

УДК 577.164.12.001.5:591

Л. М. Карпов¹, д-р біол. наук, проф., **О. В. Запорожченко**², канд. біол. наук, доц., **А. В. Сорокін**², канд. біол. наук, наук. співроб., **О. О. Кокошкіна**², асист.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,

¹кафедра фізіології людини та тварин,

²кафедра біохімії

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВМІСТ НІКОТИНАМІДНИХ КОФЕРМЕНТІВ ТА АКТИВНІСТЬ АДГ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ІМ ВІТАМІНІВ ТА ІНГІБІТОРІВ БІОСИНТЕЗУ БІЛКА

Вивчено вплив антибіотиків циклогексиміду, хлорамфеніколу та вітамінного комплексу (В₁, ФМН, нікотинамід, пантотенат кальцію, ліпоєва кислота, В₆) на вміст нікотинамідних коферментів і активність лактатдегідрогенази в органах щурів.

Показано, що ці антибіотики зменшують вміст у тканинах вказаних коферментів і активність лактатдегідрогенази, а введений на фоні антибіотиків збалансований вітамінний комплекс ослаблює їх негативну дію. Ефективність впливу вітамінного комплексу в умовах експерименту зменшується після введення обох антибіотиків, але особливо циклогексиміду.

Ключові слова: нікотинова кислота, нікотинамідні коферменти, вітамінний комплекс, циклогексимід, хлорамфенікол.

Одним із способів з'ясування механізмів регуляції синтезу білків у клітинах є використання таких препаратів, які могли б вибірково гальмувати різні ланки цього процесу. В даний час у лабораторній практиці для вирішення таких задач часто застосовують хлорамфенікол і циклогексимід [1, 2, 3]. Ці антибіотики пригнічують біосинтез білка на різних рівнях і за рахунок різних механізмів [4]. Так, хлорамфенікол є інгібітором синтезу мітохондріальних та хлоропластних білків, він інгібує пептидилтрансферазну реакцію за синтезу білка на малій субодиноці 70 S рибосоми. Гальмуючу дію на біосинтез білка, але вже в цитоплазмі, у 80 S рибосомі (без ураження малої субодиноці) здійснює також циклогексимід, що є інгібітором пептидилтрансферази [5, 6].

Дані, отримані нами в попередніх дослідженнях з застосуванням антибіотиків, що передувало введенню вітамінів і їх комплексів, підтверджують припущення про істотну роль білкового синтезу в регуляції вітамінами енергетичних процесів в організмі, в тому числі активності дегідрогеназ кетокислот. Одночасно було з'ясовано, що введення здоровим тваринам полівітамінного комплексу, на відміну від самої нікотинової кислоти, у більшій мірі підвищує в тканинах вміст нікотинамідних коферментів, активність лактатдегідрогенази і деяких

інших ферментів [7, 8, 9]. Проте дія подібних антибіотиків на біосинтез коферментів із відповідних вітамінів остаточно не з'ясована й досі.

Таким чином, головною метою наших досліджень стало більш докладне вивчення ролі системи біосинтезу білків в утворенні коферментних форм нікотинової кислоти та в регуляції активності лактатдегідрогенази в організмі тварин. Іншими словами, мова йде про оцінку можливої участі індукційних механізмів регуляції у біосинтезі коферментів і здійсненні енергетичних процесів в організмі.

Матеріали та методи

Експерименти виконували на щурах Вістар масою 180 — 200 г. Щурам вводили такі препарати у зазначених дозах, за схемою:

циклогексимід (ЦГ) — 0,04 мг/100 г маси за 24 години до дослідження одноразово; хлорамфенікол (ХА) — по 4,2 мг/100 г через кожні 12 годин протягом трьох діб перед дослідженням;

вітамінний комплекс (ВК) за 2 години до забою. Склад комплексу (мг/кг): В₁ — 6, ФМН — 2, нікотинамід — 20, пантотенат кальцію — 25, ліпоева кислота — 2, В₆ — 5.

Варіанти досліджень та групи щурів були такими:

1. Контроль — 0,9% розчин NaCl внутрішньом'язово.
2. ВК — вітамінний комплекс внутрішньом'язово.
3. ХА — хлорамфенікол внутрішньочеревно.
4. ВК (внутрішньом'язово) + ХА (внутрішньочеревно).
5. ЦГ — циклогексимід внутрішньочеревно.
6. ВК (внутрішньом'язово) + ЦГ (внутрішньочеревно).

В гомогенатах органів визначали рівень різних фракцій нікотинамідних коферментів за Ю. М. Островським [10] і О. А. Коденцовою [11] та активність лактатдегідрогенази за М. І. Прохоровою [12].

Результати досліджень та їх обговорення

У таблиці 1 наведено дані щодо вмісту окислених і відновлених нікотинамідних коферментів, а також їх суми в органах тварин зазначених груп.

За ін'єкцій тваринам ВК ці показники помітно підвищились (у 1,07—1,42 раза порівняно з контролем) в печінці, нирках та мозку. У серці достовірно зростав тільки вміст відновлених форм коферментів (у 1,3 раза).

Після введення щурам ХА вміст відновлених нікотинамідних коферментів достовірно збільшувався (у 1,25 і 1,14 раза) лише у нирках та серці, а вміст окиснених форм майже не змінювався в усіх досліджених органах. В результаті ін'єкції ХА практично не викликали істотного відхилення сумарного вмісту різних форм нікотинамідних коферментів в органах.

На відміну від ХА, ін'єкції ЦГ привели до значного і достовірного падіння суми нікотинамідних коферментів у всіх органах у 1,26 — 1,75 раза, що особливо виражено у нирках, мозку і серці. Слід зазначити, що це в основному відбувалося за рахунок окиснених форм, що викликало значне зменшення відношення О/В. Останнє може свідчити про розвиток гіпоксії в тканинах.

Дія комплексу вітамінів, введеного на тлі антибіотиків, була неоднаковою в різних органах. Так, загальний рівень нікотинамідних коферментів відносно варіанту з ХА і навіть контрольного рівня зростав за ін'єкування (ХА+ВК) у нирках, мозку й серці, і це зростання відбувалося головним чином за рахунок окиснених форм, що вважається позитивною обставиною, оскільки свідчить про стимуляцію енергетичних процесів. В печінці ефект був незначним.

Таблиця 1

Вміст окиснених (О) і відновлених (В) форм нікотинамідних коферментів в органах щурів за введення їм ВК на фоні дії антибіотиків (в мкг/г тканини), n=8

Орган / показник	Контроль	ВК	ХА	ХА+ВК	ЦГ	ЦГ+ВК
Печінка						
О	285,3±6,3	307,7±8,1*	286,9±10,3	304,2±8,9	214,4±8,3*	243,3±6,0*
В	114,6±3,0	131,3±3,6*	124,3±4,1	120,1±4,9	102,5±3,7	117,4±4,3
О+В	399,9±10,4	439,0±12,0*	411,2±16,0	424,3±16,1	316,9±13,7*	360,7±10,7*
О/В	2,50	2,34	2,30	2,53	2,09	2,08
Нирки						
О	215,0±5,3	230,0±5,8	197,7±7,1	233,0±6,6*	139,3±5,2*	153,3±6,1*
В	89,5±2,9	110,9±4,3*	112,2±2,9*	122,0±3,9*	82,5±3,1	92,6±3,7
О+В	304,5±8,1	340,9±10,0*	309,9±10,4	355,0±10,7*	221,8±8,5*	245,9±10,0*
О/В	2,41	2,09	1,76	1,91	1,69	1,66
Мозок						
О	233,0±3,3	331,2±10,1*	216,1±3,8*	322,6±12,8*	151,0±5,0*	180,6±7,3*
В	122,0±4,4	132,4±5,2	145,1±5,1	136,8±5,0	113,8±4,1	106,4±3,9*
О+В	355,0±10,9	463,5±15,6*	361,2±14,1	459,4±17,6	264,8±9,3*	287,0±10,9
О/В	1,91	2,50	1,49	2,37	1,34	1,70
Серце						
О	229,6±5,8	260,1±4,1	236,0±8,4	254,8±6,1*	113,6±4,3*	141,5±4,9*
В	107,4±4,0	137,9±4,9*	123,4±3,7*	134,7±4,9*	75,3±3,0*	86,4±3,2*
О+В	337,0±10,1	397,0±10,3	359,4±12,6	389,5±11,7*	188,9±7,6*	227,3±8,3*
О/В	2,14	1,89	1,92	1,89	1,51	1,64

Примітки: * — різниця з контролем достовірна, $P \leq 0,05$; ВК — вітамінний комплекс, ЦГ — циклогексимід, ХА — хлорамфенікол

Комплекс вітамінів, який вводили на тлі дії циклогексиміду, викликав збільшення вмісту окиснених форм нікотинамідних коферментів у порівнянні з окремо введеним циклогексимідом в усіх органах тварин у 1,10 – 1,24 раза та відновлених форм у серці — у 1,15 раза. Таким чином, комплекс вітамінів, ін'єкований нормальним тваринам, помітно підвищував вміст в їх органах нікотинамідних

коферментів, а його введення на тлі антибіотиків помітно нормалізувало знижені ними показники, що було особливо виразним за дії ЦГ.

Крім того, у цих же дослідах було вивчено вплив вказаних препаратів на активність лактатдегідрогенази, яка є залежною від нікотинамідних коферментів (табл. 2). Комплекс вітамінів у печінці, нирках та мозку порівняно з контролем збільшував активність ЛДГ у 1,10—1,15 рази, а за дії ХА спостерігалось істотне зменшення цього показника в мозку і серці. Ведений після хлорамфеніколу комплекс вітамінів достовірно збільшував активність ЛДГ в усіх органах, а в печінці й нирках — навіть у порівнянні з контролем — у 1,11 і 1,13 рази, тобто нормалізація була повною. Отримані результати свідчать також про те, що ХА фактично не впливає на ефективність стимулюючої дії ін'єкцій ВК на ЛДГ.

Таблиця 2

Активність ЛДГ в органах щурів за введення їм ВК на фоні дії антибіотиків (в мкмоль НАДН/г/хв), n=8

Орган	Контроль	ВК	ХА	ХА+ВК	ЦГ	ЦГ+ВК
Печінка	94,1±2,4	106,1±3,1*	95,7±2,2	105,8±3,3* ^x	35,0±0,8*	55,1±1,3* ^x
Нирки	136,1±3,4	157,1±4,3*	136,5±4,0	154,5±3,9* ^x	94,4±3,1*	109,8±2,6* ^x
Мозок	80,2±1,6	89,8±2,2*	68,0±1,4*	87,8±1,8 ^x	49,4±1,4*	66,8±1,4* ^x
Серце	221,4±4,1	238,6±4,3	202,5±4,8*	224,5±5,0 ^x	180,0±4,2*	214,2±5,0 ^x

Примітки:

1. ВК — вітамінний комплекс, ЦГ — циклогексимід, ХА — хлорамфенікол;
2. * — різниця з контролем достовірна, $P \leq 0,05$;
3. ^x — різниці між варіантами ХА і (ХА+ВК) та ЦГ і (ЦГ+ВК) достовірні.

На відміну від хлорамфеніколу циклогексимід викликав більш істотне падіння досліджуваних показників в усіх органах — у 1,22–2,08 рази, а застосування на фоні цього антибіотика комплексу вітамінів достовірно підвищувало активність ЛДГ у всіх органах, хоч вихідний рівень у жодному випадку не досягався.

Таким чином, комплекс вітамінів ефективно коригував зрушення, викликані хлорамфеніколом та циклогексимідом, але більш важливим є те, що він позитивно впливав не тільки на вміст нікотинамідних коферментів, але й на активність лактатдегідрогенази. З іншого боку, антибіотики, особливо циклогексимід, явно обмежували вплив ВК на ці показники. Це свідчить про досить помітну роль індуктивних механізмів у регуляції систем біосинтезу коферментних форм нікотинової кислоти в організмі і в реалізації її функцій, особливо тих, що зосереджені в цитоплазмі. Подальшому вивченню знайдених закономірностей, у тому числі і для інших вітамінів, будуть присвячені спеціальні дослідження.

Висновки

1. Антибіотики хлорамфенікол і особливо циклогексимід порушували структуру фонду нікотинамідних коферментів та зменшували активність лактатдегідрогенази.

2. Комплекс вітамінів, введений на тлі хлорамфеніколу та циклогексиміду, досить ефективно нормалізував порушення, викликані цими антибіотиками.

3. Індуктивні механізми відіграють істотну роль у регуляції біосинтезу нікотинамідних коферментів і реалізації їх функцій.

Література

1. Сазыкин Ю. О. Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. — М.: Наука, 1968. — 448 с.
2. Ambekar C. S., Cyeung B. Metabolism of Chloramphenicol succinate in human bone marrow // Eur. Clin. Pharmacol. — 2000. — № 56. — Р. 405–409
3. Каліман П. А., Загайко А. Л. Вплив актиномицину D і циклогексиміду на ліпопротеїни сироватки крові та цитозоль печінки щурів за оксидативного стресу // Укр. біохім. журн. — 2001. — Т. 73, № 4. — С. 79–83.
4. Cozzarelli N. The mechanism of action of inhibitors of DNA synthesis // Annual Review of Biochemistry. — 1977. — № 46. — Р. 641–668
5. Кадашев Д. Ю. Рибосомные РНК в терминеции трансляции: гипотезы // Молекулярная и клиническая химия. — М.: Мир, 1986. — С. 45–67
6. McCarthy T., Cnterella M., Canalis E. Effects of fibroblast growth factor on bone formation in vitro // J. Clin. Invest. — 1988. — № 81. — Р. 1572–1577
7. Карпов Л. М. Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма: Дис... д-ра биол. наук: 14.00.25. — Одесса, 1994. — 505 с.
8. Карпов Л. М., Савлущинская Л. Г., Будняк А. К., Сорокин А. В. Обмен витаминов В₂, В₃ и РР в онтогенезе белых крыс // Біологічний вісник. — Харків, 1998. — Т. 2, № 2. — С. 46–50.
9. Кокошкіна О. А., Запорожченко А. В., Карпов Л. М., Будняк А. К., Сорокин А. В. Коферменты при диабете у крыс // Всеукраинская конференция молодых ученых “Актуальные проблемы современного естествознания”. — Симферополь, 2003. — С. 44–45.
10. Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1979. — 551 с.
11. Определение N₁-метилникотинамида и никотиновых коферментов в биологических средах флюоресцентным методом / Куденцова О. А., Вржесинская А. А., Сокольников Т. Г. и др. // Вопросы питания. — 1992 г. — Т. 51, № 2. — С. 62–67.
12. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учеб. пособие / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун.-та, 1982. — 272 с.

Л. М. Карпов, А. В. Запорожченко, А. В. Сорокин, О. А. Кокоскина

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра физиологии человека и животных,
кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

СОДЕРЖАНИЕ НИКОТИНАМИДНЫХ КОФЕРМЕНТОВ И АКТИВНОСТЬ ЛДГ В ОРГАНАХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ИМ ВИТАМИНОВ И ИНГИБИТОРОВ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА

Резюме

Изучено влияние антибиотиков циклогексимида и хлорамфеникола, а также витаминного комплекса (В₁, ФМН, никотинамид, пантотенат кальция, липоевая кислота, В₆) на содержание никотинамидных коферментов и активность лактатдегидрогеназы в органах крыс. Показано, что эти антибиотики уменьшают содержание в тканях указанных коферментов и активность лактатдегидрогеназы, а введенный на фоне антибиотиков сбалансированный витаминный комплекс заметно ослабляет их негативное действие. Эффективность витаминного комплекса в условиях эксперимента уменьшается после введения обоих антибиотиков, но особенно циклогексимида.

Ключевые слова: никотиновая кислота, никотинамидные коферменты, витаминный комплекс, циклогексимид, хлорамфеникол.

L. M. Karpov, A. V. Zaporozhenko, A. V. Sorokin, O. A. Kokoshkina

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Human and Animal Physiology,
Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

NICOTINAMID COENZYMES CONTENT AND LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN THE ORGANS OF RATS AFTER INJECTION OF VITAMINS AND PROTEIN BIOSYNTHESIS INHIBITORS

Summary

The effect of antibiotic cycloheximid, chloramphenicol, and vitamin complex (B₁, FMN, calcium pantothenate, lipoic acid, nicotinamid and B₆) on contents of nicotinamid coenzymes and activity lactate dehydrogenase in the organs of rats has been studied. It is shown that action of above mentioned antibiotics decreased the coenzymes content and lactate dehydrogenase activity in the tissues. Being used together with antibiotics the vitamin complex significantly depresses their negative effect. The effectiveness of the vitamin complex upon the experimental conditions decreases after both antibiotics' insertion, especially after cycloheximid.

Keywords: nicotinic acid, nicotinamid coenzymes, vitamin complex, cycloheximid, chloramphenicol.