

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ

Мальевская.Е.В.¹, Горбач.З.В.¹, Кубышин.В.Л.²

УО «Гродненский государственный аграрный университет»¹, Институт биохимии НАНБ².

Транскетолаза (ТК) принадлежит к группе ферментативных белков обуславливающих тканевую специфичность протекания метаболических процессов и реагирующих на многие физиологические и патологические перестройки метаболизма изменением своей каталитической активности. Особенности протекания транскетолазной реакции, ее значение в клеточном метаболизме, включая механизмы регуляции, определяют повышенный интерес многих исследований к изучению этого фермента.

В настоящее время измерение активности ТК все шире используется для диагностики тиаминового статуса организма, и выявление ряда заболеваний. Активность ТК контролируется инсулином, на генном и субстратном уровне (1). В представленной работе изучена регуляция активности ТК при инсулиновой недостаточности в условиях гипергликемии.

В связи с этим представляет значительный интерес изучить механизм регуляции активности ТК в условиях инсулиновой недостаточности и гипергликемии через процесс неферментативного гликозилирования.

Задачей наших исследований является, моделирование инсулинового диабета, выделение высокоочищенного препарата ТК из печени, изучить связывание ¹⁴C-глюкозы с ферментом *in vitro*.

Инсулинзависимый сахарный диабет различной степени тяжести вызвали у крыс однократной инъекцией аллоксана в дозах 170 мг/кг массы тела (2). ТК выделяли из печени (3), активность определяли спектрофотометрически (4). Замеры радиоактивности белковых фракций проводили на жидкостно-сцинтиляционном счетчике «Марк-2» («Нуклеар Чикаго», США).

Экспериментально вызванный инсулиновый дефицит сопровождается снижением активности ТК. Наблюдаемое изменение общей активности ТК указывает на важное регуляторное значение инсулина. На препаратах высокоочищенной ТК печени установлены закономерности снижения концентрации ТК, ее общей и удельной активности (табл.1), за 6-и месячный период экспериментального диабета у животных.

Клеточная концентрация и общая активность ТК печени крыс снижается после индуцирования диабета по 2-х фазной кинетической кривой. Скорость падения активности ТК печени в течение месяца после инъекции аллоксана в 15 раз превышает аналогичный показатель последующих пяти месяцев наблюдения. Изменение общей активности ТК печени экспериментальных животных более выражено, в сравнении с изменяемыми ее концентрации. Диабетическое состояние животных, по-видимому, со-

проводится нарушением процесса синтез-деградация апотранскетолазы, что может объяснить наблюдаемые сдвиги в содержании общей активности фермента, но не устойчивую тенденцию к снижению удельной активности. К истечению 6-месячного диабета удельная активность ТК составила 90% от контрольных значений. Это указывает на существование, помимо изменений в клеточном процессе синтез-деградация ТК, и других биохимических механизмов, возможно, связанных с модификацией белковой части фермента. Диабет характеризуется многочисленными биохимическими сдвигами, но к особо устойчивым относят гипергликемию. Учитывая имеющиеся данные о времени полужизни ТК (5) печени, естественно было предположить возможность ее модификации гликозилированием. В экспериментах *in vitro*, преинкубация ТК с 14С-глюкозой приводила к связыванию меченого лиганда ферментом, в зависимости от времени. На рис.1 показано фракционирование методом гель-фильтрации через сефадекс Г-25 гликозилированной ТК и 14С-глюкозы в течение 12 суток

Таблица 1

Показатели активности высокоочищенной ТК печени интактных крыс и при развитии сахарного диабета, индуцированного аллоксаном.

Группы животных	Общий белок, мг	Общая активность, ед	Удельная активность, ед/мг
Интактные	1,50	2,30	1,53
Диабет 1 месяц	1,10	1,60	1,45
Диабет 6 месяцев	0,98	1,36	1,39

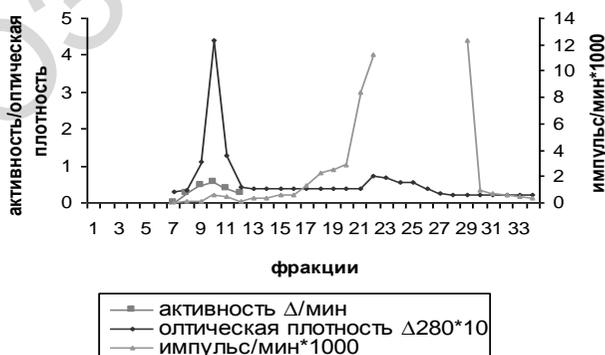


Рис. 1. Гельфильтрация ТК на Сефадексе G-25

Во фракциях элюируемой ТК обнаружилась радиоактивность, с количественным соотношением 8 моль глюкозы/1 моль ТК, которая согласовывалась с оптической плотностью и ферментативной активностью белка (рис.1). Симметричность пиков элюции и строгое соответствие оптической плотности белка, его ферментативной активности и радиоактивности указывают на ковалентный, а не адсорбционный тип связи белок-лиганд.

При длительной инкубации (24 суток) высокоочищенных препаратов ТК с ^{14}C -глюкозой происходит насыщение аминных групп молекулы белка глюкозой (рис.2) с образованием стабильного кетоаминового соединения, из которого формируется конечный продукт гликозилирования (6).

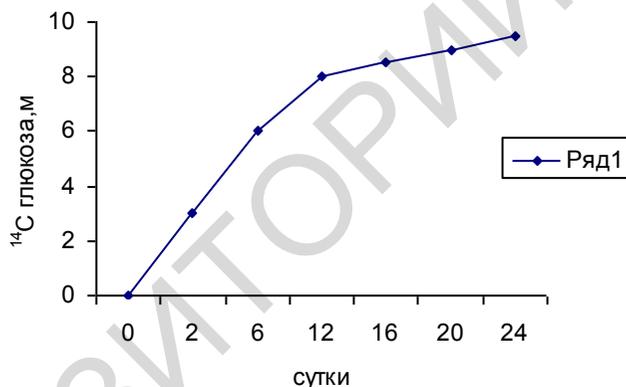


Рис 2. Гликозилирование ТК *in vitro* при инкубации с ^{14}C -глюкозой в зависимости от времени; ось у-количество глюкозы связанвшейся с1М ТК.

При этом значительного снижения активности ТК не наблюдается. Можно сделать вывод, что торможение активности ТК в условиях гипергликемии происходит за счет усиления деградации модифицированного глюкозой фермент

Литература

1. Горбач З. В., Кубышин В.Л. // Биохимия. 1989. Т. 54. С. 1980 – 1985.
2. Баранов В.Г. «Экспериментальный сахарный диабет». 1983. Ленинград. «Наука» С. 240.
3. Кубышин В.Л., Горбач З.В. // Укр.Биохим. журнал.1985. с.37-
4. Кочетов Г.А. «Практическое руководство по энзимам». М. Высш.ш. 1980.
5. Островский Ю.М., Горбач З.В., Маглыш С.С., Кубышин В.Л., // Докл.Акад. Н.БССР. 1983. Т. 27 №4. С. 375-377.

Резюме

Клеточные механизмы регуляции активности транскетолазы.

Исследовано изменение транскетолазной активности в условиях инсулиновой недостаточности, вызванной аллоксаном. В зависимости от времени, показано связывание 14C-глюкозы с ферментом, что может быть охарактеризовано, как процесс неферментативного гликозилирования транскетолазы *in vitro*. Предполагается, что снижение активности транскетолазы в условиях сахарного диабета происходит за счет усиления деградации модифицированного глюкозой фермента.

Summary

Celled mechanisms control of transketolase activity.

Changes of transketolase activity under alloxan-induced insuline deficiency were investigate. Time- course of irreversible binding 14C-glucose with transketolase nonenzymatic glycation was shoun. We can suggest that the decrease of transketolase activity under diabetes mellitus is due to intensive degradation of modified by glucose.

УДК 619:616.995.132:636.1

НОВЫЙ АНТИГЕЛЬМИНТИК ДЛЯ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИКИ ТРИХОНЕМАТИДОЗОВ ЛОШАДЕЙ

Ятусевич А.И., Ятусевич И.А., Синяков М. П.

УО «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь

В последние годы в связи с энергетическим кризисом возрос интерес и внимание к лошадям. В Республике Беларусь развитие коневодства определяется рядом природных и экономических факторов [5]. Способность лошадей потреблять дешевые корма, выращенные в хозяйстве, хорошо нагуливаться и откармливаться, делает коневодство экономически выгодной отраслью животноводства. Расширяется экспорт лошадей.

Развитие коневодства в колхозах и совхозах, а также в личных подсобных и фермерских хозяйствах Республики Беларусь немислимо без своевременного проведения диагностических, лечебных и профилактических мероприятий при различных заболеваниях животных, в том числе и паразитарных.

Широкое распространение среди гельминтозов лошадей в хозяйствах Беларуси, а также странах ближнего и дальнего зарубежья имеют нематодозы.