

пшеничных отрубей ($R_s=-0,95$, $p=0,01$) и семечек ($R_s=-0,89$, $p=0,04$) у пациентов с коксартрозом.

Полученные результаты могут быть использованы для оценки уровня микроэлементов у пациентов с костно-мышечной патологией и коррекции их питания.

Литература

1. Клинико-патогенетическая значимость остеоассоциированных микроэлементов при болезнях суставов. Сообщение II. Микроэлементоз в волосах / О. В. Синяченко [и др.] // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2016. – Т. 23, № 3. – С. 67–73.
2. Герк, С. А. Элементный состав костной ткани человека в норме и при патологии / С. А. Герк, О. А. Голованова // Вестн. Ом. ун-та. – 2015. – Т. 78, № 4. – С. 39–44.
3. Factors that Affect the Content of Cadmium, Nickel, Copper and Zinc in Tissues of the Knee Joint / Roczniak W. [et al.]. // Biological Trace Element Research. – 2017. – Vol. 178, № 2. – P. 201–209.
4. Study on the relationship between age and the concentrations of heavy metal elements in human bone / L. Chang [et al.] // Ann. Transl. Med. – 2018. – Vol. 16, №. 6. – P. 320–333.
5. Comparative study of CTX-II, Zn^{2+} , and Ca^{2+} from the urine for knee osteoarthritis patients and healthy individuals / Xin L. [et al.] // Medicine. – 2017. – Vol. 96, № 32. – P. 1–4.

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОГО, ОКСИТИАМИНОВОГО B_1 ГИПОВИТАМИНОЗА И ТИАМИНАЗЫ-1 НА АКТИВНОСТЬ ТРАНСКЕТОЛАЗЫ

Кубышин В. Л., Зиматкина Т. И.

Кафедра химии

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Кафедра лучевой диагностики и лучевой терапии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Изучение влияния широко распространенных у населения недостаточного поступления в организм витамина B_1 и эндогенного дефицита тиамина, обуславливающих

снижение активности тиаминдифосфат (ТДФ)-зависимых ферментов, на связанные с этим нарушения обмена углеводов, является очень актуальным. Известно, что потребность организма в тиамине может значительно варьировать в зависимости от физиологических состояний (возраста, гипоксии, нервно-эмоциональных нагрузок), климатических условий, действия физических факторов (шума, вибрации, изменения температуры), особенностей микрофлоры желудочно-кишечного тракта (при носительстве *Vac. thiaminolyticum* и других микроорганизмов), а также патологических состояний [1]. У ряда животных (кур, собак, крыс) обнаружены штаммы тиаминолитических клостридий, вызывающих снижение уровня тиамина в органах и тканях. Распад тиамина в кишечнике может так же увеличиваться при повышении тиамининдуцирующего синтеза тиаминазы у *E. Colli*. Существуют и другие антитиаминовые факторы, которые широко распространены в мире растений и гидробионтов [2].

Наиболее ранние признаки B_1 – гиповитаминозного состояния у животных распознают по снижению активности транскетолазы (ТК) в эритроцитах, что по мнению некоторых авторов, определяет тиаминовый статус тканей животных [2]. Этот факт широко используется в клинической диагностике. Снижение активности ТК проявляется в условиях, при которых концентрация ТДФ оказывается недостаточной для насыщения фермента. ТК является ключевым тиамин-зависимым ферментом неокислительной ветви пентозофосфатного пути (ПФП) обмена углеводов. Метаболическая роль обратимых реакций, катализируемых ТК, заключается в осуществлении связи ПФП и гликолиза, а также обеспечении клетки рибозой (необходимым углеводным компонентом нуклеотидов и нуклеиновых кислот) и другими фосфосахарами [1, 2]. ТК представляет собой сложный фермент, структура которого состоит из двух идентичных субъединиц, связанных двумя молекулами ТДФ, выполняющего роль кофермента. В этой связи внутриклеточный уровень тиамина является одним из факторов, определяющих ферментативную активность ТК.

Количество связанного с белком ТДФ в ткани печени крыс довольно постоянно и составляет (4,5-4,7 мкг/г ткани) и не изменяется после инъекций тиамина. Уровень свободной формы ТДФ подвержен значительным колебаниям. Так, снижение

обеспеченности организма тиамином приводит, в первую очередь, к падению внутриклеточной концентрации свободной формы ТДФ. Установлено, что апо-форма ТК печени крыс, содержащихся на витамин В₁-дефицитном рационе, не обнаруживается (*in vitro*), но предполагается влияние тиамин на биосинтез апо-ТК. Предполагается, что скорость новообразования апофермента зависит от концентрации свободной формы ТДФ. В экспериментах *in vivo* показано увеличение активности ТК в печени гиповитаминозных животных в ранние сроки в течение двух часов после введения больших доз тиамин. Однако ТДФ-эффект у экспериментальных животных, содержащихся на диете, лишенной тиамин, не выявляется в условиях *in vitro* в присутствии экзогенного ТДФ. На основании этого делается заключение об отсутствии апоформы ТК в печени крысы [2], тогда как для ТК эритроцитов ТДФ-эффект наблюдается [3].

Клинически снижение активности ТК проявляется в условиях, при которых концентрация ТДФ оказывается недостаточной для насыщения фермента [4, 5]. Вопросы, касающиеся обеспеченности организма тиамином и регуляции активности ТК как скорость лимитирующего фермента ПФП, в зависимости от способов достижения гиповитаминозного состояния животных, остаются предметом обсуждения и в настоящее время.

Цель. На модели пищевого В₁- гиповитаминоза исследовать изменение активности некоторых ферментов неокислительной ветви ПФП; изучить природу связи ТДФ и апо-ТК, механизмы регуляции активности ТК на коферментном уровне; определить условия ингибирования фермента окситиаминдифатом (ОТДФ), активации фермента ТДФ в зависимости от концентрации кофермента; исследовать воздействие тиаминазы-1 на активность ТК в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы исследования. Пищевой В₁ гиповитаминоз моделировали путем использования синтетической диеты, не содержащей тиамин. Степень гиповитаминоза контролировали по активности ТК и по содержанию ТДФ.

Активность ТК и других ферментов ПФП (рибозо-5-фосфатизомеразы, рибулозо-5-фосфатэпимеразы, НАДН-оксидазы в печени животных определяли спектрофотометрически при

длине волны 340 нм по скорости окисления НАДН в сопряженных реакциях с использованием α -глицерофосфатдегидрогеназы, триозофосфатизомеразы, («Реанал», Венгрия), пентозофосфатметаболизирующих ферментов и выражали в микромолях НАД⁺, концентрацию которого измеряли в реакционной среде за 1 минуту при 30°C. Активность неокислительных ферментов ПФП определяли в условиях скоростнымитирующих сопряженных реакций. Белых беспородных крыс содержали на обычном рационе вивария, бестиаминовой диете и бестиаминовой диете + тиамин. Длительность эксперимента составляла 10, 20, 30 суток соответственно. Инъекции тиаминазы осуществляли белым беспородным крысам внутрибрюшинно дважды с 72 часовым интервалом в общей дозе 1,5 МЕ на животное. ТК высокой степени очистки, получали методом хроматографии на фосфо-целлюлозе [4].

Результаты и их обсуждение. Снижение активности ТК в результате содержания животных в течение десяти дней на бестиаминовой диете составило $\approx 15\%$. При более длительном сроке эксперимента в аналогичных условиях активность фермента снижалась до $\approx 30\%$ на фоне недостоверного изменения активности рибозо-5-фосфатизомеразы и достоверного увеличения рибулозо-5-фосфатэпимеразы (табл. 1).

Таблица 1. – Активность ферментов неокислительной ветви ПФП в зависимости от содержания животных на бестиаминовой и обогащенной тиамином диете. Ферментативная активность, мкмоль/мин/г ткани

Условия эксперимента	НАДН-оксидаза	ТК	Рибозо-5-фосфатизомераза	Рибулозо-5-фосфатэпимераза
Обычный рацион (10 сут.)	0,95 $\pm$ 0,05	1,90 $\pm$ 0,01	17,60 $\pm$ 0,85	23,20 $\pm$ 1,15
Бестиамин. рацион (10 сут.)	0,40 $\pm$ 0,02	1,61 $\pm$ 0,08	20,00 $\pm$ 0,09	27,80 $\pm$ 1,39
Диета + тиамин (10 сут.)	0,48 $\pm$	2,30 $\pm$ 0,11	21,50 $\pm$ 1,07	23,52 $\pm$ 1,18
Обычный рацион (20 сут.)	0,72 $\pm$	1,90 $\pm$ 0,01	19,40 $\pm$ 0,97	22,83 $\pm$ 1,15
Бестиамин. рацион (20 сут.)	0,62 $\pm$	1,30 $\pm$ 0,06	18,60 $\pm$ 0,93	28,75 $\pm$ 1,27
Диета + тиамин (20 сут.)	0,75 $\pm$	2,11 $\pm$ 0,11	20,01 $\pm$ 1,02	24,21 $\pm$ 1,13
Диета + тиамин (30 сут.)	0,41 $\pm$	2,30 $\pm$ 0,12	20,40 $\pm$ 0,01	28,24 $\pm$ 1,25

Содержание животных на обогащенной тиамином диете приводило к увеличению активности ТК в течение 10 суток на 40-44%. Эта величина не зависела от длительности эксперимента, что, вероятно, характеризует насыщение ТК коферментной формой тиамин, а также и влияние тиамин на биосинтез апо-ТК.

Максимальное снижение ферментативной активности ТК после однократной инъекции окситиамина в дозе 400 мг/кг массы животного наблюдалось к 24 часам.

Более длительное воздействие антиметаболита в условиях насыщения фермента ОТ, вызывало снижение активности ТК до 60% от величин контрольных животных. Кинетика инактивации ТК в зависимости от дозы антиметаболита характерна для процессов, протекающих с насыщением (табл. 2).

Таблица 2. – Удельная активность ТК и содержание ТДФ в печени животных после инъекций окситиамина и тиамин

Контроль	ОТ ₁ 0,4 мг/ж	ОТ ₂ 4 мг/ж	ОТ ₃ 10 мг/ж	Т ₁ 1 мг/ж	Т ₂ 10 мг/ж
<i>Удельная активность фермента ед/мг белка</i>					
1,6	0,5	0,34	0,28	1,98	2,35
<i>Содержание ТДФ моль/моль ферментного препарата</i>					
0,29	0,27	0,20	0,02	0,34	0,46

Инъекции животным ОТ в течение 10 суток приводили к снижению удельной активности фермента в зависимости от дозы препарата (табл. 1). Содержание ТДФ в составе фермента у контрольных животных и, получавших ОТ в относительно низких дозах, существенно не изменялось. В группе животных с высокой дозой ОТ отмечено снижение как удельной активности, так и содержания ТДФ. Введение тиамин интактным животным приводило к увеличению активности ТК и содержанию ТДФ (табл. 1). Значительное ингибирование активности ТК у экспериментальных животных, вероятно, проявляется в условиях конкурентных взаимоотношений ТДФ и ОТДФ, обладающего более высоким сродством к апоферменту за центры связывания кофермента, которые характеризуются гетерогенностью. Один из активных центров имеет более низкое сродство к ТДФ и обладает

более высокой активностью. Увеличение активности ТК после введения тиамин интактным животным обосновывает предположение о насыщении второго активного центра с низким сродством к коферменту. Полученные данные подтверждают предположение о существовании полу-холофермента, что согласуется с наличием в некоторых тканях животных ТДФ-эффекта при В₁-недостаточности.

В экспериментах *in vitro* ТДФ в составе холофермента не доступен действию тиаминазы-1 при pH близком к физиологическим значениям. При снижении pH, в результате чего меняется конформация молекулы фермента, ТДФ становится доступен для действия тиаминазы. В экспериментах *in vivo* показано, что действие высокоочищенной тиаминазы-1 вызывает снижение активности ТК.

Инъекции тиаминазы-1 в общей дозе 1,5 ед. с двухразовым введением препарата с интервалом 72 часа приводили к снижению активности фермента (контроль: $1,40 \pm 0,11$; опыт : $0,68 \pm 0,04$ мкмоль/мин), что соответствует 144 часам в течение которых активность фермента снизилась на 50%, что согласуется со временем полуобмена ТК (белковой части молекулы и кофермента), установленном методом радиоактивной метки, которая равнялись ≈ 7 суток.

Выводы. Наблюдаемые в независимых экспериментах различные кинетические характеристики снижения активности ТК подтверждают наличие различных механизмов инактивации фермента. При пищевом и тиаминазном гиповитаминозе снижение активности фермента происходит за счет уменьшения уровня свободного тиамина в тканях животных. В случае ОТ-гиповитаминоза наблюдается усиление как деградации модифицированного ОТ фермента, так и конкуренции ОТДФ и ТДФ за активные центры на холо-ТК при синтезе фермента *de novo*.

Литература

1. Иванов, В. П. Общая и медицинская экология : учебник / В. П. Иванов, О. В. Васильева, Н. В. Иванова ; под общ. ред. В. П. Иванова. – Ростов н/Д : Феникс, 2010. – 508 с.
2. О механизмах активации транскетолазы печени В₁-гиповитаминозных крыс введением тиамина / В. В. Виноградов [и др.] // Биохимия. – 1979. – Т. 44, № 5. – С. 868–875.

3. Brin, M. Red cell transketolase as an indicator of nutritional deficiency // M/ Brin // J. Clin.Nutr. – 1980. – № 2. – P. 169-171.

4. Кинетика диссоциации и реактивации холотранскетолазы печени крыс. / В. Л. Кубышин [и др.] // Укр. биохим. журн. – 2012. – Т. 84, № 5. – С. 48–54.

5. Обмен кофермента холотранскетолазы со средой / Н. Н. Сидорова [и др.] // Биохимия. – 1996. – Т. 62. – С. 880–886.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛУЧЕВОЙ ДИАГНОСТИКИ В ВЫЯВЛЕНИИ МИОМЫ МАТКИ

**Кухарчик Ю. В, Колесникова Т. А.,
Дубровская О. В., Кухарчик И. В.**

Кафедра акушерства и гинекологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

¹УЗ «Гродненский областной клинический перинатальный центр»

г. Гродно, Республика Беларусь

Актуальность. Миома матки является одной из наиболее актуальных проблем гинекологии из-за широкой распространенности и «омоложения» данного заболевания, а также того отрицательного влияния, которое эта патология оказывает на состояние здоровья и репродуктивную функцию женщин [1, 2, 4].

Следует отметить, что в настоящее время, учитывая широкое внедрение в клиническую практику трансвагинального ультразвукового исследования (УЗИ), диагностика патологических изменений матки не представляет значительных трудностей и широко применяется сегодня как рутинное исследование, в том числе и в гериатрической гинекологической практике. Однако информативность ультразвуковой диагностики при различной патологии неодинакова [3, 5].

Ультразвуковое сканирование – наиболее информативный метод диагностики миомы матки, часто встречающейся у женщин пожилого возраста. Трансабдоминальное УЗИ перед