

УДК: 577.1.152.16.599.4

## Активність піруватдегідрогеназного комплексу в органах щурів через різні терміни після внутрішньом'язового введення вітамінів групи В та їх комплексів

Л.М.Карпов<sup>1</sup>, В.Ю.Анісімов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І.І.Мечникова (Одеса, Україна)

<sup>2</sup>Одеський державний медичний університет (Одеса, Україна)

Вивчали роль і можливості вітамінів групи В у комплексах різної складності (від 2- до 5-компонентного) впливати на активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДГК) в органах щурів у динаміці – від 1 до 24 годин після введення. Було встановлено, що як вітамінні препарати, так і комплекси з них максимально активують ПДГК у досліджуваних органах щурів через 3 години після внутрішньом'язової ін'єкції. Приріст активності ПДГК після введення полівітамінних комплексів, особливо 4- і 5-компонентних, у кілька разів перевищує такий у моновітамінів і у помітній мірі зберігається і через 24 години.

**Ключові слова:** *піруватдегідрогеназний комплекс (ПДГК), активність, комплекси вітамінів групи В.*

## Активность пируватдегидрогеназного комплекса в органах крыс через разные сроки после внутримышечного введения витаминов группы В и их комплексов

Л.М.Карпов, В.Ю.Анисимов

Изучали роль и возможности витаминов группы В в комплексах разной сложности (от 2- до 5-компонентного) влияют на активность пируватдегидрогеназного комплекса (ПДГК) в органах крыс в динамике – от 1 до 24 часов после введения. Было установлено, что как витаминные препараты, так и их комплексы максимально активируют ПДГК в исследуемых органах крыс через 3 часа после внутримышечной инъекции. Прирост активности ПДГК после введения поливитаминных комплексов, в особенности 4- и 5-компонентных, в несколько раз превышает таковой у моновитаминов и в заметной степени сохраняется и через 24 часа.

**Ключевые слова:** *пируватдегидрогеназный комплекс (ПДГК), активность, комплексы витаминов группы В.*

## Activity of pyruvatedehydrogenase complex in organs of rats in different terms after intramuscular introduction of group B vitamins and their complexes

L.M.Karpov, V.Yu.Anisimov

The role and possibilities of vitamins of group B in the complexes of different complexity (from 2- to 5-component) to influence activity of pyruvatedehydrogenase complex (PDGC) in organs of rats in dynamics – from 1 to 24 hours after introduction have been studied. It has been established that both vitamin preparations and complexes from them maximally activate PDGC in studied organs of rats in 3 hours after the intramuscular injection. The increase of activity of PDGC after introduction of polyvitamins complexes, and especially 4- and 5-component ones, in several times exceeds such increase at monovitamins introduction and persists in a great measure in 24 hours.

**Key words:** *pyruvatedehydrogenase complex (PDGC), activity, complexes of group B vitamins.*

### Вступ

Регуляція активності коферментзалежних ферментів вітамінами, їх похідними або комплексами вивчається досить давно. Ця ідея є досить привабливою, оскільки вітаміни становлять групу високоактивних біохімічних і фізіологічних регуляторів природного походження, у яких небажаних побічних властивостей в межах помірних доз відмічено досить мало. Наявність їх у природних продуктах, а також у багатьох спеціально розроблених харчових добавках значно розширює поле для науково-дослідної діяльності у сфері медицини, ветеринарії і т.д. Проте, за деяких умов виникає необхідність парентерального введення вітамінних препаратів синтетичного походження, і це дуже ускладнює дану проблему, оскільки при ентеральному надходженні спеціальні механізми регулюють необхідним чином дози вітамінів, що всмоктуються, їх форми, співвідношення і т.ін. Частково ця проблема описана нами раніше (Карпов і др., 1985; Карпов, 1989). При ін'єкційному введенні всі ці

фактори необхідно враховувати і обґрунтовувати, оскільки результат певною мірою буде залежати від них і навіть від способів парентерального введення, а саме від цього залежать як фармакодинаміка вітамінів, так і їх вплив на біохімічні системи організму, у тому числі і пов'язані з його енергетичними механізмами (Карпов та ін., 2008).

Деякі роки тому нами було виконане дослідження впливу ін'єкцій 5-компонентної суміші вітамінів (В<sub>1</sub>, рибофлавінмононуклеотид, нікотинамід, пантотенат кальцію, ліпоєва кислота) на активність дегідрогеназних комплексів 2-оксокислот в органах мишей (Карпов, Полеся, 1989). Була показана дозозалежна активація цих ферментів. Пізніше подібні дослідження були виконані на фоні вікових (Карпов и др., 2002) або патологічних (наприклад, алоксановий діабет) змін (Абулла Саммак и др., 2002). Але ці роботи були виконані або без урахування динаміки процесу і ролі окремих компонентів, або з використанням інших доз і форм вітамінів.

Таким чином, метою даного дослідження є вивчення ролі і можливостей вітамінних компонентів, що входять до їх комбінацій різної складності (від 2- до 5-компонентного), впливати на активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДГК) в органах щурів у динаміці – від 1 до 24 годин після введення. Така побудова дослідження пояснюється тим, що дана мультиензимна система відіграє одну із найбільш важливих ролей в енергетиці, а використані 5 вітамінів у своїх коферментних формах входять до її складу і певною мірою визначають активність.

Інтерес до подібних досліджень пояснюється також тим, що на цей час відома виключно важлива роль обміну пірвіноградної кислоти для генерування енергетичного заряду в нервовій тканині, серцевому м'язі та клітинах печінки (Розанов, Карпов, 1987). Метаболізм пірвату, що супроводжується продукцією енергії та акумуляцією її в молекулах АТФ, реалізується головним чином у процесі окислювального декарбоксілювання. Цей процес і каталізується поліферментним комплексом ПДГК, у склад якого входять коферментні форми вітамінів, які нами вивчаються. А інтенсивність процесів метаболізму пірвату у нервових тканинах, міокарді, печінці, у свою чергу, пов'язана з активністю обміну самих вітамінів, який є значною мірою енергозалежним (Розанов, Карпов, 1987; Ленинджер, 1985). Цим в основному і пояснюється вибір органів для дослідження і спосіб розрахунку активності – на 1 г тканини.

#### **Матеріали і методи**

Дослідження виконані на білих безпородних щурах-самцях, масою 160–180 г. Тваринам внутрішньом'язово вводили водні розчини субстанцій вітамінів у таких дозах: В<sub>1</sub> (тіаміну хлорид) – 6, рибофлавінмононуклеотид (ФМН) – 2, нікотинамід (НА) – 20, В<sub>3</sub> (пантотенат кальцію) – 25, ліпоєва кислота (ЛК) – 2 мг/кг маси, або їх комплекси: (В<sub>1</sub> + ФМН), (В<sub>1</sub> + ФМН + НА), (В<sub>1</sub> + ФМН + НА + В<sub>3</sub>), (В<sub>1</sub> + ФМН + НА + В<sub>3</sub> + ЛК) з тими ж дозами компонентів. Дози препаратів та їх співвідношення обґрунтовані нами раніше (Карпов, 1994).

Тварин брали у дослід через 1, 3, 6 і 24 години. У гомогенатах з їх органів вимірювали активність піруватдегідрогеназного комплексу (ПДГК) (КФ 1.2.4.1) за допомогою фериціанідного методу (KieSSLing, Lundquist, 1962). Ферментну активність виражали у мікромолях відновленого фериціаніду на 1 г тканини за 30 хв інкубації. Результати оброблено статистично (Гланц, 1999).

#### **Результати й обговорення**

Отримані нами дані щодо зміни активності ПДГК з часом представлені у таблиці і рисунку. З таблиці можна бачити, що дещо більшою із органів, що вивчалися, вона є у серці (вихідні рівні – контролі). Через 1 годину після введення моновітамінних препаратів у головному мозку тільки В<sub>1</sub> та НА дали помітний приріст активності ПДГК (22,3% та 26,2% відповідно) і в печінці – В<sub>1</sub> (38,7%), НА (13,0%) і В<sub>3</sub> (18,2%). У серцевому м'язі достовірних змін не відмічено.

Через 3 години картина різко змінилась. В усіх органах моновітамінні препарати викликали суттєвий і у більшості випадків достовірний ріст активності ПДГК, причому найбільшим, як у абсолютному значенні, так і у відсотках приросту, він був у печінці. Слід зазначити, що у мозку, як і в печінці, найбільший приріст давав В<sub>1</sub>.

Через 6, а тим більше через 24 години після введення, ефект дії моновітамінних препаратів практично зникає, хоча для дії В<sub>3</sub> в останній строк спостереження, як правило, відмічено невеликий підйом: для печінки – достовірний як порівняно з контролем, так із попереднім періодом (6 годин). Це може бути пов'язано з фазовим характером обміну самої пантотенової кислоти.

Що стосується полівітамінних композицій, то всі вони мали помітно більшу стимулюючу дію на активність ПДГК, ніж моновітаміни. Але для мозку це малопомітно через 1 годину після введення, коли всі полівітамінні комплекси дають приблизно однаковий і невеликий приріст активності: від 24,6% для (В<sub>1</sub> + ФМН) до 37,2% – для 5-компонентного. Через 3 та 6 годин, а особливо для першого з цих строків, відмічено суттєве зростання активності ПДГК. При цьому найбільший приріст її спостерігався

при переході до більш складних комплексів. І хоча різниця між ними у їх дії була не дуже великою (і статистично не завжди достовірною), всі вони значно перевищували за своєю ефективністю будь-який із досліджених моновітамінів. Через 24 години ефект дії всіх препаратів і комплексів практично нівелювався і активність ПДГК майже поверталась до вихідного рівня. І лише 4- та 5-компонентні комплекси ще зберігали невеликий ефект, приблизно такий же, що спостерігався через 1 годину після ін'єкції, – 25–30 %.

Таблиця.

**Зміни активності ПДГК в органах щурів через різні терміни після введення вітамінів або їх комплексів, мкмоль відновленого фериціаніду на 1 г тканини за 30 хв (n=8)**

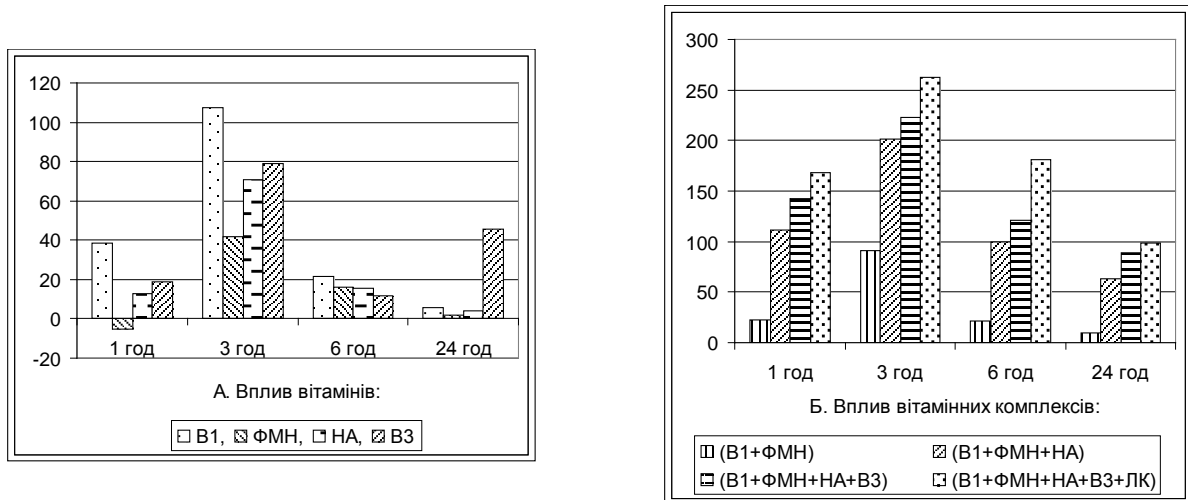
Умови досліджень	Активність ПДГК			
	1 год.	3 год.	6 год.	24 год.
Мозок				
Контроль (інтактні)	17,11±1,62	-	-	-
B <sub>1</sub>	20,93±1,42	24,27±1,73*	19,64±1,14	18,84±1,00
ФМН	16,93±1,13	21,83±1,46	19,91±1,43	16,82±0,71
НА	21,62±1,33	24,47±1,88*	22,31±0,84*	20,54±0,74
B <sub>3</sub>	17,82±0,62	23,22±1,27*	20,94±0,84	20,21±1,15
B <sub>1</sub> +ФМН	21,32±1,00*	25,51±1,47*	23,72±0,91	19,74±1,22
B <sub>1</sub> +ФМН+НА	22,01±1,01*	27,33±1,67*	26,02±1,73*	19,81±0,91
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub>	23,08±1,20*	29,56±1,44*	27,38±1,78*	22,31±1,47*
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub> +ЛК	23,47±2,01	31,43±1,53*	29,54±1,19*	23,12±1,38*
Серце				
Контроль (інтактні)	19,53±1,00	-	-	-
B <sub>1</sub>	17,93±1,00	23,41±1,40	21,71±1,12	19,42±1,13
ФМН	16,71±1,23	21,84±1,43	20,00±1,51	17,71±1,01
НА	19,12±0,71	24,96±1,74*	20,22±1,32	20,71±0,82
B <sub>3</sub>	18,74±0,84	25,44±1,37*	20,65±1,33	21,45±1,00
B <sub>1</sub> +ФМН	26,73±1,91*	34,71±2,41*	24,92±1,23*	20,71±1,12
B <sub>1</sub> +ФМН+НА	27,83±1,42*	35,21±2,29*	32,71±2,94*	22,64±1,09*
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub>	29,18±2,03*	37,96±2,07*	35,64±2,16*	30,06±2,43*
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub> +ЛК	32,43±2,12*	42,12±2,15*	38,41±2,90*	33,17±2,73*
Печінка				
Контроль (інтактні)	16,11±0,74	-	-	-
B <sub>1</sub>	22,34±0,83*	33,45±2,73*	19,62±0,81*	17,02±0,42
ФМН	15,24±1,85	22,86±1,43*	18,12±0,74	16,31±0,32
НА	18,21±1,12	27,50±1,33*	18,64±1,14	16,72±1,00
B <sub>3</sub>	19,04±0,65*	28,84±2,08*	18,02±0,74	23,45±1,36*
B <sub>1</sub> +ФМН	19,81±0,91*	30,72±2,93*	19,54±0,82*	17,72±0,43
B <sub>1</sub> +ФМН+НА	34,02±2,94*	48,61±3,15*	32,10±2,00*	25,34±1,52*
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub>	39,14±2,43*	52,50±2,67*	35,61±2,17*	30,28±2,03*
B <sub>1</sub> +ФМН+НА+B <sub>3</sub> +ЛК	43,27±2,27*	58,31±3,18*	45,26±3,46*	31,89±2,14*

Примітка: \* – різниця з контролем достовірна (p<0,05).

У серці відмічені такі ж закономірності, що і у головному мозку, але вони були виражені більш яскраво. По-перше, вже через 1 годину після ін'єкцій ефект дії полівітаміних комплексів був набагато вищим, ніж моновітамінів, він зростав від 2-компонентного до 5-компонентного – від 36,7% до 65,8%. Через 3 години як стимулююча дія, так і різниця з моновітамінами зростали ще більше: активація зростала у такій же послідовності – від 77,7% до 115,6%. У подальші строки ефект поволі знижувався, але стимулююча дія залишалась все ж досить значною і через 6 годин, а для 4- і 5-компонентного комплексів – навіть і через 24 години. Тобто, стимулююча дія цих двох останніх комплексів не лише досягає великих значень у період максимального ефекту, але і зберігається значною мірою у більш пізні періоди – від 6 до 24 год.

Найбільш яскраво вказані ефекти та закономірності їх розвитку у часі можна спостерігати в печінці. Суттєва активація ПДГК в цьому органі встановлена вже через 1 годину після ін'єкції (рис.): приріст від 22,9% для (B<sub>1</sub> + ФМН) до 168,6% для 5-компонентного комплексу. Через 3 години він

досягає максимальних значень не лише для моновітамінів, але і для комплексів з них: вказані значення зростають відповідно до 90,7% і 262,9%. Через 6 годин настає значне зниження величин приросту. Відповідно позначенням комплексів (на рис.) маємо: ( $B_1 + \text{ФМН}$ ) – 21,3; ( $B_1 + \text{ФМН} + \text{НА}$ ) – 99,2; ( $B_1 + \text{ФМН} + \text{НА} + B_3$ ) – 121,6; ( $B_1 + \text{ФМН} + \text{НА} + B_3 + \text{ЛК}$ ) – 181,3%. Тобто і в цей період приріст все ж залишається значним. Через 24 години величина приросту продовжує падати, але для комплексів ( $B_1 + \text{ФМН} + \text{НА}$ ) – ( $B_1 + \text{ФМН} + \text{НА} + B_3 + \text{ЛК}$ ) вона зберігається на досить високому рівні: 63,5; 88,4 і 98,9% відповідно.



**Рис. Приріст активності ПДГК у печінці щурів через різні терміни після введення вітамінів (А) або їх комплексів (Б) у % порівняно з вихідним рівнем (контроль)**

Таким чином, найбільш виражений стимулюючий ефект вітаміних препаратів, що вивчалися, а особливо полівітаміних комплексів, спостерігався через 3 години після введення. Це пояснюється тим, що до цього строку відбувається повне перетворення вітамінів в їх коферментні форми, що і забезпечує підвищення активності залежних від них ферментів (Савицкий и др., 1975).

Більш висока активація піруватдегідрогеназної реакції після введення полівітаміних комплексів і більша тривалість її, особливо для 4- і 5-компонентних комбінацій, пояснюються не тільки сумісною участю їх вітаміних компонентів вже у формі коферментів у функціонуванні ПДГК. Тут діє багато факторів, головні серед яких такі. Після введення вітаміних комплексів відбувається значне посилення тканевого дихання, що підвищує загальний рівень обмінних процесів, сприяє синтезу білків, у тому числі апоферментів ПДГК (Розанов, Карпов, 1987; Розанов и др., 1985). Важливу роль відіграє при цьому здатність вітаміних компонентів у комплексах підсилювати депонування один одного в тканинах і синтез з них відповідних коферментних форм (Розанов, Карпов, 1987; Розанов и др., 1985; Розанов, Ву Ван Ань, 1970).

#### Висновки

1. Як вітаміні препарати, так і комплекси з них максимально активують ПДГК у досліджуваних органах щурів через 3 години після внутрішньом'язової ін'єкції.
2. Активуюча дія усіх досліджених препаратів найбільшою мірою виражена в печінці, менше у серці і ще менше – у мозку.
3. За своєю здатністю викликати приріст активності ПДГК полівітаміні комплекси, а особливо 4- і 5-компонентні, у кілька раз перевищують таку у моновітамінів.
4. Полівітаміні комплекси, за виключенням ( $B_1 + \text{ФМН}$ ), дають і більш тривалий ефект, який у помітній мірі зберігається і через 24 години.
5. Між дослідженими моновітамініними препаратами у використаних дозах (а вони суттєво відрізняються) помітної і достовірної різниці у здатності активувати ПДГК у мозку і серці не визначено. І лише в печінці через 3 години на перше місце виходить  $B_1$ , далі йдуть  $B_3$  (і через 24 години – теж) і НА. ФМН у всі строки і в усіх органах демонстрував дуже помірну активність відносно ПДГК.

#### Список літератури

Абулла Саммак Ахмед, Карпов Л.М., Федорко Н.Л. и др. Возрастные особенности протекторного

- действия комплекса витаминов при аллоксановом диабете крыс // Вісник Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова. – 2002. – Т.7, №1. – С. 207–211.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459с.
- Карпов Л.М. Реалізація специфічної активності функціонально зв'язаних вітамінів групи В, їх похідних і комплексів за різних станів організму. Дис. ... д-ра біол. наук / 14.00.25. – Одеса, 1994. – 505с.
- Карпов Л.М. Роль Na,K-АТФазы во взаимоотношениях тиамин и липоевой кислоты при всасывании, происходящем в желудочно-кишечном тракте // Фізіол. журн. – 1989. – Т.35, №2. – С. 51–57.
- Карпов Л.М., Анісімов В.Ю., Полтавцева Н.В. Порівняльна динаміка вмісту макроергічних фосфатів і загальної АТФазної активності в органах щурів після різних способів введення їм вітамінних комплексів // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2008. – Т.814, №7. – С. 13–17.
- Карпов Л.М., Полєся Т.П. Действие функционально связанных витаминов и их коферментных форм на активность дегидрогеназ 2-оксокислот в органах мышей // Укр. біохім. журн. – 1989. – Т.61, №4. – С. 82–87.
- Карпов Л.М., Розанов А.Я., Файтельберг Р.О. и др. Взаимодействие липоевой кислоты и тиамин при всасывании в тонком кишечнике собак // Фізіол. журн. – 1985. – Т.31, №6. – С. 750–753.
- Карпов Л.М., Савлущинская Л.Г., Федорко Н.Л. и др. Коферментзависимые ферменты и старение // Биологические механизмы старения: Междунар. симп. – Х., 2002. – С.32.
- Ленинджер А. Биохимия: В 3 т. / Под ред. В.А.Энгельгардта и Я.М.Варшавского. – М.: Мир, 1985.
- Розанов А.Я., Ву Ван Ань Вплив пантотенату, рибофлавіну і нікотинату на депонування <sup>35</sup>S-тіаміну в організмі білих щурів // Укр. біохім. журн. – 1970. – №1. – С. 8–11.
- Розанов А.Я., Карпов Л.М. Биохимическое обоснование комплексного применения витаминов, коферментных дегидрогеназам α-кетокислот // Метаболические эффекты недостаточности функционально связанных В-витаминов / Под ред. Ю.М.Островского. – Минск, 1987. – С. 248–255.
- Розанов А.Я., Карпов Л.М., Петров С.А. Влияние коферментов пируватдегидрогеназы и белков митохондрий на накопление в них <sup>35</sup>S-липоевой кислоты // Укр. біохім. журн. – 1985. – №3. – С. 71–74.
- Савицкий И.В., Солянина А.Г., Савченко Э.С. О корреляции обеспеченности организма предшественниками коферментов с активностью дегидрогеназ α-кетокислот // Межвитаминные взаимоотношения: Мат. 3-го Гродненского симпозиума. – Гродно, 1975. – С. 139–142.
- Kiessling K.H., Lundquist C.G. Thiamine diphosphate in growing tissues: III. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and from thiamine diphosphate deficient adult rats // Exp. Cell. Res. – 1962. – Vol.26, №1. – P. 189–197.

Представлено: М.Ф.Леусом / Presented by: M.F.Leus

Рекомендовано до друку: Є.Е.Перським / Recommended for publishing by: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 21.10.2009

© Л.М.Карпов, В.Ю.Анісімов, 2009

© L.M.Karpov, V.Yu.Anisimov, 2009