.] // Int. J. Biochem. – 1991. – Vol. 23, No. 2. – P. 203–206.

15. *Bettendorff, L.* Thiamine triphosphate activates an anion channel of large unit conductance in neuroblastoma cells / L. Bettendorff, H.-A. Kolb, E. Schoffeniels // J. Membrane Biol. – 1993. – Vol. 136, No. 3. – P. 281–288.

16. Postnatal muscle fibre histochemistry in the rat / K. W. Ho [et al.] // J. Embryol. Exp. Morphol. – 1983. – Vol. 76. – P. 37–49.

17. *Бышевский, А. Ш.* Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. А. Терсенов. – Екатеринбург : Уральский рабочий, 1994. – 384 с.

18. Glucose homoeostasis in rats exposed to acute intermittent hypoxia / A. Rafacho [et al.] // Acta Physiol (Oxf). – 2013. – Vol. 209, No. 1. – P. 77–89.

19. *Leach, R. M.* ABC of oxygen: Oxygen transport – 2. Tissue hypoxia / R. M Leach, D. F. Treacher // BMJ. – 1998. – Vol. 317, No. 7169. – P. 1370–1373.

20. Cellular and molecular mechanisms in the hypoxic tissue: role of HIF-1 and ROS / A. B. Zepeda [et al.] // Cell Biochem. Funct. – 2013. – Vol. 31, No. 6. – P. 451–459.

Поступила в редакцию 13.03.19.

"Vesnik of Yanka Kupala State University of Grodno. Series 5. Economics. Sociology. Biology"
Vol. 9, No. 2, 2019, pp. 142–149
© Yanka Kupala State University of Grodno, 2019

Metabolism of vitamin B_1 in rat brain under hypobaric hypoxia and hypoxia-reoxygenation

T. G. Kudyrko [1], T. A. Luchko [2], I. K. Kolos [3], I. M. Rusina [4], V. A. Gurinovich [5], A. F. Makarchikov [6]

[1] *Grodno State Agrarian University (Belarus)*
Tereshkovoi St., 28, 230008, Grodno, Belarus; e-mail: tatyana5882263@mail.ru

[2] *IBBAC of the NAS of Belarus (Belarus)*
BLC, 50, 230030, Grodno, Belarus; e-mail: office@bioch.bas-net.by

[3] *Grodno State Agrarian University (Belarus)*
Tereshkovoi St., 28, 230008, Grodno, Belarus; e-mail: kolosik_2210@mail.ru

[4] *Grodno State Agrarian University (Belarus)*
Tereshkovoi St., 28, 230008, Grodno, Belarus; e-mail: rimih_2010@mail.ru

[5] *IBBAC of the NAS of Belarus (Belarus)*
BLC, 50, 230030, Grodno, Belarus, Belarus; e-mail: gva77@list.ru

[6] *Grodno State Agrarian University (Belarus)*
Tereshkovoi St., 28, 230008, Grodno, Belarus; e-mail: a_makarchikov@yahoo.com

Abstract. The introduction notes the relation of hypoxia to pathogenesis of various diseases, outlines a view on a possible role of vitamin B_1 in biochemical adaptation under hypoxia. The purpose of the work is studying thiamine metabolism in rat brain under hypobaric hypoxia and hypoxia-reoxygenation. The main part presents experimental data indicating that acute 4-minute hypoxia caused by the "rise" of rats to an altitude of 11 000 m does not lead to significant changes in the concentrations of thiamine derivatives in brain tissue. At the same time, the content of thiamine diphosphate in the brain of rats subjected to hypoxia-reoxygenation was 14 % higher ($p < 0.01$) as compared to control animals, and 15 % higher than in the group with hypoxia. The level of thiamine triphosphate (ThTP) in the brain of rats after hypoxia-reoxygenation was raised by 44 % ($p < 0.001$) and 28 % ($p < 0.01$) as compared to the control group and hypoxic rats, respectively. In the brain cells of animals that

have experienced an episode of acute hypobaric hypoxia in a few minutes there is an increase in the processes of phosphorylation of thiamine; the total content of vitamin B_1 is also increased as compared to the control group. Based on literature analysis, it is concluded that ThTP concentration raising in rat brain under hypoxia-reoxygenation is due to metabolic adaptation of brain cells to oxygen deficiency. The conclusion notes that the results of the work are to be a basis for further searches in the field of a non-coenzyme function of thiamine, and also to evaluate the possibilities of vitamin B_1 using as an antihypoxic medicine.

Keywords: vitamin $B_{1,}$ thiamine derivatives, hypobaric hypoxia, hypoxia-reoxigenation, rat brain.

References

1. Bettendorff L. [et al.]. Discovery of a natural thiamine adenine nucleotide. *Nat. Chem. Biol*., 2007, vol. 3, No. 4, pp. 211-212.

2. Makarchikov A.F. [et al.]. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals. *Cell. Mol. Life Sci*., 2003, vol. 60, No. 7, pp. 1477-1488.

3. Parkhomenko Yu. M. [et al.]. Oxidized derivatives of thiamine: formation, properties, biological role [*Okislennye proizvodnye tiamina: obrazovanie, svoistva, biologicheskaia rol'*]. *Ukr Biokhim. Zh*., 2012, vol. 84, No. 6, pp. 5-24.

4. Bettendorff L. [et al.]. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method. *Anal. Biochem*., 1991, vol. 198, No. 1, pp. 52-59.

5. Chernikevich I. P. [et al.]. Synthesis, purification and stabilization of thiamine triphosphate [*Sintez, ochistka i stabilizatsiia tiamintrifosfata*]. *Doklady of the Academy of Sciences of the BSSR*, 1990, vol. 34, No. 3, pp. 274-278.

6. Bettendorff L., Wins P. Thiamine derivatives in excitable tissues: metabolism, deficiency and neurodegenerative diseases. *Recent Res. Devel. Neurochem*., 1999, vol. 2, Pt. 1 , pp. 37-62.

7. Makarchikov A. F. Thiamine triphosphate: a new view on non-coenzyme function of vitamin B_1 [*Tiamin trifosfat: novyi vzgliad na nekofermentnuiu funktsiiu vitamina* B_1]. Minsk, 2008, 433 p.

8. Rossi-Fanelli A., Siliprandi N., Fasella P. On the presence of triphosphothiamine (TPT) in the liver. *Science*, 1952, vol. 116, No. 3026, pp. 711-713.

9. Yusa T. Thiamine triphosphate in yeasts and some plant materials. *Plant Cell Physiol*., 1961, vol. 2, No. 4, pp. 471-474.

10. Rossi-Fanelli A., Ipata P. L., Fasella P. On the distribution and transformation of thiamine and its phosphoric esters in biological material. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., 1961, vol. 4, No. 1, pp. 23-27.

11. Rindi G., De Giuseppe L. The content of thiamine and its mono-, di-and triphosphoric esters in different biological materials. *Int. Z. Vitaminforsch*., 1961, vol. 31, No. 3, pp. 321-326.

12. Sanemori H., Ueki H., Kawasaki T. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of thiamine phosphate esters at subpicomole levels. *Anal. Biochem*., 1980, vol. 107, No. 2, pp. 451-455.

13. Matsuda T. [et al.]. Difference in thiamine metabolism between extensor digitorum longus and soleus muscles. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1989, vol. 94B, No. 2, pp. 399-403.

14. Matsuda T. [et al.]. Postnatal development of thiamine metabolism in rat skeletal muscle. *Int. J. Biochem*., 1991, vol. 23, No. 2, pp. 203-206.

15. Bettendorff L., Kolb H.-A., Schoffeniels E. Thiamine triphosphate activates an anion channel of large unit conductance in neuroblastoma cells. *J. Membrane Biol*., 1993, vol. 136, No. 3, pp. 281-288.

16. Ho K. W. [et al.]. Postnatal muscle fibre histochemistry in the rat. *J. Embryol. Exp. Morphol*., 1983, vol. 76, pp. 37-49.

17. Byshevskш A. Sh., Tersevov O. A. Biochemistry for physitian [*Biokhimiia dlia vracha*]. Ekaterinburg, 1994, 384 p.

18. Rafacho A. [et al.]. Glucose homoeostasis in rats exposed to acute intermittent hypoxia. *Acta Physiol (Oxf)*, 2013, vol. 209, No. 1, pp. 77-89.

19. Leach R. M, Treacher D. F. ABC of oxygen: Oxygen transport - 2. Tissue hypoxia. *BMJ*, 1998, vol. 317, No. 7169, pp. 1370-1373.

20. Zepeda A. B. [et al.]. Cellular and molecular mechanisms in the hypoxic tissue: role of HIF-1 and ROS. *Cell Biochem. Funct*., 2013, vol. 31, No. 6, pp. 451-459.