

УДК 577.16+615.356

ИЗУЧЕНИЕ АЦЕТИЛИРУЮЩИХ ФОРМ ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ГИПОКСИИ ЗАМКНУТОГО ПРОСТРАНСТВА

Сальникова Н.В., Петров С.А.

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина; e-mail: *nasa08@ukr.net*

Гипоксия замкнутого пространства (ГЗП) приводит к повышению уровня ацетилирующих метаболитов пантотената в головном мозге. При предварительной инъекции пантотената повышение регистрируемого показателя наблюдается только в мозге и сердце.

Ключевые слова: пантотенат, ацетилирующие метаболиты, гипоксия

Введение

Биохимическая роль пантотеновой кислоты и ее кофермента А достаточно хорошо изучены [1]. Так же известно, что КоА является не единственным ацетилирующим метаболитом пантотената [2, 3]. Известны многочисленные реакции переноса ацильных групп, в которых КоА участвует в качестве кофермента. Среди них особо важное место принадлежит образованию и метаболическому превращению «активной» уксусной кислоты (ацетил КоА). Биохимические функции других выявленных в животных тканях производных ПАК, исключая 4-Ф-ПН, что является простетической группой АПБ, практически ограничиваются процессами биосинтеза КоА. Необходимо лишь отметить участие 4-Ф-ПН и дефосфо-КоА в реакциях ферментативного трансацетилирования, поскольку известно, что до 30 % «активного» ацетата в гепатоците находится в форме ацетил-дефосфо-КоА и ацетил-4-Ф-ПН ацетил-бензоила, а реакционная способность этих соединений в ферментной системе трансацетилирования практически не отличается от КоА.

Возможно участие этих аналогов КоА в микросомальном биосинтезе глицеридов, подобно тому как дефосфо-КоА функционирует в ковалентно связанной форме в сукцинаттиокиназе. В 1976 г. Изомер дефосфо-КоА был идентифицирован как простетическая группа АПБ

цитратлиази з *klebsiella aerogenes*.

В числе природных аналогов ПАК следует назвать гомопантотеновую кислоту — вещество, содержащее в своей структуре г-аминомасляную кислоту (ГАМК) вместо бета-аланина. Функции гомопантотената полностью не известны. Некоторые исследователи считают, что гомопантотеновая кислота является особенно активной или резервной формой ГАМК в нервной ткани.

Таким образом, реакционно действующим участком молекулы КоА в биохимических реакциях является SH группа, поэтому принято сокращенное обозначение КоА в виде HS-КоА. О важнейшем значении КоА в обмене веществ свидетельствует обязательное непосредственное участие его в основных биохимических процессах: окисления и биосинтеза высших жирных кислот, окислительное декарбоксилирование 2-оксокислот (пируват, 2-оксоглутарат), биосинтез нейтральных жиров, фосфолипидов, стероидных гормонов, гемма гемоглобина, ацетилхолина, гиппуровой кислоты и др.

Известно, что адекватные величины витамина В5 необходимые для усвоения фолиевой кислоты. Акушеры-гинекологи рекомендуют мегадозы пантотеновой кислоты беременным для предотвращения внутриутробных пороков и выкидышей, а так же при физическом и эмоциональном стрессе. Фармакологические препараты,

содержащие пантотенат, используются для коррекции и профилактики заболеваний кожи (различные гели, шампуни). К важнейшим свойствам витамина В5 принадлежит быстрому образованию здоровой ткани при ожогах, язвах, ангулярном и других стоматитах [4].

Определение отдельных метаболитов пантотеновой кислоты до сегодняшнего дня окончательно не разработано [5]. Еще меньше данных в литературе, касающихся метаболизма пантотеновой кислоты при экстремальных состояниях [6].

Целью работы было изучение воздействия ГЗП на метаболизм пантотената. В соответствии с этим были поставлены задачи по изучению уровня ацетилирующих метаболитов витамина В5 в разных органах белых крыс при действии ГЗП.

Материалы и методы

Исследования проводили на беспородных белых крысах весом 180-210 грамм.

Животных подвергали гипоксии замкнутого пространства. До этого их помещали под герметически закрытые колпаки и выдерживали в течение 50 минут. После этого животных забивали, руководствуясь указаниями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Для исследования использовали следующие органы: сердце, печень, почки, мозг, кишечник. Гомогенаты 0,2-0,4 мл отмеривали в пробирку, содержащую 0,1 мл 0,11 М раствора глутатиона, 0,03 мл свежеприготовленного раствора бикарбоната натрия (1 М) и 0,2 мл реакционной смеси.

Реакционную смесь готовили следующим образом: 10 мл 0,2 М раствора лимоннокислого натрия, 2,5 мл 1 М раствора уксуснокислого натрия и 7 мл водного раствора, содержащего 220 мг АТФ, смешивали, доводили рН смеси до 7,0 добавлением 1 N раствора едкого калия и разводили смесь водой до 20

мл.

Далее в пробирку с исследуемым раствором прибавляли 0,35 мл раствора апофермента, а также воду до общего объема 1,03 мл. К смеси быстро добавляли выдуванием из микропипетки 0,1 мл 0,0033 М раствора п-ААБ в 60 %-ном спирте и тотчас же ставили на инкубацию в водяную баню при 37° на 30 мин.

После инкубации действие фермента прекращали добавлением 20 % раствора ТХУ в 50 % спирте и центрифугировали в течение 10 мин. при 10 000 об/мин. 1,4 мл центрифугата разводили добавлением 2,5 мл 10 %-ного раствора ТХУ в 25 %-ном спирте и проводили измерения на фотоэлектрическом колориметре /светофильтр на 490 нм/

Одновременно проводили через все операции пробирки с холостым и стандартными растворами, только к холостому раствору не добавляли исследуемый раствор, а к стандартному не прибавляли исследуемой пробы и раствора апоэнзима.

Апофермент ацетилирования /ацетоновый порошок/ получали из печени голубей.

Результаты выражали в мкг ацетилированного п-ААБ на 1 г сырого веса ткани в мкг КоА на 1 г сырого веса ткани. Расчет мкг ацетилированного п-ААБ на 1 г сырой ткани вели по формуле:

$$\frac{(S_{\text{хол.}} - S_{\text{гл. опыт}}) \cdot 65}{S_{\text{стан.}}}$$

где S хол. – экстинция на ФЭКМ холостого опыта;

S стан. — экстинция на ФЭКМ стандартного опыта;

S гл. опыт – экстинция на ФЭКМ опыта с исследуемым раствором;

65 – количество мкг п-ААБ в каждой пробе.

О содержании ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты судили по интенсивности ацетилирования пара-

аминобензола [7].

Результаты обработаны статистически с помощью критерия Стьюдента [8].

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы 1, наибольшее количество ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты нами обнаружено в печени. Несколько меньшее количество обнаружено в почках. Наименьшее количество этих веществ было в мозге.

Введение пантотеновой кислоты существенно увеличивало исследуемый показатель только в сердце и почках. В других органах изменения содержания регистрируемых нами метаболитов мы не наблюдали.

Создание гипоксии замкнутого пространства приводило к существенному увеличению содержания ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты только в мозге.

Предварительное введение пантотеновой кислоты на фоне гипоксии замкнутого пространства увеличивало содержание исследуемых метаболитов в сердце и мозге.

Известно, что КоА и другие метаболиты пантотеновой кислоты-дефосфо-КоА, 4-фосфопантетеин, 4фосфопантеноилцистеин могут принимать участие в процессе переноса ацетильных групп на парааминоазобензол. Участие этих метаболитов в реакциях трансацетилирования в клетке не доказано. Однако, при оценке общей ацетилирующей активности производных пантотената представляется целесообразным учитывать уровень не только КоА, но и других ацетилирующих метаболитов этого витамина.

Гипоксия замкнутого пространства (ГЗП) характеризуется действием на организм не-

скольких факторов: собственно гипоксии, гиперкапнии и гипертермии.

В условиях повышенного содержания углекислого газа естественно ожидать накопление карбонатных и бикарбонатных анионов в крови и тканях. Этот фактор может служить одной из причин, вызывающих повышенное образование ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты для компенсации нарастающего ацидоза.

С другой стороны усиление процессов ацетилирования приводит к интенсификации катаболизма углеводов и жирных кислот и выработке повышенных количеств АТФ, необходимых для компенсации сдвигов, связанных с недостатком кислорода.

Полученные нами данные свидетельствуют о различной чувствительности отдельных органов в плане содержания ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты на действие гипоксии. Наиболее чувствительным органом в этом отношении оказался головной мозг, ткани которого реагировали на гипоксию повышением уровня ацетилирующих метаболитов пантотената.

Менее чувствительным оказалось сердце. В других органах мы не наблюдали изменения уровня ацетилирующих метаболитов пантотената при действии гипоксии.

Выводы

Таким образом, установлено, что гипоксия замкнутого пространства (ГЗП) вызывает усиление анаболизма пантоте-

Таблица 1
Содержание ацетилирующих метаболитов пантотеновой кислоты в органах белых крыс при гипоксии замкнутого пространства (мкг пААБ/г ткани; n = 8)

Органы	Норма	Гипоксия	Норма+ пантотеновая кислота	Гипоксия +пантотеновая кислота
Сердце	557,59 ± 46,48	554,44 ± 56,11	771,73 ± 37,35*	796,97 ± 21,58*
Печень	772,40 ± 74,20	829,33 ± 59,93	900,55 ± 40,50	909,51 ± 33,03
Почки	630,63 ± 55,94	737,04 ± 71,88	804,27 ± 53,95*	887,93 ± 127,16
Мозг	469,78 ± 43,33	653,71 ± 62,91*	589,96 ± 29,71	724,59 ± 82,67*
Кишечник	551,78 ± 85,49	581,99 ± 42,83	671,30 ± 68,06	735,55 ± 72,21

Примечание:* — различия достоверны (P < 0,05)

ната в мозге и, частично, в сердце белых крыс. Этот эффект, вероятно, обусловлен высокой чувствительностью этих органов к гипоксии, что выражается в усилении процессов ацетилирования.

Литература

1. Мойсеенок А.Г. Пантотеновая кислота (биохимия и применение витамина).- Минск: Наука и техника, 1980,-264 с.
2. Мойсеенок А.Г. Пантотеновая кислота // Экспериментальная витаминология. Под ред. Ю.М. Островского.- Минск: Наука и техника, 1979,-ГЛ.8,-С.267-320
3. Исследования в области переносчиков ацильных групп. 16. Гидролитическая устойчивость и ферментативное дефосформирование 4'-фосфо-0-пантотеновой кислоты/В.М.Копелевич, А.В.Лысенкова, В.В.Мищенко, А.Г.Мойсеенок// Химия природных соединений.- 1981,- N 4,- С.482-487.
4. Петров С.А., Запороженко О.В., Будняк О.К., Чернадчук С.С., Федорко Н.Л. Пантотеновая кислота// Витаминология. Под ред. С.А. Петрова.-Одесса: ВМВ, 2013.- С.57-58
5. Резяпкин В.И., Гуринович В.А., Мойсеенок А.Г. Использование обращеннофазной высокоэффективной газожидкостной хроматографии для анализа производных пантотеновой кислоты.//Хим.-фарм.журн,-1989,-МЗ,-С.349-351
6. Петров С.А. Распределение пантотеновой кислоты в организме при гипоксии замкнутого пространства.//Материалы международного симпозиума (28 июля 2013г.)/отв. Ред. Член-корр. А.Г. Мойсеенок.-Гродно:ГрГМУ, 2013.-с.58-59.
7. Handshumacher R.,Mueller G.,Strong F. An improved enzymatic assay for CoA// J.Biol.Chem.-1951.- Vol.189, No 1- P. 335-342.
8. Меркурьева Е.К. Основы биометрии. М., -издательство МГУ. 1963г

References

1. Moiseenok AG Pantothenic acid (vitamin biochemistry and application.) — Minsk : Science and Technology, 1980, with -264.
2. Moiseenok AG Pantothenic acid / / Experimental vitaminology. Ed. YM Ostrovsky. — Minsk : Science and Technology, 1979, chapter 8, p.267 -320
3. Research in the field vectors acyl groups. 16. Hydrolytic stability and enzymatic

defosformirovanie 4' -phospho -0 - pantothenic acid / V.M.Kopelevich, ABLylenkova, V.V.Mischenko, A.G.Moyseenok / / Chemistry of Natural soedineniy. -1981,- N 4 — С.482-487.

4. B. Rezyapkin. I., Gurinovitch VA, Moiseenok AG Using obratsennofaznoy high gas-liquid chromatography for the analysis of pantothenic acid derivatives. / / Chemfarm.zhurn, -1989,- МЗ, p.349 -351
5. Petrov SA The distribution of pantothenic acid in the body during hypoxia closed space. / / Proceedings of the International Symposium (July 28 2013). / Min. Ed. Correspondent member. AG Moiseenok. - Grodno : GSMU, 2013. — p.58- 59.
6. Handshumacher R., Mueller., Strong F. Amproved enzymatic assay for / / J.Biol.Chem.189,1,335- 342, / 95 /
7. Merkureva E.K.Osnovy biometrii.M., Publishing MGU.1963g

Резюме

ВИВЧЕННЯ АЦЕТИЛЮЮЧИХ ФОРМ ПАНТОТЕНОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ ГІПОКСІЇ ЗАМКНУТОГО ПРОСТОРУ

Сальникова Н.В., Петров С.А.

Гіпоксія замкнутого простору (ГЗП) призводить до підвищення рівня ацетилюючих метаболітів пантотенату в головному мозку. При попередній ін'єкції пантотенату підвищення реєстрованого показника спостерігається лише в мозку і серці.

Ключові слова: пантотенат, ацетилюючі метаболіти, гіпоксія

Summary

STUDY ATSETILYUYUCHIH FORM OF PANTOTHENIC ACID DURING HYPOXIA ENCLOSED SPACE

Salnikova N.V., Petrov S.A.

Hypoxia closed space (GSP) leads to an increase in pantothenate atsetilyuyuchih metabolites in the brain. In a preliminary injection of pantothenate index recorded increase was observed only in the brain and heart.

Keywords: pantothenate atsetilyuyuchi metabolites, hypoxia

Впервые поступила в редакцию 24.04.2014 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования