

УДК 577.15:591.466(043.5)

О. Устянська, доц., І. Вовчук, проф., С. Петров, проф., О. Будняк, доц.
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса,
С. Гоженко, ст. наук. співроб.

Український науково-дослідний інститут медицини транспорту Міністерства охорони здоров'я України, Одеса

РЕГУЛЯЦІЯ ТІАМІНОМ АКТИВНОСТІ ТРИПСИНОПОДІБНИХ ФЕРМЕНТІВ В ТКАНИНАХ БІЛИХ ЩУРІВ

Досліджували вплив внутрим'язової ін'єкції тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів в печінці, нирках, шлунку і тонкому кишківнику білих щурів.

В органах інтактних щурів максимальна активність трипсиноподібних протеїназ встановлена в тонкому кишківнику, а мінімальна в печінці.

Парентеральне введення тіаміну призводить до зниження активності трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках і шлунку, та підвищення активності ферменту в тонкому кишківнику, що свідчить про можливість некоферментної дії тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів.

Ключові слова: тіамін, трипсиноподібні ферменти, органоспецифічність.

Вступ. Протеоліз – ферментативний гідроліз амідних зв'язків у білках і пептидах – один з універсальних і найважливіших хімічних процесів живої природи [3, 28]. У нормі існує динамічна рівновага між протеолітичними ферментами та їх інгібіторами. При ряді захворювань відбувається надлишкова активація протеїназ, що є важливою патогенетичною ланкою у розвитку тромботичних порушень, гіпертензії, запальних реакцій [5, 6, 8, 21, 22, 26].

Трипсин [КФ 3.4.4.4.] – найбільш вивчений і важливий серед серинових протеїназ – відноситься до підкласу пептид-гідролаз, групи пептидил-пептидгідролаз або протеїназ [4]. Він розщеплює переважно внутрішні пептидні зв'язки у білках і має також естеразну активність. Трипсин містить в активному центрі залишки серину і гістидину та легко піддається аутолізу [11]. Трипсин має молекулярну масу – 24000 Да та ізоелектричну точку – при рН 10,8. Фермент є активним при рН 5,0-8,0 з оптимальним каталітичною активності – при рН 7,8-8,0.

Регуляція активності трипсину здійснюється як завдяки обмеженому протеолізу попередника ферменту, так і за рахунок утворення стійких білок-білкових сполук з $\alpha 2$ -макроглобуліном та $\alpha 1$ -антитрипсином [2].

Трипсиноподібні ферменти залучені в числені біохімічні процеси, зокрема, вони беруть участь в лізисі білків позаклітинного матриксу: колагену, еластину, фібрину, міозину, тим самим сприяють інвазії і метастазуванню пухлини. Однією з функцій трипсиноподібних ферментів є активація як зимогенів, що секретуються підшлунковою залозою, так і інших проферментів [11].

Активність протеолітичних ферментів на рівні *in vivo* регулюється багатьма чинниками, одним з яких є дія вітамінів, а також їх метаболітів.

Однак, у сучасній літературі практично не існує досліджень щодо впливу водорозчинних вітамінів групи В на активність ферментів протеолізу.

Наявні одиничні роботи свідчать про існування взаємин між тіаміном і деякими протеолітичними ферментами [14, 19].

За останні три десятиліття в нашій лабораторії отримані дані відносно регуляції тіаміном та його метаболітами [12, 14, 19] активності протеолітичних ферментів зокрема, катепсина [18] і пепсину [16]. Механізми таких взаємодій різноманітні та вивчені недостатньо [1, 10, 13, 15, 20, 23, 24].

Метою роботи було дослідження впливу тіаміну на активність трипсиноподібних ферментів печінки, нирок, шлунку і тонкого кишківника щурів.

Матеріали дослідження

Експерименти проводили на статевозрілих (3-4 міс.), безпородних білих щурах масою 180-200 г., загальною кількістю 24 тварини. Тварин утримували на стандартному раціоні в умовах віварію. Всі маніпуляції з тваринами проводили згідно Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних наукових цілей.

Експериментальні дослідження були проведені з групами щурів: 1. Інтактні тварини (n=10). 2. Тварини (n=10), яким в експерименті *in vivo* проводили внутрішньом'язову ін'єкцію тіаміну (10 мг/кг маси). Тіамін розчиняли у фізіологічному розчині – 2 мг/1 мл. Через 20 хвилин після введення тіаміну тварин декапітували.

Матеріалом дослідження слугували гомогенати печінки, нирок, шлунку, тонкого кишківника.

Методи дослідження

Зразки досліджуваних тканин гомогенізували (у співвідношенні 1:10) з 0,9% NaCl і центрифугували при 9 000 g протягом 20 хвилин. Отриманий після гомогенізації супернатант тканини використовували для біохімічних досліджень.

В надосадовій рідині визначали вміст загального білка за методом Лоурі [27] та активність трипсиноподібних ферментів за методом Кунітца [25] в модифікації Веремеєнко [4].

Метод заснований на визначенні кількості продуктів гідролізу 2% розчину казеїну (по Гаммерстену на 0,1 М фосфатному буфері рН 7,6), що не осаджуються 10% розчином трихлороцтової кислоти. Активність трипсиноподібних протеїназ визначали в мкмоль тирозину на мг білка.

Результати дослідження були оброблені статистично з використанням пакета аналізу даних програми Microsoft Excel-97 та t-критерію Стюдента [7].

Статистичну значимість відмінностей між вибірками вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних тварин.

Результати досліджень активності трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних тварин свідчать про органоспецифічність досліджуваного показника (табл. 1).

Найменша активність трипсиноподібних протеїназ була встановлена в гомогенатах печінки $0,078 \pm 0,008$. По відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ в печінці активність трипсиноподібних протеїназ в інших органах була значно вищою: в 3,2 раза – в нирках ($p < 0,05$), в 3,7 – в шлунку ($p < 0,05$) та в 5,5 – в тонкому кишківнику ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)
Печінка	0,078±0,008
Нирки	0,250±0,030*
Шлунок	0,290±0,030*
Тонкий кишківник	0,430±0,050*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) по відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ печінки.

Отримані результати свідчать, що найбільша активність трипсиноподібних ферментів притамана тонкому кишківнику. Вірогідно, висока активність трипсиноподібних протеїназ в даному органі обумовлена рН дуоденального соку, оскільки відомо, що трипсиноподібні протеїнази проявляють максимальну активність при рН 7,8 [25]. В шлунку та нирках активність трипсиноподібних протеїназ нижче, ніж у тонкому кишківнику вірогідно тому, що в шлунку рН дорівнює 1,5-2,0, а в нирках – 5,0-7,0, що не є оптимальним для прояви ферментативної активності [9]. Низька активність трипсиноподібних протеїназ в печінці (рН 7,3-8,6) [17] може бути пояснена особливими функціями цього органу, зокрема детоксикаційною і сечовиноутворення.

Вплив парентерального введення тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ органів щурів.

У серії експериментів, які були виконані, нами отримані наступні результати. За парентерального введення тіаміну в дозі 10 мг/кг маси було встановлено негативний вплив тіаміну або його метаболітів на активність трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках та шлунку і позитивний вплив на активність трипсиноподібних протеїназ тонкого кишківника.

За парентерального введення тіаміну в дозі 10 мг/кг маси була встановлена максимальна активність трипсиноподібних протеїназ в тонкому кишківнику (табл. 2). По відношенню до активності трипсиноподібних протеїназ у печінці активність трипсиноподібних протеїназ була в 2,3 раза вище в шлунку, в 5,7 раз вище в нирках та в 24 рази вище в тонкому кишківнику.

Таблиця 2. Вплив тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ у щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)
Печінка	0,030±0,004
Нирки	0,170±0,020*
Шлунок	0,070±0,008*
Тонкий кишківник	0,720±0,080*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) по відношенню до показників активності трипсиноподібних протеїназ печінки.

Після парентерального введення тіаміну максимальна активність трипсиноподібних протеїназ, як і у інтактних щурів, була встановлена у тонкому кишківнику (табл.1, табл. 2).

Це можна пояснити тим, що у тканинах організмів ссавців існує декілька шляхів метаболізму тіаміну та є певний взаємозв'язок між ними. Основним шляхом, за яким тіамін потрапляє в організм, є шлунково-кишковий тракт. Надходження даного вітаміну в кров і органи залежить перш за все від його всмоктування в різних відділах шлунково-кишкового тракту. При природному потрапленні вітаміну в організм початкові стадії його накопичення і перетворення відбуваються в шлунково-кишковому тракті і, в основному, в тонкому кишківнику. Відомо, що всмоктування тіаміну та його різних похідних є активним процесом і супроводжується фосфорилуванням і основними реакціями перетворення його структурних аналогів в тіамін [10, 23].

З кишківника вітамін потрапляє в кров, яка здійснює не лише транспортні функції, але і бере участь в його обміні. У пізніші терміни в кров потрапляє і тіамін, що розподіляється печінкою, яка є головним депо вітаміну В₁. У цьому органі відбуваються основні його перетворення. Фосфорильований тіамін транспортується з печінки в інші органи.

Нирки є основним екскреторним органом тварини. Крім того в цьому органі відмічений високий вміст і накопичення тіаміну [10].

З другого боку відомо, що тіамін у нейтральних і кислих водних середовищах стабільний, а в лужних утворює тіольну форму з розкритим тіазоловим циклом. При вищих значеннях рН відбувається іонізація сульфгідрильної групи у складі тіольної форми тіаміну [20].

Також відомо, що у фізіологічних умовах під впливом несприятливих чинників зовнішнього середовища

(окислювальний стрес, генерація активних форм азоту і кисню), спостерігається посилення трансформації трициклічної та тіольної форм тіаміну в дисульфід тіаміну і утворення циклічних продуктів окиснення тіаміну – тіохрому і оксодигідротіохрому. Карбонільвмістні продукти окислювальної трансформації тіаміну здатні зв'язуватися з аміногрупами і сульфгідрильними групами протеїнів і ензимів, викликаючи модуляцію активності ензимів і функції протеїнів [13].

Оскільки в тканинах тварин концентрація вільних тіолів на декілька порядків вища за концентрацію вільного тіаміну, наявність в них змішаних дисульфідів тіаміну з низькомолекулярними природними тіолами цілком імовірно [13, 20].

Проте, в дослідженнях *in vivo* в більшості випадків упевнено стверджувати про існування або відсутність тих чи інших механізмів регуляції тіаміном та його метаболітами різних ферментів важко. Відомо, що за таких умов тіамін діє неоднозначно, оскільки його вплив як на активність трипсиноподібних протеїназ, так і на всі інші метаболічні процеси здійснюється на різних рівнях. Наприклад, такі відмінності можуть визначатися перетворюванням в тканинах різних метаболітів з введення тіаміну, як було сказано вище. Проте, для підтвердження цього припущення необхідно вивчити метаболізм тіаміну після його введення в печінці, нирках, шлунку і тонкому кишківнику, що є завданням нашого подальшого дослідження.

Отримані дані свідчать про те, що тіамін здатний негативно впливати на активність трипсиноподібних ферментів в досліджуваних органах (печінці, нирках і шлунку) білих щурів (табл. 3). Цей факт може свідчити про можливість некоферментної дії тіаміну або його метаболітів на активність трипсиноподібних ферментів.

Таблиця 3. Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів та після впливу тіаміну у щурів (мкмоль / мг білка; n=10)

Органи	Активність трипсиноподібних протеїназ (мкмоль / мг білка)	
	Активність трипсиноподібних протеїназ в органах інтактних щурів	Вплив тіаміну на активність трипсиноподібних протеїназ у щурів
Печінка	0,078±0,008	0,030±0,004*
Нирки	0,250±0,030	0,170±0,020*
Шлунок	0,290±0,030	0,070±0,008*
Тонкий кишківник	0,430±0,050	0,720±0,080*

Примітка: * вірогідна різниця ($p < 0,05$) між відповідними показниками після введення тіаміну у порівнянні з контролем.

Висновки

1. В органах інтактних щурів максимальна активність трипсиноподібних протеїназ встановлена в тонкому кишківнику, а мінімальна в печінці.

2. Парентеральне введення тіаміну призводить до зниження активності трипсиноподібних протеїназ в печінці, нирках і шлунку, та підвищення активності ферменту в тонкому кишківнику.

Список використаних джерел

- Будняк О.К. Вміст флавінових та нікотинамідних коферментів в органах опромінених щурів після введення суміші вітамінів / О.К. Будняк, А.В. Сорокін, Л.М. Карпов [та ін.] // Вісник ОНУ. Серія "Біологія". – 2004. – Т. 9, вип. 5. – С. 23-28.
- Веремеєнко К.Н. α_1 -інгібітор протеїназ і його дослідження в клініці / К.Н. Веремеєнко // Клініч. медицина. – 1985. Т. 63, №12. – С. 21-27.
- Веремеєнко К.Н. Протеоліз в нормі і при патології / К.Н. Веремеєнко, О.І. Голобородько, А.І. Кизим. – К.; Здоров'я, 1988. – 200 с.
- Веремеєнко К.Н. Протеолітичні ферменти і їх інгібітори. Нові області застосування в клініці / К.Н. Веремеєнко // Врч. дело. – 1994. – № 1. – С. 8-13.
- Вовчук І.Л. Прогностичне значення визначення катепсина В і його ендогенних інгібіторів при онкологічній патології / І.Л. Вовчук // Онкологія. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 165-168.
- Вовчук І.Л. Естрогени, трипсиноподібні протеїнази і карбоксипептидази А і В при новоутвореннях тіла матки жінчин / І.Л. Вовчук, С.С. Чернадчук, С.А. Петров // Біомедицинська хімія. – 2007. – Т. 53, вип. 2. – С. 205-211.
- Гланц С. Медико-біологічна статистика / С. Гланц // Пер. с. англ. – М.; Практика, 1998. – 495 с.
- Ефременко Ю.Р. Протеолітичні ферменти – високочувствительний критерій ефективності і безпеки лікування / Ю.Р. Ефременко // Біомедицинська хімія. – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 179-183.
- Іванов Д.Д. Острове пошкодження нирок / Д.Д. Іванов // Медицина неотложных состояний. – 2012. – Т. 3 (42), Киев. Електронний ресурс: <http://www.mif-ua.com/archive/article/29427>.
- Карпов Л. М. Онтогенетичні особливості обміну і розподілу тіаміну і його фосфорних ефірів в тканинах білих крыс: дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук: 03.00.04. / Карпов Леонид Михайлович; Одесск. гос. ун-т. имени И.И. Мечникова. – Одесса, 1971. – 297 с.
- Михальчук В.Н. Трипсиноподібні протеїнази в фізіології і біології людини / В.Н. Михальчук // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2008. – № 4 (14) – С. 134-139.
- Оришак О. В. Розподіл тіаміну та його фосфорильованих форм за пухлинного процесу в матці та яєчниках: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.04 // Оришак Олеся Василівна; Херсон. гос. ун-т. – Х., 2013. – 20 с.
- Пархоменко Ю.М. Окисленні производні тіаміну: формування, властивості, біологічна роль / Ю.М. Пархоменко, І.І. Степура, Г.В. Донченко [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т. 84, № 6. – С. 5-24.
- Петров С.А. Некоферментні системи / С.А. Петров // XVIII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю 20-22 травня 2010 року: матеріали конференції. Київ: Інст-т фізіології ім. О.О. Богомольця – Фізіологічний журнал. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 193.
- Петров С.А. Некоферментні ефекти тіаміну і його метаболітів / С.А. Петров // Біомедицинська хімія. – 2006. – Т. 52, вип. 4. – С. 335-345.
- Розанов А.Я. Вплив тіаміну та його метаболітів на активність пепсину й трипсину / А.Я. Розанов, І.В. Гаврилюк, С.А. Петров [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 1990. – Т. 62, № 1. – С. 102-104.
- Смирнов В.М. Физиология человека / В.М. Смирнов // М.; Медицина, 2002. – 598 с.
- Устьянська О.В. Вивчення взаємодії тіаміну та його метаболітів з частково очищеним катепсином L / О.В. Устьянська, І.Л. Вовчук, Д.Б. Радіонов [та ін.] // Вчені записки Таврицького національного університету. Серія "Біологія, хімія". – 2012. – Т. 25 (64), № 4. – С. 209-214.
- Устьянська О. В. Регуляція тіаміном та його метаболітами активності катепсину: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.04 / Устьянська Ольга Володимирівна; Херсон. гос. ун-т. – Х., 2013. – 20 с.

20. Халмуратов А.Г. Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов / А.Г. Халмуратов, В.Н. Тоцкий, Р.В. Чаговец. – К.; Наук. думка, 1982. – 280 с.

21. Чернадчук С.С. Активность катепсина В в опухолевой ткани репродуктивных органов женщин / С.С. Чернадчук, И.Л. Вовчук // Ученые записки Таврического национального университета. Серия "Биология". – 2003. – Т. 16 (55), № 2 – С. 202-207.

22. Чорна В.І. Роль протеолізу в гормонотерапії щитоподібної залози за канцерогенезу / В.І. Чорна, О.Л. Ляна, М.І. Хворостенко [та ін.] // Вісник Львівського університету. Серія "Біологія". – 2008. – Вип. 47. – С. 58-62.

23. Gassman B. The role of entero-hepatic recirculation of vitamins in its transport and metabolism / B. Gassman, H. Ketz // Biochem. J. – 1991. – Vol. 236, № 5 – P. 541-543.

24. Gulyai I.E. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / I.E. Gulyai, A.F. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477-1484.

25. Kunitz M.I. The determination of kaseine in the blood and urine / M.I. Kunitz // Biol. Chem. – 1946. – Vol. 164. – P. 563-571.

26. Lewis E.C. Expanding the clinical indications for a(1)-antitrypsin therapy / E.C. Lewis // Mol. Med. – 2012. – Vol. 18. – P. 957-970.

27. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265-275. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

28. Simon M.M. Cloned cytolytic T-effector cells and their malignant variants produce an extracellular matrix degrading trypsin-like serine proteinase / M.M. Simon, H.G. Simon, U. Fruth [et al.] // Immunology. – 1987. – Vol. 60, № 2. – P. 219-230.

Acknowledgements

1. Budnjak O.K. Vmest flavinovyh ta nikotinamidnyh kofermentiv v organah opromenyanykh shhuriv pislja vvedennja sumishi vitaminiv / O.K. Budnjak, A.V. Sorokin, L.M. Karpov [ta in.] // Visnik ONU. Serija "Biologija". – 2004. – T. 9, vip. 5. – S. 23-28.

2. Veremeenko K.N. α_1 -ingibitor proteїnaz i ego issledovanie v klinike / K.N. Veremeenko // Klin. medicina. – 1985. T. 63, №12. – S. 21-27.

3. Veremeenko K.N. Proteoliz v norme i pri patologii / K.N. Veremeenko, O.J. Goloborod'ko, A.I. Kizim – K.; Zdorov'e, 1988. – 200 s.

4. Veremeenko K.N. Proteoliticheskie fermenty i ih ingibitory. Novye oblasti primeneniya v klinike / K.N. Veremeenko // Vrach. delo. – 1994. – № 1. – S. 8-13.

5. Vovchuk I.L. Prognosticheskoe znachenie opredeleniya katepsina B i ego jendogenynyh ingibitorov pri opuholevoj patologii / I.L. Vovchuk // Onkologija. – 2010. – T. 12, № 2. – S. 165-168.

6. Vovchuk I.L. Jestrogeny, tripsinopodobnye proteїnazy i karboksipeptidazy A i V pri novoobrazovanijah tela matki zhenshin / I.L. Vovchuk, S.S. Chernadchuk, S.A. Petrov // Biomeditsinskaja himija. – 2007. – T. 53, vyp. 2. – S. 205-211.

7. Glanc S. Mediko-biologicheskaja statistika / S. Glanc // Per. s. angl. – M.; Praktika, 1998. – 495 s.

8. Efremenko JuR. Proteoliticheskie fermenty – vysokochuvstvitel'nyj kriterij jeffektivnosti i bezopasnosti lechenija / Ju.R. Efremenko // Biomeditsinskaja himija. – 2008. – T. 54, № 2. – S. 179-183.

9. Ivanov D.D. Ostroe povrezhdenie pochek / D.D. Ivanov // Medicina neotlozhnyh sostojanij. – 2012. – T. 3 (42), Kiev. Jelektronnyj resurs: <http://www.mif-ua.com/archive/article/29427>.

10. Karpov L.M. Ontogeneticheskie osobennosti obmena i raspredelenija tiamina i ego fosfornyh jefirov v tkanjah belyh krys [dissertation]. Odessa: I.I. Mechnikov State University of Odessa; 1971. Ukrainian.

11. Mihal'chuk V.N. Tripsinopodobnye proteїnazy v fiziologii i biologii cheloveka / V.N. Mihal'chuk // Aktual'nye problemy transportnoj medicyny. – 2008. – № 4 (14) – S. 134-139.

12. Orishaka O.V. Rozpodil tiaminu ta jogo fosforil'ovanih form za puhlinnogo procesu v matci ta jaecnikah [dissertation]; Kherson: State University of Kherson; 2013. Ukrainian.

13. Parhomenko JuM. Okislennye proizvodnye tiamina: obrazovanie, svojstva, biologicheskaja rol' / JuM. Parhomenko, I.I. Stepuro, G.V. Donchenko [i dr.] // Ukr. biohim. zhurn. – 2012. – T. 84, № 6. – S. 5-24.

14. Petrov S.A. Nekofermentnye sistemy / S.A. Petrov // XVIII z'їzd Ukraїnskogo fiziologichnogo tovaristva z mizhnarodnoju uchastju 20-22 travnja 2010 roku: materialy konferencij. Kiїv: Inst-t fiziologii im. O.O. Bogomol'ca – Fiziologichnij zhurnal. – 2010. – T. 56, № 2. – S. 193.

15. Petrov S.A. Nekofermentnye jeffekty tiamina i ego metabolitov / S.A. Petrov // Biomeditsinskaja himija. – 2006. – T. 52, vyp. 4. – S. 335-345.

16. Rozanov AJa. Vpliv tiaminu ta jogo metabolitiv na aktivnist' pepsinu j tripsinu / AJa. Rozanov, IV. Gavriljuk, SA. Petrov [ta in.] // Ukr. biokhim. zhurn. – 1990. – T. 62, № 1. – S. 102-104.
17. Smirnov VM. Fiziologija cheloveka / VM. Smirnov // M. ; Medicina, 2002. – 598 s.
18. Ustjans'ka OV. Vivicennja vzaemodii tiaminu ta jogo metabolitiv z chastkovo ochishhenim katepsinom L / OV. Ustjans'ka, IL. Vovchuk, DB. Radionov [ta in.] // Vcheni zapiski Tavriches'kogo nacional'nogo universitetu. Serija "Biologija, himija". 2012. – T. 25 (64), № 4. – S. 209-214.
19. Ustjans'ka OV. Reguljacija tiaminom ta jogo metabolitami aktivnosti katepsiniv [dissertation]; Kherson: State University of Kherson; 2013. Ukrainian.
20. Halmuradov AG. Membrannyj transport kofermentnyh vitaminov i kofermentov / AG. Halmuradov, VN. Tockij, RV. Chagovcev. – K. ; Nauk. dumka, 1982. – 280 s.
21. Chernadchuk SS. Aktivnost' katepsina V v opuholevoj tkani reproductivnyh organov zhenshin / SS. Chernadchuk, IL. Vovchuk // Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta. Serija "Biologija". – 2003. – T. 16 (55), № 2 – S. 202-207.

22. Chorna VI. Rol' proteolizu v gormonopoezii shhitopodibnoï zalozi za kancerogenezu / VI. Chorna, OL. Ljanna, MI. Hvorostenko [ta in.] // Visnik L'vivs'kogo universitetu. Serija "Biologija". – 2008. – Vip. 47. – S. 58-62.
23. Gassman B. The role of entero-hepatic recirculation of vitamins in its transport and metabolism / B. Gassman, H. Ketz // Biochem. J. – 1991. – Vol. 236, № 5 – P. 541-543. English.
24. Gulyai IE. Thiamine triphosphate and thiamine triphosphatase activities: from bacteria to mammals / IE. Gulyai, AF. Makarchikov, B. Lakaye [et al.] // Cell. Mol. Life Sci. – 2003. – Vol. 60. – P. 1477-1488. English.
25. Kunitz MI. The determination of kaseine in the blood and urine / MI. Kunitz // Biol. Chem. – 1946. – Vol. 164. – P. 563-571. English.
26. Lewis EC. Expanding the clinical indications for a(1)-antitrypsin therapy / EC. Lewis // Mol. Med. – 2012. – Vol. 18. – P. 957-970. English.
27. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol reagent / OH. Lowry, NJ. Rosebrough, AL. Farr [et al.] // The journal of biological chemistry. – 1951. – 193, N 1. – P. 265-275. English.
28. Simon MM. Cloned cytolytic T-effector cells and their malignant variants produce an extracellular matrix degrading trypsin-like serine proteinase / MM. Simon, HG. Simon, U. Fruth [et al.] // Immunology. – 1987. – Vol. 60, № 2. – P. 219-230. English.

Надійшла до редколегії 16.06.16

О. Устьянская, доц., И. Вовчук, проф., С. Петров, проф., А. Будняк, доц.

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, кафедра биохимии, Одесса, Украина, С. Гоженко, ст. науч сотр.

Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта Министерства здравоохранения Украины, Одесса, Украина

РЕГУЛЯЦИЯ ТИАМИНОМ АКТИВНОСТИ ТРИПСИНОПОДОБНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС

Исследовали влияние внутримышечной инъекции тиамина на активность трипсиноподобных ферментов в печени, почках, желудке и тонком кишечнике белых крыс.

В органах интактных крыс максимальная активность трипсиноподобных протеиназ установлена в тонком кишечнике, а минимальная в печени.

Парентеральное введение тиамина приводит к снижению активности трипсиноподобных протеиназ в печени, почках и желудке, и повышение активности фермента в тонком кишечнике, что свидетельствует о возможности некоферментного действия тиамина на активность трипсиноподобных ферментов.

Ключевые слова: тиамин, трипсиноподобные ферменты, органоспецифичность.

O. Ustjansky, assistant prof., S. Petrov, prof, I. Vovchuk, prof, O. Budnyak, assistant prof

Odessa National Mechnikov University, Biology Faculty, Biochemistry Department, Odessa, Ukraine,

S. Gozhenk, senior researcher

Ukrainian scientific research institute of medicine of transport Ministry of Health Protection of Ukraine, Odessa, Ukraine

REGULATION OF TRYPSIN-LIKE ENZYME ACTIVITY IN THE TISSUES OF WHITE RATS WITH THIAMINE

The effect of intramuscular thiamine injection on the activity of trypsin-like enzymes in the liver, kidneys, stomach and small intestine of white rats has been researched.

In the organs of intact rats, the maximum activity of trypsin-like proteases has been established in the small intestine, and the minimum one in the liver.

Thiamine parenteral administration leads to the decrease of trypsin-like protease activity in the liver, kidney and stomach, and the increase of the enzyme activity in the small intestine that suggests the possibility of non-coenzyme thiamine effect on the trypsin-like enzyme activity.

Key words: thiamine, trypsin-like enzymes, organ-specificity.

УДК 616.379-008.64:661.846

О. Шатинська, асп., Р. Іскра, д-р біол. наук
Інститут біології тварини НААН, Львів

КОРЕКЦІЯ ЦИТРАТОМ МАГНІЮ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В КРОВІ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ДІАБЕТОМ

Досліджували вплив різних концентрацій цитрату магнію (100, 250 і 500 мг/кг маси тіла) на процеси пероксидного окиснення ліпідів та активність системи антиоксидантного захисту в крові щурів з експериментальним цукровим діабетом, який викликали одноразовим введенням 5% розчину алоксан моногідрату. Активність ферментів антиоксидантного захисту: каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та вміст відновленого глутатіону досліджували у лізатах еритроцитів, а вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів – у плазмі крові. У щурів з експериментальним цукровим діабетом спостерігалось підвищення рівнів гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів на тлі зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Цитрат магнію, який протягом чотирьох тижнів разом з питною водою додавався до раціону тварин, виявляв позитивний нормалізуючий ефект, зокрема, вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-позитивних продуктів знизився, а активність ензимів системи антиоксидантного захисту збільшилася. Наші дані демонструють, що добавки цитрату магнію можуть частково відновити антиоксидантні параметри і зменшити оксидативний стрес у щурів з діабетом індукованим алоксаном.

Ключові слова: цитрат магнію, цукровий діабет, антиоксидантна система.

Вступ.

Цукровий діабет є гетерогенним клінічним синдромом, що характеризується ендокринними і метаболічними змінами, і як наслідок підвищенням рівнем глюкози у крові – гіперглікемією [4]. Гіперглікемія, в свою чергу, є причиною виникнення оксидативного стресу, що сприяє порушенню основних процесів в організмі, таких як секреція інсуліну і дія інсуліну [3]. Виникнення оксидатив-

ного стресу, за діабетичних ускладнень, зумовлене надмірним виробництвом активних радикалів Оксигену і зниженням ефективності антиоксидантного захисту [4]. Крім того, цукровий діабет пов'язаний з підвищеною екскрецією Магнію з організму, який необхідний для нормального протікання багатьох біохімічних реакцій і фізіологічних процесів, що забезпечують енергетику і функції різних органів. Магній є важливим компонентом