

УДК 636.5.053:612.015.31

**АКТИВНОСТЬ ДЕГИДРОГЕНАЗ, СОДЕРЖАНИЕ
АЛИФАТИЧЕСКИХ СПИРТОВ, КЕТОНОВ И КЕТОКИСЛОТ
В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С ОПУХОЛЬЮ ПРИ МНОГОКРАТНОМ
ВОЗДЕЙСТВИИ МЕТИЛГЛИОКСАЛЕМ**

М. Г. Величко, Е. Г. Кравчик

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: метилглиоксаль, стереоизомеры лактата, этанол, метанол, ацетон, мышцы-опухоленосители, экспериментальная опухоль Эрлиза, альдегиддегидрогеназы печени.

Аннотация. Исследовано влияние многократного парентерального введения метилглиоксали на активность альдегиддегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и содержание стереоизомеров лактата, этанола, ацетона, метанола в печени мышей (интактных и с опухолью Эрлиха) при введении метилглиоксали.

Особого внимания заслуживают данные, характеризующие содержание ацетона в печени мышей. Количество этого субстрата, в целом, в организме выше, чем метанола, пирувата, лактата. В печени интактных животных его содержание было $106,0 \pm 34,5$ мкмоль/г ткани, а у опухоленосителей – $122,4 \pm 42,0$.

**ACTIVITY OF DEHYDROGENASES, CONTENT OF ALIPHATIC
ALCOHOLS, KETONES AND KETO ACIDS IN THE LIVER OF MICE WITH
A TUMOR DURING REPEATED EXPOSURE TO METHYLGLYOXAL**

M. G. Velichko, E. G. Kravchik

EI «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno,
28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: methylglyoxal, lactate stereoisomers, ethanol, methanol, acetone, tumor-bearing mice, experimental Erliz tumor, liver aldehyde dehydrogenase

Summary. The effect of repeated parenteral administration of methylglyoxal on the activity of aldehyde dehydrogenase, lactate dehydrogenase and the content of lactate, ethanol, acetone, and methanol stereoisomers in the liver of mice was studied (intact and with Ehrlich's tumor) with the introduction of methylglyoxal. The data characterizing the content of acetone in the liver of mice deserve special attention. The amount of this substrate, in general, in the body is higher than methanol, pyruvate, lactate. In the liver of intact animals, its content was $106,0 \pm 34,5$ $\mu\text{mol/g}$ of tissue, and in tumor carriers it was $122,4 \pm 42,0$.

(Поступила в редакцию 02.06.2022 г.)

Введение. В организме животных и человека широко представлена АльДГ-система, основная функция которой превращение высокотоксичных и реакционноспособных альдегидов в кислоты. Существование реальных ситуаций, при которых возможно повышенное содержание биогенных альдегидов спиртов и кетокислот в результате индукция НАДФ-зависимых альдегиддегидрогеназ пестицидами, канцерогенами, ксенобиотиками дают возможность предполагать наличие взаимосвязи между обменом альдегидов и эндогенными механизмами опухолевого роста [2, 8].

Альдегиды, спирты и их предшественники функционируют в организме как субстраты, клеточные метаболиты, а также как регуляторы деления клеток. Многочисленные реакции углеводного, белкового и липидного обменов, продуцирующие или использующие вещества альдегидной природы, существенно изменяются в организме при анаэробных условиях функционирования [1-4].

Интерес к метаболизму альдегидов и взаимосвязи с обменом углеводов при заболеваниях, возникающих при дезинтеграции различных звеньев гомеостаза, в последние десятилетия резко возрос. Это связано с внедрением новых методов исследований, что позволило поновому взглянуть на обмен стереоизомеров лактата и пирувата в организме при возникновении и развитии злокачественных опухолей [5-9].

Изучение взаимодействия спиртов и альдегидов с биосистемами основано на том, что спирты и тесно связанные с ними метаболиты (альдегиды) являются естественными участниками обмена веществ у животных и человека. Эти соединения легко включаются в различные метаболические реакции, участвуют в синтезе других биологически активных соединений, выступают как лиганды и модификаторы в регуляции многих процессов и, по-видимому, конкурируют на путях различных превращений и взаимодействий с другими биологически активными соединениями, имеющими сходные пространственные и химические характеристики [1, 10].

Эндогенно образующие альдегиды являются факторами, приводящими к поражению печени вследствие модификации белковых структур гепатоцитов [13]. Важное место в развитии поражений печени и других тканей занимают альдегидные продукты перекисного окисления липидов, такие альдегиды, как малональдегид, мальальдегид, акролеин, оксипентал, окситетрадеценал, оксипентадеценал, оксиктадеценал, модифицируют белки и липидные структуры печени при патологических состояниях, сопровождающих индукцией ПОЛ [9, 14].

Метилглиоксаль превращается в АльДГ реакции в пируват, который при окислительном преобразовании в пируватдегидрогеназой

реакции может превращаться в ацетальдегид [3]. L- и D-лактальдегид через АльДГ-реакции превращаются в L- и D-лактат [1, 3].

Метилглиоксаль является центральным промежуточным соединением обмена углеводов, белков и липидов. Он и его предшественники диоксиацетонфосфат, аминокетон, энантиомеры молочного альдегида и 1,2-пропандиола, а также продукты их превращений Д(L)-молочная и пировиноградная кислоты участвуют в сопряжении и разобщении катаболизма и анаболизма.

Цель исследования – сопоставление функциональной активности альдегидметаболизирующих систем с уровнем низкомолекулярных спиртов, кетонов и кислот в печени мышей (интактных и с опухолью) при воздействиях, изменяющих обмен альдегидов.

Материалы и методы исследований. Изменения функциональной активности альдегидметаболизирующих систем и сопряженных с ними реакций моделировали на мышах путем 7-кратных экзогенных нагрузок метилглиоксалем (20 мг/кг). Препарат вводили подкожно 1 раз в суки.

В опыт взято 24 мыши-самца массой 20-22 г. Животным перевивали асцитную опухоль Эрлиха от мыши-донора на 8-е сутки ее роста. На 2-е сутки после перевивки животных разделяли на следующие группы: интактные (I группа); интактные, получавшие метилглиоксаль в дозе 20 мг/кг подкожно один раз в сутки в течение 8 дней (II группа); опухоленосители (III группа); опухоленосители, получавшие метилглиоксаль по той же схеме (IV группа). Декапитация осуществлялась на 9-е сутки роста опухоли.

Количество пирувата, лактата D- и L-форм, этанола, ацетона метанола определяли в печени. Для этой цели после декапитации печень максимально быстро (10-15 с) извлекали, обескровливали и помещали в жидкий азот. В последующем гомогенат для определения вышеуказанных субстратов готовили на 6%-й хлорной или 9%-й сульфасалициловой кислоте в разведении 1 : 4.

Ацетон, этанол, метанол определяли газохроматографическим методом в газовой фазе (Eriksson C. J. P., 1972). Супернатанты печени, полученные после обработки 9%-й сульфасалициловой кислотой, в количестве 0,25 мл переносили в пенициллиновые флаконы и добавляли 0,1 мл 3N NaOH для предупреждения декарбоксилирования ацетоацетата в ацетон. Флаконы закрывали резиновыми пробками, запечатывали и термостатировали на водяной бане при 65 °С в течение 10 минут. Условия разделения: стеклянная колонка размером 1мх, наполненная целитом с размером частиц 60-100 мик с 15 % полиэтиленгликолем. Температура: испарителя – 170 °С, колонки – 75 °С, детектора – 140 °С. Скорость потока газов: водород – 35 мл/мин, воздух – 300 мл/мин, газ-носитель (азот

ОСЧ) – 35 мл/мин. Для расчета концентрации ацетона строилась стандартная калибровочная кривая в интервале концентраций ацетона от 1 до 50 мкм, имевшая в этих пределах линейную зависимость.

Активность альдегиддегидрогеназы с разными субстратами и коферментами, Д и L лактатдегидрогеназы, метилглиоксальредуктазы определяли спектрофотометрически по изменению оптической плотности за 5 минут после добавления субстратов при $\lambda - 340$ нм. За единицу активности фермента принимали соответственно окисление 1 мкмольа НАД или НАДФ/мг белка/мин при 25 °С. Концентрацию белка в растворах определяли по методу Лоури.

Цифровой материал, полученный в опытах, обработан методом вариационной статистики с применением компьютерной техники и прикладных программ, входящих в стандартный пакет Microsoft Office. Разница между группами считалась достоверной при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В супернатанте печени интактных мышей при нагрузке метилглиоксальем активность прямой ЛДК субстрат пируват МГ-редуктазы достоверно снизилась на 28 и 24 % соответственно.

Таблица 1 – Активность ферментов в печени мышей самцов (интактных) при введении метилглиоксала в дозе 20 мг/кг массы подожно 1 раз в сутки x7 раз

Показатель кофермент	Интактные	
	Контроль (I группа)	Опыт (II группа)
ЛДГ прямая	1,89 ± 0,18	1,37 ± 0,06*
ЛДГ обратная	0,460 ± 0,035	0,42 ± 0,037
Д-ЛДГ	0,080 ± 0,0047	0,073 ± 0,0022
МГ-редуктаза	1,60 ± 0,20	1,23 ± 0,070
Альдг НАДАА	0,48 ± 0,012	0,53 ± 0,015*
НАД БА	0,047 ± 0,021	0,009 ± 0,0009*
НАБ ГА	0,60 ± 0,046	0,73 ± 0,064
НАДФ АА	0,196 ± 0,048	0,180 ± 0,022
НАДФ БА	0,051 ± 0,001	0,013 ± 0,009*
НАДФ ГА	0,176 ± 0,023	0,179 ± 0,024

*Примечание – * $P < 0,05$ сравнение с контролем*

Активность Альдг НАД (субстраты: ацетальдегид (АА) и гликолевый альдегид (ГА)) была достоверно выше у животных, получавших метилглиоксаль на 10 и 21 % соответственно. Следует обратить внимание на достоверное снижение активности (на 75 %) альдегиддегидрогеназы НАДФ зависимой (субстрат – бензальдегид (НАДФ БА)). В этой реакции для превращения бензальдегида требуется НАДФ. Не

обнаружено достоверных различий в активности ферментов между контрольными животными (интактными и опухоленосителями – группы 1 и 3). Введение метилглиоксала приводит к небольшим, но противоположным по направлению сдвигам активности и прямой лактатдегидрогеназе и D-лактатдегидрогеназе (таблица 2).

Таблица 2 – Активность ферментов в печени мышей самцов (опухоленосителей) при введении метилглиоксала в дозе 20 мг/кг массы подкожно 1 раз в сутки x7 раз

Показатель	Опухоленосители	
	Контроль (III группа)	Опыт (IV группа)
Кофермент	2,73 ± 0,42*	3,22 ± 0,48*
ЛДГ прямая	0,61 ± 0,10	0,68 ± 0,15
ЛДГ обратная	0,106 ± 0,023*	0,051 ± 0,018*
Д-ЛДГ	1,44 ± 0,23	2,06 ± 0,26*
МГ-редуктаза	0,20 ± 0,024*	0,44 ± 0,012
Альдг НАДАА	0,017 ± 0,001	0,034 ± 0,0017*
НАД БА	0,68 ± 0,057	0,68 ± 0,057
НАБ ГА	0,055 ± 0,005*	0,039 ± 0,0002*
НАДФ АА	0,002 ± 0,0002*	0,011 ± 0,008
НАДФ БА	0,224 ± 0,015	0,255 ± 0,025

*Примечание – * P < 0,05 сравнение с контролем*

Нами выявлено достоверное увеличение активности ЛДГ прямой МГ-редуктазы на 52 и 40 % соответственно и снижение Д-ЛДГ на 43 %. Альдегиддегидрогеназная НАД зависима активность со всеми субстратами была достоверно выше на 120-100 %. НАДФ зависимое превращение бензальдегида и гиколового альдегида в этой реакции увеличилась на 55 и 13 % соответственно.

Данные о содержании пяти субстратов в печени контрольных животных (интактных и получавших метилглиоксаль) представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание субстратов (мкмоль/г ткани) в печени мышей самцов (интактных) при введении метилглиоксала в дозе 20 мг/кг массы подкожно 1 раз в сутки x7 раз

Показатель	Интактные	
	Контроль (I группа)	Опыт (II группа)
Субстрат		
лактат	5,6 ± 0,17	6,40 ± 0,15
пируват	0,120 ± 0,016	0,105 ± 0,004
метанол	96 ± 16,9	54 ± 0,9*
этанол	28 ± 7,9	13,3 ± 24,9*
ацетон	106 ± 34,5	44,8 ± 4,4*

*Примечание – * P < 0,05 сравнение с контролем*

Исходя из полученных данных таблицы 3, можно отметить, что достоверно снижено содержание метанола на 47 %, этанола на 54 %, ацетона на 58 % соответственно.

В печени животных с опухолью содержание лактата, пирувата и ацетона было выше, чем у контрольных животных без опухоли. Ежедневная нагрузка метилглиоксалем привела к достоверному снижению уровня пируват (на 72 %) и ацетона (на 29 %) и повышению уровня метанола на 11 % (таблица 4).

Таблица 4 – Содержание субстратов (мкмоль/г ткани) в печени мышей самцов (опухоленосителей) при введении метилглиоксала в дозе 20 мг/кг массы подкожно 1 раз в сутки х7 раз

Показатель	Опухоленосители	
	Контроль (III группа)	Опыт (IV группа)
лактат	6,22±0,020	5,5±0,16
пируват	0,120±0,0027	0,030±0,0012*
метанол	48,0±7,4	60,3±14
этанол	38,5±12,2	38,6±11,8
ацетон	122,4±42,0	97,0±29,2*

*Примечание – * P < 0,05 сравнение с контролем*

Особого внимания заслуживают данные, характеризующие содержание ацетона в печени мышей. Количество этого субстрата, в целом, в организме выше, чем метанола, пирувата, лактата. Особенно высокое содержание ацетона отмечено в крови ($50,5 \pm 13,7$). В печени интактных животных его содержание было $106,0 \pm 34,5$ мкмоль/г ткани, а у опухоленосителей – $122,4 \pm 42,0$.

Усиление различий активности альдегид и лактатметаболизирующих ферментов при введении метилглиоксала у животных с опухолью указывают на наличие определенной зависимости между активностью метаболизма метилглиоксала и опухолевым ростом.

Заключение. Все полученные нами данные свидетельствуют о том, что различия ответа ферментных систем лактата и альдегидметаболизирующих систем у животных-опухоленосителей в значительной мере связаны с изменением микросомальной системы печени и избыточной выработки эндогенных альдегидов вследствие усиления перекисного окисления липидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев, В. С. Метаболизм метилглиоксала и злокачественные новообразования / В. С. Алексеев, Н. В. Алексеева // Укр. биохим. журн. – 1990. – Т. 62, № 2. – С. 13-22.
2. Активность альдегиддегидрогеназы в печени мышей с асцитной опухолью Эрлиха / М. Г. Величко [и др.] // Вести АН БССР. Сер. биолнаук. – 1985. – Т. 1. – № 5. – С. 74-78.
3. Величко, М. Г. Особенности обмена D- и L-лактата при аллоксановом диабете / М. Г. Величко, Н. К. Лукашик, Ю. М. Островский // Вести АН БССР., серия биол. наук. – 1984. – Т. 1, № 6. – С. 69-72.

4. Требухов, А. В. Клинико-биохимические аспекты кетоза у молочных коров / А. В. Требухов // Ветеринария. – 2017. – № 10. – С. 46-49.
5. Methylglyoxal-Mediated Stress Correlates with High Metabolic Activity and Promotes Tumor Growth in Colorectal Cancer. / Chiavarina B. [et al.] // Int J MolSci (2017) 18(1):213. doi: 10.3390/ijms18010213.
6. Kapalos, M. P. Glucose formation from methylglyoxal in hepatocytes from streptozotocin-induced diabetic mice; the effect of inulin / P. Riba, T. Garzo, J. Mandl // Experientia. -1996.-V.52, N 8.-P. 827-830.
7. Kawase, M. Changes in concentrations of methylglyoxal, D- lactate and glyoxalase activities in liver and plasma of rats fed a 3`- methyl-4-dimethylaminoazobenzene- rich diet. / M. Tada, S. Akadi, S. Ohmori //Res.Exp. Med.Berl. -1996.-V.196, N 4.P.251-259.
8. Nokin, MJ, Durieux F, Peixoto P, Chiavarina B, Peulen O, Blomme A, et al. Methylglyoxal, a glycolysis side-product, induces Hsp90 glycation and YAP-mediated tumor growth and metastasis. Elife (2016) 5: e19375. doi: 10.7554/eLife.19375.
9. Piskorska, D., Grabowska- Bochenek, R. Role of glyoxalases and methylglyoxal in cell proliferation and differentiation / D.Piskorska, R. Grabowska- Bochenek.//Postepy.Hig.Med. Dosw. -1995.-V. 49, N, 3.- P. 433-444.
10. Pronko, P.S. Low-molecular-weight metabolites relevant to ethanol metabolism: correlation with alcohol withdrawal severity and utility for identification of alcoholics/ M.G. Velichko, A.R. Moros, N.N. Rubanovich //Alcohol and Alcoholism. -1997.-Vol.32,-N.6.-P.761-768.
11. Ray, S., Ray, M. Isolation of methylglyoxal synthase from goat liver/ S.Ray, M. Ray// J. Biol. Chem.-1981-V.256.-P.6230-6233.
12. Riley, M.L., Harding, J.J. The reaction of methylglyoxal with human and bovine lens proteins/ M.L.Riley, J.J. Harding //Biochim. BiophysActa.-1995.- V. 1270, N, 1. -P. 36- 43.
13. Sato, J., Wang L., Eys J. Methylglyoxal formation in rat liver cells. / J.Sato,I.Wang, J.Eys// J. Biol.Chem.-1980. - V.255.- P.2046-2050.
14. Sauer, L.A., Dauchy, R.T. Ketone body, lactic acid, & amino acid utilization by tumours in vivo in fasted rats/ L.A.Sauer, R.T. Dauchy, // Cancer Res. -1985. - V.43, N 8.- P.3497-3503.

УДК 619:615.3:636.32/38:612.32

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ СТАБИЛЬНОГО В РУБЦЕ НИАЦИНА ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫМ ДОЙНЫМ КОРОВАМ

Д. В. Воронов^{1,2}, Д. В. Шешко², А. Ф. Макарчиков^{1,2}, С. В. Сутько²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – ЧНИУП «Алникор»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230014,
г. Гродно, ул. Санаторная, 1)

***Ключевые слова:** крупный рогатый скот, транзитный период, кетоз, рубцовая стабильность, холин, метод *in situ*, профилактика, эффективность.*

***Аннотация.** В статье представлены результаты исследований эффективности использования кормовой добавки «Алницин». Эта добавка использовалась как гепатопротектор. Применение Алницина позволило контролировать концентрацию кетоновых тел (в частности, бетагидроксибутирата).*