

УДК: 615.038.001:577

Порівняльна динаміка вмісту макроергічних фосфатів і загальної АТФазної активності в органах щурів після різних способів введення їм вітамінних комплексів
Л.М.Карпов¹, В.Ю.Анісімов², Н.В.Полтавцева¹

¹Одеський національний університет імені І.І.Мечникова (Одеса, Україна)

²Одеський державний медичний університет (Одеса, Україна)

Ін'єкція щурам вітамінних комплексів (ВК) різного складу показала, що вони здатні стимулювати утворення в їх тканинах макроергічних нуклеотидних фосфатів, але цей процес характеризується насиченням: при зростанні числа компонентів він гальмується або навіть змінюється на зворотній. Загальна активність АТФаз в органах, навпаки, зі збільшенням складу ВК невпинно зростає, що врешті-решт і викликає (поряд з іншими причинами) вказаний вище ефект.

Ключові слова: *макроергічні фосфати, АТФазна активність, вітамінні комплекси.*

Вступ

Свого часу А.Я.Розанов і Т.М.Цитко (Розанов, Цитко, 1965) показали, що ін'єкції щурам тіаміну, а тим більше тіаміндіфосфату, суттєво підвищують в їх органах вміст макроергічних сполук. Проте даних про вплив на цей ефект різних доз вітаміну В₁ чи комбінацій з іншими вітамінами даної групи нами в літературі не було знайдено, і, наскільки нами відомо, таких намагань не було. І лише кілька років тому у нашій лабораторії подібна робота була виконана (Полтавцева та ін., 2000), хоча у ній був використаний лише один великий комплекс із 6 вітамінів групи В: В₁, рибофлавінмононуклеотиду (ФМН), нікотинамід (НА), піридоксину (В₆), пантотенової кислоти (В₃), ліпоевої кислоти (ЛК). Вивчалась також лише одна концентрація компонентів. При цьому було встановлено, що цей вітамінний комплекс (ВК), на відміну від дії тіаміну і тіаміндіфосфату, на що ми вказували вище, достовірно збільшував вміст макроергічних фосфатів лише у крові щурів, а в печінці навіть зменшував, особливо у старих тварин. Тоді нами було зроблено припущення, що причиною цього явища є зростання конкуренції у кіназних реакціях за використання лімітованого нуклеотидтрифосфатного фонду при біосинтезі коферментних форм використаних вітамінів. На таку можливість при певних обставинах вказують й інші автори (Островський, 1975). Проте існує ще одна важлива обставина, яку слід узяти до уваги, – це вплив самих вітамінів (і особливо їх комплексу) на активність АТФази (як убаїн-чутливої, або Na,K-АТФази, так і нечутливої). Дійсно, раніше нами було показано, що ін'єкції щурам ВК призводили до суттєвого зростання в їх крові і органах активності цього ферменту (Карпов та ін., 2005). У зв'язку з цим певну роль може відігравати і спосіб введення вітамінів, оскільки раніше одним із авторів цієї статті була показана залежність між всмоктуванням тіаміну і ліпоевої кислоти у шлунково-кишковому тракті і активністю цього ферменту (Карпов, 1989).

Враховуючи все сказане вище, метою даного дослідження стало вивчення залежності між рівнем макроергічних фосфатів в органах щурів і загальною АТФазною активністю при різних способах введення вітамінних комплексів зростаючої складності.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на статевозрілих самцях щурів лінії Вістар, масою 180–200 г. Комплекси вітамінів різного складу вводили внутрішньом'язово або внутрішньошлунково (зондом) в об'ємі 0,5 мл за 1, 3, 24 години до забою.

Для дослідів були використані такі комплекси: 1) (В₁ + ФМН); 2) (В₁ + ФМН + НА); 3) (В₆ + ФМН + НА); 4) (В₁ + ФМН + НА + В₆); 5) (В₁ + ФМН + НА + В₃ + В₆ + ліпоева кислота).

Незалежно від складу комплексів індивідуальні дози вітамінів були наступними (у мг/кг маси): В₁ – 6, ФМН – 2, НА – 20, В₆ – 5, В₃ – 25, ліпоева кислота – 2. Дози вітамінів і їх співвідношення були розроблені раніше (Карпов, 1994).

В гомогенатах, виготовлених на фізіологічному розчині, визначали загальну АТФазну активність в середовищі наступного складу (мМ): Трис-НСІ-буфер (рН 7,4) – 25, NaCl – 100, KCl – 10, MgCl₂ – 6. Реакцію починали додаванням Na₂АТФ до концентрації 2 мМ. Мірою активності був приріст концентрації неорганічного фосфату (Lescoso, Inesi, 1966).

Вміст загальних макроергічних фосфатів визначали на основі комбінації методів А.Я.Розанова і Т.М.Цитко (Розанов, Цитко, 1965) та Лекоко і Інеші (Lescoso, Inesi, 1966). Шляхом осадження оцтовокислою ртуттю була розрахована їх нуклеотидна фракція, як це було описано раніше (Карпов, 1994).

Результати й обговорення

Аналіз отриманих результатів щодо макроергічних нуклеотидних фосфатів (МНФ) (табл. 1) показує, що як ін'єкції, так і внутрішньошлункове введення найменшого з комплексів ($B_1 + \text{ФМН}$) помітно підвищують їх вміст в органах і тканинах. При цьому він стає максимальним через 3 години і всюди його зростання досягає 30–40 % для внутрішньом'язового введення. Що стосується внутрішньошлункового введення, то за такої ж динаміки у мозку і серці ефект дещо нижчий, а в печінці і відділах шлунково-кишкового тракту – вищий, хоча і незначно, і, як правило, через 3 години.

При використанні трьохкомпонентних комплексів приріст вмісту МНФ був більшим і вказані закономірності динаміки залишались, але комплекс ($B_1 + \text{ФМН} + \text{НА}$) був помітно ефективнішим за ($B_6 + \text{ФМН} + \text{НА}$).

Перехід від 3-компонентних препаратів до 4-компонентного дав незначний приріст у 7–10 % порівняно з ($B_1 + \text{ФМН} + \text{НА}$). Це свідчить про те, що ресурс подальшого зростання вмісту МНФ вже практично вичерпаний. Такий висновок підтверджується при переході до використання 6-компонентного препарату. Для нього характерне падіння ефекту до рівня 3-компонентного комплексу ($B_1 + \text{ФМН} + \text{НА}$), а в печінці і в слизових оболонках відділів шлунково-кишкового тракту – навіть до рівня двокомпонентного.

З метою з'ясування природи вказаних закономірностей у цих же тварин вивчали динаміку змін АТФазної активності в печінці і у слизових оболонках шлунково-кишкового тракту (ШКТ) (табл. 2). Встановлено, що ступінь її активації в печінці і слизовій оболонці шлунку була найбільшою через 1 годину, а в інших відділах ШКТ – через 1–3 год. Причому у печінці і шлунку різниці між способами введення препаратів практично не відмічено, а в нижніх відділах ШКТ перевага була на боці внутрішньошлункового введення. При переході від 2-компонентного комплексу ($B_1 + \text{ФМН}$), стимулюючий ефект якого складав 20–27 %, до 3- і 4-компонентного активність АТФаз зростала незначно. І лише для 6-компонентного відмічено її помітний стрибок — до 45–65 %. Динамічні закономірності при цьому майже не змінювались.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що можливості стимуляції енергетичної системи організму (судячи по рівню макроергічних сполук) з допомогою вітамінних препаратів і комплексів досить обмежені. Для цього існує кілька причин. По-перше, вітаміни, що мають відношення до енергетики, самі потребують АТФ для синтезу коферментних форм. По-друге, на варті стабілізації рівня АТФ, мабуть, стоїть і система АТФаз, оскільки співвідношення АТФ/АДФ є одним із важливих регуляторів енергетичного метаболізму. Тому при значних і особливо надмірних надходженнях вітамінів в організм результат може бути негативним по різних показниках: неефективне використання вітамінів, зниження ресурсу швидкодоступних макроергічних сполук, дезорганізація механізмів регулювання енергетичних процесів і т. ін. Проте це можливо лише у випадку неконтрольованого прийому людиною вітамінних препаратів медичного призначення. Але можна вважати, що цей механізм із включенням вказаних АТФаз діє постійно, згладжуючи стрибки і коливання у забезпеченні організму людини і тварин вітамінами.

Треба також зазначити, що вітаміни групи В та їх комплекси здатні стимулювати утворення макроергічних фосфатів в організмі лише до певної межі. Збільшення і кількості, і доз приводить до насичення ефекту, а потім – і до його зменшення. На відміну від цього, введення тваринам вітамінних препаратів викликає дозозалежне зростання в їх органах загальної АТФазної активності. І нарешті зазначимо: між активністю Mg-активованої Na,K-АТФази і рівнем макроергічних фосфатів в організмі існує зв'язок: при малих дозах вітамінів прямий, а при великих – зворотній.

Таблиця 1.

Вміст макроергічних нуклеотидних фосфатів в органах і слизових оболонках різних відділів шлунково-кишкового тракту щурів (в мкг Ф_n/1 г тканини) за різних термінів після введення їм внутрішньом'язово (в/м) і внутрішньошлунково (в/ш) полівітамінних препаратів (n=8)

Органи/ контроль	Термін (год.)	В ₁ + ФМН		В ₁ + ФМН + НА		В ₆ + ФМН + НА		В ₁ + ФМН + НА + В ₆		В ₁ + ФМН + НА + В ₃ + В ₆ + ЛК	
		в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш
Мозок/ 48,5±2,5	1	57,3±3,3	52,7±3,8	69,7±4,8*	53,4±3,9	63,7±5,5	56,1±3,7	77,4±3,9*	59,9±2,8	66,1±4,3*	50,3±3,7
	3	68,1±6,6*	62,9±4,9*	89,6±6,3*	77,6±7,3*	73,1±4,9*	67,4±4,4*	99,9±4,1*	85,6±3,9*	78,8±4,9*	63,3±3,4
	24	-	-	59,9±5,1	63,4±4,1*	-	-	66,6±2,6*	69,9±3,2*	57,4±3,6	58,1±2,6
Серце/ 60,2±3,5	1	85,9±5,7*	67,7±3,8	98,4±6,8*	72,3±7,1*	84,0±3,9*	68,0±3,9	108,0±6,6*	79,9±3,3*	88,6±5,3*	69,9±3,6
	3	93,7±6,9*	86,3±8,8*	128,0±10,0*	111,0±9,0*	99,0±5,0*	89,0±2,7*	142,0±8,1*	93,0±5,9*	101,1±5,4*	76,6±3,9*
	24	-	-	72,2±4,7	70,1±5,8	-	-	79,9±5,9	77,7±2,9	69,9±4,4	68,8±3,8
Печінка/ 75,3±6,4	1	96,6±7,7*	84,4±7,6	116,3±6,5*	91,6±3,5	98,0±5,1*	86,0±3,9	128,0±7,8*	102,0±6,3*	93,1±5,8	84,4±4,7
	3	109,0±10,1*	120,0±11,0*	152,0±6,0*	150,0±7,0*	119,0±5,0*	119,0±6,6*	179,0±7,7*	167,0±7,9*	125,4±6,7*	117,7±6,6*
	24	79,0±3,6	81,0±4,6	108,0±6,0*	86,4±5,1	78,0±3,3	88,0±5,1	110,0±4,9*	125,5±5,5*	99,4±5,8*	99,1±4,8*
Шлунок/ 64,5±3,6	1	83,3±4,9*	71,1±3,9	77,4±2,8*	75,3±3,6	72,0±3,4	62,0±4,1	85,5±4,7*	83,3±5,3*	75,5±4,5	72,2±3,9
	3	89,7±6,6*	94,3±8,1*	108,0±3,0*	132,0±8,0*	79,0±3,6	103,0±6,7*	120,0±7,3*	147,0±8,7*	92,2±5,6*	106,4±6,1*
	24	-	-	89,3±3,7*	85,9±4,7*	-	-	99,1±6,1*	95,5±5,1*	73,3±3,8	74,8±5,2
12-пала кишка/ 106,1±5,9	1	105,0±10,0*	117,0±8,0	104,4±7,6	129,0±3,1*	107,0±6,3	122,0±7,7	115,0±5,4	143,0±8,1*	107,3±7,1	125,5±6,2
	3	141,0±12,0*	144,0±11,0*	173,0±10,0*	179,0±9,5*	149,0±6,9*	150,0±7,5*	192,0±8,8*	199,0±8,0*	140,0±11,1*	150,3±5,2*
	24	-	-	122,0±7,0	140,0±6,4*	-	-	135,0±6,3*	150,0±7,3*	119,1±7,7	125,6±4,9
Тонкий кишечник/ 102,8±5,5	1	104,0±6,0	110,0±10,0	103,0±7,0	117,0±5,1	105,0±6,3	113,0±6,6	114,0±5,0	129,0±6,0*	107,7±5,7	115,5±6,3
	3	133,0±12,0*	129,0±11,0	163,0±9,0*	162,0±8,0*	137,0±5,9*	137,0±6,4*	181,0±7,9*	177,0±6,8*	146,6±6,3*	140,0±6,1*
	24	-	-	144,0±6,0*	98,4±5,7	-	-	159,0±6,8*	141,0±6,9*	126,3±5,8*	120,1±5,9*

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

Таблиця 2.

Загальна АТФазна активність печінки і слизових оболонок різних відділів шлунково-кишкового тракту щурів (в мкмоль Φ_n /мг білку за год.) за різних термінів після введення їм внутрішньом'язово (в/м) і внутрішньошлунково (в/ш) полівітамінних препаратів (n=8)

Органи/ контроль	Термін (год.)	$B_1 + \Phi M H$		$B_1 + \Phi M H + H A$		$B_6 + \Phi M H + H A$		$B_1 + \Phi M H + H A + B_6$		$B_1 + \Phi M H + H A + B_3 + B_6 + ЛК$	
		в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш	в/м	в/ш
Печінка/ 23,6±1,1	1	32,2±1,4*	28,2±1,1*	32,6±1,6*	28,1±1,1*	29,5±1,9*	30,6±1,5*	31,0±2,0*	30,5±2,1*	39,7±2,4*	36,6±2,3*
	3	23,6±1,1	23,3±1,7	23,6±1,9	23,3±2,1	25,6±1,9	24,3±1,4	25,2±1,3	25,7±1,6	34,6±3,1*	33,3±3,1*
	24	24,8±2,0	23,4±2,3	26,1±1,5	27,6±1,7	28,0±1,7	25,9±2,5	25,1±1,5	26,8±2,7	31,1±2,8*	29,4±2,7
Шлунок/ 22,5±1,2	1	29,1±2,6	31,3±2,3*	30,2±2,6*	30,6±2,2*	28,1±0,9*	33,2±2,1*	30,6±3,2*	30,1±2,5*	32,2±3,1*	33,3±2,8
	3	27,7±1,6	29,1±1,9	26,6±1,8	27,3±1,9	27,0±1,8	26,3±1,4	26,5±1,3	28,6±1,7	30,0±2,6*	33,0±2,7*
	24	25,2±2,1	25,6±2,2	21,7±1,2	25,8±1,4	24,3±1,6	25,2±1,8	26,2±2,9	25,1±2,3	24,4±2,4	26,9±2,9
12-пала кишка/ 31,6±1,3	1	37,7±2,1	39,2±2,3	38,9±2,8	40,7±3,1*	35,5±1,2	41,9±2,7*	36,6±1,7	45,4±3,4*	42,3±3,3*	49,4±3,8*
	3	38,1±2,1	36,7±1,7	36,4±1,3	42,2±2,2*	38,7±0,9*	38,1±2,1*	40,5±1,4*	39,9±1,1*	44,6±3,7*	45,5±3,1*
	24	29,2±2,9	28,4±1,8	31,8±1,6	33,3±2,7	31,1±1,6	33,3±2,4	39,1±3,1	39,4±2,8	39,4±3,3	39,9±3,6
Тонкий кишечник/ 27,0±1,6	1	34,4±1,3*	39,9±1,7*	35,0±2,7	37,4±1,8*	32,9±2,1	39,6±2,3*	39,8±3,1*	38,1±2,3*	42,8±2,8*	39,1±2,6*
	3	31,5±2,7	35,8±2,4*	32,6±1,1	38,6±2,5*	36,6±2,3*	37,7±1,7*	38,4±1,5*	43,3±1,6*	42,0±2,4*	49,6±3,1*
	24	27,3±2,7	29,7±1,7	28,8±3,0	31,3±2,2	28,8±1,9	33,9±1,3	30,6±1,4	32,8±1,9	32,2±2,6	37,7±3,2*

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

Список літератури

- 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-АТФази 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., Безп'ятих О.В. Вплив комплексу вітамінів групи В на активність Na,K-АТФази в умовах інгібування біосинтезу білка в тканинах та органах щурів // Аграрний вісник Причорномор'я. Сільськогосподарські та біологічні науки. – 2005. – Вип.31. – С. 188–189.
- Островский Ю.М. Общие подходы к изучению межвитаминных взаимоотношений // Мат. 3-го Гродненского симпозиума «Межвитаминные взаимоотношения». – Гродно, 1975. – С. 121–122.
- Полтавцева Н.В., Васильєва Т.В., Карпов Л.М. та ін. Дія вітамінного комплексу на показники енергетики в тканинах щурів різного віку // Вісник Одеського державного університету. – Одеса: Астропринт, 2000. – Т.5, вип.1. – С. 30–34.
- Розанов А.Я., Цитко Т.М. Влияние тиамин на уровень лабильного фосфата, АТФ, АДФ и некоторых других соединений в тканях морских свинок // Укр. біохім. журн. – 1965. – №3. – С. 386–390.
- Lecoco J., Inesi G. Determination of inorganic phosphate in the presence of adenosine triphosphate by the molibdovanadate method // Anal. Biochem. – 1966. – Vol.15, №1. – P. 160–163.

Сравнительная динамика содержания макроэргических фосфатов и общей АТФазной активности в органах крыс после разных способов введения им витаминных комплексов
Л.М.Карпов, В.Ю.Анисимов, Н.В.Полтавцева

Инъекция крысам витаминных комплексов (ВК) различного состава показала, что они способны стимулировать образование в их тканях макроэргических нуклеотидных фосфатов, однако этот процесс характеризуется насыщением: при увеличении числа компонентов он тормозится и даже изменяется на противоположный. Общая активность АТФаз в органах, наоборот, с увеличением компонентов ВК стремительно возрастает, что в конце концов и вызывает (наряду с другими причинами) указанный выше эффект.

Ключевые слова: *макроэргические фосфаты, АТФазная активность, витаминные комплексы.*

Comparative dynamics of macroergic phosphates concentration and common ATPase activity in the organs of rats after the different methods of vitamin complexes introduction
L.M.Karpov, V.Yu.Anisimov, N.V.Poltavtseva

Injecting rats by vitamin complexes (VC) of different composition showed that they are able to stimulate production of macroergic nucleotide phosphates in their tissues, however this process is characterized by satiation: at multiplying the number of components it is inhibited, and even changes on opposite. Common activity of ATPase in organs, on the contrary, with multiplying the components of VC increases swiftly, that eventually causes (along with other reasons) the effect indicated higher.

Key words: *macroergic phosphates, ATPase activity, vitamin complexes.*

Представлено: М.Ф.Леусом
Рекомендовано до друку: В.А.Бондаренком