## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА, КАТАЛИЗИРУЮЩЕГО ГИДРОЛИЗ АДЕНОЗИН-ТИАМИНТРИФОСФАТА, В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЦЫПЛЯТ

### Колос И. К., Макарчиков А. Ф.

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

Витамин  $B_1$ , представленный тиамином (нефосфорилированная форма) и его фосфатными производными – ТМФ, ТДФ, ТТФ и АТТФ (аденозин-тиаминтрифосфатом), является неотъемлемым компонентом клеток животных, бактерий, простейших, растений и грибов. Вместе с белками-транспортерами, ферментами биосинтеза и гидролиза эти соединения составляют единую систему обмена витамина  $B_1$  в клетке [1]. На биохимическом уровне наиболее изучена функция тиаминдифосфата, который является коферментом ТДФ-зависимых ферментов. Биохимическая роль других природных тиаминовых производных остаётся неизвестной

В течение нескольких последних лет появились данные, свидетельствующие о фундаментальной биологической роли  $TT\Phi$  (и, возможно,  $ATT\Phi$ ), связанной с таким феноменом, как адаптация. Формально эти соединения можно отнести к алармонам — индикаторам тревожного состояния клетки. Так, в экспериментах на бактериях было установлено, что при определённых видах стресса в клетке может возрастать концентрация  $ATT\Phi$  [2]. При инкубации культуры E.coli в условиях углеродного голода концентрация  $ATT\Phi$  многократно возрастает, при дальнейшем внесении органического субстрата (глюкоза, ацетат) концентрация  $ATT\Phi$  возвращается к исходному уровню.

Литературные данные о содержании АТТФ в объектах биологической природы довольно скудны: установлены концентрации АТТФ у E.coli, в пивных дрожжах, корнях петрушки, органах крыс, быка, человека и цыплят [3, 2, 4, 5].Очень мало сведений о ферментах, участвующих в гидролизе и биосинтезе АТТФ: исследованы кинетические свойства АТТФ-гидролазы из печени крысы [6], распределение активности фермента, катализирующего гидролиз АТТФ, в органах и тканях быка [7], частично очищен и охарактеризован  $Mg^{2+}$ -зависимый фермент, осуществляющий биосинтез АТТФ у E.coli [8].

Цель настоящей работы заключалась в исследовании активности фермента гидролиза АТТФ в органах и тканях цыплят породы леггорн 45-дневного возраста, выращенных в условиях домашнего подворья.

После убоя животных ткани быстро извлекали, замораживали и хранили при  $-20\,^{\circ}$ С. Для приготовления гомогенатов образцы тканей растирали в стеклянном гомогенизаторе в 5-кратном объёме, охлаждённого до  $+4\,^{\circ}$ С 50мМ трис-HCl буфера, рН 7,3, содержащего 0,15 М КСl и 0,2 мМ трилон Б. Реакционная смесь, объёмом 0,1 мл включала 50 мМ Nафосфатный буфер, рН 8,0, 0,1мМ АТТФ и 5 мкл гомогената. Реакцию проводили в течение 20 мин при 37 °С и останавливали равным объёмом 10%-й ТХУ. Активность АТТФ-гидролазы определяли по количеству образующегося ТДФ ферментативным методом, основанным на биоспецифическом связывании кофермента с апоформой пируватде-карбоксилазы из пивных дрожжей [9].

Результаты исследования представлены на рисунке (средние значения  $\pm$  стандартные отклонения (M $\pm$ SD, n=3)).

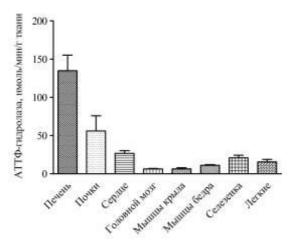


Рисунок – Активность АТТФ-гидролазы в органах и тканях цыплят

Как видно на диаграмме, самым высоким содержанием АТТФ-гидролазы отличается печень, в которой средний уровень активности достигает 134,8 $\pm$ 20,4 нмоль/мин/г ткани. В других органах и тканях активность фермента составила: в почках — 56,0 $\pm$ 19,9, в сердце — 26,6 $\pm$ 3,7, в селезёнке — 20,9 $\pm$ 3,4, в лёгких — 15,67 $\pm$ 1,91, в мышцах бедра — 11,0 $\pm$ 10, в мозге — 6,3 $\pm$ 0,6, в мышцах крыла — 6,4 $\pm$ 1,6. Эти величины соизмеримы с результатами исследования АТТФ-гидролазной активности в органах и тканях быка [7].

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о существенных различиях активности АТТФ-гидролазы в органах и тканях цыплят. Дальнейшие исследования будут направлены на опре-

деление активности фермента, участвующего в биосинтезе АТТФ, и выявление закономерностей, отражающих содержание АТТФ и активности ферментов его метаболизма в различных органах и тканях. Можно надеяться, что полученные при этом сведения позволят расширить представления о системе обмена витамина  $B_1$  у животных.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1. Makarchikov, A. F. Vitamin  $B_1$ : metabolism and functions / A. F. Makarchikov // Biochemistry (Moscow).Suppl. Ser. B: Biomedical Chemistry. -2009. Vol. 3. P. 116-128.
- 2. Thiamine status in humans and content of phosphorylated thiamine derivatives in biopsies and cultured cells / M. Gangolf [et al] // PloS ONE. 2010. Vol. 5. e13616.
- 3. Discovery of natural thiamine adenine nucleotide / L. Bettendorff [et al.] // Nat. Chem. Biol. -2007. Vol. 3. P. 211-212.
- 4. Клюка, Т. В. Содержание аденозин-тиаминтрифосфата в органах и тканях быка / Т. В. Клюка, А. Ф. Макарчиков // Междунар, науч.- практ. конф. «Зоологические чтения-2015». Гродно, 2015. С. 116-118.
- 5. Колос, И. К. Содержание витамина в<sub>1</sub> в органах и тканях цыплят-бройлеров / И. К. Колос, А. Ф. Макарчиков // XX Междунар. науч.-практ. конф. «Современные технологии с.-х. производства». Гродно, 2017. С. 52-54.
- 6. Клюка, Т. В. Кинетические свойства аденозин-тиаминтрифосфат-фосфогидролазы из печени крысы / Т. В. Клюка // Молодёжь в науке: новые аргументы: сб. докл. І-ой Междунар. молодёжню научн. конф. Липецк, 2015. Часть І. С. 76-79.
- 7. Клюка, Т. В. Распределение активности фермента, катализирующего гидролиз аденозин-тиаминтрифосфата, в органах и тканях быка / Т. В. Клюка // Современные проблемы биохимии: сб.науч. статей. – Гродно, 2016. – Часть 1. – С. 154-158.
- 8. Makarchikov, A. F. Thiamine diphosphate adenylyl transferase from *E.coli*: functional characterization of the enzyme synthesizing adenosine thiamine triphosphate / A.F. Makarchikov, A. Brans, L. Bettendorff // BMC Biochemistry. 2007. Vol. 8. e17.
- 9. Ферментативный микрометод количественного определения тиаминдифосфата в биологических жидкостях. И. П. Черникевич [и др.] // Прикл. Биохим. Микробиол. 1991. Т. 27, вып. 5. С. 65-68.

#### УДК 577.3

## АКТИВНОСТЬ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ В ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС ПРИ РАДИОАКТИВНОМ ОБЛУЧЕНИИ

# Кубышин В. $\Pi^{1}$ ., Томашева Е. $B^{1}$ ., Зиматкина Т. И.

- 1- УО «Гродненский государственный аграрный университет»
- г. Гродно, Республика Беларусь
- <sup>2</sup>– УО «Гродненский государственный медицинский университет»
- г. Гродно, Республика Беларусь

Радиационное облучение вызывает в организме животного ряд патологических изменений, сопряженных с развитием оксидативного стресса, в основе которого лежит дисбаланс между чрезмерной интен-