

2. Belaya kniga WAO po allergii 2011–2012 : rezyume (2011). *Astma*. Vol. 12 (1). pp. 23–37 (in Russian).
3. Proshutinskaya D. V. (2016). Atopicheskiy dermatit u detej. Sovremennyj algoritm lecheniya i kontrolya nad zabolevaniem. *Vestnik dermatologii i venerologii*. Vol. 2. pp. 65–70 (in Russian).
4. RADAR. Ed. (2017). Allergicheskiy rinit u detej. *Rekomendacii i algoritm pri detskom allergicheskom rinite*. 2-e izd., pererab. i dop. – Moskva : Original-maket. pp. 1–80 (in Russian).
5. Sidorovich O. I., Luss L. V. (2019). Allergicheskiy rinit s pozicii allergologa. *Consilium medicum*. Vol. 3. pp. 75–8 (in Russian).
6. Brożek J. L., Bousquet J., Agache I., Zidarn M., Zuberbier T., Schünemann H.J. (2017). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) Guidelines – 2016 Revision. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. Vol. 140 (4). pp. 950-8. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.03.050 (in English).
7. Wollenberg A., Barbarot S., Bieber T., Christen-Zaech S., Deleuran M., Fink-Wagner A., Gieler U., Girolomoni G., Lau S., Muraro A., Czarnecka-Operacz M., Schäfer T., Schmid-Grendelmeier P., Simon D., Szalai Z., Szepietowski J.C., Taïeb A., Torrelo A., Werfel T., Ring J. (2018). Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children : part I. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – Vol. 32 (5). pp. 657–82. DOI: 10.1111/jdv.14891 (in English).

Поступила в редакцию: 19.05.2020.

Адрес для корреспонденции: [raisa\\_khokha@mail.ru](mailto:raisa_khokha@mail.ru)

УДК 577.164.11:616.45-001/.3-092

## **К ВОПРОСУ МЕТАБОЛИЗМА ВИТАМИНА В<sub>1</sub> ПРИ ГОЛОДАНИИ**

Черникевич И. П.<sup>1</sup>: ORCID: <https://orcid.org//0000-0001-5319-5014>

Костеневич Н. Н.<sup>1</sup>: ORCID: <https://orcid.org//0000-0002-2565-863X>,

Баум В. В.<sup>2</sup>, Куличевская И. Н.<sup>1</sup>, Ринейский А. И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Учреждение образования «Гродненский государственный  
медицинский университет»

<sup>2</sup>1134 Государственное учреждение «Военный клинический  
медицинский центр Вооруженных Сил Республики Беларусь»,  
г. Гродно, Республика Беларусь,

## TO THE QUESTION OF METABOLISM OF VITAMINE B1 DURING STARVATION

*Chernikevich I. P.<sup>1</sup>: ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5319-5014>*

*Kostenevich N. N.<sup>1</sup>: ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2565-863X>,*

*Baum V. V.<sup>2</sup>, Kulichevskaya I. N.<sup>1</sup>, Rinejskij A. I.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Grodno State Medical University

<sup>2</sup>1134 Military Clinical Medical Center, Grodno, Belarus

### Реферат.

Изучение и совершенствование адаптационных возможностей организма в изменившихся условиях существования является одним из важнейших направлений профилактической медицины. В этой связи выяснение механизмов реализации защитного действия тиамин, природного адаптогена, достаточно актуально.

**Цель исследования:** анализ активности ферментов обмена тиамин, функционирования в условиях голодания, содержания физиологически активных производных биопревращения В<sub>1</sub>.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на крысах линии Вистар исходным весом 130–170 гр. Перед опытом животные в течение недели содержались на синтетической сбалансированной диете. В ходе эксперимента часть крыс была лишена пищи в течение 1, 3 и 6 дней и получала только воду (n=7); контрольные животные получали сбалансированную пищу. В опытах с возобновлением кормления крысы голодали 6 дней с переводом (3 дня) на исходный рацион. Показатели обмена тиамин анализировались в гомогенатах мозга, печени и сердца.

**Результаты исследования.** В начальной стадии голодания (1 сутки) суммарная концентрация витамина остаётся неизменной, однако прослеживается резкий всплеск содержания наиболее энергоёмкой фосфорилированной формы – тиаминтрифосфата, количество которого возрастает на порядок, достигая в печени и мозге 6–14% от общего пула тиамин. Параллельно увеличивается активность тиаминдифосфаткиназы – фермента синтеза трифосфорного эфира. Скорость гидролитической тиаминтрифосфатазной реакции реципрокна по отношению к тиаминтрифосфату. Изменения содержания кофермента – тиаминдифосфата в короткие сроки опыта не столь

выражены. В сравнительно длительные сроки (3–6 сутки) начинает снижаться содержание кофермента, причём это касается не только его свободной, но и белковосвязанной формы. К этому времени понижена активность тиаминкиназы – фермента биосинтеза тиаминдифосфата. Скорость фосфатазных реакций в начальный период остаётся на предельно низком уровне. Возобновление кормления крыс, после голодания, приводит к активации киназных реакций, ведущих к заметному восстановлению концентраций фосфатов тиамин.

**Выводы.** В начальные сроки голодания выделяющаяся при окислении глюкозы энергия АТФ отчасти перенаправлена на синтез иной, более лабильной энергопродукции клетки – тиаминтрифосфата. Механизм адаптационной активации энергетического обмена при помощи витамина опосредован и, очевидно, реализуется посредством усиления гормонообразовательной функции инсулацитов. Защитное коферментное действие, через витаминзависимые ферменты, проявляется в поздние сроки голодания.

**Ключевые слова:** тиамин, фосфорные эфиры тиамин, ферменты биотрансформации активных форм витамина В<sub>1</sub>, голодание.

### **Abstract.**

The study and improvement of the adaptive capacity of the organism in the changed conditions of existence is one of the most important areas of preventive medicine. In this regard, the elucidation of the mechanisms for implementing the protective action of thiamine, a natural adaptogen, is quite relevant.

**Objective:** Analysis of the activity of enzymes of metabolism of thiamine В<sub>1</sub>, it functioning under starvation conditions, the content of physiologically active forms of thiamine.

**Material and methods.** The work was performed on Wistar rats with an initial weight of 130–170 gr. Before the experiment, the animals were kept on a synthetic balanced diet for a week. During the experiment, part of the rats was deprived of food for 1, 3 and 6 days and received only water (n=7); control animals received a balanced diet. In experiments with the resumption of feeding, the rats were hungry for 6 days with a transfer (3 days) to the original food.

Indicators of thiamine metabolism were analyzed inhomogenates of the brain, liver and heart.

**Results.** In the initial stage of starvation (1 day), the total vitamin concentration remains unchanged, however, there is a sharp increase in the content of the most energy-intensive phosphorylated form - thiamine triphosphate, the amount of which increases by an order of magnitude, reaching 6–14% of the total thiamine pool. In parallel, the activity of thiamine diphosphate kinase, an enzyme for the synthesis of triphosphoric diester, increases. The rate of hydrolytic thiamine triphosphatase reaction is reciprocal with respect to thiamine triphosphate. Changes in the content of coenzyme - thiamine diphosphate in a short period of experience are not so pronounced. In a relatively long time (3–6 days), the content of coenzyme begins to decrease, and it concerns not only its free, but also protein-bound form. By this time, the activity of thiamine kinase, the enzyme of the biosynthesis of thiamine diphosphate, is reduced. The rate of phosphatase reactions for the entire time of the experiment remains at an extremely low level. The resumption of feeding rats, after starvation, leads to a reliable activation of kinase reactions, leading to a noticeable restoration of the concentrations of thiamine phosphates.

**Conclusion.** In the initial periods of starvation, the ATP energy released during the oxidation of glucose is partly redirected to the synthesis of another, more labile energy production of the cell, thiamine triphosphate. The mechanism of the adaptation activation of energy metabolism with the help of vitamin is mediated and, obviously, is realized by enhancing the hormone-forming function of insulocytes. Protective coenzyme action, through vitamin-dependent enzymes, manifests itself in the late periods of starvation.

**Key words:** thiamine, thiamine phosphate esters, enzymes of biotransformation of active forms of vitamin B<sub>1</sub>, fasting.

**Введение.** В настоящее время голодание рассматривается как состояние длительного стресса, связанного с адаптивной активацией биосинтеза гормонов надпочечных желез, которые оказывают прямое (активирующее) и непрямое (сберегающее) влияние на жизненно важные ферментные системы организма [3]. По мнению Ф. Меерсона [9], голодание как стресс-синдром –

это вынужденный, распространенный и часто небезопасный способ существования организма в неоптимальных условиях, когда живой организм не получает пищевых веществ, получает в недостаточном количестве (физиологическое голодание) или же не усваивает их вследствие болезни (патологическое голодание). Изучение и совершенствование адаптационных возможностей человека в условиях голода или иных стрессирующих факторов – одно из важнейших направлений профилактической медицины.

Исследования последних лет конкретизировали представления о патогенезе стрессорных воздействий, что позволило сформулировать общий принцип метаболической защиты организма, в основу которого заложено подражание естественным антистрессорным системам путем введения *in vivo* метаболитов таких систем или их синтетических аналогов, то есть химических реагентов, прицельно действующих на отдельные звенья патогенетической цепи стрессорных повреждений [4].

Витамины, являясь отобранными самой природой адаптогенами, позволяют организму противостоять голоданию как суперстрессу, снижают актуальность раздражения, оптимизируют рабочую нагрузку на системы регуляции и, тем самым, препятствуют развитию болезней дисадаптации [18]. К числу антистрессорных витаминов, в первую очередь, относится тиамин (Т) и его этерифицированные формы – тиаминди- (ТДФ) и трифосфат (ТТФ). Несмотря на то, что с момента открытия этого витамина мировая наука накопила достаточно фактов, касающихся его кардиотропного, нейротропного и иных действий, реальный механизм защитного эффекта тиамина остается неясным, а именно: реализуется он только на коферментном уровне – через тиаминзависимые ферменты, или же опосредовано – через витамин-гормональные связи. Установить конкретный механизм корректирующего действия тиамина, исходя из которого, можно было бы пытаться строить рациональную стратегию его использования в лечебной практике, очевидно можно изучив активность ферментов биосинтеза и деградации физиологических форм витамина, по разному отвечающих на активацию нейрогуморальной системы и

эндокринного аппарата. Имеющиеся в литературе работы по этому вопросу носят предположительный характер.

Неизученность механизмов превращений тиамин в условиях голода при явном лечебном эффекте его этерифицированных препаратов определили необходимость выяснения концентраций фосфорилированных активных форм В<sub>1</sub> – тиаминди- и трифосфата, активности самих ферментов биотрансформации витамина.

**Цель исследования:** анализ активности ферментов обмена тиамин, функционирования в условиях голодания, содержания физиологически активных производных биопревращения В<sub>1</sub>.

**Материал и методы исследования.** Работа выполнена на крысах самцах линии Вистар исходным весом 130–170 гр.

Перед началом опыта животные в течение недели содержались на синтетической сбалансированной диете, содержащей (по калорийности) 18,1% казеина, 26,9% лярда, 55% крахмала. К этому добавлялось 5% (по весу) сухих дрожжей, 4% солевой смеси и необходимое количество витаминов А, D и Е.

В процессе эксперимента часть крыс была лишена пищи в течение 1, 3 и 6-ти дней и получала только воду (n=7); контрольные животные содержались на сбалансированной диете. Сроки голодания были предельно допустимыми и определялись выживаемостью крыс. За время исследования крысы теряли до 26-30% веса.

В опытах с возобновлением кормления животные голодали 6 дней и затем получали исходную пищу в течение трёх суток.

Показатели метаболизма витамина В<sub>1</sub> анализировались в гомогенатах мозга, печени и сердца.

Забор образцов материала осуществлялся под тиопенталовым наркозом сразу после декапитации.

Постановка исследования с использованием лабораторных животных соответствовала рекомендациям Конвенции Совета Европы по охране позвоночных, используемых в экспериментальных и других научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директиве Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council

Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal used for Experimental and Other Scientific Purposes) и рекомендациям FELASA Working Group Report (1994–1996), ТКП 125-2008 [14].

На исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике.

Извлечённый материал немедленно замораживали и хранили в жидком азоте.

При определении содержания тиамин и его производных образцы гомогенизировали в 5 объёмах охлаждённой до  $+4^{\circ}\text{C}$  12% ТХУ в гомогенизаторе со стеклянным пестиком 10 циклами и центрифугировали 5 мин при 15000 g.

Для удаления ТХУ супернатант обрабатывали трёхкратным объёмом насыщенного водой эфира, повторяя экстракцию 3 раза.

Перед инъекцией в хроматограф пробы окисляли с помощью 4,3 мМ феррицианида калия в 15% КОН.

Разделение осуществляли на хроматографе Agilent 1100 при скорости потока 0,5 мл/мин на аналитической колонке PRP-1 ( $\text{Ø}$  4,1 \* 150 мм, поли (стирол-дивинилбензол), размер частиц 5 мкм; Hamilton Co) с протекторным колоночным картриджем ( $\text{Ø}$  2,3 \* 25 мм).

Мобильная фаза состояла из 50 мМ К-фосфатного буфера рН 8,5, содержащего 25 мМ тетра-н-бутиламмоний-гидрогенсульфат и 4% тетрагидрофуран. Тиохром и его производные детектировали по флуоресценции при длине волны возбуждения 365 нм, эмиссии – 433 нм [13].

Свободную и связанную формы ТДФ определяли после разделения гомогенатов тканей на колонке с сефадексом G-25, уравновешенной 0,02 М К-фосфатным буфером рН 6,8.

Тиамин- (Т-киназа) и тиаминдифосфат- (ТДФ-киназа) киназные активности оценивали согласно известным методикам [10, 11], используя по 0,1 и 0,5 мл гомогената, соответственно. Активности тиаминди- (ТДФ-аза) и три- (ТТФ-аза) фосфатаз – по высвобождению неорганического фосфата ( $P_{\text{H}}$ ). Концентрацию  $P_{\text{H}}$  регистрировали колориметрическим методом [16].

Экспериментальные данные обрабатывали статистически с вычислением средних арифметических (M), среднеквадратических отклонений (SD) и квадратических ошибок репрезентативности средних арифметических (SEM). Для оценки достоверности разности средних величин применяли t-критерий Стьюдента. Все расчёты проводились с использованием программы GraphPad Prism 5.0.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Поскольку человеку в ходе его долгой эволюции приходилось часто голодать, наш организм в определенной мере к этому приспособлен, он создаёт запасы энергии, которые при необходимости использует.

Витамины группы B, включая B<sub>1</sub>, – «команда энергетиков» [1]. Они ответственны за энергопродукцию, извлекаемую в виде биотоплива из углеводов, белков и жиров, кумулированных в пище.

Исследование обмена B<sub>1</sub> (тиамина), его ди- и трифосфорного эфиров в тканях контрольных и голодающих животных не выявило значительных различий со стороны общего пула витамина ( $p > 0,05$ ; таблицы 1–3).

Таблица 1. – Содержание тиамина, его фосфорных эфиров, неорганического фосфата (P<sub>n</sub>) (нмоль·г<sup>-1</sup> сырой ткани) и активность ферментов метаболизма витамина (нмоль·мин<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup>) в сердце крыс в условиях голодания (M ± SD)

| Показатели            | Контроль    | Сердце                    |            |              |             |
|-----------------------|-------------|---------------------------|------------|--------------|-------------|
|                       |             | сроки исследования, сутки |            |              |             |
|                       |             | 1                         | 3          | 6            | 9           |
| Общий тиамин (Т)      | 6,21±0,29   | 6,83±0,31                 | 6,17±0,34  | 5,25±0,23    | 5,67±0,19   |
| Общий ТДФ             | 4,71±0,32   | 4,52±0,40                 | 3,65±0,15  | 2,82±0,10*   | 4,54±0,26   |
| Свободный ТДФ         | 1,85±0,07   | 1,51±0,05                 | 1,20±0,06* | 0,75±0,03*   | 1,32±0,10   |
| Белково-связанный ТДФ | 2,78±0,06   | 2,90±0,08                 | 2,43±0,07  | 1,90±0,05    | 2,49±0,09   |
| ТТФ                   | 0,019±0,003 | 0,064±0,01*               | 0,02±0,002 | 0,007±0,002* | 0,014±0,002 |
| P <sub>n</sub>        | 42,3±1,27   | 37,9±1,63                 | 45,8±0,97  | 53,8±1,36    | 38,7±1,41   |

|            |            |            |            |             |            |
|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| Т-киназа   | 0,31±0,03  | 0,38±0,02  | 0,33±0,02  | 0,24±0,015  | 0,27±0,02  |
| ТДФ-киназа | 6,6±0,12   | 10,1±0,04* | 7,3±0,03   | 3,9±0,08*   | 5,7±0,06   |
| ТДФ-аза    | 15,1±0,83  | 13,8±0,62  | 18,1±1,10  | 29,3±1,06*  | 17,7±0,09  |
| ТТФ-аза    | 7,40±0,69  | 6,05±0,30  | 10,2±0,74  | 16,5±0,93*  | 8,12±0,51  |
| ТДФ-эффект | 197,1±1,16 | 196,5±0,83 | 165,0±0,56 | 105,6±1,24* | 180,9±0,78 |

Примечание (здесь и в таблицах 2-3): активность Т-киназы и ТДФ-киназы выражали в нмоль·ч<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> и в пмоль·ч<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup> соответственно; \* – p < 0,001 по отношению к группе контрольных животных.

Таблица 2. – Содержание тиамин, его фосфорных эфиров, неорганического фосфата (P<sub>n</sub>) (нмоль·г<sup>-1</sup> сырой ткани) и активность ферментов метаболизма витамина (нмоль·мин<sup>-1</sup>·мг<sup>-1</sup>) в мозге крыс в условиях голодания (M ± SD)

| Показатели           | Контроль    | Мозг                      |             |             |             |
|----------------------|-------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|
|                      |             | сроки исследования, сутки |             |             |             |
|                      |             | 1                         | 3           | 6           | 9           |
| Общий тиамин (Т)     | 4,50±0,32   | 5,01±0,39                 | 4,08±0,17   | 3,87±0,32   | 4,37±0,21   |
| Общий ТДФ            | 3,56±0,23   | 3,42±0,26                 | 3,11±0,21   | 2,46±0,15   | 3,34±0,18   |
| Свободный ТДФ        | 0,74±0,07   | 0,44±0,03*                | 0,35±0,02*  | 0,30±0,02*  | 0,86±0,03   |
| Белковосвязанный ТДФ | 2,87±0,21   | 2,91±0,26                 | 2,69±0,15   | 2,13±0,17   | 2,48±0,30   |
| ТТФ                  | 0,07±0,01   | 0,63±0,03*                | 0,08±0,02   | 0,02±0,01*  | 0,05±0,01   |
| P <sub>n</sub>       | 12,6±0,49   | 13,3±0,27                 | 17,3±0,30   | 21,4±0,25*  | 14,6±0,17   |
| Т-киназа             | 0,29±0,02   | 0,36±0,03                 | 0,30±0,02   | 0,24±0,01   | 0,27±0,02   |
| ТДФ-киназа           | 4,1±0,60    | 9,3±0,42*                 | 5,2±0,47    | 3,0±0,28    | 3,7±0,20    |
| ТДФ-аза              | 4,6±0,28    | 4,2±0,20                  | 6,0±0,24    | 10,1±0,40*  | 7,0±0,29    |
| ТТФ-аза              | 9,76±0,94   | 8,03±0,41                 | 12,1±0,67   | 21,5±1,02*  | 13,2±0,51   |
| ТДФ-эффект           | 672,17±5,90 | 647,38±6,03               | 601,39±4,78 | 577,24±5,84 | 640,08±6,15 |

Данные литературных источников [3, 7] подтверждают, что в неблагоприятных условиях нахождения индивидуума содержание общего тиамин, как правило, не может служить информативным показателем его метаболического процесса, так как отражает суммарную концентрацию всех имеющихся в клетке фосфорилированных форм.

Таблица 3. – Содержание тиамин, его фосфорных эфиров, неорганического фосфата ( $P_n$ ) ( $\text{нмоль} \cdot \text{г}^{-1}$  сырой ткани) и активность ферментов метаболизма витамина ( $\text{нмоль} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ ) в печени крыс в условиях голодания ( $M \pm SD$ )

| Показатели           | Контроль   | Мозг                      |            |             |            |
|----------------------|------------|---------------------------|------------|-------------|------------|
|                      |            | сроки исследования, сутки |            |             |            |
|                      |            | 1                         | 3          | 6           | 9          |
| Общий тиамин (Т)     | 8,79±0,62  | 9,01±0,57                 | 8,13±0,24  | 7,01±0,32   | 8,32±0,27  |
| Общий ТДФ            | 6,53±0,41  | 6,49±0,44                 | 5,67±0,30  | 4,80±0,29   | 5,85±0,16  |
| Свободный ТДФ        | 2,07±0,16  | 1,62±0,12                 | 1,26±0,19* | 0,97±0,20*  | 1,89±0,23  |
| Белковосвязанный ТДФ | 4,48±0,29  | 4,67±0,32                 | 4,31±0,23  | 3,72±0,17   | 4,24±0,18  |
| ТТФ                  | 0,09±0,02  | 0,56±0,03*                | 0,057±0,02 | 0,017±0,01* | 0,076±0,02 |
| $P_n$                | 24,6±1,17  | 28,2±0,83                 | 34,8±1,32  | 42,4±2,41*  | 32,1±1,14  |
| Т-киназа             | 0,49±0,03  | 0,60±0,02                 | 0,52±0,04  | 0,38±0,02   | 0,51±0,02  |
| ТДФ-киназа           | 10,4±0,51  | 18,1±0,67*                | 13,6±0,29  | 7,10±0,63   | 9,06±0,30  |
| ТДФ-аза              | 8,11±0,42  | 7,86±0,38                 | 9,67±0,20  | 16,29±1,51* | 9,43±0,14  |
| ТТФ-аза              | 3,78±0,09  | 3,57±0,20                 | 4,93±0,16  | 6,01±0,24*  | 4,42±0,20  |
| ТДФ-эффект           | 998,1±6,76 | 917,4±6,14                | 801,7±5,42 | 623,7±7,36* | 949,7±9,02 |

Недостовверным оказалось и снижение общего ТДФ – коферментной формы витамина. При дифференцированном определении связанного ТДФ, находящегося в сфере действия ТДФ-зависимых ферментов, и свободного, выполняющего депонирующую функцию [4], к 1-му дню опыта, в первую очередь, прослеживается снижение свободного кофермента, свидетельствуя о весьма успешном протекании в начальной стадии резистентности зависимых от ТДФ ферментативных реакций и вероятном нарушении скорости их в более поздние сроки, при переходе организма от аэробного на анаэробный обмен. Это нашло подтверждение в стабильности показателей ТДФ-эффекта ( $p > 0,5$ ) – теста, широко используемого в клинике, на обеспеченность тканей тиаминном и активность ТДФ-зависимой транскеталазы, ключевого фермента метаболизма углеводов.

Наряду с определённым снижением концентрации свободного ТДФ, субстрата ТДФ-киназной реакции, в начальные сроки голодания (1 сутки) обнаруживается резкий «всплеск»

содержания наиболее энергоёмкой фосфорилированной формы витамина – тиаминтрифосфата, количество которого возрастает на порядок, достигая в печени и мозге 6–14% от общего пула тиаминтрифосфата. Параллельно увеличивается активность ТДФ-киназы – фермента синтеза трифосфорного эфира. Скорость гидролитической тиаминтрифосфатазной реакции реципрокна по отношению к ТТФ.

Высокая лабильность трифосфорного эфира тиаминтрифосфата определяется его электронным строением. Наличие в молекуле ТТФ четвертичного атома азота, с полным положительным зарядом, обуславливает формирование электрофильного центра, смещающего к себе электронную плотность не только в пределах тиазолового цикла, где он находится, но и у соседних атомов углерода связанного с циклом этильного радикала, с появлением на них частичных положительных зарядов. Аналогичные положительные заряды из-за большей электроотрицательности атомов кислорода появляются и на атомах фосфора фосфатных остатков. Отталкивание одноименных зарядов дестабилизирует молекулу ТТФ, снижает прочность сформированных связей, увеличивая тем самым реакционную способность трифосфорного эфира в гидролитических реакциях. Подтверждением тому является более высокое сродство тиаминмоно-, ди- и трифосфатов к активным центрам неспецифических фосфатаз, по сравнению с нуклеозидфосфатами, и более высокая скорость оборачиваемости молекулы ТТФ в ферментативных реакциях [7].

Отсюда можно полагать, что, не являясь коферментом, ТТФ помимо участия в генерации и распространении нервного импульса [15], трансмембранном переносе ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Cl}^-$  [12], определенным образом связан с мобилизацией адаптационных резервов, направленных на сохранение гомеостаза биологической системы (клетки) в неблагоприятных условиях внешней среды, т.е. участвует в стресс-реакции, которая выступает в качестве «общего звена адаптации организма». Непосредственным же отпечатком этой реакции на метаболическом уровне является адаптационная перестройка энергетического обмена. К аналогичному выводу пришли и другие авторы [7, 19], изучая роль трифосфорного эфира при гипоксии.

Гипоксия в той или иной степени проявляется и при голодании – дыхательный коэффициент у крыс к третьим суткам снижается до 0,7 единиц [5]. Её выраженность во многом определяется предназначением органов или тканей, значимостью выполняемых ими функций. Из исследуемых нами органов функциональные состояния гипоксии наименее свойственны для сердечной мышцы, где оксигенация миокарда поддерживается на предельно высоком уровне и где в зависимости от срока голодания переход от интенсивного аэробного обмена, с использованием глюкозы как энергетического субстрата, к менее продуктивному анаэробному, с такими интермедиатами как свободные жирные кислоты, аминокислоты, кетоновые тела, лактат, пируват происходит легко и для энергопроизводства не требуется высокая насыщенность кислородом. Протекающие при этом сдвиги в утилизации субстратов контролируются на уровне транскрипции, так как при гипертрофии имеет место деактивация рецептора PPAR $\alpha$ /PXR $\alpha$  и активация факторов транскрипции COUP-TF, Sp1 и Sp3, а также HIF-1 $\alpha$ , усиливающего экспрессию гликолитических ферментов [17].

В отличие от «всеядной» сердечной мышцы мозг отличается непомерной привередливостью в отношении энергетического субстрата, потребляя в качестве практически единственного вида топлива глюкозу, что приводит к более глубокой гипоксии. Только при продолжительном голодании используется дополнительный источник энергии – кетоновые тела [5].

Что касается печени, то данный орган выполняет широкий круг задач, важнейшие из которых – метаболическая, депонирующая, гомеостатическая, барьерная и экскреторная. Гепатоциты занимают центральное место в реакциях промежуточного обмена и в биохимическом отношении являются как бы прототипом всех остальных клеток, отличаясь чрезвычайной гибкостью метаболизма [6], т.е. способностью переключаться на различные пути в зависимости от физиологических условий. Следовательно, и выраженность гипоксии у печени «усреднённая», определяемая адекватностью поступления кислорода и субстратов [6, 7].

Исходя из изложенного выше [6, 7, 17, 19], сравнительный анализ глубины проявления гипоксии в тканях сердца, печени и мозга голодающих крыс и регистрируемого в этих тканях содержания ТТФ в первые сутки отмены кормления животных обнаруживает определённую корреляционную взаимозависимость и связь между этими характеристиками. Наиболее значительное возрастание концентрации трифосфорного эфира (в 9,0 раз по сравнению с контрольной группой) прослеживается в мозге и в печени (в 6,2 раза), при наименьшем «всплеске» (в 3,4 раза) в сердце. С этих позиций ТТФ может рассматриваться в качестве адаптационного соединения, зарезервированного «на крайний случай», например, случай кратковременной гипоксии, когда возникает экстренная потребность в быстрой активации анаэробного гликолиза.

В более поздние сроки эксперимента, особенно к шестым суткам, начинает снижаться концентрация ТДФ – кофермента митохондриальных пируват-,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназных комплексов и цитоплазматической транскетолазы, время полужизни которых приблизительно равняется 6, 9 и 36 часам соответственно. Это касается не только свободной, но и белковосвязанной формы кофермента (таблицы 1–3).

Изменение содержания ТДФ влияет на скорость реализации биологических функций этих важнейших комплексов, транскетолазы, проявляясь через снижение их интегрального показателя – величины ТДФ-эффекта. К этому времени достоверно активированы ТДФ- и ТТФ- азы, что сопровождается быстрым снижением уровня трифосфорного эфира, наиболее лабильной формы витамина. Возобновление кормления крыс, после 6-ти дневного голодания, приводит к заметной активации киназных реакций, ведущих к восстановлению фосфатов.

Прослеживающиеся взаимосвязи между активностями киназ и фосфатаз тиамин указывают, что в условиях голодания основным регуляторным фактором уровня фосфатов В<sub>1</sub> будет оборачиваемость ферментов гидролиза, находящихся под строгим гормональным контролем [3, 4].

Защитное, антистрессорное действие тиамин на начальной стадии голодания вряд ли может реализоваться по

коферментному механизму, через активацию транскетолазы, пируват- и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназных комплексов. Содержание белковосвязанного ТДФ через сутки существенно не меняется. Устойчивыми в течение 3-х суток остаются и показатели ТДФ-эффекта. И только в условиях длительного голодания, когда вслед за снижением уровня ТДФ достоверно понижается концентрация свободного ТДФ, ведущая к нарушению биосинтеза ТДФ-зависимых ферментов *de novo*, возможно проявление коферментного механизма (таблицы 1–3).

Полученные нами результаты перекликаются с опубликованными данными [8] об опосредовании антистрессорных эффектов тиамин путём активации гормонообразовательной функции инсулоцитов. Если исходить из того, что  $\beta$ -клетки инсулоцитов испытывают хронический дефицит SH-групп, расходуемых на биосинтез инсулина [2], а витамин В<sub>1</sub> *in vivo*, благодаря антиоксидантным свойствам, повышает тканевой уровень восстановленных тиолов [3], то именно в поджелудочной железе эти свойства могут наиболее полно реализовываться через SH-зависимое увеличение гормоносинтеза.

**Выводы.** В начальные сроки голодания выделяющаяся при окислении глюкозы энергия АТФ отчасти перенаправлена на синтез иной, более лабильной энергопродукции клетки – тиаминтрифосфата. Механизм адаптационной активации энергетического обмена при помощи витамина опосредован и, очевидно, реализуется посредством усиления гормонообразовательной функции инсулоцитов. Защитное коферментное действие, через витаминзависимые ферменты, проявляется в поздние сроки голодания.

#### Литература

1. Аткинс, Р. Биодобавки доктора Аткинса: природная альтернатива лекарствам при лечении и профилактике болезней / Р. Аткинс. – М. : Риол Классик, 2000. – 474 с.
2. Виноградов, В. В. Гормональные механизмы метаболического действия тиамин : монография / В. В. Виноградов. – Минск: Наука и техника, 1984. – 198 с.
3. Виноградов, В. В. Некоферментная витаминология : монография / В. В. Виноградов. – Гродно, 2000. – 535 с.
4. Виноградов, В. В. Стресс и витамины : монография / В. В. Виноградов. – Гродно, 2000. – 260 с.

5. Зайко Н. Н. Патологическая физиология : учебник для медицинских институтов / Н. Н. Зайко, Ю. Б. Быця. – М. : Медпресс-инфарм, 2002. – 612 с.

6. Кольман, Я. Наглядная биохимия; пер. с нем. / Я. Кольман, К. Г. Рем. – М. : Мир, 2000. – 489 с.

7. Макаричков, А. Ф. Тиаминтрифосфат: новый взгляд на некоферментную функцию витамина В<sub>1</sub> : монография / А. Ф. Макаричков. – Минск: Белорусская наука, 2008. – 430 с.

8. Макаричков, А. Ф. Витамин В<sub>1</sub>: метаболизм и функции / А. Ф. Макаричков // Биомед. хим. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 278–97.

9. Меерсон, Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. – М. : Медицина, 1988. – 253 с.

10. Оришака, О. В. Выделение и исследование биохимических свойств тиаминпирофосфокиназы немалигнизированного и опухолевого миометрия женщин / О. В. Оришака, И. Л. Вовчук, С. А. Петров // Биомед. хим. – 2014. – Т. 60. – С. 602–7.

11. Черникевич, И. П. Выделение и радиометрический метод определения активности АТФ: тиаминдифосфа-тфосфотрансферазы из митохондрий головного мозга свиньи / И. П. Черникевич, Е. Н. Хильманович, Е. В. Кравец // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2017. – Т. 15, № 4. – С. 442–6.

12. Bettendorff, L. Biological functions of thiamine derivatives: focus on noncoenzyme roles / L. Bettendorf, P. Wins // OA Biochem. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 10–37.

13. Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method / L. Bettendorff [et al.] // Anal. Biochem. – 1991. – Vol. 198, № 1. – P. 52–9.

14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [Electronic resource] // Council of Europe. – Mode of access: <http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.Htm>. – Date of access: 10.11.2018.

15. Haas, R. H. Thiamin and the brain / R. H. Haas // Annu. Rev. Nutr. – 1988. – Vol. 8. – P. 483–515.

16. Kolas, I. K. Copurification chicken liver soluble thiamine monophosphatase and low molecular weight acid phosphatase / I. K. Kolas, A. F. Makarchikov // Ukr. Biochem. J. – 2017. – Vol. 89, № 6. – P. 13–21.

17. Novel molecular mechanism of increased myocardial endothelin – 1 expression in the failing heart involving the transcriptional factor hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  induced for impaired myocardial energy metabolism / Y. Kakinuma [et al.] // Circulation – 2001. – Vol. 103, № 19. – P. 2387–94.

18. Thiamine and benfothiamine prevent stress-induced suppression of hippocampal neurogenesis in mice exposed to predation without affecting brain thiamine diphosphate levels / J. Vignisse [et al.] // *Mol. Cell. Neurosci.* – 2017. – Vol. 82. – P. 125–36.

19. Thiamine triphosphate, a new signal required for optical growth of *Escherichia coli* during amino acid starvation / B. Lakaye [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 17142–7.

### References

1. Atkins R. *Ed.* (2000). Biodobavka doctora Atkinsa: prirodnyaya alternativa lekarstvam pri lechenii i profilactiki boleznej. Moskva: Rinol Classic. pp. 1–474 (in Russian).

2. Vinogradov V. V. *Ed.* (1984). Gormonalnye mehanizmy metabolicheskogo dejstviya tiamina. *Monographia*. Minsk : Nauka i tehnika. pp. 1–198 (in Russian).

3. Vinogradov V. V. *Ed.* (2000). Nekofermentnaya vitaminologiya. *Monographia*. Grodno. pp. 1–535 (in Russian).

4. Vinogradov V. V. *Ed.* (2000). Stress i vitamin. *Monographia*. Grodno. pp. 1–260. (in Russian).

5. Zajko N. N., Bytsya U. B. *Ed.* (2002). Patologicheskaya fiziologiya. *Uchebnik dlya medicinskih institutov*. Moskva : Medpress-infarm., 2002. pp. 1–612 (in Russian).

6. Kolman Y., Rem K. G. *Ed.* (2000). Naglyadnaya biohimiya. Moskva : Mir. pp. 1–489 (in Russian).

7. Makarchikov A. F. *Ed.* (2008). Tiamintrifosfat: novij vzglyad na nekofermentnyuyu funkciju vitamina B<sub>1</sub>. *Monographia*. Minsk : Belorusskaya nauka. pp. 1–430 (in Russian).

8. Makarchikov A. F. (2009). Vitamin B<sub>1</sub>: metabolism i funkcii. *Biomedicinskaya himiya*. Vol. 55 (3). pp. 278–97 (in Russian).

9. Meerson F. Z., Pshennikova M. G. *Ed.* (1988). Adaptaciya k stressornym situacijam i fizicheskim nagruzkam. *Monographia*. Moskva : Medicina. pp. 1–253 (in Russian).

10. Orishaka O. V., Vovchuk I. L., Petrov S. A. (2014). Vydelenie i issledovanie biohimicheskikh svojstv tiaminpirofosfokinazy nemalignizirovannogo i opuholevogo miometriya zhenshchin. *Biomedicinskaya himiya*. Vol. 60. pp. 602–7. (in Russian).

11. Chernikevich I. P., Hilmanovich E. N., Kravec E. V. (2017). Vydelenie i radiometricheskij metod opredeleniya aktivnosti ATF: tiamindifosfatfosfottransferazy iz mitohondrij golovnogogo mozga svinji. *Jurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. Vol. 15(4). pp. 442–6. (in Russian).

12. Bettendorff L., Wins P. (2013). Biological functions of thiamine derivatives: focus on noncoenzyme roles. *OA Biochemistry*. Vol. 1 (1). pp. 10–37 (in English).

13. Bettendorff L., Peeters M., Jouan C., Wins P., Schoffeniels E. (1991). Determination of thiamin and its phosphate esters in cultured neurons and astrocytes using an ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic method. *Analytical Biochemistry*. Vol. 198 (1). pp. 52–9 (in English).

14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [Electronic resource]. *Council of Europe*. – Mode of access: <http://conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.Htm>. – Date of access: 10.11.2018 (in English).

15. Haas R. H. (1988). Thiamin and the brain. *Annual Review of Nutrition*. Vol. 8. pp. 483–515 (in English).

16. Kolas I. K., Makarchikov A. F. (2017). Copurification chicken liver soluble thiamine monophosphatase and low molecular weight acid phosphatase. *The Ukrainian Biochemical Journal*. Vol 89 (6). pp. 13–21 (in English).

17. Kakinuma Y., Miyauchi T., Yuki K., Murakoshi N., Goto K., Yamaguchi I. (2001). Novel molecular mechanism of increased myocardial endothelin – 1 expression in the failing heart involving the transcriptional factor hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  induced for impaired myocardial energy metabolism. *Circulation*. Vol. 103 (19). pp. 2387–94 (in English).

18. Vignisse J., Sambon M., Gorlova A., Pavlov D., Caron N., Malgrange B., Shevtsova E., Svistunov A., Anthony D. C., Markova N., Bazhenova N., Coumans B., Lakaye B., Wins P., Strelakova T., Bettendorff L. (2017). Thiamine and benfothiamine prevent stress-induced suppression of hippocampal neurogenesis in mice exposed to predation without affecting brain thiamine diphosphate levels. *Molecular and Cellular Neuroscience*. Vol, 82. pp. 125–36 (in English).

19. Lakaye, B., Wirtzfeld B., Wins P., Grisar T., Bettendorff L. (2004). Thiamine triphosphate, a new signal required for optical growth of *Escherichia coli* during amino acid starvation. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 279. pp. 17142–47 (in English).

Поступила в редакцию: 26.05.2020.

Адрес для корреспонденции: [chemistry@grsmu.by](mailto:chemistry@grsmu.by)