

УДК 615.038.001:577

Полтавцева Н. В., мол. наук. сп., Васильєва Т. В., асп., Карпов Л. М., д-р біол. наук, проф., Анісімов В. Ю., студент, Єршова О. М., ст. наук. сп., канд. біол. наук Одеський державний університет, кафедра біохімії, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ДІЯ ВІТАМІННОГО КОМПЛЕКСУ НА ПОКАЗНИКИ ЕНЕРГЕТИКИ В ТКАНИНАХ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

На щурах трьох вікових груп (молоді — 2 тижні, дорослі — 3 міс., старі — 24 міс.) встановлено, що активність дегідрогеназ 2-оксокислот досягає максимального рівня в органах дорослих щурів, у них же найбільшим є і співвідношення між повною активністю піруватдегідрогенази і її активною долею. Ін'єкції тваринам вітамінного комплексу викликають найбільш значний абсолютний приріст активності піруватдегідрогенази і 2-оксоглутаратдегідрогенази у дорослих тварин, а найбільший відносний приріст — у старих. Рівень лактату і пірувату зростає лише в органах старих щурів, а у молодих і дорослих він майже однаковий. Введення тваринам вітамінного комплексу зменшує вміст обох метаболітів і в значній мірі нівелює їх вікові відмінності.

Ключові слова: старіння, вітаміни, піруватдегідрогеназа, 2-оксоглутаратдегідрогеназа, піруват, лактат.

Здавна відомо, що при старінні в організмі людини та тварин порушуються обмін і баланс вітамінів [9], змінюються взаємовідносини між вітамінами-коферментами [6], розвиваються гіповітамінози [2, 6], що веде до зменшення активності багатьох ферментів, які мають відношення до енергетики і біосинтетичних процесів у клітині. Ще в 1968 році Л. Ф. Д'яченко [1] показала, що активність піруватдегідрогенази (КФ 1.2.4.1) досягає найбільшого рівня в більшості органів дорослих щурів (4—5 міс.), а потім значно зменшується при їх старінні. Проте деякі автори [7] щодо активності піруватдегідрогенази і 2-оксоглутаратдегідрогенази (КФ 1.2.4.2) (далі ПДГ і ОГДГ відповідно) наводять інші дані.

ПДГ і ОГДГ є ферментами, залежними від п'яти коферментів, і їх каталітична активність може змінюватись у залежності від стану організму і, зрозуміло, від забезпеченості вітамінами групи В [3, 4].

Однак досліджень вікових особливостей різних форм активності ПДГ і їх співвідношень у процесі старіння тварин досі не провадилось. Публікацій, присвячених віковим змінам вмісту пірувату і лактату як інтермедіатів енергетичного обміну, дуже мало. Тому метою наших досліджень було визначення в тканинах білих щурів вікових особливостей активності вище згаданих дегідрогеназ 2-оксокислот, концентрації специфічних для них субстратів — пірувату і лактату, а також з'ясування можливості впливу на ці показники вітамінного комплексу (далі ВК).

Матеріали і методи

Експерименти провадили на щурах Вістар трьох вікових груп (2 тижні — молоді, 3 міс. — дорослі, 24 міс. — старі), які були стандартними для таких досліджень.

Кожну вікову групу тварин розподіляли на дві підгрупи, в яких тваринам внутрішньом'язово вводили фізіологічний розчин (далі ФР) або вітамінний комплекс (далі ВК) — 0,2 мл на 100 г ваги. При цьому дози вітамінів, введених тваринам у складі ВК, розраховані на кг ваги тварин, були такими: тіамін (В₁) — 6 мг (16,9 мкмоль), флавінмоноклеотид — 2 мг (4,2 мкмоль), пантотенат-Са (В₃) — 25 мг (113,6 мкмоль), піридоксин (В₆) — 5 мг (24,3 мкмоль), ліпоєва кислота — 2 мг (9,7 мкмоль), нікотинамід — 20 мг (163,9 мкмоль). Через 2 години після ін'єкцій тварин брали у дослід і визначали в їх органах вміст пірвіноградної кислоти (далі ПВК) за методом Фрідмана та Хаугена [10], лактату (далі Л) за методом Хохорста [5], а також активність ПДГ і ОГДГ за методом Габлера у модифікації Кіслінга і Лундквіста [11]. Для ПДГ визначали дві форми активності: активну долю і повну активність [8]. Активна доля (нефосфорильована), далі “діюча”, виявляється у конкретних умовах метаболізму. Повна активність складається з “діючої” форми і “резервної” (фосфорильованої), яка реалізується при зменшенні у тканинах концентрації АТФ, співвідношення відновлених та окислених нікотинамідних коферментів і таке інше.

Результати досліджень

Результати досліджень представлені у таблицях 1 і 2.

Що стосується ПДГ (табл. 1), то обидві форми її активності були найвищими у контрольних дорослих тварин (ін'єкції ФР). Співвідношення між повною активністю і “діючою” долею було найбільшим у дорослих і молодих тварин, а найменшим — у старих.

Таблиця 1

Вплив ін'єкцій ВК на активність ПДГ і ОГДГ в органах щурів різного віку (мкмоль відновленого феріціаніду на 1 г тканини за 30 хв), n = 8

Органи	Типи активності ПДГ	Молоді щури (2 тижні)		Дорослі щури (3 міс.)		Старі щури (24 міс.)	
		ФР	ВК	ФР	ВК	ФР	ВК
Печінка	I	17,6±0,41	21,02±0,52*	26,40±0,63*	37,04±0,92**	13,11±0,36*	27,84±0,72**
	II	38,15±1,46	66,11±1,41*	45,70±0,73*	73,18±1,71**	19,17±0,44*	39,17±0,96**
Нирки	I	26,85±0,54	33,07±0,36*	39,40±0,96*	75,16±1,71**	29,24±0,59	38,17±1,95**
	II	38,12±1,26	42,21±1,05	51,47±1,02*	139,27±4,80**	31,91±1,07*	59,23±3,81**
Мозок	I	14,01±0,35	15,09±0,39	46,93±0,92*	75,47±1,91**	15,99±0,40	40,06±1,60**
	II	24,05±0,82	31,37±0,81*	100,07±3,90*	188,63±4,31**	17,93±0,45*	54,37±1,36**
Серце	I	27,39±0,78	35,16±0,92*	69,76±1,93*	97,36±3,29**	52,61±1,37*	82,15±2,32**
	II	56,53±1,86	93,38±3,17*	75,46±2,52*	221,80±7,71**	47,73±1,92*	156,93±5,21**
Активність ОГДК							
Печінка		34,37±1,12	46,28±1,52*	49,21±1,67*	85,20±2,85*	37,59±1,27	65,40±2,40**
Нирки		32,25±1,15	52,16±1,72*	53,98±1,35*	58,96±1,94	23,88±0,77	29,42±0,94**
Мозок		18,0±0,60	31,62±1,07*	29,85±0,97*	60,66±2,21*	10,37±0,37	24,21±0,82
Серце		25,29±0,86	27,11±0,88*	38,84±1,27*	56,97±1,86*	19,14±0,61	45,30±1,56**

Примітка: * — зміни після ін'єкцій ВК достовірні; ** — зміни порівняно з групою молодих щурів достовірні; I — “діюча” доля ПДГ, II — повна активність ПДГ.

Після ін'єкцій ВК найбільший абсолютний приріст активності відзначається у дорослих тварин, а найбільший відносний — у старих. Це свідчить про те, що у молодих тварин активність ПДГ лімітується біосинтезом білків-апоферментів, а у старих — синтезом коферментів.

Що стосується ОГДГ, то вікові особливості її активності приблизно такі ж, як і ПДГ, але для печінки та мозку вони більш виражені.

У зв'язку з наведеними даними відносно активності дегідрогеназ було цікаво простежити особливості змін концентрацій їх енергетичних субстратів, таких як ПВК і Л (табл. 2). З'ясувалось, що в більшості органів і тканин молодих і дорослих щурів вміст цих субстратів майже не змінюється з віком. І лише у старих щурів спостерігається значне підвищення концентрації обох метаболітів у крові і печінці, а для Л — і у серці. У мозку ці показники змінюються незначно. Це свідчить про те, що різні органи тварин старіють з різною швидкістю.

Таблиця 2

Вплив ін'єкцій ВК на вміст ПВК і Л та співвідношення Л/ПВК в органах щурів різного віку, мг%, $n = 8$

Органи та тканини	Показник	Молоді щури (2 тижні)		Дорослі щури (3 міс.)		Старі щури (24 міс.)	
		ФР	ВК	ФР	ВК	ФР	ВК
Кров	ПВК	19,8±0,6	18,0±0,9	21,0±0,6	18,4±0,4*	25,6±0,6**	22,2±0,7**
	Л	76,4±2,5	58,7±1,8*	80,8±1,4	69,7±2,1**	84,9±2,5*	80,6±2,3**
	Л/ПВК	3,86	3,26	3,85	3,79	3,32	3,63
Печінка	ПВК	44,9±1,4	33,1±1,3*	48,1±1,2	41,9±1,3**	69,9±2,6**	63,2±1,5**
	Л	293,9±7,6	214,0±2,6*	252,0±5,6*	220,9±6,7*	277,3±5,1*	252,0±5,1**
	Л/ПВК	6,55	6,47	5,24	5,27	3,97	3,99
Мозок	ПВК	39,4±1,3	30,9±1,4*	45,6±1,6*	38,3±1,5**	42,3±1,6	37,3±1,9*
	Л	302,6±7,4	276,6±4,9*	274,4±5,3*	255,5±4,9**	279,7±5,8*	261,5±4,6
	Л/ПВК	7,68	8,95	6,02	6,67	6,61	7,01
Серце	ПВК	86,3±2,4	68,6±2,0*	85,4±2,1	75,1±1,9**	84,0±2,3	72,2±1,9*
	Л	629,1±13,1	472,0±12,3*	559,9±12,1*	540,0±9,9*	734,9±14,1**	586,1±11,6**
	Л/ПВК	7,29	6,88	6,56	7,19	8,75	8,12

Примітка: * — зміни після ін'єкцій ВК достовірні; * — зміни порівняно з відповідними значеннями групи молодих щурів достовірні; + — зміни в групі старих щурів порівняно з відповідними значеннями групи дорослих щурів достовірні.

Що стосується співвідношення Л/ПВК, то його значення найбільше у молодих тварин, а з віком зменшується в усіх органах, за виключенням серця — у цьому органі воно максимальне у старих тварин (табл. 2). Найбільш виражені типові зміни спостерігаються у печінці. В цьому органі співвідношення Л/ПВК у старих тварин в 1,5-2 рази менше, ніж у молодих. У крові та головному мозку ці зміни менше виражені, але зберігають ту ж спрямованість. Після ін'єкцій ВК вміст в органах щурів обох метаболітів значно зменшується, але співвідношення Л/ПВК майже не змінюється.

Таким чином, з'ясовано, що активність дегідрогеназ 2-оксокислот досягає максимального рівня в органах дорослих щурів, у яких найбільшим є і співвідношен-

ня між повною активністю ПДГ і її “діючою” долею. Ін’єкції тваринам вітамінного комплексу викликають найбільше зростання абсолютної активності ПДГ і ОГДГ у дорослих тварин, а найбільше відносно зростання — у старих.

Рівень лактату і пірувату зростає лише в органах старих щурів, а у молодих і дорослих він майже однаковий. Введення щурам вітамінного комплексу зменшує вміст обох метаболітів у тканинах і в значній мірі нівелює їх вікові відмінності.

Література

1. Д’яченко Л. Ф. Особливості окислення пірувату у щурів різного віку // Укр. біохім. журн. — 1968. — Т. 40, № 4. — С. 407—409.
2. Зелезинская Г. А., Никишин И. А., Пленин А. Е. Биохимические аспекты влияния витаминов на процессы старения. — Минск: Наука и техника, 1979. — 128 с.
3. Карпов Л. М. Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма: Дисс. ... докт. биол. наук. — Одесса, 1994. — 505 с.
4. Карпов Л. М., Полеся Т. Л. Действие функционально связанных витаминов и их коферментных форм на активность дегидрогеназ 2-оксокислот в органах мышей // Укр. биохім. журн. — 1989. — Т. 61, № 4. — С. 82—87.
5. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
6. Оэриу С. Исследование отношений между витаминами-коэнзимами и соответствующими ферментами в зависимости от возраста животного и под действием некоторых веществ, свойственных организму // Биохимия. — 1963. — Т. 28, № 1. — С. 3—8.
7. Разумович А. Н. Тиамин и возраст // Тиамин. Мат. Всесоюз. симп. Тез. докл. — Гродно, 1972. — 95 с.
8. Струмило С. А., Виноградов В. В. Витаминзависимые ферменты надпочечников (дегидрогеназы 2-оксокислот). — Минск: Наука и техника, 1988. — 214 с.
9. Хмелевский Ю. В., Поберезкина Н. Б. Витамины и возраст человека. — К.: Наук. думка, 1990. — 165 с.
10. Fridmann T., Haugen G. Pyruvic acid: the determination of ketoacids in the blood and urine // J. Biol. Chem. — 1943. — № 147. — P. 415—442.
11. Kiessling K., Lundquist C. Thiamine diphosphate in growing tissues. III. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and from thiamine diphosphate deficient adult rats // Exp. Cell. Res. — 1962. — V. 26, № 1. — P. 189—197.

Полтавцева Н. В., Васильева Т. В., Карпов Л. М., Анисимов В. Ю., Ершова О. Н.
Одесский государственный университет, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ДЕЙСТВИЕ ВИТАМИННОГО КОМПЛЕКСА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИКИ В ТКАНЯХ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Резюме

На крысах трех возрастных групп (молодые — 2 недели, взрослые — 3 мес., старые — 24 мес.) установлено, что активность дегидрогеназ 2-оксокислот достигает максимального уровня в органах взрослых животных, у них же наибольшим является и соотношение между полной активностью ПДГ и ее активной частью. Ин’єкции животным вітамінного комплексу вызывають найбільш абсолютний прирост активності ПДГ і ОГДГ у відростлих крис, а найбільш відносно — у відростлих.

Уровень лактата и пирувата возрастает только в органах старых крыс, а у молодых и взрослых он почти одинаковый. Введение животным вітамінного комплексу снижает содержание обоих метаболитов и в значительной мере нивелирует их возрастные отличия.

Ключевые слова: старение, витамины, пируватдегидрогеназа, 2-оксоглутаратдегидрогеназа, пируват, лактат.

Poltavtseva N. V., Vasilyeva T. V., Karpov L. M., Anisimov V. Yu., Yershova O. N.
Odessa State University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

**THE EFFECT OF VITAMIN COMPLEX ON SOME ENERGETICS INDEXES
IN TISSUES OF DIFFERENT AGE RATS**

Summary

Three groups of white rats (young — 2 weeks old, adult — 3 months old and old — 24 months old) were used in the experiments. It has been established that in organs of mature rats the activities of 2-ketoacid dehydrogenases as well as the ratio between absolute pyruvate dehydrogenase activity and its active part are maximal. Injections of vitamin complex (B₁, FMN, B₃, PP, B₆ and lipoic acid) induces maximal absolute increase of pyruvate dehydrogenase and 2-ketoglutarate dehydrogenase activities in mature rats and maximal relative increase of the activities of these enzymes in old rats.

The lactate and pyruvate concentrations in the organs of old rats are increased, but in the organs of young and adult rats are normal and practically identical. Injections of the described vitamin complex decrease the concentrations of these metabolites and deletes their age difference.

Key words: gerontogenesis, vitamins, pyruvate dehydrogenase, 2-ketoglutarate dehydrogenase, pyruvate, lactate.