

УДК 577.164.11

СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИЛИРОВАННОГО ТИАМИТРИФОСФАТА В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГИПОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

Макарчиков А.Ф., Кудырко Т.Г., Лучко Т.А., Макар Е.А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»
г. Гродно, Республика Беларусь

Витамин В₁, являясь необходимым компонентом для всех форм жизни на Земле, присутствует в большинстве исследованных биологических объектов в виде тиаминтрифосфата (ТТФ), тиаминдифосфата (ТДФ) и тиаминмонофосфата (ТМФ) [1]. Из этих соединений биохимические функции установлены лишь для ТДФ, участвующего в построении активных центров пируватдегидрогеназного и α -кетоглутаратдегидрогеназного мультиферментных комплексов – ключевых ферментов энергетического обмена клетки, транскетолазы и еще примерно 25 белков, выполняющих специфические функции у разных видов организмов [2]. Роль ТМФ и ТТФ в процессах жизнедеятельности все еще остается неизвестной. Недавно в биологических объектах обнаружено и идентифицировано новое производное тиаминтрифосфата (АТТФ), биосинтез которого осуществляется из ТДФ и аденозинди- или аденозинтрифосфата [3,4]. Было показано, что в бактериях концентрация АТТФ подвержена резким колебаниям в зависимости от физиологических условий. При углеродном голоде, например, его содержание в клетке может возрастать на несколько порядков, достигая 30% от количества ТДФ [3]. Все это служит указанием на возможное участие АТТФ в стабилизации пула ТДФ в неблагоприятных для жизнедеятельности обстоятельствах.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании содержания АТТФ в печени крыс в нормальном физиологическом состоянии и при гипобарической гипоксии.

Эксперимент проводился на крысах-самцах линии Вистар массой 220-280 г, разбитых на три группы – контрольную и две опытных. Гипоксию вызывали путем имитации подъема животных на высоту 11000 м со средней скоростью $23 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$ в барокамере по следующей схеме: опытная группа 1 (О₁) – подъем (8 мин) – спуск (7 мин); опытная группа 2 (О₂) – подъем (8 мин) – задержка на высоте (4 мин) – спуск (7 мин). После декапитации животных печень извлекали, замораживали в жидком азоте и хранили до проведения анализа. Концентрацию лактата в крови определяли ферментативным методом с помощью ЛДГ [5],

содержание производных тиамина в печени – методом обращенно-фазной ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии [6].

У животных контрольной группы концентрация лактата в крови составляла $1,32 \pm 0,27$ мМ. После “подъема” отмечался заметный рост данного показателя, при этом в группе O_1 содержание лактата увеличилось до $4,14 \pm 0,55$ мМ, а в группе O_2 – до $6,43 \pm 0,52$ мМ.

Результаты эксперимента показали, что в зависимости от продолжительности гипоксии концентрация АТТФ в печени прогрессивно снижается с $28,0 \pm 4,3$ пмоль \times г⁻¹ ткани у контрольных животных до $18,6 \pm 1,9$ пмоль \times г⁻¹ ткани в группе O_1 и далее до $13,9 \pm 2,1$ пмоль \times г⁻¹ ткани – в группе O_2 . Аналогичным образом изменялось количество ТДФ, содержание которого в печени животных контрольной группы составило $17,5 \pm 2,2$ пмоль \times г⁻¹ ткани, в группе O_1 – $13,2 \pm 0,6$ пмоль \times г⁻¹ ткани, в группе O_2 – $10,4 \pm 1,3$ пмоль \times г⁻¹ ткани. Анализ экспериментальных данных позволил выявить тесную корреляцию ($r = 0,9469$, $p < 0,0001$) между содержанием АТТФ и ТДФ. Полученные нами результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что падение уровня АТТФ в печени крыс при гипоксии является прямым следствием снижения концентрации ТДФ, служащего субстратом в реакции биосинтеза АТТФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / A.F. Makarchikov [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477–1488.
2. Makarchikov A.F. Vitamin B₁: metabolism and functions/ A.F. Makarchikov // Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. B: Biomedical Chemistry. – 2009. – Vol. 3. – P. 116–128.
3. Discovery of a natural thiamine adenine nucleotide/ L. Bettendorff [et al.] // Nat. Chem. Biol. – 2007. – Vol. 3. – P. 211–212.
4. 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 Biochem. – 2007. – Vol. 8:17.
5. Практикум по биохимии: учеб. пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
6. 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.] // Anal. Biochem. – 1991. Vol. 198. P. 52–59.