

ТОМ 38

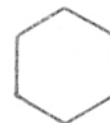
ВЫПУСК 4

ИЮЛЬ — АВГУСТ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. А. ТУТЕЛЬЯН (зам. редактора), А. И. АРЧАКОВ, И. П. АШМАРИН,
Т. Т. БЕРЕЗОВ, Ю. В. БУКИН, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЫЦЕВ (ответственный секретарь),
А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ,
Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС,
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ, Е. А. СТРОЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Санкт-Петербург)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Всесоюзная конференция по клинической витаминологии*

Данный номер журнала посвящен работе Всесоюзной конференции по клинической витаминологии, состоявшейся 18–20 июня 1991 г. в Москве. Конференция была организована Минздравом СССР, АМН СССР и Общесоюзной проблемной комиссией «Проблемы витаминологии». В ее работе приняли участие свыше 250 специалистов из 70 медицинских учреждений и вузов страны. Состоялись 12 пленарных и 60 секционных заседаний, были представлены 54 стендовых сообщения.

Большинство секций конференции (6 из 9) было посвящено исследованиям обмена витаминов и их лечебно-профилактическому применению при различных заболеваниях: «Витамины при болезнях сердечно-сосудистой системы и органов пищеварения», «Витамины в онкологии и иммунологии», «Витамины в стоматологии и офтальмологии», «Витамины в акушерстве, гинекологии и педиатрии», «Витамины при болезнях легких, соединительной и мышечной тканей», «Витамины при заболеваниях почек, эндокринной и нервной системы; витамины и алкоголь».

Работала секция, на которой рассматривались новые витаминные препараты и методы их анализа. Состоялось заседание секции «Обеспеченность витаминами различных групп населения, методы ее изучения и коррекции».

Во вступительном слове, которое сделал первый заместитель министра здравоохранения СССР А. А. Баранов, была дана оценка критической ситуации, сложившейся в стране с обеспеченностью населения витаминами. Гиповитаминоз носит круглогодичный характер и охватывает все без исключения регионы страны. Поскольку улучшение питания населения в скором времени не предвидится, дефицит витаминов может быть устранен только приемом витаминных препаратов. Однако сегодня 75 % используемого их количества поступает в виде гуманитарной помощи из-за рубежа. Правительство страны прилагает усилия по строительству заводов витаминных препаратов совместно с западными фирмами.

В программном докладе В. Б. Спиричева (Москва) «Биохимические аспекты профилактического и лечебного применения витаминов» было подчеркнуто, что в настоящее время в клиническом применении витаминов нет четкой системы (дозы, способы введения, цели, возможности и т. п.). Используемые дозы витаминных препаратов в десятки раз превосходят физиологические, что не всегда оправданно. В докладе были обстоятельно проанализированы основные причины дефицита витаминов: недостаток их в продуктах питания, нарушения синтеза из-за угнетения кишечной микрофлоры, мальабсорбция витаминов, инактивация лекарственными препаратами, нарушение транспорта белками крови и связи с апоферментами и пр. Известны конкретные механизмы гиповитаминоза А при использовании больными антибиотика неомидина, витамина К —

при назначении тетрациклинов, В₂ — у получающих аминазин, В₆ — у принимающих изониазид. Состояние полигиповитаминоза как у всего населения, так и у той его части, которая страдает различными заболеваниями, требует обязательной коррекции, которая достигается не периодическими курсами, а постоянным приемом поливитаминных препаратов с учетом выраженности дефицита того или иного витамина. В связи с нехваткой поливитаминных препаратов в аптечной сети докладчик определенные надежды связывает с премиксами — пищевыми добавками витаминов к молоку, хлебным изделиям, сокам и другим продуктам, давно и широко используемых за рубежом. Их стоимость в 10–100 раз ниже, чем лекарственных форм.

Доклад Ю. В. Букина (Москва) был посвящен результатам использования витаминов и их антиметаболитов для профилактики и лечения онкологических заболеваний. Одним из давно применяемых противоопухолевых препаратов является антиметаболит фолиевой кислоты — метотрексат, успешно используемый для лечения лейкоза, рака молочной железы и легкого.

В настоящее время разрабатываются препараты, противоопухолевое действие которых основано на блокировании реакций цикла фолиевой кислоты и витамин В₆-зависимого биосинтеза полиаминов. Была убедительно продемонстрирована онкопрофилактическая роль некоторых витаминов. Так, ежедневное поступление в организм β-каротина в количестве 15–25 мг достоверно снижает заболеваемость раком желудка, молочной железы и простаты. В настоящее время в указанном плане проходят клиническую проверку α-токоферол и аскорбиновая кислота. Определенные надежды на противоопухолевое профилактическое действие возлагаются на витамины А, В₆, РР, В₁₂, фолиевую кислоту.

Сообщение Б. Л. Смолынского (Днепропетровск) касалось витаминного статуса при старении и вопросов геронтовитаминологии. По мнению докладчика, разделяемое многими исследователями, понятие о возрастном гиповитаминозе неверно, так как в развитых странах пожилые люди им не страдают, поскольку питаются обогащенными витаминами продуктами. Была подчеркнута бесполезность и даже вредность назначения избыточных доз витаминов пожилым людям. Так, большие дозы витамина В₁ вызывают неврологические расстройства. Витамин А плохо усваивается пожилыми людьми и кумулируется на продолжительное время в печени. Это дает основание считать, что дозы витаминов, содержащиеся в декамевите, оказываются завышенными для указанной категории пациентов.

Проблемам витаминной обеспеченности детей были посвящены доклады М. Г. Керимовой,

* Материалы печатаются в № 4 и 5.

Л. М. Алиевой (Баку) и И. Я. Коня (Москва). Авторами доказано значение дефицита витаминов в нарушении формирования сурфактанта легких и развитии бронхолегочной дисплазии у новорожденных. Изучено влияние витаминной недостаточности у беременных и кормящих матерей на показатели физического развития, заболеваемость и смертность детей первого года жизни. Представлены показатели витаминной обеспеченности и состояния здоровья детей, принимавших с профилактической целью поливитаминные препараты.

В докладе В. М. Авакумова (Москва) были подведены итоги исследований в области создания и производства новых отечественных лекарственных препаратов на основе витаминов и коферментов. За последние годы НПО «Витамины» предложено свыше 20 новых препаратов. Это коферментные формы витаминов: кокарбоксилаза, рибофлавин-монопнуклеотид, флавионат, пиридоксальфосфат, кобамид, оксидевит, кальция фолинат. Кроме того, получены коферментные препараты невитаминного происхождения: липосевая кислота, липамид, карнитина хлорид, убихинон, фосфаден. Химическая модификация некоторых известных витаминов привела к появлению препаратов с более выраженным действием (бенфосфотиамин, оксикобаламин, видехол, дигидротакхистерол, бензафлавин), у других — к утрате их специфического витаминного действия, но к появлению новых положительных свойств (пантогам, пиридитол, пикамилон, метотрексат, дипромоний).

Получившее большой резонанс в аудитории выступление Д. А. Бабарыкина (Рига) было посвящено клиническому применению синтетического аналога активной формы витамина D₃ в виде лекарственного препарата «Оксидевит». Оксидевит проявляет иммуномодулирующую активность у больных хроническим бронхитом и бронхиальной астмой. Препарат эффективен при лечении псориаза, а также остеопороза различного генеза (климатерического, мальабсорбционного, стероидного). Оксидевит задерживает развитие асептического некроза и потенцирует действие противоопухолевых препаратов.

В сообщении И. С. Гельберга (Гродно) была показана зависимость витаминной недостаточности от клинической формы, фазы и распространения туберкулеза легких. Химиотерапия основного заболевания не приводит к нормализации уровня витаминов. Дефицит витаминов у этих больных способствует длительному сохранению интоксикации, ухудшению переносимости химиотерапии, затяжному течению туберкулезного процесса. Назначение этой группе больных витаминных препаратов должно учитывать взаимное влияние витаминов — их синергизм и антагонизм.

Доклад В. И. Вдовиченко (г. Львов) касался обеспеченности витаминами больных ишемической болезнью сердца. Обнаруженный у больных стенокардией дефицит витаминов В₁, В₂, В₆, РР и С усугубляется в ходе их лечения анаприлином, финоптином, а у больных с сопутствующей гипертонической болезнью — назначением гипотиазида. Включение в комплексное лечение этих больных ундевита в дозе 4 драже в сутки на протяжении 2 нед восстанавливает обеспечен-

ность отдельными витаминами, однако дефицит витаминов РР и С сохраняется.

Кардиопротекторному эффекту витамина В₁ было посвящено сообщение В. В. Виноградова и соавт. (Гродно).

В докладе И. И. Потоцкой и соавт. (Киев) была продемонстрирована терапевтическая эффективность α-токоферола при нейрогенной дистрофии мышечной ткани.

Использованию препаратов пантотеновой кислоты в гастроэнтерологической практике был посвящен доклад Б. Ф. Дорофеева и соавт. (Гродно). Отечественный пантотенат кальция и пантотин (японского производства), назначенные в раннем послеоперационном периоде, нормализуют моторно-эвакуаторную функцию желудка к 10-му дню после ваготомии.

В серии сообщений, представленных группой авторов из НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ВОИЦ АМН СССР (А. В. Сергеев и соавт., Москва), были обобщены новые данные об иммуномодулирующем и канцеропротекторном действии каротиноидов, фармакокинетике синтетического β-каротина.

Т. С. Морозкина и соавт. сообщили о разработанном ими антиоксидантном витаминном комплексе, обладающем выраженным радиозащитным свойством. Применение комплекса позволяет существенно повысить дозы, эффективность и безопасность лучевой терапии злокачественных новообразований.

Большой интерес вызвал доклад Н. Н. Великого и соавт. (г. Львов), в котором были представлены данные об особенностях обмена никотиамидных коферментов при диабете и успешном применении никотиамида, дающего выраженный гипогликемический эффект. Авторами расшифрован биохимический механизм этого эффекта, связанный с торможением глюконеогенеза под действием НАД, концентрация которого в печени при введении никотиамида возрастает в 3—4 раза.

В докладе С. П. Терехина (Караганда) были представлены данные о влиянии производственных факторов на обеспеченность рабочих витаминами. У металлургов обнаружен дефицит витаминов А, В₁, В₂, В₆ и С во все сезоны года.

Сенсационным было сообщение Я. И. Санникова (Барнаул) о десятках случаев классических форм цинги и пеллагры, а также неизвестной многим врачам отечной формы болезни бери-бери, закончившихся летальным исходом. Случаи тяжелых авитаминозов обнаруживались автором даже среди врачей.

Доклад В. М. Коденцовой и соавт. (Москва) был посвящен методическим особенностям исследований обеспеченности организма человека витаминами. Было показано, что уменьшение экскреции с мочой метаболитов витамина В₆ и РР не всегда является следствием их первичного (алиментарного) дефицита, а может быть обусловлено их функциональной недостаточностью, связанной с дефицитом в организме витамина В₂. Авторы рекомендуют параллельно исследовать уровень витаминов и продуктов их метаболизма в крови и моче.

Большие возможности в исследовании витаминной обеспеченности открывает использование вы-

сокоэффективной жидкостной хроматографии, что было продемонстрировано в докладе Л. М. Якушиной и соавт. (Москва). Для определения достаточно 100—200 мкл крови и 50—100 мкл мочи.

Разработке новых пищевых продуктов, обогащенных витаминами и поливитаминными премиксами, и эффективности их применения для профилактики и коррекции гиповитаминозов у здоровых и больных людей было посвящено сообщение Л. Н. Шатнюк (Москва). В результате совместных исследований с фирмой «Хоффманн — Ла Рош» создан витаминно-минеральный премикс для обогащения муки и хлебобулочных изделий витаминами В₁, В₂, ниацином, фолиевой кислотой и железом. Включение обогащенных этим премиксом булочек в рацион беременных женщин с железо-фолатдефицитной анемией полностью корригировало эту недостаточность.

В развернувшейся по докладам дискуссии высказывались предложения о большей взаимосвязи исследований биохимиков и клиницистов, направленных на изучение конкретных механизмов

витаминого дефицита и путей его коррекции (В. Б. Спиричев, Москва), о ликвидации дефицита витаминов у человека путем витаминизации пищи для крупного рогатого скота и птицы (А. Я. Розанов, Одесса), об открытии при Институте питания АМН СССР клиники витаминной недостаточности и гипervитаминозов (И. Я. Конь, Москва), о создании классификации клинических проявлений избыточного поступления в организм витаминов (Б. Л. Смонянский, Днепропетровск) и др.

Конференцией было принято решение о создании при проблемной комиссии «Проблемы витаминологии» АМН СССР секции клинической витаминологии.

Следует отметить работу оргкомитета конференции, создавшего прекрасные условия для работы.

Желающие получить труды конференции могут заказать их наложенным платежом в оргкомитете (109240, Москва, Устьинский пр., 2/14, Институт питания АМН СССР, Н. В. Блажесвич).

В. И. Вдовиченко (г. Львов)

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 612.015.6.08

Г. В. Донченко, Ю. М. Пархоменко,
П. К. Пархомец, Л. А. Чернухина, Г. В. Петрова

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ — АКЦЕПТОРОВ ВИТАМИНОВ И КОФЕРМЕНТОВ

Институт биохимии им. А. В. Палладина АН Украины, Киев

Согласно современным представлениям [22, 23], процессы всасывания в желудочно-кишечном тракте витаминов, их транспорта с кровью и через биологические мембраны, проявления их коферментной и некоферментной роли в структуре и функции мембранных образований и клетки в целом осуществляются при участии специфических белков, которые по функциональным особенностям можно разделить на следующие типы: 1) белки, транспортирующие витамины и коферменты в крови (липопротеиновые комплексы) и внутри клетки (цитоплазматические), 2) белки цитоплазматических мембран, специфически акцентирующие витамины и коферменты на поверхности мембран и, возможно, транспортирующие их через биологические мембраны; 3) белки-ферменты в результате взаимодействия с которыми проявляется коферментная функция витаминов; 4) внутриклеточные белки-рецепторы, участвующие в реализации некоферментной функции витаминов и их естественных метаболитов в организме человека и животных.

Именно последняя группа белков является наименее исследованной и представляет наибольший интерес для выяснения молекулярного механизма действия витаминов.

Наиболее изучены структурно-функциональные особенности фолат-, кобаламин- и холекальциферолсвязывающих белков и совершенно недостаточно — акцепторные и рецепторные белки α -токоферола, ретинола, витамина РР и тиамин [22, 23].

Целью настоящего обзора является обобщение основных результатов проводимых в отделе биохимии коферментов исследований белков — акцепторов витаминов А, Е, В₁ и РР и коферментов (никотинамидных и тиаминфосфатов). Указанные исследования направлены на выяснение молекулярных механизмов действия жирорастворимых витаминов А и Е и нейротропного действия водорастворимых витаминов В₁ (тиамин) и РР и их коферментных форм.

Клеточные ретинолсвязывающих белки (РСБ) слизистой оболочки промежуточной зоны железистого желудка кур. Согласно современным представлениям, витамину А (ретинолу) отводят важную роль в регуляции деления и дифференциации эпителиальных клеток [38], хотя механизм его действия в указанных процессах остается нерасшифрованным. В реализации биологической функции ретинола участвуют различные типы ретинолсвязывающих белков [22].

На модели слизистой оболочки промежуточной зоны железистого желудка кур нами было доказано наличие витамина А как в слизистой оболочке, так и в выделяемом ею секрете в составе гликолипипротенина [6, 7]. Из клеток слизистой оболочки промежуточной зоны железистого желудка кур с помощью методов гель-фильтрации и ионообменной хроматографии были выделены два индивидуальных, специфически связывающих ретинол клеточных белка (кРСБ₁ и кРСБ₂) с мол. м. 54 и 14 кДа [28]. В результате анализа аминокислотного состава двух кРСБ

не было обнаружено существенных различий в содержании аминокислот, спектрах поглощения, а определение N-концевой аминокислоты показало, что в обоих случаях N-концевая аминокислота блокирована. Нами также показано, что кРСБ₁ является гликолипопротеином.

Показано участие кРСБ₂ с мол. м. 14 кДа в транспорте ретинола к ядрам и аппарату Гольджи (АГ) [29], который, как известно, участвует в формировании секреторной гранулы. О специфическом воздействии АГ с комплексом ³H-ретинол — кРСБ₂ свидетельствует конкурентный характер вытеснения метки комплексом немеченый ретинол — кРСБ. Как следует из стехиометрии процесса, на 100 мкг белка АГ связывается 3,5 нмоль ретинола. Обнаружено, что в отличие от кРСБ₂ кРСБ₁ с мол. м. 54 кДа не обладает транспортной функцией и локализован в составе гликопротеинов мембран фракции, обогащенной АГ [26]. Известно, что гликолипопротеиновый комплекс является основной структурной единицей секрета. Поэтому не исключено, что кРСБ₂ является акцепторным участком мембран АГ и способствует формированию секреторной гранулы с участием витамина А.

РСБ плазмы крови человека. Известно, что витамин А циркулирует в крови в комплексе с РСБ, присоединение к которому ретинола в печени является обязательным условием для поступления белка в кровь. Поэтому содержание РСБ в крови отражает обеспеченность организма витамином А [24]. Установлено, что низкий уровень ретинола и РСБ плазмы крови коррелирует с частотой развития злокачественных новообразований. Поэтому изучение содержания витамина А и РСБ в плазме крови больных с предопухолевыми заболеваниями, а также раком желудка приобретает для клинической онкологии значительный интерес.

Нашей задачей явилась разработка иммунологического метода количественного определения РСБ в крови человека. Из плазмы крови доноров с помощью ионообменной хроматографии, препаративного электрофореза и гель-фильтрации выделен в гомогенном состоянии РСБ [24]. Доказана идентичность выделенного нами РСБ описанным в литературе. Получена полиспецифическая антисыворотка к РСБ плазмы крови человека с целью разработки иммунохимического метода его количественного определения в крови применительно для клинических лабораторий лечебных учреждений [9, 27]. Этот метод был использован как способ прогнозирования эффективности терапии ретинолом. Показано существенное снижение содержания витамина А и РСБ в плазме крови больных раком желудка по сравнению с донорами. Установлена также корреляция между степенью распространенности процессов, макроскопической формой роста опухоли и уровнем указанных показателей [9, 27].

Таким образом, проведенные исследования показывают, что содержание витамина А и РСБ в плазме крови больных раком желудка коррелирует с основными клиническими показателями, характеризующими тяжесть и степень распространенности процесса, и подтверждают клиническое значение определения этих показателей для прогнозирования эффективности терапии ре-

тинолом как в пред-, так и в послеоперационный период.

Исследование специфических витамин Е-связывающих белков печени крыс. Исследование витамин Е-связывающих белков (ЕСБ) было начато практически одновременно в нескольких зарубежных лабораториях около 15 лет назад и является одним из подходов к выяснению биологической функции витамина Е. Показано связывание α-токоферола с кислыми негистоновыми белками в составе нуклеопротеидного комплекса хроматина печени крыс, однако ЕСБ хроматина не выделены и их функциональная роль не установлена [40]. Параллельно с этим развивались исследования ЕСБ цитозоля печени, в результате которых была выделена белковая фракция средней молекулярной массы, специфически взаимодействующая с ³H-α-токоферолом [31, 33]. Однако используемые исследователями подходы не позволили в достаточной степени очистить ЕСБ для дальнейшего изучения его структуры и функции.

Существенные трудности для успешного развития исследований ЕСБ связаны прежде всего с отсутствием достаточно специфических и эффективных методов их выделения, очистки и работы, а также с низким содержанием ЕСБ. В 1 г печени содержится 5—9 мкг ЕСБ цитозоля [33].

Показано, что цельный цитозоль печени и полученная из него с помощью гель-фильтрации белковая фракция средней молекулярной массы увеличивают транспорт ³H-α-токоферола из искусственных липосом в митохондрии [31] и микросомы [32]. Вопрос о взаимоотношении комплекса белок — витамин Е с ядрами является интересным и важным, так как существует гипотеза об участии витамина Е в регуляции синтеза белка на уровне транскрипции [40].

В результате исследований специфических ЕСБ печени крыс нами с помощью метода гель-фильтрации на сефадексе G-100 из цитозоля печени крыс выделен и охарактеризован белковый фактор Катигнани, специфически связывающий α-токоферол (белковая фракция с мол. м. 30—70 кДа) [3]. Установлено, что только указанная белковая фракция в виде комплекса с α-токоферолом обладает способностью ускорять специфическое связывание ³H-α-токоферола с изолированными нативными ядрами и митохондриями, а также повышать более чем в 2 раза стимулирующий эффект α-токоферола на дыхание митохондрий и предупреждать индуцируемое NAD⁺ падение дыхания митохондрий [4]. Из солибилизованных тритоном X-100 мембран митохондрий печени крыс с помощью метода адсорбционной хроматографии на гидроксипатите выделена и частично очищена белковая фракция, способная специфически связывать ³H-α-токоферол [12].

Дальнейшая характеристика цитозольного белкового фактора с помощью высокоэффективной ионообменной хроматографии на колонке моно Q (анионообменник) показала наличие фракции кислых и щелочных ЕСБ. Кислые белки составляют 41 % и связывают метку в 8 раз интенсивнее щелочных [3].

С целью изучения физико-химических характеристик связывания и выяснения участия отдельных структурных элементов молекулы токофе-

роля в специфическом его взаимодействии с белками цитозоля были синтезированы и испытаны аффинные сорбенты на основе агарозы с лигандами, моделирующими боковую цепь α -токоферола (додециламин) и с использованием в качестве лиганда боковой цепи и хроманового ядра молекулы α -токоферола.

Впервые с помощью методов аффинной хроматографии в цитозоле печени крыс показано наличие нескольких ЕСБ, проявляющих аффинность к изофитольной, восстановленной хромановой и окисленной хинонной группировкам молекулы токоферола. Эти белки отличаются по мол. м. и поведению при высокоэффективной обменной хроматографии. К изофитольной части проявляют сродство кислые и щелочные белки, которые связывают ^3H - α -токоферол с одинаковой удельной активностью. К хромановой и хинонной группировкам проявляют сродство кислые белки. Полученные данные указывают на существование в цитозоле различных ЕСБ, проявляющих аффинность к хромановому и изофитольным структурным элементам молекулы α -токоферола, а также к основным биологически активным метаболитам витамина Е.

Нами были исследованы белки — акценторы витамина Е в ядре печени крыс в связи с предположениями о контроле синтеза витамином Е биосинтеза РНК [10, 35].

Проведенные нами исследования показали, что наличие витамин Е-связывающего цитозольного белкового фактора является необходимым условием для специфического включения ^3H - α -токоферола в нативные ядра печени *in vitro* [3, 5]. При этом 88 % суммарной метки ядер связывается с ядерной мембраной, 10 % — с хроматином и 1 % с ядерным матриксом. При хроматографическом разделении белков ядерной мембраны на гидроксиапатите обнаружена элюируемая 175 мМ калий-фосфатным буфером белковая фракция, специфически связывающая α -токоферол [5]. Из суммарных негистоновых белков хроматина также была выделена белковая фракция, специфически акцентирующая токоферол.

Обнаруженное нами связывание α -токоферола с препаратом ядерного матрикса и хроматина может свидетельствовать о возможном участии витамина Е в процессах матричных синтезов, происходящих в данных структурах. В связи с этим мы изучили влияние α -токоферола на ДНК- и РНК-полимеразную активность в изолированных препаратах ядерного матрикса [2, 5]. При этом в ядерном матриксе печени Е-гиповитаминозных крыс отмечается уменьшение тотальной ДНК- и РНК-полимеразной активности. α -Токоферол, добавленный к препарату ядерного матрикса контрольных и Е-гиповитаминозных животных, заметно повышает активность как РНК-, так и ДНК-полимераз.

Проведенный нами электрофоретический анализ белкового состава препаратов ядерного матрикса нормальных и Е-гиповитаминозных крыс выявил изменения белкового спектра в областях порядка 100 и 30 кДа у животных, содержащихся на Е-авитаминозном рационе. Это может косвенно свидетельствовать о нарушении синтеза белков ядерного матрикса в условиях Е-гиповитаминоза [5].

Таким образом, на основании полученных результатов можно высказать предположение о том, что для специфического включения α -токоферола в клеточные ядра необходимо наличие цитозольного ЕСБ. В его отсутствие включение происходит главным образом неспецифически. α -Токоферол, проникший внутрь ядра, связывается со структурами хроматина и ядерного матрикса и может участвовать в регуляции РНК- и ДНК-полимеразной активности.

Необходимость новых подходов в исследовании молекулярных механизмов действия витаминов с хорошо изученной коферментной функцией становится очевидной и при анализе современных данных литературы и представлений о механизмах нейротропного эффекта тиамин и его фосфорных эфиров, никотинамида и NAD^+ .

Исследования тиаминсвязывающего белка (ТСБ) мозга крыс. О ТСБ клеток млекопитающих имеются лишь первые сообщения, не позволяющие пока судить об их физиологической роли [1, 16, 36].

С целью изучения молекулярных механизмов нейротропного действия тиамин нами были предприняты исследования ТСБ синапсом мозга крыс. Согласно современным представлениям, изолированные нервные окончания могут служить вполне адекватной моделью при изучении закономерностей функционирования нервной клетки. С помощью метода аффинной хроматографии был выделен и частично очищен высокомолекулярный ТСБ синапсом мозга крыс [13, 14]. Изолированный нами ТСБ представляет собой гликопротеин кислой природы, специфически связывающий тиамин с удельной активностью 8,2 нмоль на 1 мг белка при оптимальном рН 8,35. Мол. м. свежесыщенного белка равна 105 кДа. Белок нестабилен и при хранении распадается на фрагменты с мол. м. от 35 до 50 кДа, проявляет повышенное сродство не только к тиамину, но и к его фосфорным эфирам, которые по способности конкурировать с ^{14}C -тиамином за связывание с ТСБ располагаются в последовательности: тиамин > тиаминмонофосфат > тиаминтрифосфат (ТТФ) > тиаминдифосфат (ТДФ). Выделенный нами ТСБ был исследован на ферментативную активность, присущую ТДФ-зависимым ферментам или ферментам, участвующим в обмене тиаминфосфатов. Оказалось, что синапсомальный ТСБ способен гидролизовать фосфорные эфиры тиамин [14], при этом наиболее активно — ТТФ, который, согласно современным представлениям, является носителем специфической нейротропной функции тиамин [11]. Проявляемая ТСБ специфичность к фосфатам тиамин высокая: белок не гидролизует ни один из испытанных нуклеотидтрифосфатов [41]. Указанное свойство существенно отличает изолированный нами ТСБ от тиаминтрифосфатазы (ТТФазы), изолированной ранее из ткани мозга [34], которая из числа фосфорных эфиров тиамин гидролизует только ТТФ; наряду с ним, хотя и менее активно, фермент катализировал гидролиз некоторых нуклеотидтрифосфатов.

Наличие в белке ТТФазной активности позволило нам ориентировочно оценить его локализацию в нервном окончании [41]. Проведенные исследования показали, что ТТФазная активность,

присущая белку, наиболее высокая в плазматических мембранах синапсом (ПМС) и синаптических пузырьках [41]. Высокая чувствительность синапсомального ТСБ к ионному окружению, данные об активации его фосфолипидами [15], близкое по значению средство к тиамину ТСБ и тиаминсвязывающих участков на изолированном ПМС, характеризующиеся значениями K_d , равными соответственно 3,1 мкМ и 3,0 мкМ, а также близкие величины K_m для гидролиза ТТФ, ТСБ и ПМС, дают основание предполагать мембранную локализацию данного белка. Это согласуется и с данными, свидетельствующими о том, что Ca^{2+} , концентрация которого внутри нервного окончания повышается при деполяризации, ингибирует ТТФазную активность как изолированного ТСБ, так и ПМС. С другой стороны, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что факторы, такие как НС1 и валиномицин, вызывающие деполяризацию возбудимой мембраны, снижают захват меченого тиаминсинапсом и могут привести даже к высвобождению в окружающую среду из синапсом тиаминсина, захваченного ими до добавления деполяризующих соединений [39].

Мы предполагаем, что ТСБ является интегральным белком возбудимой мембраны нервных окончаний, одной из функций которого является транспорт свободного тиаминсина внутрь клетки при реполяризации мембраны, гидролиз тиаминфосфатов и выброс в окружающую среду свободного тиаминсина (или, возможно, какого-то его производного) при деполяризации. Такое предположение может быть справедливым при условии, что белок асимметричен в отношении его биологических активностей, ориентирован определенным образом в мембране, пронизывая ее насквозь, и при изменении заряда мембраны изменяет свою конформацию. Первые доказательства асимметричности ПМС в отношении связывания тиаминсина и ТТФ нами получены. При изучении конкуренции тиаминсина и его фосфатов с ^{14}C -тиамином за связывание с изолированными нативными синапсомсинами и везикулированными ПМС, имеющими смешанную ориентацию мембраны, мы обнаружили, что немеченый тиамин конкурирует в одинаковой степени с меченым лигандом за связывание как с целыми синапсомсинами, так и с ПМС, в то время как ТТФ успешно конкурирует с лигандом только в экспериментах с ПМС и совершенно не конкурирует в опытах на синапсомсинах. В последнем случае наблюдается даже некоторая стимуляция захвата метки. С помощью метода конкурентного анализа мы определили, что K_d при взаимодействии ТТФ с ПМС почти в 2 раза выше, чем самого тиаминсина. Связывание ТТФ возможно только с участками, расположенными на внутренней поверхности ПМС.

Эксперименты, проведенные с меченым тиамином, показали, что захваченный синапсомсинами тиамин быстро фосфорилируется, метка обнаруживается во всех субсинапсомальных фрагментах, включая и митохондрии. Получены доказательства регулярного воздействия захваченного синапсомсинами тиаминсина на синтез ацетилхолина из 2- ^{14}C -пирувата, опосредованного через воздей-

ствие его на активность пируватдегидрогеназного комплекса синапсом [39].

Сформулирована гипотеза нейротропного действия тиаминсина, в основе которой лежат представления о наличии в нервных окончаниях подвижного пула тиаминсина (циркуляция которого между внутриклеточным пространством и пресинаптической щелью регулируется зарядом возбудимой мембраны) и о взаимодействии обмена тиаминсина с обменом нейромедиатора ацетилхолина. Определенная роль в этой гипотезе отводится ТСБ. Обнаружение ТТФазной активности, свойственной ТСБ, в синаптических пузырьках, которые по современным представлениям являются носителями нейромедиаторов, указывает на сложность физиологической функции ТСБ.

Исследование специфических белков — акцепторов NAD — в мозгу крыс. Нейротропную функцию никотинамидных нуклеотидов невозможно объяснить исключительно их коферментной ролью, так как не наблюдается корреляция между недостаточностью витамина РР, активностью дегидрогеназ и содержанием никотинамидных коферментов [25, 37].

Предложена гипотеза о возможной реализации нейротропного действия витамина РР через функционирующие пурино- и бензодиазепиновые рецепторы [20, 21]. Указанные рецепторы могут играть определенную роль в механизме действия никотинамидных коферментов в нервной клетке, в частности NAD, поскольку в молекуле данного динуклеотида содержится адениловый фрагмент — специфический лиганд пуринорецепторов типа P_1 и P_2 , а также никотинамид — эндогенный лиганд бензодиазепиновых рецепторов.

При изучении природы участков синаптических мембран головного мозга крыс, специфически связывающих NAD, использование ряда методических приемов (протеолитическая, липолитическая, нейраминидазная, температурная обработка синаптических мембран, химическая модификация белковой структуры) позволило установить, что локализованные на синаптических мембранах NAD-связывающие рецепторные участки представляют собой протеолипиды, окруженные олигосахаридной частью ганглиозидов [8]. Главной проблемой при выделении мембранных белков является их солюбилизация, которая может воздействовать на стабильность белка и способность его связывать лиганд. Для солюбилизации NAD-связывающих белков оптимальным детергентом оказался дигитонин. Солюбилизованный дигитонином NAD-связывающий рецепторный белок по исследуемым параметрам подобен белку нативных мембран. Средство солюбилизованного рецепторного белка к NAD по сравнению с мембранно-связанным практически не изменяется. Для выделения NAD-связывающих белков синаптических мембран были синтезированы два аффинных сорбента с использованием в качестве лигандов N^6 -карбоксиметил-NAD и N^6 -(2-аминоэтил)-NAD. При помощи этих сорбентов выделен и очищен белок, специфически связывающий NAD: мол. м. этого белка равен 115 кДа.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что NAD может связываться с пуринорецепторами типа P_2 и бензодиазепиновым участком ГАМК-рецепторного комплекса [17,

18], а также и с собственным рецепторным участком на синаптических мембранах головного мозга крыс [30].

Физиологическое значение взаимодействия NAD со специфическими рецепторными участками синаптических мембран головного мозга крыс состоит в его модулирующей роли, заключающейся в регуляции Ca^{2+} -зависимого высвобождения серотонина, дофамина, ГАМК из синапсом головного мозга крыс и их захвата [19].

Сформулированы представления о молекулярном механизме нейротропного эффекта лекарственных форм никотиновой кислоты (витамина РР) и ее производных при лечении психических заболеваний и расстройств функций ЦНС [17, 19]. Так, в основе проявления лечебного эффекта NAD в ткани мозга больных лежит регуляция захвата синапсом и высвобождение из синапсом в синаптическую щель нейромедиаторов: серотонина — у больных психозами, дофамина — у больных паркинсонизмом, ГАМК — в мозге больных эпилептическими припадками. Дальнейшее изучение специфичности взаимодействия NAD, его аналогов и метаболитов с нейроспецифическими белками-акцепторами позволит не только повысить эффективность применяемых в настоящее время готовых лекарственных средств, но и создать новые перспективные лекарственные средства, обладающие повышенной нейротропной эффективностью.

Таким образом, исследования по выделению, очистке и характеристике специфических витаминсвязывающих белков позволили охарактеризовать белки, специфически связывающие ретинол в слизистой оболочке промежуточной зоны железистого желудка кур, α -токоферол и его естественный метаболит — α -токоферилхинон — в цитозоле печени крыс, тиамин, его фосфорные эфиры и NAD в синаптических мембранах головного мозга крыс. Изучение специфических белков — акцепторов витаминов и коферментов — является новым перспективным подходом к решению проблем традиционной биохимии витаминов, направленным на выяснение молекулярных механизмов уникальных функций витаминов и коферментов в клетке, а также на обоснование их широкого практического применения в медицине и животноводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воскобоев А. И., Аверин В. А. // Бюл. экпер. биол.— 1982.— № 1.— С. 110—1117.
2. Губский Ю. И., Левицкий Е. Л., Чабанний В. П. и др. // Укр. биохим. журн.— 1990.— Т. 62, № 6.— С. 22—31.
3. Донченко Г. В., Маленьких Л. Б., Капранов А. А. и др. // Биохимия.— 1988.— Т. 53, № 12.— С. 2019—2024.
4. Донченко Г. В., Маленьких Л. Б., Паливода О. М., Жалило Л. И. // Укр. биохим. журн.— 1990.— Т. 62, № 2.— С. 115—119.
5. Донченко Г. В., Петрова Г. В., Капранов А. А. и др. // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1990.— № 3.— С. 60—62.
6. Душейко А. А., Чернухина Л. А., Блажевич М. А. и др. // Докл. АН СССР.— 1979.— Т. 246, № 1.— С. 225—227.
7. Душейко А. А., Чернухина Л. А., Халмурадов А. Г., Блажевич М. А. // Укр. биохим. журн.— 1983.— Т. 55, № 1.— С. 23—28.
8. Кучеровская Т. М., Пархомец П. К., Чичковская Г. В. и др. // Нейрохимия.— 1985.— Т. 4.— С. 373—378.
9. Мясоедов Д. В., Вьюницкая Л. В., Чернухина Л. А., Донченко Г. В. // Вопр. онкол.— 1989.— № 8.— С. 945—948.
10. Паливода О. М., Донченко Г. В., Метальникова Н. П. // Укр. биохим. журн.— 1981.— Т. 53, № 1.— С. 67—71.
11. Пархоменко Ю. М., Протасова З. С., Постоенко В. А., Донченко Г. В. // Докл. АН УССР.— Сер. Б.— 1988.— № 8.— С. 73—76.
12. Петрова Г. В., Капранов А. А., Кузьменко И. В., Донченко Г. В. // Укр. биохим. журн.— 1990.— Т. 62, № 2.— С. 29—35.
13. Постоенко В. А., Пархоменко Ю. М., Вовк А. И. и др. // Биохимия.— 1987.— Т. 52, № 11.— С. 1792—1797.
14. Постоенко В. А., Пархоменко Ю. М., Донченко Г. В. // Укр. биохим. журн.— 1987.— Т. 59, № 6.— С. 9—14.
15. Постоенко В. А., Пархоменко Ю. М., Донченко Г. В. // Нейрохимия.— 1990.— Т. 9, № 1.— С. 33—38.
16. Рыбина А. А., Халмурадов А. Г., Пархоменко Ю. М. // Укр. биохим. журн.— 1980.— Т. 52, № 5.— С. 652—667.
17. Фоменко А. И., Халмурадов А. Г., Пожарун С. В., Степаненко С. П. // Нейрохимия.— 1988.— Т. 7, № 1.— С. 26—32.
18. Халмурадов А. Г., Кучеровская Т. М., Пархомец П. К. и др. // Там же.— 1987.— Т. 6, № 1.— С. 133—138.
19. Халмурадов А. Г., Кучеровская Т. М., Пархомец П. К. // Там же.— № 4.— С. 495—502.
20. Халмурадов А. Г., Пархомец П. К., Романенко А. В. // Актуальные проблемы витаминологии.— Тарту, 1980.— С. 53—57.
21. Халмурадов А. Г., Романенко А. В., Шуба М. Ф. // Укр. биохим. журн.— 1981.— Т. 53, № 1.— С. 79—82.
22. Халмурадов А. Г., Тоцкий В. Н., Чаговец Р. В. Транспорт жирорастворимых витаминов.— Киев, 1980.
23. Халмурадов А. Г., Тоцкий В. Н., Чаговец Р. В. Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов.— Киев, 1982.
24. Халмурадов А. Г., Чернухина Л. А., Максименко Л. Ю. // Укр. биохим. журн.— 1986.— Т. 58, № 4.— С. 57—62.
25. Чаговец Р. В., Шушевич С. П., Халмурадов А. Г. // Там же.— 1985.— Т. 57, № 5.— С. 635—648.
26. Чернухина Л. А., Блажевич М. А., Пинская И. Е., Донченко Г. В. // Там же.— 1989.— Т. 61, № 4.— С. 36—41.
27. Чернухина Л. А., Максименко Л. Ю., Донченко Г. В. и др. // Молекулярные механизмы формирования патологических состояний.— Л., 1988.— С. 203.
28. Чернухина Л. А., Пинская И. Е., Донченко Г. В. // Укр. биохим. журн.— 1989.— Т. 61, № 5.— С. 16—23.
29. Чернухина Л. А., Халмурадов А. Г., Блажевич М. А. // Там же.— 1988.— Т. 60, № 1.— С. 29—33.
30. Чичковская Г. В., Фоменко А. И., Пархомец П. К. и др. // Там же.— 1990.— Т. 62, № 2.— С. 36—40.
31. Behrens W. A., Madere R. // Nutr. Rep. int.— 1982.— Vol. 25, N 1.— P. 107—112.
32. Behrens W. A., Madere R. // Nutr. Res.— 1982.— Vol. 2.— P. 611—618.
33. Calignani G. L. // Meth. Enzymol.— 1980.— Vol. 67, Pt 1.— P. 117—122.
34. Hashinaki Y., Cooper J. R. // J. biol. Chem.— 1972.— Vol. 247, N 7.— P. 2117—2119.
35. Hanswirth J. W., Nair P. P. // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1972.— Vol. 203.— P. 111—122.
36. Kimura M., Ito K. // J. Chromatogr.— 1981.— Vol. 211, N 2.— P. 290—292.
37. Kohn H. J., Klein J. R., Dann W. J. // Biochem. J.— 1939.— Vol. 33, N 9.— P. 1432—1442.
38. Olson J. A., Bridges C. D. B., Packer L. et al. // Fed. Proc.— 1983.— Vol. 42, N 10.— P. 2740—2746.
39. Parkhomenko Yu. M., Protasova Z. S., Chernysh I. Yu., Donchenko G. V. // Biochemistry and Physiology of ThDP-Dependent Enzymes.— Blaubeurone, 1990.— P. 34.
40. Patnaik R. N. // Int. J. Biochem.— 1981.— Vol. 13.— P. 1087—1094.
41. Schoffeniels E., Margineanu D. G. // Molecular Basis of Nerve Activity.— Berlin, 1985.— P. 401—407.

Поступила 08.08.91

НОВОЕ В ИЗУЧЕНИИ ОБМЕНА НИАЦИНА И НИКОТИНАМИДНЫХ КОФЕРМЕНТОВ

Институт микробиологии АН Узбекистана, Ташкент

Витамин РР как незаменимый фактор питания человека и животных обеспечивает нормальное функционирование свыше 150 ферментативных окислительно-восстановительных реакций клеточного метаболизма через свои коферментные формы — NAD и NADP. Физиологические количества витамина регулируют эффективность NAD-опосредованного ADP-рибозилирования мембранных, ферментных, а также ряда функциональных белков, обеспечивают оптимальную деятельность нервной системы, эндокринных желез и других систем [5—7].

Между тем потребности практической медицины и животноводства в витамине в нашей стране обеспечиваются не более чем на 20 %. Это связано со сложностью технологического процесса и дорогостоящей импортной химической сырьевой — β-пиридина (3-метилпиридина). Разработаны пути микробных трансформаций β-пиридина и других замещенных пиридинов, однако эти разработки далеки от промышленного применения, и вопросы поиска эффективных и доступных сырьевых источников синтеза витамина РР продолжают оставаться острыми [4]. В равной мере это относится и к производству крайне необходимого для клинических целей препарата NAD, 70—80 % мирового производства которого, осуществляемого в Японии, составляет 100 кг [1]. Микробиологический синтез как основной путь его получения осуществляется путем культивирования дрожжей

родов *Candida*, *Saccharomyces* и бактерий родов *Brevibacterium* и *Corynebacterium* в средах, содержащих предшественники NAD [12, 13]. Способ с использованием продуцентов рода *Brevibacterium* является наиболее эффективным.

Возможность использования мицелиальных грибов в качестве эффективных продуцентов витамина РР и его коферментных форм до сих пор не рассматривалась. Между тем грибы имеют преимущество в связи с продуцированием ими широкого набора гидролитических ферментов и способностью их к утилизации большого числа субстратов по сравнению с дрожжами и бактериями. При использовании в качестве субстрата гетерогенной смеси, как в производстве кормов, это свойство грибов имеет особую важность. Грибные продуценты *E. ashbyii* и *Blakeslea trispora* успешно используются для производства витамина В₂ и β-каротина [2].

В связи с этим нами в последние 3—4 года предпринят поиск и отбор региональных штаммов микроскопических грибов с повышенным накоплением ниацина и синтеза NAD и изучены особенности регуляции в клетках микромицетов некоторых ключевых этапов биосинтеза кофермента.

Методика. При скрининге 88 штаммов мицелиальных грибов, принадлежащих к двум классам, 10 родам, 18 видам и одной разновидности, нами было установлено, что уровень аккумуляции NAD в клетках микромицетов относительно не высок. Наибольшая биосинтетическая активность в отношении NAD, сопоставимая с таковой для известных дрожжевых продуцентов, обнаружена в штаммах рода *Fusarium*, в частности *F. sambucinum*. Клетки этой культуры при глубинном выращивании накапливали от 1,7 до 2,5 мг NAD на 1 г сухой биомассы. Содержание NAD в культуральной среде было незначительным. Максимальный уровень синтеза NAD отмечен в стационарной фазе роста, чему предшествует усиление синтеза никотиновой кислоты в период экспоненциального роста, что, по-видимому, отражает зависимость NAD-синтетической способности от обеспеченности клеток предшественниками.

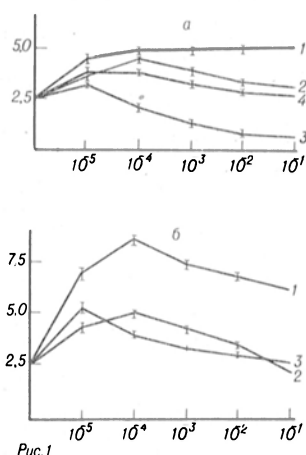


Рис. 1

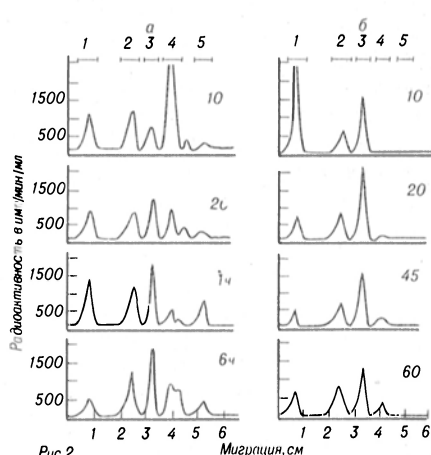


Рис. 2

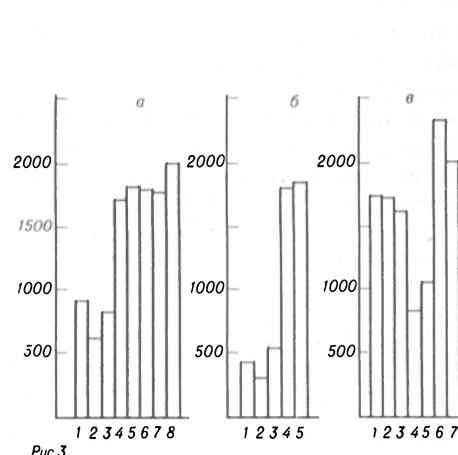


Рис. 3

Рис. 1. Влияние экзогенных предшественников на биосинтез NAD в клетках *F. sambucinum*.

По оси абсцисс — концентрация соединений М; по оси ординат — концентрация NAD, мкмоль/г свежей массы.

а: 1 — аденозин, 2 — никотинамид, 3 — никотиновая кислота, 4 — триптофан; б: 1 — никотинамид+аденозин, 2 — триптофан+аденозин, 3 — никотиновая кислота+аденозин.

Рис. 2. Хроматография хлоратных экстрактов клеток *F. sambucinum* после экспозиции (в с) ³H-никотиновой кислотой (а), ³H-триптофаном (б).

Вверху — положение стандартов: 1 — NaAD, 2 — NaMN, 3 — NAD, 4 — Na/Nam, 5 — NMN. Хроматографию проводили на пластинках РЕИ-целлюлозы в 0,5 М формате натрия pH 3,4.

Рис. 3. Влияние источников углеродного (а), азотного (б) питания и витаминов (в) на биосинтез NAD в *F. sambucinum*.

По осям ординат — концентрация NAD, мкг/г.

а: 1 — мальтоза, 2 — лактоза, 3 — сорбит, 4 — маннит, 5 — глюкоза, 6 — сахароза, 7 — дульцит, 8 — арабиноза; б: 1 — сульфат аммония, 2 — хлорид аммония, 3 — нитрат аммония, 4 — нитрат калия, 5 — нитрат натрия; в: 1 — контроль, 2 — пантотенат, 3 — биотин, 4 — инозит, 5 — рибофлавин, 6 — пиридоксин, 7 — тиамин.

Сравнительная активность NaMN- и NMN-пирофосфорилаз при реализации путей биосинтеза NAD в клетках *F. sambucinum* из различных предшественников

Условия опыта	Концентрация, М	NAD, мкмоль/г свежей массы		Активность ферментов, нмоль/мг белка/ч			
				HKMN-пирофосфорилаза		NMN-пирофосфорилаза	
		аденозин		аденозин		аденозин	
		—	+	—	+	—	+
Контроль	—	2,5	4,7	164	186	180	844
Никотиновая кислота	10^{-4}	2,75	5,3	133	467	163	386
Никотинамид	10^{-5}	4,0	8,0	200	180	173	861
Триптофан	10^{-4}	3,7	5,0	128	460	175	789

Результаты и обсуждение. При выращивании *F. sambucinum* в средах, содержащих различные предшественники молекулы кофермента, установлено, что наибольший стимулирующий эффект на биосинтез NAD оказывает аденозин (рис. 1, а). Характер воздействия источников пиридинового кольца кофермента — триптофана, никотиновой кислоты и никотинамида — зависит от их концентрации в среде. Снижение уровня синтеза кофермента при высоких концентрациях пиридиновых предшественников указывает на вероятность ингибирования отдельных этапов образования NAD в этих условиях. При одновременном внесении в среду предшественников в сочетании с аденозином концентрационная зависимость биосинтеза NAD сохраняется, но более выражено (см. рис. 1, б).

Для доказательства функциональности триптофанового и никотинатного путей биосинтеза NAD нами проведены опыты с экспозицией культуры в присутствии ^3H -триптофана и ^3H -никотиновой кислоты с последующей идентификацией продуктов их конверсии методом тонкослойной хроматографии (рис. 2). Анализ полученных данных убеждает в достаточно высокой скорости конверсии радиометки в NAD через образование NaMN (никотинатмононуклеотид) и NaAD (никотинатадениндинуклеотид). Следовательно, биосинтез NAD в клетках *F. sambucinum* как из никотиновой кислоты, так и из триптофана реализуется по одному и тому же механизму, т. е. через образование никотинатсодержащих моно- и динуклеотидов. В кислоторастворимых экстрактах культуры клеток представлен почти весь спектр меченых пиридиновых нуклеотидов. Распределение нуклеотидов в динамике, в частности появление меченых никотиновой кислоты (никотинамида) при экспозиции с ^3H -триптофаном и NMN (никотинамидмононуклеотида) при инкубации с ^3H -никотиновой кислотой, а также относительная стабилизация

уровня радиоактивности в NAD через 6 ч экспозиции указывает на пассивность рециклизирующих путей [10].

Из данных, полученных на бактериальных клетках, известно, что наибольшему регуляторному воздействию подвержен ключевой фермент пиридиннуклеотидных циклов — NaMN-пирофосфорилаза [1]. Отмечена 100-кратная репрессия фермента в клетках *E. coli*, растущих в среде с ниацином [19]. Показано репрессирующее действие никотиновой кислоты при концентрации выше $5 \cdot 10^{-7}$ М в клетках *Salmonella* [11]. Лимитирование активности фермента внутриклеточной концентрацией АТР, являющейся активатором фермент-субстратного комплекса, выявлено в клетках *E. coli* и *B. subtilis* [10].

Как показывают результаты наших исследований, в бесклеточном экстракте *F. sambucinum*, растущего в среде с ниацином и триптофаном, активность NaMN-пирофосфорилазы также репрессирована (табл. 1). Одновременное добавление в среду 10^{-5} М аденозина меняет направленность регуляции фермента. В этой ситуации имеет место двукратное увеличение активности пирофосфорилазы, очевидно, вследствие включения аденозина в запасы («salvage») путь синтеза АТР и соответственного увеличения пула АТР, как в случае с *Brevibacterium* [3].

Аналогичные данные получены и при изучении нами активности NMN-пирофосфорилазы, крайне редко встречающейся в микробных клетках [10]. К небольшому числу микроорганизмов, имеющих NMN-пирофосфорилазу, относится *Naemophilus*, в которой отсутствуют и de novo путь синтеза NAD, и путь Прейсса — Хандлера. Необычно высокий уровень NMN-пирофосфорилазы был отмечен в бесклеточном экстракте гриба при выращивании в среде с никотинамидом и аденозином (см. табл. 1). Активность фермента в 5 раз превысила таковую NaMN-пирофосфорилазы, подавлялась никотиновой кислотой с триптофаном, в то время как в отсутствие аденозина влияние пиридиновых предшественников кофермента было несущественным. Следует отметить, что высокая активность никотинатфосфорибозилтрансфераз и аденилатфосфорибозилтрансфераз является одной из характерных особенностей микроорганизмов — продуцентов NAD [1]. Весьма вероятно, что NaMN- и NMN-пирофосфорилазная активность бесклеточного экстракта *F. sambucinum* обусловлена существованием одного и того же фермента с субстратной специфичностью как к никотиновой кислоте, так и к никотинамиду, как это имеет место с NaAD- и NAD-пирофосфорилазами в

Таблица 2

Активность NAD-гликогидролазы в бесклеточном экстракте *F. sambucinum* при росте культуры в присутствии экзогенных предшественников

Предшественник	Концентрация, М	Активность фермента, $\Delta\text{E}_{340}/\text{мг}$ белка
Контроль	—	0,31
Никотиновая кислота	10^{-4}	0,204
	10^{-6}	0,487
Никотинамид	10^{-4}	1,51
	10^{-6}	1,01

Таблица 3

Влияние некоторых интермедиатов синтеза NAD на активность частично очищенной NADазы *F. sambucinum*

Интермедиат	Концентрация, М	Активность фермента, АЕ ₃₄₀ /мг белка
Контроль	—	0,74
Никотиновая кислота	10 ⁻² 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁶	0,05 0,083 0,166
Никотинамид	10 ⁻² 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁶	— — 0,14
Никотинамидмоноуклеотид	10 ⁻² 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁶	10,5 5,44 0,19
NaMN	10 ⁻² 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁶	0,58 0,01 —

E. coli и дрожжами [8]. Разумеется, окончательные доводы в пользу этого предположения возможны только в экспериментах с очищенными ферментами. Хотя полученные данные могут указывать на реальность прямой утилизации никотинамида, тем не менее для оценки физиологической значимости никотинамидного пути биосинтеза NAD в клетках этой культуры представляет интерес в будущем изучение процесса дезамидирования никотинамида при участии специфической никотинамиддезамидазы (NADазы).

Таки образом, полученные нами данные указывают, что регуляция активности NaNM- и NMN-пирофосфорилаз контролируется доступностью АТР, способствующей реализации потенциально высокой активности этих ферментов.

В проведенных нами исследованиях по изучению активности NAD-гликогидролазы *F. sambucinum* установлено, что для проявления активности фермент не нуждается в тепловой обработке, как это установлено для NADазы *Mycobacterium* [8]. Характерно наличие NAD-гликогидролазной активности и в мицелии, и в культуральной среде, причем активность внеклеточной NADазы в наших опытах была значительно выше. Этим, вероятно, объясняется и низкое содержание NAD в культуральной жидкости *F. sambucinum*.

При выращивании культуры в присутствии экзогенных предшественников нами установлена значительная активация NADазы никотинамидом в бесклеточном экстракте, в то время как никотиновая кислота влияет на активность фермента незначительно (табл. 2).

Для более детального изучения регуляции активности NADазы ацетоновым фракционированием мы получили частично очищенный препарат фермента и подобрали оптимальные условия реакции.

В опытах с частично очищенным ферментом (табл. 3) в отличие от экспериментов *in vivo* мы выявили полное подавление активности NADазы никотинамидом и в меньшей степени — никотиновой кислотой. Неожиданно высокая активность NADазы проявляется в случае наличия в инкубационной среде NMN. Это означает, что наблюдаемое в присутствии экзогенного

Таблица 4

Влияние добавок растительных отходов на NAD-синтезирующую активность гриба *F. sambucinum*

Варианты	Концентрация, %	NAD, мкг/г свежей массы
Среда Чапека	—	1800
Табачная пыль	1 2	2150 2270
Виноградные выжимки	1 2	3300 2700
Рисовые отруби	1 2	4100 1600
Кукурузная мука	1 2	4600 700
Солодовая дробина	2	2000

никотинамида увеличение активности NADазы в бесклеточном экстракте *F. sambucinum* (см. табл. 2) является следствием повышения пула NMN, образующегося в результате активирования NMN-пирофосфорилазной реакции (см. табл. 1).

Таким образом, при функционировании триптофанового и никотинатного путей биосинтеза NAD в клетках наиболее выраженным регуляторным действием на стадии образования моноуклеотидов и гидролиза NAD обладает никотинамид. Использование не утилизируемых аналогов никотинамида может быть весьма перспективным в целях выяснения истинных механизмов блокирования NADазы и получения мутантов гриба с нарушенной регуляцией обмена.

Одним из существенных факторов, определяющих уровень синтеза NAD в клетках микроорганизмов, считают условия культивирования, в том числе состав питательных сред. Подбор источников углерода, азота и ряда других веществ позволил увеличить уровень накопления NAD в биомассе *Sacharomyces* более чем в 10 раз [9]. Нами также было установлено, что содержание NAD в мицелии *F. sambucinum* колеблется в значительных пределах в зависимости от источников питания (рис. 3). Наиболее предпочтительным оказалось выращивание культуры в среде, составленной из глюкозы, нитрата натрия, тиамина и пиридоксина, ионов цинка. В результате оптимизации питательной среды только по трем указанным субстратам, исключая витамины, удалось увеличить содержание NAD по сравнению с исходным в 2 раза. Многообещающие данные были получены нами при использовании в качестве дополнительных источников углерода некоторых видов растительных отходов (табл. 4).

Благодаря относительно высокому исходному уровню NAD, возможности увеличения синтеза кофермента путем изменения условий культивирования и способности утилизировать дешевые виды растительного сырья с большим приростом NAD-продуцирующей активности мицелиальный гриб *F. sambucinum* является перспективной культурой для использования в разработке биотехнологического режима производства кофермента и его предшественника как наиболее оптимальный путь удовлетворения потребностей практической медицины и животноводства в препаратах витамина PP и его коферментных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баздырева Н. М. // Прикладная биохим.— 1988.— Т. 24, № 2.— С. 147—163.

2. Диканская Э. М. // Биотехнология. — М., 1984. — С. 60—65.
3. Реброва Т., Дебов С. // Биохимия. — 1970. — Т. 35, № 5. — С. 1046—1050.
4. Скрыбин Г. К., Головлева Л. А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. — М., 1984.
5. Халмурадов А. Г. О метаболизме никотиновой кислоты и 3-метилпиридина в тканях животных и его регуляции: Дис. ... д-ра биол. наук. — Киев, 1974.
6. Халмурадов А. Г., Чаговец Р. В., Тоцкий В. И. Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов. — Киев, 1982.
7. Халмурадов А. Г., Шуевич С. И. // Укр. биохим. журн. — 1971. — Т. 43, № 6. — С. 774—789.
8. Dahmen W., Webb B., Preiss J. // Arch. Biochem. — 1967. — Vol. 120. — P. 440—450.
9. Gopinathan K., Sirsi M., Vaidyanathan C. // Biochem. J. — 1964. — Vol. 91. — P. 277—282.
10. Foster J., Moat A. // Microbiol. Rev. — 1980. — Vol. 44, N 1. — P. 83—105.
11. Kinney D., Foster I. W., Moat A. // J. Bact. — 1979. — Vol. 140. — P. 607—611.
12. Sakai T. // Biotechnol. Bioeng. — 1980. — Vol. 2, Suppl. 1. — P. 143—162.
13. Sakai T., Uchida T., Chibata M. // Agric. biol. Chem. — 1973. — Vol. 37. — P. 1041—1048.
14. Saxton R. E., Rocha V., Rosser R. J. et al. // Biochim. biophys. Acta. — 1968. — Vol. 156. — P. 77—84.

Поступила 08.08.91

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.272:577.161.03

В. М. Авакумов, М. А. Ковлер, Р. П. Кругликова-Львова

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ ВИТАМИНОВ И КОФЕРМЕНТОВ (Обзор)

НПО «Витамины», Москва

В клинической практике витамины нашли широкое применение не только для профилактики и купирования алиментарных специфических гипо- и авитаминозных состояний. Изучение спектров фармакодинамической активности этих веществ показало, что в лечебных целях они могут быть использованы как самостоятельные или корректирующие средства терапии различных заболеваний. Однако анализ клинических эффектов применения витаминов с лечебными целями показывает, что они далеко не всегда оказывают достаточное терапевтическое воздействие на организм больных.

В связи с этим проводятся исследования по созданию более эффективных лекарственных препаратов на основе продуктов биотрансформации витаминов, их коферментных форм, а также среди коферментов невитаминной природы. Многочисленные биохимические исследования метаболизма витаминов, молекулярных механизмов их действия показали, что биокаталитическая активность принадлежит не самим витаминам, а продуктам их биотрансформации — коферментам, являющимся составной частью соответствующих ферментов.

К настоящему времени установлено химическое строение коферментов известных витаминов и для многих из них осуществлен химический синтез. Кроме того, были открыты коферменты, не имеющие витаминных предшественников. Изучение фармакологической активности коферментов

показало, что эти вещества наряду с низкой токсичностью обладают весьма широким спектром фармакотерапевтического воздействия, способны регулировать нарушенную при заболеваниях интенсивность биохимических реакций, при этом не являясь чуждыми для организма веществами. По этим признакам коферментные препараты относят к средствам метаболической терапии.

Часто в основе направленного поиска новых эффективных лекарственных препаратов лежит принцип химической модификации молекул физиологически активных соединений. Этот принцип оказался справедливым и применительно к витаминам. Обнаружилось, что многие витамины при химической модификации молекулы утрачивают специфическое витаминное действие, в ряде случаев приобретают антивитаминную активность или, напротив, появляются более выраженные витаминные свойства у такого рода производных. У некоторых аналогов были выявлены своеобразные весьма ценные спектры фармакологической активности, не связанные со специфическими витаминными эффектами.

Лекарственные препараты на основе витаминов и коферментов нашли применение в клинической практике при лечении разнообразных патологических состояний, при которых их «родоначальники» — витамины — часто не оказывают фармакотерапевтического действия (см. таблицу).

В настоящем обзоре приводятся основные сведения о фармакотерапевтической активности новых отечественных препаратов на основе витаминов, их производных и коферментов, разработанных в НПО «Витамины».

Фосфотиамин — фосфорный эфир тиамина, быстрее, чем тиамин, всасывается и превращается в активный кофермент (кокарбоксилазу). Менее токсичен, реже вызывает аллергические реакции. Применяют при гипо- и авитаминозе В₁, в качестве лечебного средства при невритах, полиневритах, астенических состояниях, при хронической недостаточности кровообращения, хронических гастритах, сопровождающихся двигательными и секреторными нарушениями желудка и др. [98].

Бенфотиамин — фосфорилированное производное тиамина с разомкнутым тиазольным циклом и бензоильным радикалом [96]. Обладает пролонгированной В₁-витаминной активностью, имеет ряд преимуществ перед тиамином: менее токсичен, лучше всасывается в кишечнике при приеме внутрь, более длительное время сохраняет в крови, печени и селезенке повышенный уровень общего тиамина и кокарбоксилазы. Более устойчив к тиаминазе кишечника, реже вызывает аллергические реакции. Рекомендуются при гипо- и авитаминозе В₁ и при других показаниях к применению витамина В₁ и кокарбоксилазы.

Кокарбоксилазы гидрохлорид — коферментная форма тиамина. Применяют в качестве средства, улучшающего энергетический обмен, в комплексной терапии заболеваний, сопровождающихся метаболическим ацидозом и дистрофическими изменениями в тканях (сахарный диабет и другие эндокринные заболевания, острая почечно-печеночная недостаточность, токсемии в результате ожогов и отравлений, рассеянный склероз, нарушения мозгового кровообращения).

Перечень препаратов витаминов и лекарственных средств на основе витаминов и коферментов

Препарат витаминов	Препарат на основе витамина	Коферментный препарат
Тиамин хлорид Тиамин бромид Рибофлавин	Фосфотиамин — таблетки 0,01 и 0,03 г Бенфотиамин — таблетки 0,005 и 0,025 г Бензафлавин — таблетки 0,02 и 0,04 г	Кокарбоксилазы гидрохлорид — ампулы 0,05 г Рибофлавинмононуклеотид — ампулы 1 % 1,0 мл Флавионат — ампулы 0,002 г
Кальция пантотенат Кислота никотиновая Пиридоксина гидрохлорид Цианокобаламин	Пантогам — таблетки 0,25 и 0,5 г Пикамилон — таблетки 0,01, 0,02 и 0,05 г Пиридитол — таблетки 0,05, 0,1 и 0,2 г Оксикобаламин — ампулы 0,01 %, 0,5 % и 0,1 % 1,0 мл	Пиридоксальфосфат — таблетки 0,01 и 0,02 г, ампулы 0,005 и 0,01 г Кобамамид (аденозилкобаламин) — таблетки 0,0001, 0,0005 и 0,01 г (с покрытием), 0,0005 и 0,001 г (без покрытия), ампулы 0,0001, 0,0005 и 0,001 г Метилкобаламин* — таблетки 0,001, 0,005 и 0,01 г Кальция фолинат — ампулы 3,24 и 32,4 мг
Кислота фолиевая	Метотрексат (антивитамин) — таблетки 0,0025, 0,005 и 0,01 г, ампулы 0,005 г	Оксидевит — капсулы 0,001, 0,0005 и 0,00025 мг Диоксидевит — флаконы 0,01 % спиртовой раствор
Холекальциферол	Видехол — флаконы 0,125 и 0,25 % масляный раствор по 5, 10 и 30 мл Дигидротахистерол — флаконы 0,1 % масляный раствор по 15 и 50 мл	Кислота липоевая таблетки 0,025 и 0,012 г, ампулы 0,5 % 2,0 мл Липамид — таблетки 0,025 г Карнитина хлорид — 20 % раствор во флаконах по 100 мл Убинон — капсулы 0,015 г Фосфаден — таблетки 0,025 и 0,05 г, ампулы 2 % 1,0 мл Рибоксин** — таблетки 0,2 г
Кальция пантгамат	Дипромоний — таблетки 0,02 г, ампулы 0,05 г	
—	—	—
—	—	—
—	—	—
—	—	—

* Препарат находится на клиническом изучении.

** Препарат разработан во ВНИИТИЛФ.

Бензафлавин — производное рибофлавина, оригинальный отечественный препарат [18, 29]. В процессе биотрансформации бензафлавина увеличивается содержание общих флавинов за счет повышения концентраций рибофлавина, рибофлавинмононуклеотида и рибофлавинадениндинуклеотида, что обуславливает наличие у препарата высокой специфической В₂-витаминной активности, превосходящей таковую рибофлавина и близкой — флавиновых коферментов. В отличие от них бензафлавин является препаратом пролонгированного типа действия, фармакологическая активность которого определяется не только его витаминными свойствами, связанными с превращением в рибофлавин и его коферменты, но и рядом неспецифических свойств за счет действия целой молекулы соединения. Препарат обладает липотропными свойствами, оказывая гиполипидемическое действие как в условиях экспериментальных моделей атеросклероза, цирроза печени и токсического гепатита, так и у больных в клинике, уменьшая содержание общих липидов, липидов низкой плотности, холестерина, β-липопротеинов, триглицеридов. Установлена также антиоксидантная активность, антиатеросклеротическое действие, сочетающееся с антикоагулирующими свойствами и способностью нормализовать нарушенный энергетический обмен в митохондриях сердца. Оказывает гипогликемическое действие на модели аллоксанового диабета и в клинике у больных при умеренной гипергликемии и нарушенной толерантности к глюкозе. Благоприятно влияя на липидный и углеводный метаболизм, стимулирует темпы потери массы тела при ожирении (рис. 1) [40—42].

Коферментные формы рибофлавина: натрие-

вая соль рибофлавина-5-монофосфата — *рибофлавинмононуклеотид* [17] и динатриевая соль флавинадениндинуклеотида — *флавионат* [90] — используются не только для купирования и профилактики экзогенных гипо- и авитаминозных состояний, но и для лечения заболеваний, которые сопровождаются снижением активности флавиновых ферментов. Так, рибофлавинмононуклеотид применяется при различных кожных заболеваниях (зудящие дерматозы, хронические экземы, нейродермиты, фотодерматозы, розацеа), конъюнктивитах, кератитах и помутнении роговицы. Флавионат (основная коферментная форма рибофлавина) рекомендуется при отсутствии или недостаточном эффекте при применении внутрь рибофлавина, нарушении его всасывания, фосфорилирования и метаболизма, вызванного различными заболеваниями, в офтальмологии — в комплексном лечении абитрофических и дистрофических процессов сетчатки глаза, глаукомы; в дерматологии — при псориазе, себорее, розовых и юношеских угрях, стрептодермии (ангулит,

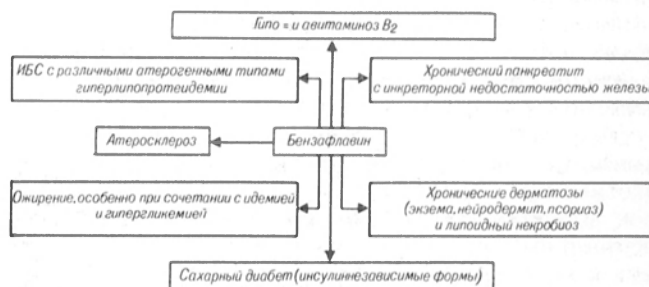


Рис. 1. Спектр применения бензафлавина в медицинской практике.

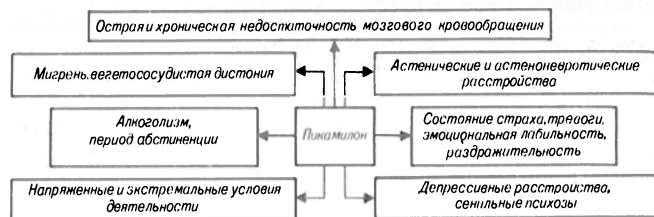


Рис. 2. Спектр применения пикамилон в медицинской практике.

хейлит); в гематологии — при наследственных гематологических анемиях, обусловленных присутствием аномального нестабильного гемоглобина, а также связанных с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы; при кожной печеночной форме порфирии; в гастроэнтерологии в комплексной терапии хронических заболеваний печени, поджелудочной железы и кишечника, а также в комплексном лечении инфекционных заболеваний (длительное применение антибиотиков, сульфаниламидов, противомаларийных препаратов и др.) [4, 38].

Пантогам — кальциевая соль D-гомонантоновой кислоты [53], одного из природных гомологов пантотеновой кислоты, в которой β-аланин замещен на γ-аминомасляную кислоту. Обладает седативными свойствами, снижает спонтанную двигательную и ориентировочную активность животных, фенаминовую и гиперактивность, ослабляет агрессивные реакции, оказывает противосудорожное действие, повышает устойчивость к гипоксии и амнезии, проникает через гематоэнцефалический барьер, улучшает обменные процессы головного мозга [6, 27, 32, 33, 47, 75]. Эффективность пантогама определяется в основном способностью сочетать стимулирующую активность в отношении различных проявлений церебральной недостаточности экзогенно-органического генеза с противосудорожными свойствами. Действие пантогама приводит к уменьшению моторной возбудимости с одновременным упорядочением поведения и активирующим влиянием на работоспособность и умственную активность [47, 77, 92]. К важным свойствам пантогама относится его влияние на регуляцию функций мочевого пузыря; происходит торможение повышенного пузырного рефлекса и тонуса детрузора, что приводит к купированию расстройств мочеиспускания [31]. Пантогам относят к группе ноотропных препаратов с нейрометаболическим типом действия [76]. Применяют у детей при умственной недостаточности, олигофрении, задержке развития речи и заикания, при эпилепсии [8, 71, 72]. У взрослых показан как корректор при нейрорентическом экстрапирамидном синдроме, при последствиях нейроинфекции и черепно-мозговых травм [9, 77] и при расстройстве мочеиспускания у детей и взрослых.

Пикамилон — натриевая соль N-никотиноил-γ-аминомасляной кислоты, оригинальный отечественный препарат [54]. Оказывает выраженное влияние на гемодинамику, увеличивая церебральный кровоток, благоприятно действует на микроциркуляцию в системе пияльных артериол мозга, проникает через гематоэнцефалический барьер, оказывает депримирующее влияние на центральную регуляцию мозгового кровообра-

щения, снижает агрегацию тромбоцитов, оказывает коррегирующее влияние на метаболизм мозга. В опытах с гистотоксической гипоксией и при экспериментальном повреждении и токсическом отеке головного мозга способствовал устранению гипоксических нарушений и поддержанию метаболических систем [15, 27, 35, 67, 73, 78]. По силе и длительности цереброваскулярного эффекта препарат превосходит аминалон, компламин (теоникол), кавинтон, дигидроэрготоксин (редергин), папаверин и ниаламид. Проявляет транквилизирующие свойства без седативного компонента и миорелаксации со стимулирующим действием, способен восстанавливать физическую и психическую работоспособность [78]. Результаты широких клинических испытаний показали высокую эффективность препарата в качестве вазоактивного и ноотропного средства (рис. 2) [25, 78, 94].

Пиридитол — дисульфидное производное пиридоксина [34], аналог зарубежного препарата энцефабола. В фармакологическом спектре препарата присутствуют элементы психотропной активности, свойственные антидепрессантам с седативным действием [46]. Ноотропные эффекты пиридитола, обнаруженные при клиническом применении, базируются на его нейрометаболических эффектах [5]. Положительно влияя на энергетику нервной ткани и белковый метаболизм, пиридитол повышает устойчивость мозга к гипоксии и физическую выносливость [46, 83]. По наблюдениям клиницистов, пиридитол занимает промежуточное место между стимуляторами и легкими антидепрессантами. Активирующий и тонизирующий эффекты препарата проявляются преимущественно в идеаторной и моторной сферах при стертых депрессивных состояниях, легких психоастенических, вегетативных и ипохондрических расстройствах [92]. Эффективен при широком круге психоорганических синдромов различного генеза, а также в качестве корректора побочных эффектов нейрорентической терапии [46, 56, 68, 77]. В педиатрической практике рекомендуется при задержке психического развития, при церебрастеническом синдроме, олигофрении, энцефалопатиях [8, 9]. При алкоголизации пиридитол оказывает заметное психостимулирующее действие, его длительное применение уменьшает выраженность патологического влечения к алкоголю [30, 76].

Пиридоксальфосфат — коферментная форма витамина B₆ [70]. На моделях острого токсического гепатита и цирроза печени установлено благоприятное влияние на функциональное состояние печени и метаболизм липидов (снижение содержания общих липидов, холестерина, увеличение уровня лецитина, восстановление активности трансаминаз, снижение активности аспартат- и аланинаминотрансферазы) [45, 49]. Повышается содержание эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов, сниженное в условиях экспериментальной жировой дистрофии. Влияние на центральную нервную систему животных выражается в подавлении ориентировочных рефлексов. Однако наряду с седативным компонентом установлено слабое стимулирующее действие [48]. В отличие от других препаратов витамина B₆ оказывает быстрое терапевтическое действие и может

применяться не только для лечения заболеваний, при которых назначают пиридоксин, но также при состояниях, связанных с нарушением процессов фосфорилирования пиридоксина и устойчивых к нему. Способность оказывать нормализующее влияние при нарушении метаболизма, а также стимулировать обменные процессы в коже и слизистых оболочках определили его эффективность в дерматологической практике (псориаз, экзема, нейродермиты). Применение при псориазе патогенетически обосновано, поскольку у этих больных установлен дефицит пиридоксина и нарушен обмен триптофана на уровне V_6 -зависимого фермента [22, 57, 88]. Эффективен в комплексной терапии хронических гепатитов, способствуя уменьшению болей, давал общий тонизирующий эффект, уменьшая диспепсические явления, кожный зуд, благоприятно влияя на липидный обмен. Способен предотвращать вестибуло-сенсорные нарушения, а также эффективен при некоторых неврологических заболеваниях [77]. Установлен эффект при наследственных гематологических заболеваниях, таких, как наследственная сидероахрестическая и рефрактерная сидеробластная анемия, кожная печеночная форма порфирии. В этих случаях пиридоксальфосфат является средством патогенетической терапии [36, 45]. Препарат уменьшает проявления токсикоза при беременности и нейротоксические осложнения при интоксикациях от противотуберкулезных препаратов.

Из препаратов группы витамина V_{12} в клинической практике используются три вещества: цианокобаламин и два естественных метаболита его — оксикобаламин и кобамамид, являющийся коферментной формой витамина. Последние по химическому строению отличаются от цианокобаламина характером радикалов у атома кобальта. Группа циана в молекуле оксикобаламина замещена гидроксильным радикалом, в молекуле кобамамида — 5'-дезоксидеозильным остатком [79, 97].

Оксикобаламин по фармакологическим свойствам и действию близок к цианокобаламину; по сравнению с последним быстрее превращается в активную коферментную форму, прочно связываясь с белками плазмы, медленнее выделяется с мочой. В эксперименте предупреждает и оказывает терапевтическое действие в условиях V_{12} -гиповитаминоза и при экспериментальной анемии, вызванной фенилгидразином. Установлена более высокая активность (в сравнении с цианокобаламином) в нормализации липидного обмена при экспериментальной жировой дистрофии печени. В отличие от цианокобаламина обладает выраженной антидотной активностью, проявившейся в профилактическом и лечебном действии при интоксикации мышей цианистым калием [10, 65]. Препарат применяется при хронических анемиях, протекающих с дефицитом витамина V_{12} , неврологических заболеваниях (полиневриты, радикулиты, боковой амиотрофический и рассеянный склерозы), в комплексной терапии больных сахарным диабетом с диабетической периферической нейропатией, при некоторых кожных заболеваниях (псориаз и др.) [65].

Кобамамид, обладая свойствами цианокобаламина, отличается от него выраженной анабо-

лической активностью, которая в экспериментальных условиях проявилась в стимуляции роста и развития недоразвитых животных, повышении спонтанной двигательной активности, нормализации некоторых психофармакологических показателей, а также в благоприятном влиянии на углеводный, белковый и жировой обмен новорожденных животных. Установлена специфическая активность в предупреждении и терапии экспериментального V_{12} -гиповитаминоза и различных видов экспериментальных анемий [3, 10, 39]. Анаболическая активность подтверждена в клинической практике. В отличие от анаболических средств гормональной природы не вызывает побочных реакций. У новорожденных недоразвитых или ослабленных детей с выраженной гипотрофией стимулирует активность пищевых рефлексов, прибавку массы тела, двигательную активность, повышает мышечный тонус. При гипохромной анемии и гемолитической болезни способствует увеличению содержания гемоглобина. Эффективен в комплексной терапии гипоксических состояний новорожденных, направленной на компенсацию метаболического ацидоза, нормализацию окислительно-восстановительных процессов [3]. У взрослых при синдроме нервной анорексии улучшает аппетит, способствует нормализации деятельности кишечника, вызывает прибавку массы тела, благоприятно влияет на другие симптомы дистрофии и астении, повышает работоспособность. Кобамамид нашел применение в гематологии и оказался более эффективным при V_{12} -дефицитных анемиях, особенно при синдроме фуникулярного миелоза, а также как анаболическое средство в комплексной терапии хронического лимфолейкоза (без явных признаков повышенного гемолиза). При заболеваниях печени, поджелудочной железы способствует улучшению общего состояния, аппетита, уменьшению болей, нормализации липидного обмена. При заболеваниях периферической нервной системы (полинейропатия дисметаболического и инфекционно-аллергического характера, травматические повреждения периферических нервов, корешковый синдром, системные дегенерации) кобамамид также оказался эффективным [3]. Назначение кобамамида спортсменам в период тренировок повышает работоспособность, выносливость, переносимость интенсивных нагрузок, ускоряет восстановительные процессы [1].

В НПО «Витамины» синтезирован еще один коферментный препарат витамина V_{12} — метилкобаламин [85], который в настоящее время разрешен Фармакологическим комитетом Минздрава СССР для клинического изучения в качестве нейротрофического средства при невралгиях, радикулите, корешковом синдроме и противовоспалительного средства при лечении артритов различного происхождения. При этом предусмотрено как самостоятельное назначение препарата, так и его применение в комплексных схемах лечения в сочетании с другими лекарственными средствами. Учитывая анаболические свойства метилкобаламина, его способность повышать физическую работоспособность, проводится апробация препарата в качестве анаболического

средства нестероидной природы на спортсменах [58, 74, 91].

В НИО «Витамины» осуществлен синтез *метотрексата* [16], который обладает свойствами антиметаболита фолиевой кислоты, вызывая конкурентное угнетение дигидрофолатредуктазы, участвующей в превращении фолиевой кислоты в тетрагидрофолиевую, необходимую в процессе синтеза нуклеиновых кислот. Применяют метотрексат для лечения различных новообразований. Однако этот препарат при передозировке или индивидуальной повышенной чувствительности к нему вызывает побочные реакции. Для уменьшения или предупреждения побочных явлений при терапии метотрексатом используется его антагонист *кальция фолинат* (лейковорин) [19]. Применение его стало особенно актуальным в последние годы, когда начали успешно использовать высокие и сверхвысокие дозы метотрексата под прикрытием кальция фолината, который «обходит» заблокированную метотрексатом реакцию образования тетрагидрофолата и частично восстанавливает метаболизм фолатов, разрушая связь метотрексата с дигидрофолатредуктазой. Препарат защищает гемопоэз и предотвращает повреждение клеток костного мозга [43, 66].

В клинической практике с фармакотерапевтической целью применяются синтетические препараты группы витамина D: *видехол* и *дигидротахистерол* [20, 62]. Видехол — молекулярное соединение холекальциферола (витамина D₃) с холестерином, является специфическим противорахитическим средством. Как все препараты витамина D, регулирует обмен кальция и фосфора, ускоряет всасывание кальция в кишечнике, улучшает реабсорбцию фосфора в почках, способствует формированию костного скелета и зубов у детей, а также сохранению структуры костей [21, 62]. Отмечено, что при лечении рахита видехолом улучшение наступало быстрее, чем при лечении детей витамином D₃. Видехол рекомендуется также для лечения костных заболеваний, обусловленных нарушением обмена кальция (остеомалация и некоторые формы остеопороза).

Фармакологической особенностью дигидротахистерола является его выраженная способность регулировать фосфорно-кальциевый обмен при недостаточности парацитовидных желез. Дает более выраженный фосфорно-экскреционный эффект на единицу кальциево-абсорбционного эффекта, чем витамин D₃. При лечении гипопаратиреоза дигидротахистерол значительно более активен [28, 63, 97].

Оксидевит (1 α -оксивитамин D₃) является синтетическим аналогом [13] метаболита витамина D₃, образующегося в почках и осуществляющего основные функции витамина D в организме. В печени под воздействием 25-гидроксилазы витамина D превращается в активную коферментную форму 1 α , 25-диоксивитамин D₃ [1 α , 25(OH)₂D₃], минуя почки, что особенно важно при врожденных и приобретенных дефектах образования в почках кофермента витамина D. По биологической активности оксидевит значительно превосходит исходный витамин D₃ и приближается к 1 α , 25(OH)₂D₃ [12, 81, 82]. Применяют при заболеваниях и состояниях, сопровождающихся различными остеопатиями и требующих коррекции фосфорно-кальциевого обмена. Его назна-

чают при рахите и рахитоподобных заболеваниях: витамин D-резистентном рахите, болезни де Тони — Дебре — Фанкони, витамин D-зависимом рахите, почечно-тубулярном ацидозе, а также при несовершенном костеобразовании. Показан при заболеваниях почек, сопровождающихся нарушением метаболизма витамина D и минерального обмена; хронической почечной недостаточности (ХПН) в терминальной стадии, больным, находящимся на лечении гемодиализом с целью предупреждения ренальной остеодистрофии. Назначают также с профилактической целью больным после трансплантации почки, а также при костной патологии при явлениях остеопороза и остеомалации различного генеза. Рекомендуется также для лечения послеоперационной гиперпаратиреозной остеодистрофии и гипокальциемии при гипопаратиреозе и псевдогипопаратиреозе и тиреотоксикозе [80].

Диоксивит — синтетический аналог другого метаболита витамина D — 24,25-диоксивитамина D₃. В эксперименте на животных, лишенных витамина D, диоксивит восстанавливает способность кишечника к активному всасыванию кальция, нормализует его содержание в крови, а также плотность и степень минерализации кости, не усиливая резорбцию костной ткани. При экспериментальной ХПН, когда в почках снижен синтез активных метаболитов витамина D₃, препарат нормализует плотность диафизов кости, содержание в них кальция и фосфора, снижает концентрацию фосфора в крови и степень азотемии [87]. При заболеваниях почек у детей в стадии ХПН препарат оказывает корригирующее действие на нарушенный обмен кальция и иммунный статус, при ренальной остеодистрофии увеличивает плотность и минеральную насыщенность костной ткани. Особенно эффективен при совместном применении с оксидевитом. Установлено также благоприятное действие препарата при экспериментальном гидрокортизоновом остеопорозе и у детей при длительном применении кортикостероидов в схемах терапии гломерулонефрита. В сравнении с другими известными метаболитами витамина D диоксивит менее токсичен и обладает большей широтой терапевтического действия. Рекомендуется при тех же состояниях и заболеваниях, при которых показан оксидевит.

Дипромоний — диизопропиламмония дихлор-ацетат, условно отнесен к препаратам пангамовой кислоты (витамина B₁₅) благодаря некоторому сходству химического строения [60]. Участвует в окислительных процессах, оказывает липотропное действие, благоприятно влияет на антиоксидантную и пигментную функции печени, повышает устойчивость организма к гипоксии и различного рода интоксикациям.

Препарат высокоэффективен при заболеваниях периферических артерий конечностей: облитерирующем эндартериите, атеросклерозе артерий в стадиях компенсации и субкомпенсации, в комплексной терапии других сосудистых заболеваний конечностей с микроциркуляторными нарушениями. Используется также в комплексной терапии атеросклероза венечных сосудов головного мозга с нарушением мозгового кровообращения, наличием неврологической и психопатологической симптоматики. Дипромоний ре-

комендуется при лечении жировой дистрофии печени и хронических гепатитов, а также при применении противотуберкулезных препаратов в случае возникновения побочных реакций [14, 59, 64].

К коферментным препаратам, не имеющим витаминных предшественников, относятся липоевая кислота, липамид, карнитина хлорид, убинон, фосфаден, рибоксин.

Основной коферментной функцией *липоевой кислоты* (6,8-дитиоктановой кислоты) [86] является участие в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты и α -кетокислот и как следствие важная роль в процессе образования энергии в организме [11]. В эксперименте на животных установлены гепатотропное и гипогликемическое действие. Она обладает детоксицирующими свойствами при отравлениях фосфорорганическими соединениями, свинцом, мышьяком, сулемой, цианидами, ртутью, фенотиразином, при интоксикациях спотворными средствами (барбитураты) и алкоголем. Применение липоевой кислоты при заболеваниях печени обусловлено тем, что в крови больных гепатитами и циррозами наблюдается резкое снижение ее уровня, а также тем, что экспериментальные данные указывают на положительное влияние препарата на измененный обмен пировиноградной и молочной кислот, увеличение содержания гликогена в печени и способность липоевой кислоты тормозить развитие жировой инфильтрации [69]. Липоевая кислота также эффективна при коронарном атеросклерозе и диабетическом полиневрите.

По спектру действия и силе фармакотерапевтического влияния *липамид* близок к липоевой кислоте, однако лучше переносится больными и реже вызывает побочные явления.

Карнитина хлорид — хлорид D,L-4-триметиламино-3-оксималяной кислоты [95]. D,L-карнитин — активный метаболит, участвует в процессах трансметилирования, ацетилирования, биосинтезе жирных кислот и т. д. При недостаточной белковой диете нормализует белковый обмен, при жировой дистрофии печени регулирует содержание β -липопротеидов в сыворотке крови, общих липидов, способен восстанавливать щелочной резерв крови, уменьшать образование кетокислот, нормализует повышенный основной обмен при гипертиреозе, являясь частичным антагонистом тироксина. Оказывает анаболическое действие. В условиях экспериментального адреналинового некроза миокарда выявлен его защитный эффект [7, 61]. Карнитина хлорид как анаболическое средство применяют при анорексии, гипотрофии, задержке роста у детей. Взрослым назначают при анорексии на почве нервного и физического истощения, при кожных заболеваниях (псориаз, кожная волчанка, склеродермия) [44, 55, 89].

Убинон (убихинон O_9) [84] — активатор процессов тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях, сильный ингибитор перекисного окисления липидов [29, 93]. Повышает физическую работоспособность животных в условиях принудительного плавания до полного утомления [23]. Рекомендован в комплексной терапии ишемической болезни сердца (ИБС), при инфаркте миокарда, в остром, подостром периодах и в период восстановительной

терапии, а также в качестве лечебно-профилактического средства для повышения физической работоспособности [37].

Фосфаден — аденозин-5'-монофосфат (АМФ) [52] является фрагментом АТФ, осуществляющим многочисленные эндотермические реакции, обеспечивающие мышечную деятельность и биосинтез белка. Препарат опосредованно регулирует образование аминоклевулиновой кислоты и ее превращение в протопорфирин. АМФ отводят определенную роль в нормализации биосинтеза порфиринов. Оказывая сосудорасширяющее действие и обладая антиагрегационными свойствами, фосфаден улучшает макро- и микроциркуляцию. Действие препарата на гемодинамику в сочетании с влиянием на метаболизм определяет его благоприятный эффект на трофику тканей и процессы регенерации [2, 24, 51]. Фосфаден применяют при острой перемежающейся порфирии (основное лекарственное средство), при свинцовом отравлении в случае выраженного полиневротического синдрома; различных сосудистых заболеваниях конечностей: остром тромбозе поверхностных и глубоких вен конечностей, острой артериальной непроходимости, хронических облитерирующих заболеваний артерий конечностей, тромбозах, заболеваниях сердца с нарушением кровообращения, остром радикулите, в терапии астенического синдрома, хронической венозной недостаточности, при вторичных сосудистых синдромах, обусловленных поражением позвоночника. Его применяют также при послеожоговых осложнениях, при гепатоцеребральной дистрофии и других наследственных заболеваниях центральной нервной системы, в комплексной терапии хронического гепатита, цирроза печени.

Рибоксин (гипоксантин-рибозид). Действующим началом препарата является инозин — естественный метаболит животных и человека. Рибоксин повышает энергетический баланс миокарда, улучшает коронарное кровообращение. Благоприятное влияние рибоксина на метаболизм сердечной мышцы определило эффективность его применения в кардиологической практике. Рекомендуются самостоятельно или в составе комплексной терапии при ИБС, кардиомиопатиях различного генеза, интоксикациях сердечными гликозидами, дистрофических изменениях миокарда после тяжелых физических нагрузок или перенесенных инфекционных заболеваний, а также при заболеваниях печени (гепатит, цирроз) и урокопропорфирии.

Приведенные краткие данные о фармакологических свойствах и спектрах клинического применения лекарственных средств метаболической терапии еще раз свидетельствуют о целесообразности и эффективности направленного поиска новых лекарственных препаратов на основе витаминов, их производных и коферментов. В НПО «Витамины» продолжаются широкие комплексные исследования химиков, фармакологов и биохимиков с целью создания эффективных препаратов, поливитаминных комплексов, новых лекарственных форм, а также совместной с клиницистами ведется научно-исследовательская работа по расширению спектра медицинского применения уже выпускаемых отечественной промышленностью лекарственных средств.

1. Авакумов В. М., Клементьева И. В., Смирнова Т. П. и др. // Проблемы восстановления работоспособности спортсменов после тренировочных нагрузок.— М., 1977.— С. 18—21.
2. Авакумов В. М., Кузнецова Л. В., Кругликова-Львова Р. П. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1980.— № 2.— С. 117—120.
3. Авакумов В. М., Клементьева И. В., Смирнова Т. П. и др. // Там же.— № 7.— С. 115—117.
4. Авакумов В. М., Клементьева И. В., Кругликова-Львова Р. П. и др. // Там же.— № 8.— С. 113—116.
5. Авакумов В. М., Ковлер М. А. // Фармакол. и токсикол.— 1980.— № 4.— С. 417—421.
6. Авакумов В. М., Ковлер М. А. // Там же.— 1981.— № 1.— С. 30—34.
7. Авакумов В. М., Смирнова Т. П., Клементьева И. В. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1988.— № 3.— С. 379—382.
8. Авруцкая И. Г. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1982.— № 3.— С. 14—17.
9. Авруцкий Г. Я., Ласкова Н. Б. // Журн. невропатол. и психиатр.— 1979.— № 8.— С. 1077—1083.
10. Алексеева Ж. П., Шкловская С. С., Авакумов В. М. // Новое в биохимии и физиологии витаминов и ферментов.— М., 1972.— С. 77—87.
11. Анисимов В. Е. Биохимия и клиническое применение липоевой кислоты (витамина N).— Казань, 1969.
12. Бауман В. К., Бабарыкин Д. А. // Биохимия животных и человека.— 1979.— № 3.— С. 76—87.
13. Бауман В. К., Богословский П. А., Кисельникова Т. А. и др. // Прикладная биохим.— 1978.— № 2.— С. 243—252.
14. Безродных А. А., Копылова Л. А., Куликов Т. П. // Сов. мед.— 1969.— № 7.— С. 21—23.
15. Бендиков Э. А., Шмуйлович Л. М., Копелевич В. М. // Бюл. экспер. биол.— 1972.— № 1.— С. 65—69.
16. Березовский В. М., Глебова Г. Д., Биринберг Е. М. А. с. 245116 СССР // Открытия.— 1969.— № 19.
17. Березовский В. М. Химия витаминов.— М., 1973.
18. Березовский В. М., Фетисова Т. П. А. с. 413148 СССР // Открытия.— 1974.— № 4.
19. Биринберг Е. М., Середенко В. И., Березовский В. М. // Хим.-фарм. журн.— 1983.— № 8.— С. 971—975.
20. Богословский П. А., Титова И. А., Беккер А. Р. // Там же.— 1977.— № 9.— С. 30—33.
21. Бойченко Т. Е., Лепорская Л. Б., Спиридонова Т. П. и др. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1982.— № 9.— С. 19—21.
22. Борисенко К. Е., Кругликова Р. П., Круглов В. В. и др. // Вести. дерматол.— 1977.— № 9.— С. 68—71.
23. Борисова И. Г., Сейфулла Р. Д. // Фармакол. и токсикол.— 1989.— № 4.— С. 89—92.
24. Буриан Э. Ф., Алавердян А. М., Федоров Е. А. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1980.— № 12.— С. 2—5.
25. Вахов В. П., Исаев А. Б., Котеев И. О. и др. // Там же.— 1990.— № 7.— С. 6—11.
26. Виноградова Л. Ф., Харлицкая Е. П., Авакумов В. М. // Фармакол. и токсикол.— 1986.— № 3.— С. 52—54.
27. Воронина Т. А., Гарибова Т. Л., Хромова И. В. и др. // Там же.— 1987.— № 3.— С. 21—24.
28. Гинчерман Е. З., Стоилов Л. Д., Авакумов В. М. и др. // Сов. мед.— 1977.— № 6.— С. 58—60.
29. Глебова Г. Д., Литвак Ж. И., Вересотская Л. П. и др. // Химия, биохимия и фармакология витамина B₂ и его производных.— М., 1988.— С. 4—10.
30. Гогопольский М. Х., Адильханова К. А. и др. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1984.— № 3.— С. 15—17.
31. Державин В. М. и др. А. с. 850083 СССР // Открытия.— 1981.— № 28.
32. Дорофеев Б. Ф. // Химия, биохимические функции и применение пантотеновой кислоты.— Минск, 1977.— С. 40—41.
33. Дорофеев Б. Ф. // Нейрогормоны — биогенные амины.— Минск, 1978.— С. 67—71.
34. Жукова З. П., Балякина М. В., Гунар В. И. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1978.— № 11.— С. 77—80.
35. Закусов В. В. и др. А. с. 1393428 СССР // Открытия.— 1988.— № 17.
36. Идельсон Л. И. // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева.— 1973.— № 2.— С. 192—199.
37. Калмыкова В. И., Захарова Е. В., Беззубов А. А. // Всесоюзная конф. «Биоантиоксидант», 2-я: Тезисы.— Черно-головка, 1986.— Т. 2.— С. 52—53.
38. Кацнельсон Л. А., Трутнева К. В., Осадчих В. Т. и др. // Вести. офтальмол.— 1978.— № 6.— С. 63—66.
39. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Алексеева Ж. П. и др. // Новое в биохимии и физиологии витаминов и ферментов.— М., 1972.— С. 18—30.
40. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Лобанова М. Л. и др. // Московское о-во испытателей природы. Доклады.— М., 1978.— С. 49—51.
41. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Алексеева Ж. П. и др. // Там же.— С. 54—56.
42. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Авакумов В. М. и др. // Химия, биохимия и фармакология витамина B₂ и его производных.— М., 1988.— С. 112—137.
43. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Спиричева Т. В. и др. // Там же.— С. 97—99.
44. Клементьева И. В., Смирнова Т. П., Авакумов В. М. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1988.— № 10.— С. 1—7.
45. Ковлер М. А., Алексеева Ж. П., Смирнова Т. П. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1979.— № 10.— С. 112—116.
46. Ковлер М. А., Авакумов В. М., Кругликова-Львова Р. П. и др. // Там же.— 1980.— № 7.— С. 117—121.
47. Ковлер М. А., Авакумов В. М., Кругликова-Львова Р. П. // Там же.— № 9.— С. 118—122.
48. Ковлер М. А., Авакумов В. М. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1984.— № 5.— С. 2—12.
49. Ковлер М. А., Павленко А. А., Курганов Б. И. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1986.— № 5.— С. 522—524.
50. Ковлер М. А. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1988.— № 2.— С. 2—7.
51. Коган Л. М., Обольникова Е. А., Самохвалов Г. И. // Хим.-фарм. журн.— 1983.— № 4.— С. 410—420.
52. Колодкина И. И., Калинина Н. М., Пичужкина Е. И. и др. А. с. 504784 СССР // Открытия.— 1976.— № 8.
53. Копелевич В. М., Евдокимова Г. С., Мариева Т. Д. // Хим.-фарм. журн.— 1971.— № 9.— С. 21—22.
54. Копелевич В. М. и др. А. с. 325232 СССР // Открытия.— 1972.— № 3.
55. Коркина М. В., Бодырева В. В., Кругликова-Львова Р. П. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1983.— № 3.— С. 12—13.
56. Коркина М. В., Бодырева В. В., Кругликова-Львова Р. П. // Там же.— 1986.— № 1.— С. 10—11.
57. Короткий Н. Г., Удзуху В. Ю. // Там же.— 1983.— № 1.— С. 19—22.
58. Корсова Т. Л., Морозова Н. А., Познанская А. А. и др. // Вопр. мед. химии.— 1989.— № 2.— С. 97—102.
59. Кошкин В. М. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1983.— № 4.— С. 14—16.
60. Кругликова-Львова Р. П., Рекунова В. И., Ушакова М. Т. и др. // Мед. пром-сть СССР.— 1965.— № 2.— С. 19—22.
61. Кругликова-Львова Р. П., Смирнова Т. П., Алексеева Ж. П. // Новое в биохимии и физиологии витаминов и ферментов.— М., 1972.— С. 31—41.
62. Кругликова-Львова Р. П., Богословский П. А., Козлова Е. Д. и др. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1982.— № 5.— С. 2—8.
63. Кругликова-Львова Р. П., Авакумов В. М., Карева Г. Ф. и др. // Там же.— № 6.— С. 2—7.
64. Кругликова-Львова Р. П., Авакумов В. М. // Там же.— С. 9—16.
65. Кругликова-Львова Р. П., Авакумов В. М., Смирнова Т. П. и др. // Там же.— 1983.— № 4.— С. 2—7.
66. Кругликова-Львова Р. П., Клементьева И. В., Смирнова Т. П. и др. // Фармакокинетика противоопухолевых препаратов.— Киев, 1986.— С. 3—7.
67. Кругликова-Львова Р. П., Ковлер М. А., Мирзоян Р. С. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1989.— № 2.— С. 252—255.
68. Лебедева Н. В., Волков В. П. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ.— 1982.— № 3.— С. 18—22.
69. Липоевая кислота.— М., 1980.
70. Львова С. Д., Яковлева Н. Л., Черкасова Н. С. и др. // Хим.-фарм. журн.— 1975.— № 11.— С. 23—25.
71. Маслова О. И., Днепровая Л. И. // Химия, биохимические функции и применение пантотеновой кислоты.— Минск, 1977.— С. 86.
72. Мельничук Н. В., Головакина А. П., Сосновская Л. С. // Там же.— С. 87.
73. Мирзоян Р. С., Ганьшина Т. С. // Фармакол. и токсикол.— 1989.— № 1.— С. 23—26.
74. Михайлов В. В., Михайлов В. Вас., Авакумов В. М. // Там же.— 1983.— № 6.— С. 9—12.

75. Мойсейенок А. Г., Копелевич В. М., Изразлит М. А. и др. // Там же. — 1973. — № 4. — С. 489—494.
76. Нисс А. И., Авруцкая И. Г., Серебрякова Т. В. Применение пейрометаболических стимуляторов (пирацетама, пантогама, пиридитола) в психиатрической практике: Метод. рекомендации. — М., 1983.
77. Новые отечественные препараты, применяемые в психиатрии и наркологии, и теоретические основы их разработки. — М., 1981.
78. Пикамилон — новый цереброваскулярный и ноотропный препарат (результаты экспериментального и клинического изучения) — Ч. 1—2. — М., 1989.
79. Рудакова И. П., Поспелова Т. А., Юркевич А. М. А. с. 438272 СССР // Открытия. — 1974. — № 28.
80. Садовникова С. Ф., Кругликова-Львова Р. П. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ. — 1988. — № 8. — С. 9—19.
81. Спиричев В. Б., Барашнев Ю. И. Врожденные нарушения обмена витаминов. — М., 1977.
82. Спиричев В. Б., Блажевич Н. В., Богословский Н. А. и др. // Вопр. мед. химии. — 1978. — № 5. — С. 679—690.
83. Смирнова Т. Н., Клементьева И. В., Алексеева Ж. П. и др. // Московское о-во испытателей природы: Доклады. — 1976. — М., 1978. — С. 52—53.
84. Тарасова Н. В., Обольникова Е. А., Голодобов А. Д. и др. Пат. 39651303 США, НКИ 260—396Р, МКИ³ СО7с 49/73.
85. Тачкова Е. М., Рудакова И. П., Мясничева Н. В. и др. // Биоорг. химия. — 1976. — № 4. — С. 535—541.
86. Турсин В. М., Чеботарева Л. Г., Филонова Л. М. и др. // Журн. орган. химии. — 1964. — Т. 34. — С. 3662—3665.
87. Хайдаков М. С., Алексеева И. А., Белаковский М. С. и др. // Фармакол. и токсикол. — 1985. — № 4. — С. 106—109.
88. Хамаганова И. В., Бутов Ю. С., Кряжева С. С. // Вопр. охр. мат. — 1982. — № 11. — С. 44—46.
89. Хамаганова И. В., Кругликова-Львова Р. П. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ. — 1987. — № 1. — С. 18—20.
90. Хомутова Е. Д., Шапиро Т. А., Березовский В. М. // Хим.-фарм. журн. — 1967. — № 1. — С. 11—14.
91. Цукерман Е. С., Померанцева Т. Я., Познанская А. А. и др. // Вопр. мед. химии. — 1989. — № 1. — С. 105—111.
92. Цукельковская М. Я. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ. — 1982. — № 3. — С. 9—13.
93. Шадурицкий К. С., Самохвалов Г. И., Обольникова Е. А. // Фармакол. и токсикол. — 1982. — № 5. — С. 97—101.
94. Щинова Л. А. // Нов. лекарств. препараты: Экспресс-информ. — 1989. — № 9. — С. 19—20.
95. Юркевич А. М., Шевцова О. П., Чердинская И. Е. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1968. — № 1. — С. 29—31.
96. Юркевич А. М., Яковлев В. А. // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева. — 1973. — № 2. — С. 146—159.
97. Юркевич А. М., Рудакова И. П., Поспелова Т. А. и др. А. с. 556573 СССР.
98. Яковлев В. А., Кулес В. Г., Авакумов В. М. // Клиническая фармакология. — М., 1978. — С. 353—369.

Поступила 08.08.91

© О. Н. ВОСКРЕСЕНСКИЙ, В. Н. БОБЫРЕВ, 1992

УДК 616-036.12-053.9-092:616-008.939.15-39-085.874.2

О. Н. Воскресенский, В. Н. Бобырев

БИОАНТИОКСИДАНТЫ — ОБЛИГАТНЫЕ ФАКТОРЫ ПИТАНИЯ

Одесский НИИ стоматологии, Полтавский медицинский стоматологический институт

Усиление неферментативного свободнорадикального окисления (СРО) липидов и биополимеров составляет фактор патогенеза многих хронических неинфекционных заболеваний, объединяемых в группу свободнорадикальной патологии. В последние годы оживленно дискутируется вопрос о правомерности термина «свободнорадикальная патология» и о возможности участия общих механизмов (свободнорадикальных) в генезе разных по локализации и характеру прояв-

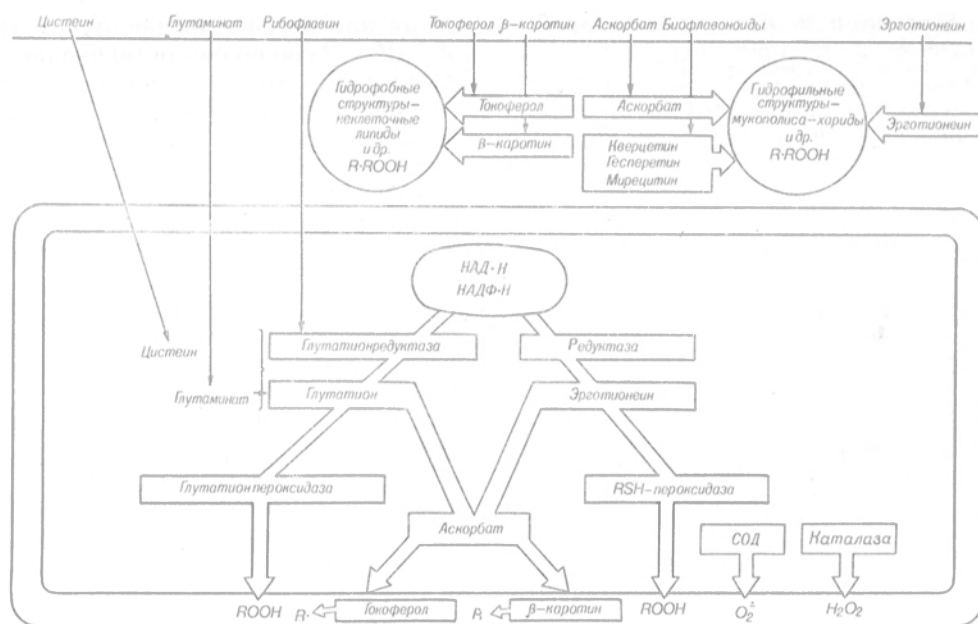
лений патологических процессов [2, 3, 9, 47, 52, 68, 72]. Разнородность проявлений свободнорадикальной патологии требует и четких критериев ее определения. С нашей точки зрения, к ним относятся: выявление участия СРО липидов и биополимеров в начальной стадии развития заболевания; возможность моделирования этой патологии индукцией СРО в соответствующем локусе; выявление протекторных свойств препаратов антиоксидантного действия при этой патологии.

Выделяют следующие основные причины, вызывающие избыточное неферментативное СРО в тканях: снижение поступления биоантиоксидантов (БАО) — токоферола, аскорбата, биофлавоноидов, эрготионеина и др. Этот фактор ежегодно проявляется в умеренных и полярных широтах в зимне-весенний период, когда продукты питания человека резко обедняются БАО [41, 57]; стресс различного происхождения, в частности эмоциональный, когда одновременно под влиянием катехоламинов и кортикостероидов в кровь и ткани поступает избыток жирных кислот и кислорода [17, 29]; поступление в организм прооксидантов, к числу которых относятся многие пестициды, лекарства-окислители, фотохимические продукты смога и т. д., иными словами, большинство компонентов загрязнения биосферы [1, 75, 77]; избыточное потребление жиров и углеводов при недостаточном расходовании их [10, 40]; гипоксия с ее низким уровнем биологического ферментативного окисления, т. е. понижением восстановления пиридиннуклеотидов [26, 70]; физические факторы — радиоактивный фон, ультрафиолетовое облучение, электромагнитное поле [14, 65]; возрастное падение активности антиоксидантных ферментов [15, 66]; врожденные энзимопатии антиоксидантных ферментов.

Срыв антиоксидантной защиты характеризуется развитием свободнорадикальных повреждений разных компонентов клетки и тканей, составляющих синдром пероксидации и включающий следующие изменения: повреждение мембран; инактивацию или трансформацию ферментов; подавление деления клеток; накопление в клетке инертных продуктов полимеризации, например липофусцина [9]. Периодически повторяющийся синдром пероксидации составляет фактор патогенеза ряда заболеваний, что послужило поводом выделения их в группу свободнорадикальных патологий [2, 3, 55, 72].

Физиологическая антиоксидантная система

Исследования последних лет позволили выявить и обобщить следующие особенности БАО: препараты БАО в терапевтических дозах не проявляют физиологических или биохимических эффектов в здоровом организме; защитные эффекты БАО неспецифичны и проявляются при самых разных воздействиях; препараты БАО проявляют защитные эффекты при воздействиях противоположной направленности (гипотермия — гипертермия, гипоксия — гипероксия, гиподинамия — физическое перенапряжение и т. п.); препараты БАО при использовании их в виде комбинаций водо- и жирорастворимых ингибиторов СРО потенцируют защитные эффекты. Все эти отличия связаны с биологической ролью БАО (торможение абиоти-



Облигатные БАО и ФАС.

Сверху вниз последовательно представлены: БАО пищи, функции их в клеточном веществе и участие в функционировании ФАС клетки.

ческого неферментативного аутоокисления, индуцируемого неспецифическими агентами) и функционированием их в составе физиологической антиоксидантной системы (ФАС).

Распространенность свободнорадикальной патологии, сопряженной с недостаточностью ФАС, определяемой условиями жизни современного человека в урбанизированной среде, указывает на актуальность проблемы незаменимых БАО, обеспечивающих оптимальный антиоксидантный статус [39]. Облигатные алиментарные БАО можно классифицировать следующим образом: биоантиоксиданты прямого действия: витамины — токоферол, аскорбат, биофлавоноиды, ретинол, серосодержащие аминокислоты — цистеин, серосодержащий бетаин — эрготионеин; биоантиоксиданты косвенного действия: витамины — рибофлавин, никотиновая кислота, аминокислоты — метионин, микроэлементы — селен, медь, цинк, марганец.

Из класса незаменимых пищевых веществ вполне оправдано выделение самостоятельной группы облигатных факторов питания — БАО. Последний термин, с нашей точки зрения, иногда употребляется слишком расширенно, когда им охватывают, например, синтетические антиоксиданты, не являющиеся физиологическими компонентами.

Торможение самопроизвольного аутоокисления в клетке и неклеточном веществе осуществляется ФАС [9]. Эта система включает БАО, ингибирующие аутоокисление на инициальной стадии свободных радикалов липидов (токоферол, полифенолы) или активных форм кислорода (супероксиддисмутаза) в мембранах. Антирадикальное ингибирование осуществляется цепью: глутатион (эрготионеин) → аскорбат → токоферол (полифенолы), транспортирующей электроны (в составе атомов водорода) от пиридиннуклеотидов (НАДН и НАДФН) к свободным радикалам (см. рисунок). Это обеспечивает стационарный крайне низкий уровень свободнорадикальных состояний липидов и биополимеров в клетке. Наряду с цепью

БАО, представленной преимущественно витаминами антиоксидантного действия, в системе ингибирования СРО в живой клетке участвуют ферменты окислительно-восстановительного превращения глутатиона и аскорбата — глутатионзависимые редуктаза и дегидрогеназа, а также расщепляющие перекиси.

Функционирование двух механизмов защиты — цепи БАО и группы антиперекисных ферментов — зависит от общего фонда атомов водорода (НАДФ и НАДН). Этот фонд пополняется в процессах биологического ферментативного окисления — дегидрирования энергетических субстратов. Таким образом, достаточный уровень ферментативного катаболизма — оптимально деятельное состояние организма — составляет необходимое условие эффективности ФАС [9].

Конечным звеном антирадикальной цепи является основной липидный БАО клеточных мембран — токоферол. Хроманольное кольцо α-токоферола располагается на границе полярной и углеводородной областей липидного бислоя, а гидроксильная группа хроманольного кольца образует водородную связь с атомом кислорода сложноефирной группы фосфатидилхолина [49]. В этих условиях α-токоферол является эффективной ловушкой свободных радикалов. Окисленные формы токоферола восстанавливаются аскорбатом и некоторыми другими водорастворимыми БАО [82]. Наши исследования показали, что дефицит токоферола способен вызывать вторичную недостаточность аскорбата, что подтверждает тесные взаимоотношения этих БАО [9]. Тиоловые БАО — цистеин или эрготионеин — в ФАС преимущественно выполняют роль восстановителей окисленной формы аскорбата за счет передачи восстановительных эквивалентов от фонда НАДН+НАДФН, хотя, по-видимому, в неклеточных образованиях, и в частности в сперме, они могут выполнять функции БАО прямого действия [9].

К БАО косвенного действия относится рибо-

флавиин, являющийся компонентом глутатионредуктазы — фермента, обеспечивающего восстановление глутатиона. Подтверждает участие рибофлавина в функционировании ФАС и развитие проявлений при В₂-гиповитаминозе (катаракта), обусловленных индукцией СРО вследствие недостаточности ФАС [9]. При врожденной недостаточности глутатионредуктазы наблюдается тотальная деструкция эритроцитарных мембран (гемолитическая анемия), обусловленная усилением СРО. Наряду с многими алиментарными БАО к незаменимым компонентам пищи относятся и многие микроэлементы, являющиеся активными центрами многих антиоксидантных ферментов. Недостаточность поступления микроэлементов приводит к падению активности энзимного звена ФАС и индукции аутоокисления [2, 9].

Таким образом, основная роль перечисленных БАО обусловлена вхождением и функционированием их в составе ФАС, что определяет перспективы их использования в качестве средств заместительной терапии при многих заболеваниях, сопровождающихся недостаточностью ФАС. Широкий спектр их действия, отсутствие фармакологического эффекта в физиологических условиях, заместительный характер их введения и геронотропные свойства определяют ведущую роль БАО для применения у здоровых лиц при экстремальных воздействиях, при состоянии предболезни, в целом в качестве средств фармакопрофилактики старения и его патологии.

Свободнорадикальная теория старения (Д. Харман, Н. М. Эмануэль) явилась базисом для исследования роли процессов аутоокисления в патогенезе заболеваний, сопряженных со старением. С этих позиций в первую очередь вызывают интерес наиболее распространенные — атеросклероз и его тромбонекротические исходы, диабетические ангиопатии и пародонтит.

БАО в комплексной терапии атеросклероза и ишемической болезни сердца

Старение современного человека способствует развитию атеросклероза. Стресс, рафинированное калорийное питание, гиподинамия — современные факторы риска, общим для которых является усиление СРО липидов и белков в организме.

Исследования отечественных и зарубежных авторов позволили установить ряд фактов, доказывающих участие процессов СРО в развитии гуморальных и локальных механизмов атерогенеза. В эпидемиологических наблюдениях показано учащение атеросклеротических кризов в месяцы (февраль — март) наименьшей обеспеченности витаминами антиоксидантного действия [67], а также увеличение заболеваемости атеросклерозом в регионах с низким потреблением растительных продуктов — источников витаминов антиоксидантного действия [8]. Тромбонекротические исходы атеросклероза — инфаркты и инсульты — наблюдаются также преимущественно в зимне-весенний период [64, 67].

Ряд факторов риска атеросклероза способен индуцировать СРО. Избыточное поступление калорийных продуктов и несбалансированность питания [37, 41, 42] способствуют усилению СРО [10]. Гиподинамия, являясь признанным факто-

ром этиологии атерогенеза, может усиливать СРО [70]. При стрессе вследствие усиленного притока кислорода и выхода жирных кислот, субстрата СРО, резко усиливается аутоокисление в сосудистой стенке и мозге, сопровождающееся ультраструктурными изменениями [17, 29]. С возрастом снижается обеспеченность водо- и жирорастворимыми БАО и антиоксидантными ферментами [12, 26, 27, 54].

Биохимические данные подтверждают накопление продуктов СРО в крови, артериальной стенке и тканях у экспериментальных животных с моделями атеросклероза и при наблюдениях за людьми [12]. Установлено усиление СРО у больных атеросклерозом, коррелирующее с тяжестью атеросклеротического процесса [76]. Наибольшее содержание продуктов СРО определялось в атерогенных липопротеинах низкой плотности (ЛПНП), а наименьшее — в липопротеинах высокой плотности [20]. Важная роль в патогенезе атеросклероза отводится окислительной модификации ЛПНП [79]. Ослабление липид-белковых взаимодействий при атеросклерозе легко индуцирует СРО [16]. Деструкция эластических волокон, наблюдаемая при атеросклеротическом поражении сосудистой стенки, сопровождающемся конформационными изменениями и нарушением гидрофобной структуры, может быть связана с повреждающим действием СРО [73]. В этих условиях наблюдается дегградация коллагена, сопровождающаяся появлением дополнительных поперечных сшивок [51]. Подтверждает участие аутоокисления в атерогенезе и моделирование атеросклеротических изменений в сосудах введением окисленных липидов и продуктов СРО [71, 84]. Методом ЭПР показано, что эндотелиальные клетки при повреждении становятся мощными источниками О₂ и ·ОН, участвующих в повреждающем действии [86].

Одним из основных фактов, подтверждающих участие СРО в атерогенезе, является воспроизведение атеросклеротических изменений в сосудистой стенке при длительном содержании животных на рационе, лишенном БАО [11]. Избыточное СРО, возникающее при этом, вызывает изменения артериальной стенки, аналогичные наблюдаемым при атеросклерозе.

С ПОЛ в существенной мере может быть связано и развитие гипертензий. Отмечены увеличение уровня перекисей и снижение активности антиоксидантных ферментов у спонтанно гипертензивных крыс [62], более низкая их обеспеченность аскорбиновой кислотой [83]. При этом показана способность БАО нормализовать артериальное давление у таких животных [85].

Результаты экспериментальных и клинических исследований явились основанием для изучения защитных эффектов БАО в качестве средств лечения и профилактики атеросклероза и ишемической болезни сердца. Убедительно показано, что введение препаратов БАО — токоферола, ретинола, компламина — существенно улучшает клинические и биохимические показатели у больных атеросклерозом, что обусловлено их антиоксидантными свойствами [22]. Аналогичные результаты были получены при исследовании защитных эффектов токоферола у больных инфарктом [7]. Изучая протекторные эффекты теоникола у боль-

ных коронарным атеросклерозом и ИБС, удалось отметить улучшение клинического течения болезни, подтвержденное данными инструментального и лабораторного обследования [30]. Применение никотиновой кислоты у больных атеросклерозом [81] снижает содержание липидов и степень агрегации тромбоцитов, стимулирует выработку простагличлина.

Введение больным ИБС α -токоферола вызывает повышение активности энзимного звена ФАС и нормализацию клинического состояния [46]. Аналогичные эффекты отмечены при введении токоферола больным острым инфарктом миокарда [7]. Исследование состояния системы глутатион — аскорбиновая кислота у больных с начальными (доклиническими) проявлениями атеросклероза и у больных с коронарным атеросклерозом III степени показало повышение напряженности обмена аскорбата, сопровождающегося усилением его катаболизма, приводящим к развитию его дефицита [34, 78].

Указывают на перспективность применения компламина и глутаминовой кислоты при начальных формах церебрального атеросклероза, подчеркивая нормализующее действие такой терапии на показатели липидного обмена и систему гемодинамики [18]. Введение больным церебральным атеросклерозом БАО показало, что после лечения у больных достоверно снизились показатели липидного обмена и интенсивность проявлений синдрома перекисидации [38].

Основные положения дифференцированной и метаболической терапии гипертонической болезни были подтверждены на примере курсового применения теоникола, обладающего гиполлипидемическим и антиоксидантным свойством [30]. Использование препарата в существенной мере нормализовало показатели обмена липидов и СРО у больных гипертонической болезнью. Исследования уровня СРО и антиоксидантной обеспеченности у больных с сердечно-сосудистой (гипертоническая болезнь) и легочной (хронический обструктивный бронхит) патологией выявили интенсификацию СРО как при развитии отдельно хронического обструктивного бронхита и гипертонической болезни, так и при сочетанной патологии [6]. Указывая на большую интенсивность СРО и снижение антиоксидантной обеспеченности на позднем этапе развития сочетанной патологии, рекомендуют назначение препаратов, витаминов антиоксидантного действия для лечения данных заболеваний. На раннем этапе развития сочетанной патологии достаточно включения в комплексную терапию отдельных препаратов БАО (токоферола ацетат), тогда как на позднем этапе развития необходимо использование комплексов БАО, способных восполнять недостаточность ФАС и ингибировать СРО в гидрофильных и гидрофобных фазах клетки.

БАО в комплексной терапии сахарного диабета

Перекисная теория патогенеза атеросклероза позволяет предположить единство свободнорадикальных механизмов в развитии диабетических ангиопатий. Усиление процессов СРО установлено у животных с экспериментальными моделями [13, 21, 23, 60] и у больных сахарным диабетом,

причем его интенсивность коррелировала с тяжестью сосудистых осложнений [19, 48, 63].

При воспроизведении аллоксанового диабета многие авторы [33, 53, 61] связывают токсический эффект аллоксана с вызываемой им продукцией высокоактивных гидроперекисных радикалов. В клетке аллоксан способен к окислительно-восстановительным превращениям, итогом которых является генерация перекиси водорода и свободных радикалов. Исследования последних лет указывают на возможность присутствия эндогенного аллоксана.

Дефицит инсулина, имеющий место у больных сахарным диабетом, приводит к снижению активности пентозного цикла, являющегося основным источником НАДН, и тем самым к снижению активности системы антиоксидантной защиты [21, 44]. Подтверждает недостаточность ФАС у больных сахарным диабетом снижение обеспеченности организма гидрофильными и гидрофобными БАО [4, 5]. Снижение активности антирадикального звена ФАС при экспериментальном диабете отмечено и в клинике [33]. Показано снижение редуцирующей способности, а также активности энзимного компонента ФАС [59]. Итогом недостаточности ФАС является усиление СРО, токсические продукты которого (свободные радикалы, гидроперекиси, альдегиды, кетоны и др.) способны повреждать β -клетки островкового аппарата поджелудочной железы, снижая продукцию инсулина.

В эксперименте выявлены защитные свойства БАО при аллоксановом диабете [50]. Оценка протекторных свойств витаминов — антиоксидантов токоферола и аскорбата — показала их способность предупреждать развитие гуморальных и локальных изменений, свойственных аллоксановому диабету [56, 74]. Исследование БАО в клинике подтвердило их защитные эффекты [31]. Изучены протекторные свойства комплекса витаминов-антиоксидантов, включающего токоферол, аскорбиновую кислоту, биофлавоноиды [5]. Анализ клинико-биохимических показателей у больных сахарным диабетом, получавших традиционную терапию, и группы больных, дополнительно получавших витамины антиоксидантного действия, выявило более быструю нормализацию клинической картины у больных, получавших БАО. Витамины-антиоксиданты способствовали снижению уровня гликемии в более короткие сроки и при меньших дозах сахаропонижающих средств. Аналогичные результаты были получены в другой работе [35]. Применение токоферола способствует снижению выработки тромбосана A_2 при сахарном диабете и предотвращению вследствие этого развития ангиопатий [58].

Биоантиоксиданты в комплексной терапии пародонтита

Пародонтит является одной из наиболее частых патологий, сопровождающих старение, и наблюдается у 75—90 % населения [80]; его развитие связывают с атеросклеротическими изменениями сосудов, питающих пародонт. Выявлена взаимосвязь между изменениями в сосудах и повреждением околозубных тканей в экспериментальных исследованиях и клинических наблюдениях [24]. В свете перекисной концепции патогенеза атеро-

склероза в ряде публикаций рассматривается патогенетическая роль СРО липидов в происхождении пародонтита. Экспериментальные и клинические наблюдения указывают на накопление продуктов перекисного окисления липидов в тканях десны при пародонтите [32, 43, 69]. Следует отметить, что различные экспериментальные воздействия, индуцирующие СРО (содержание на безантиоксидантном рационе, введение прооксидантов, эмоционально-болевого стресс), вызывают развитие морфологических признаков, характерных для пародонтита [32, 43]. Показано, что степень деструктивных изменений в ткани пародонта находится в тесной корреляционной зависимости с показателями СРО [43].

Перекисная теория патогенеза атеросклероза, роль атеросклеротических изменений сосудов, питающих пародонт, в развитии пародонтита явились основанием для изучения препаратов БАО в терапии пародонтита [9, 25].

При недостаточности в организме витаминов антиоксидантного действия — аскорбиновой кислоты и токоферола — в тканях пародонта накопление перекисей усугубляет развитие воспалительного и дистрофического процессов, что нередко приводит к развитию пародонтита и явилось основанием для применения токоферола и аскорбиновой кислоты при заболеваниях пародонта [26]. Введение больным пародонтитом БАО позволило уменьшить клинические проявления заболевания; нормализовались показатели иммунной системы, повысилось содержание токоферола. При обследовании больных в отдаленные сроки (более 1 года) выявлены рецидивы пародонтита всего лишь у нескольких больных [36]. Рекомендуется включение БАО в комплексную терапию пародонтита, особенно в ранние сроки заболевания [24, 28, 32, 45].

В кратком обзоре очерчены лишь главные стороны проблемы роли антиоксидантной недостаточности в генезе хронической возрастной патологии. Помимо рассмотренных заболеваний, убедительны доказательства свободнорадикальных механизмов развития старческой катаракты, ретинопатий, остеопороза и др. [9]. Эти данные позволяют считать, что все хронические неинфекционные болезни старения сопряжены с периодической недостаточностью ФАС в том или ином локусе и с постоянным накоплением следов всплеск СРО, составляющим молекулярный механизм морфогенеза патологии.

БАО относительно заменимы — их функция дублируется супероксиддисмутазой и пероксидазами. Однако дефицит их в питании не остается бесследным: повторяющаяся индукция антиоксидантных ферментов приводит к истощению их генов и возрастному угасанию ФАС [9].

Выделение БАО как самостоятельной группы микронутриентов с ведущей стресс- и геропротекторной биологической ролью, дальнейшие исследования их биохимии, фармакологии составят, с нашей точки зрения, перспективный путь исследований по проблеме профилактики патологии старения. В этом направлении особенно актуальны поиски новых БАО и исследования малоизученных их представителей: полифенолов бетанидина корнеплодов, ϵ -, μ - и ϕ -каротиноидов ягод, энзимов, эротионеина и других фитоантиоксидантов. Актуальными представляются и целена-

правленные разработки новых комплексов БАО для определенных групп населения как пищевых добавок в форме сухих напитков, приправ и т. д. Последний аспект составляет реальный путь устранения «ножниц» между повышенной потребностью в БАО современного человека и низким содержанием их в его рафинированном урбанизированном рационе питания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобырев В. Н. / Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология. — Полтава, 1987. — С. 51—55.
2. Бобырев В. Н. // Пат. физиол. — 1989. — № 5. — С. 90—94.
3. Бобырев В. Н., Воскресенский О. Н. // Тер. арх. — 1989. — № 3. — С. 122—125.
4. Бобырева Л. Е., Расин М. С., Бобырев В. Н. // Эндокринология. — Киев, 1989. — Вып. 19. — С. 61—63.
5. Бобырева Л. Е. // Фармакология: состояние и перспективы исследований. — Харьков, 1990. — С. 28—29.
6. Бойко П. Г. Клиническая картина и особенности лечения сочетанной бронхолегочной и сердечно-сосудистой патологии с применением антиоксидантов: Дис. ... канд. мед. наук. — Л., 1988.
7. Бондаренко А. П. // Актуальные вопросы кардиологии. — М., 1987. — С. 10—14.
8. Вихер А. М., Жданов В. С., Матова Е. Е., Аптекарь С. Г. Географическая патология атеросклероза. — М., 1981.
9. Воскресенский О. Н. // Общие проблемы биологии. — М., 1986. — Т. 5. — С. 163—201.
10. Воскресенский О. Н., Девяткина Т. А. // Вопр. питания. — 1978. — № 6. — С. 30—35.
11. Воскресенский О. Н., Бобырев В. Н. // Там же. — 1981. — № 1. — С. 42—44.
12. Воскресенский О. Н., Туманов В. А. Ангиопротекторы. — Киев, 1982.
13. Геворкян Д. М. Липидный обмен при сахарном диабете и коррекция его антиоксидантами: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Ереван, 1989.
14. Горюнов А. В., Рошункин И. Д. // Биол. мембраны. — 1989. — Т. 6, № 5. — С. 551—554.
15. Гусев В. А., Панченко Л. Ф. // Вопр. мед. химии. — 1982. — № 4. — С. 8—25.
16. Девяткина Т. А. // Докл. АН СССР. — 1978. — Т. 242, № 2. — С. 449—452.
17. Девяткина Т. А. // Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология. — Полтава, 1987. — С. 12—19.
18. Дубенко Е. Г. // Современные проблемы психофармакологии, принципы патогенетического лечения больных с нервными и психическими заболеваниями. — М., 1984. — С. 96—98.
19. Ефимов А. С. Диабетические ангиопатии. — М., 1989.
20. Зыкова В. П., Гасилов В. С., Курданов Х. А., Базанов Е. А. // Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра. — 1984. — Т. 7, № 2. — С. 82—86.
21. Иванов В. В., Васенева И. В., Удинцев Н. А. // Пробл. эндокринологии. — 1984. — № 1. — С. 70—73.
22. Калмыкова В. И., Калужный И. Т. Атеросклероз: этиология, патогенез, клиника, профилактика, лечение. — Фрунзе, 1982.
23. Карагезян К. Г., Овсепян Л. М., Адонц К. Г. // Вопр. мед. химии. — 1990. — № 2. — С. 10—12.
24. Козлянина Н. П. // Комплексное лечение и профилактика стоматологических заболеваний. — Львов; Киев, 1989. — С. 56—57.
25. Коттубаева К. Б. Динамика клинико-функциональных показателей при тяжелой степени заболеваний пародонта и возможность их коррекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1989.
26. Ланкин В. З. // Всесоюзная конф. «Биоантиоксидант», 3-я: Тезисы докладов. — М., 1989. — Т. 1. — С. 33.
27. Ланкин В. З., Тихазе А. К. // Бюл. экспер. биол. — 1980. — № 5. — С. 554—556.
28. Максименко П. Т. // Биофизические и физикохимические исследования в витаминологии. — М., 1981. — С. 119—121.
29. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. — М., 1984.
30. Мирончик В. В. Особенности свободнорадикального липоперекисления плазмы крови при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни: Дис. ... канд. мед. наук. — Минск, 1984.

31. Пелаева А. А., Кашуба Э. А. // Всесоюзная конф. «Биоантиоксидант», 3-я: Тезисы докладов.— М., 1989.— Т. 2.— С. 98.
32. Нидельский М. Я. // Комплексное лечение и профилактика стоматологических заболеваний.— Львов; Киев, 1989.— С. 79—80.
33. Николаева М. Я., Балмуханов Б. С., Пархимович Р. М. // Пробл. эндокринологии.— 1985.— № 1.— С. 14—18.
34. Новицкий А. А., Маркизова Н. Ф., Гриценгер В. Р., Нягу В. Г. // Биофизические и физико-химические исследования в витаминологии.— М., 1981.— С. 70—73.
35. Приступок А. М. // Современные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии.— Киев, 1987.— С. 313.
36. Розколуца Н. В. // Гериатрические средства: экспериментальный поиск и клиническое использование.— Киев, 1990.— С. 149—150.
37. Саава М. Э., Солодкая Э. С., Волож О. И. // Всесоюзный съезд геронтологов и гериатров, 5-й: Тезисы докладов.— Киев, 1988.— Т. 2.— С. 565.
38. Самарченко Л. А., Хоменко Ю. П. // Всесоюзная конф. «Биоантиоксидант», 3-я: Тезисы докладов.— М., 1989.— Т. 1.— С. 165.
39. Спиричев В. Б. // Вопр. питания.— 1974.— № 3.— С. 9—19.
40. Спиричев В. Б. // Всесоюзный биохимический съезд, 5-й: Тезисы симпозиальных докладов.— М., 1985.— Т. 1.— С. 276—277.
41. Спиричев В. Б., Рымаренко Т. В., Овчинников В. Д., Шафранова Е. И. // Вопр. питания.— 1988.— № 4.— С. 4—9.
42. Спиричев В. Б., Рымаренко Т. В. // Клини. мед.— 1990.— № 2.— С. 24—30.
43. Тарасенко Л. М., Воскресенский О. П. // Пат. физиол.— 1986.— № 6.— С. 12—14.
44. Тырышкин А. М., Сальник Б. Ю., Долгих Е. В. // Вопр. мед. химии.— 1986.— № 3.— С. 82—85.
45. Хмелевский Ю. В., Данилевский П. Ф., Борисенко А. В., Поберезкина Н. В. // Вопр. питания.— 1985.— № 4.— С. 54—56.
46. Шалхарова Ж. П. Ферментативные механизмы регуляции перекисного окисления липидов при антиоксидантно-противогипоксической терапии атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Алма-Ата, 1987.
47. Aoyama S., Ohta H., Fujishiro N. et al. // Jap. Heart J.— 1967.— Vol. 8, N 2.— P. 142—147.
48. Bartsocas C., Fasitsas C., Delicostantinis G. // Diabetologia.— 1989.— Vol. 32, N 7.— P. 464A.
49. Bellemare F., Fragata M. // J. Colloid Interface Sci.— 1980.— Vol. 77, N 1.— P. 243—252.
50. Calafiore R., Calcinaro F., Kon N., Alejaudro R. // Diabetologia.— 1987.— Vol. 30, N 7.— P. 504.
51. Castellani A., Cella G., De Luca G., Tenni R. // J. Geront.— 1983.— Vol. 31, N 10.— P. 731—742.
52. Ohuo H., Iahata T., Sato I. // Europ. J. appl. Physiol.— 1988.— Vol. 57, N 3.— P. 173—176.
53. Cohen G. // Free Radic. Mol. Biol., Aging and Disease.— Washington, 1984.— P. 307—316.
54. Comstock G., Menkes M., Shober S. // Amer. J. Epidem.— 1988.— Vol. 127, N 1.— P. 114—123.
55. Demopoulos H. // Atlantic City, N. J., April, New York, 1970.— P. 1859—1861.
56. Dillard C., Kunery K., Tappel A. // Arch. Biochem.— 1982.— Vol. 216, N 1.— P. 204—212.
57. Dusseldorf M. // Ned. T. geneesk.— 1988.— Vol. 132, N 15.— P. 667—672.
58. Gisinger C., Jeremy J., Speiser O. // Diabetes.— 1988.— Vol. 37, N 9.— P. 1260—1264.
59. Hagglof B., Maklund S., Holmgren G. // Acta endocr. (Kbh.).— 1983.— Vol. 102, N 2.— P. 235—239.
60. Hasegawa M., Yanagisawa M., Inoue F. // Chem. and Biol. Pteridines, Pteridines and Folic. Acid Deriv.— Berlin, 1983.— P. 795.
61. Hasegawa K., Imamoto K., Ohno S. // Biochim. biophys. Acta.— 1985.— Vol. 127, N 5.— P. 554—562.
62. Hsiao I., Jun H., Satoshi E. // International Congress of Gerontology, 12-th: Abstracts.— Hamburg, 1981.— Vol. 2, S. 1, s. a. P. 163.
63. Jennings P., Chopra M., McLaren M. // Diabetologia.— 1989.— Vol. 32, N 7.— P. 499.
64. Krajina L., Potesil L. // Csl. Neurol.— 1984.— Vol. 47, N 2.— P. 96—102.
65. Lesko S., Trpis L., Yang S. // Free Radic. Mol. Biol. Aging and Disease.— New York, 1984.— P. 391—396.
66. Macejka J., Bergendi L., Balaz V. // Biologia.— 1988.— Vol. 43, N 8.— P. 723—730.
67. Marshall R., Scragg R., Bourke P. // Int. J. Epidem.— 1988.— Vol. 17, N 2.— P. 325—331.
68. Nath N., Chari S., Rath A. // Diabetes.— 1984.— Vol. 33, N 6.— P. 586—589.
69. Nicol A., Muir K., Harkness K., Mac Phee J. // Arch. oral Biol.— 1971.— Vol. 16, N 1.— P. 21—28.
70. Ohuo H., Iahata T., Sato I. // Europ. J. appl. Physiol.— 1988.— Vol. 57, N 3.— P. 173—176.
71. Peng S., Taylor C., Hill J., Morin R. // Atherosclerosis.— 1985.— Vol. 54.— P. 121—133.
72. Pryor W. // Free Radical. Biol. Med.— 1988.— Vol. 4, N 4.— P. 219—223.
73. Ronchetti I., Contri M., Baccarani M., Forneieri C. // G. Geront.— 1983.— Vol. 31, N 10.— P. 753—768.
74. Sabi A., Stanulovic M., Jakovljevic V. // Europ. J. clin. Pharmacol.— 1989.— Vol. 36, Suppl.— P. 236.
75. Sharma S., Patro I., Patro N. // Age.— 1987.— Vol. 10, N 3.— P. 123.
76. Shinke I., Pomaniuk P., Shimke E. // Advances Lipoprotein and Atherosclerosis Research Diagnosis and Treatment.— Berlin, 1985.— Vol. 1.— P. 66—69.
77. Slater T. // Brit. J. Cancer.— 1987.— Vol. 55, N 8.— P. 5—9.
78. Staude C., Heumann W., Schulz J. // Gesellschaft für Gerontologie DDR, 10: Kongress.— Berlin, 1985.— S. 414—418.
79. Steinberg D. // J. Cell. Biochem.— 1988.— Suppl. 12A.— P. 39.
80. Trevoux M. // Rev. Geriatr.— 1987.— Vol. 12, N 1.— P. 29—36.
81. Walldius G., Wanberg G. // Drugs Affect Lipid Metab. VIII.— New York, 1985.— P. 281—293.
82. Wayner D., Burton G., Ingold K., Barclay L. // Biochim. biophys. Acta.— 1987.— Vol. 924, N 3.— P. 408—419.
83. Wexler B., McMurtry J. // Cardiol. Res.— 1982.— Vol. 16, N 10.— P. 573—579.
84. Yagi K., Yoshino K., Komura S. // J. clin. Biochem. Nutr.— 1988.— Vol. 5, N 1.— P. 21—27.
85. Yoshioka M., Aoyama K., Matsuchita T. // Int. J. Vitam. nutr. Res.— 1985.— Vol. 3.— P. 301—307.
86. Zweier J., Kuppasamy P., Lully G. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1988.— Vol. 85, N 11.— P. 4045—4050.

Поступила 08.08.91

© И. И. СТЕПУРО, 1992

УДК 615.356:577.161.017:615.272.4.014.425

И. И. Стенуро

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ВИТАМИНОВ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С БЕЛКАМИ КРОВИ

Институт биохимии АН Республики Беларусь, Гродно

Витамины широко используются в лечении и профилактике лучевых поражений [3, 9, 40, 51]. В недавно опубликованном обзоре проанализированы биохимические аспекты процессов, связанных с нормализацией витаминами нарушений обменных реакций, вызванных ионизирующей радиацией; рассмотрены специфические механизмы инактивации свободных радикалов и торможения процесса перекисного окисления липидов, резко активируемого при облучении [9].

В данной работе на основании собственных экспериментальных результатов и анализа литературы рассмотрены возможные механизмы антиоксидантного действия некоторых витаминов и коферментов (тиамина и его дисульфидных производных, пиридоксаль-5-фосфата, NAD·H, рибофлавина) и их комплексов с сывороточным альбумином и гемоглобином. Сывороточный альбумин — главный антиоксидантный белок плаз-

мы крови [58] — обладает как высоким эффективным сечением захвата кислородных свободных радикалов, так и пероксидазной активностью, способностью разрушать гидроперекиси в присутствии соединений, содержащих сульфгидрильные группы [59].

Гемоглобин (в ферро- и ферриформах) также выступает как очень сильный антиоксидант в отношении кислородных свободных радикалов [7, 28], ингибирует реакции, протекающие под воздействием гидроксильных радикалов [52].

В связи с этим можно предположить, что обратимое связывание витаминов с белками крови может явиться механизмом не только их транспорта и депонирования, но и реализации антиоксидантных некоферментных свойств.

Источники свободных радикалов в клетках

Кислород — необходимое условие существования аэробных клеток, но в то же время давно известно, что он токсичен, если поступает в организм в концентрациях выше, чем его содержание в нормальном атмосферном воздухе [46, 50]. Токсичные супероксидные радикалы (O_2^-) генерируются ионами переходных металлов или их хелатами при окислении кислородом [49], ауто-окислении гемоглобина [69] или миоглобина [64], фагоцитозе и т. д. [70]. Супероксиданионы в реакциях с перекисью водорода (реакция Габера — Вайса), а также в реакции ионов переходных металлов с пероксидом водорода (реакция Фентона) конвертируются в наиболее токсичные из кислородных свободных радикалов — гидроксильные радикалы, которые, по мнению ряда авторов [39, 42], и ответственны за биологические эффекты O_2^- . Супероксиданионы спонтанно или под действием супероксиддисмутазы превращаются в перекись водорода. При неэнзиматической спонтанной дисмутации супероксиданионов возникает токсичный синглетный кислород (1O_2) [50, 62]:



Следовательно, в процессе жизнедеятельности аэробных организмов возникает практически тот же спектр кислородных свободных радикалов, что и под действием ионизирующего излучения.

Кислородные свободные радикалы (O_2^- , OH), а также оксиданты (H_2O_2 , органические пероксиды) вызывают повреждение клеточных структур организма, что способствует возникновению таких заболеваний, как рак, артрит, ишемия миокарда [44, 45, 63]. Возможный механизм, с помощью которого свободные радикалы вызывают повреждение клеток, — инактивация мембранно-связанных и водорастворимых ферментов, модификация белков и их деструкция, окисление ДНК [41, 63], а также повреждение других молекул-мишеней [63]. С другой стороны, нельзя исключать, что кислородные радикалы проявляют свою токсичность потому, что инициируют цепные реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ вызывает образование различных высокорекрационных соединений, таких, как свободные радикалы, гидроперексиды, альдегиды, эпоксиды, которые также способны повреждать и модулировать функции макромолекул и клеточных струк-

тур [5, 38]. При действии на клетку ионизирующего излучения свободные радикалы генерируются вследствие как прямого действия излучения на биологические молекулы-мишени, так и образования продуктов радиолиза воды [17].

При действии ультразвука на водные растворы протекает множество звукохимических реакций, вызванных распадом молекулы воды на OH^- - и H^+ -радикалы [57]. Выход свободных радикалов, химических соединений, образующихся в процессе окислительно-восстановительных реакций, зависит от природы растворенного газа, частоты и мощности ультразвука [11]. Имеется значительное сходство в протекании окислительно-восстановительных реакций органических соединений в разбавленных водных растворах, когда действие γ -излучения в значительной степени реализуется через промежуточные продукты радиолиза воды и действием ультразвука [11, 34]. Поглощение света в биологических системах с участием эндогенных или экзогенных пигментов (хлорофилл, флавины, порфирины, билирубин и т. д.) часто сопровождается образованием низких концентраций синглетного кислорода, несмотря на эффективное его тушение такими соединениями, как β -каротин, аминокислоты, другие амины [32]. Аэробные организмы имеют специальные защитные механизмы, которые включают энзиматические системы: супероксиддисмутазу, каталазу, глутатионтрансферазу, глутатионпероксидазу, а также многочисленные соединения — антиоксиданты, ловушки свободных радикалов, такие, как глутатион, мочевая кислота и, кроме того, ряд витаминов: α -токоферол, витамин С, ретинол, β -каротин и т. д. [31, 33, 38, 40]. Витамины широко используются для профилактики и лечения лучевых поражений в дозах, значительно превышающих физиологическую потребность [9]. Это связано со способностью ряда витаминов, таких, как аскорбиновая кислота, α -токоферол, биофлавоноиды, тиамин, взаимодействовать со свободнорадикальными формами кислорода и активными продуктами радиолиза и инактивировать их [9, 40].

Рассмотрим наиболее вероятные механизмы, через которые может реализоваться защитное действие витаминов.

1. *Прямое взаимодействие свободных радикалов с витаминами.* В общем случае, чтобы защитить конкретную биологическую молекулу-мишень от поражения, необходимо протекание конкурирующей реакции со скэвенджерами, в нашем случае с витаминами. Если макромолекула, например фермент, взаимодействует с OH^- -радикалами, то последние реагируют с различными ее участками (в данном случае с аминокислотными остатками) и константа скорости реакции макромолекулы с OH^- -радикалами представляет собой сумму констант скоростей реакций для всех центров. Так как константы скоростей аминокислот с гидроксильными радикалами, гидратированными электронами, атомами водорода высоки, то суммарная константа захвата названных компонентов белками составляет, как правило, $\geq 10^{11} M^{-1} s^{-1}$ [43].

В связи с тем что в клетке присутствует множество субстратов, аминокислот, белков, ферментов и других макромолекул с очень высоким сум-

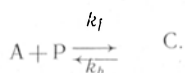
марным сечением захвата активных частиц, очевидно, что витамины проявляют свои антиоксидантные свойства только при высоких концентрациях и защитный эффект (50 %) будет наблюдаться при условии:

$$k_v S_v \geq kTH + \sum k_{is} S_i,$$

где S_v — концентрация витаминов; TH — концентрация молекул-мишеней; $\sum S_i$ — сумма концентраций внутриклеточных молекул, выступающих в качестве скэвенджеров; k_v , k , k_{is} — соответствующие константы скоростей взаимодействия молекул-мишеней со свободными радикалами.

Поэтому маловероятно, что защитный эффект витаминов реализуется за счет прямого взаимодействия с ними продуктов радиолитической воды, кислородных свободных радикалов. Однако какой-то вклад этого механизма возможен в связи с неравномерным распределением витаминов в липидной фракции клеточных мембран и водной фазе, что может приводить к локально высоким концентрациям витаминов. В зависимости от физико-химических свойств витаминов наблюдается их преимущественная локализация в определенных клеточных структурах. Гидрофобные витамины, такие, как α -токоферол (витамин Е) и β -каротин, растворены в липидном бислое мембран клетки, а, например, аскорбиновая кислота находится в водной фазе [38].

2. *Комплексы витаминов и коферментов с белками и ферментами.* Многие белки и ферменты содержат встроенные «антиоксидантные» системы, организованные из аминокислотных остатков, обладающих высоким эффективным сечением захвата [43]. Кроме того, для ряда белков и ферментов наблюдаются миграция энергии, перенос электронов, захваченных какими-либо боковыми электронакцепторными группами к активному центру, организованному в кластер аминокислотными остатками с высокими электронакцепторными свойствами. Если в этом «антиоксидантном» центре или в его районе происходит связывание витамина или кофермента, то витамин (А) выступает в качестве ловушки, в которую стекаются электроны, поглощенные боковыми остатками белка (Р).



Защитный эффект для данной макромолекулы или фермента будет тем выше, чем с более высокой константой скорости связывается витамин с макромолекулой (k_f) и чем выше константа скорости диссоциации (k_b). Время связывания витамина или кофактора с белком или время релаксации к равновесию описывается уравнением [8, 12]:

$$\tau^{-1} = k = k_f(A + P) + k_b. \quad (1)$$

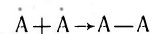
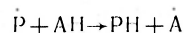
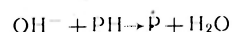
Так как $K_{\text{равн}} = k_f/k_b$, то равенство (1) можно представить так:

$$\tau^{-1} = K_{\text{равн}} \cdot k_b (A + P) + k_b.$$

Поэтому при быстром связывании (малое τ) малая концентрация витамина обменивается за данный промежуток времени с большим числом макромолекул, т. е. наблюдается быстрая миграция

витамина между молекулами белка. Это позволяет малыми концентрациями витамина защитить определенный класс белков, которые связывают его с высоким сродством (высокое значение $K_{\text{равн}}$ определяет избирательность связывания) и с высокими значениями констант скоростей k_f и k_b , при условии $k_f \gg k_b$.

3. *Витамины как доноры водорода.* Некоторые витамины могут выполнять защитную функцию вследствие репарации, восстановления поврежденной макромолекулы, выступая донорами водорода [9]. Эффективное суммарное сечение захвата свободных радикалов молекулой белка высоко. Образовавшиеся свободнорадикальные формы белка или фермента дезактивируются витамином, эффективным донором водорода. Этот механизм можно представить следующим образом:



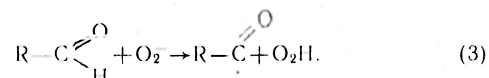
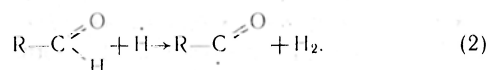
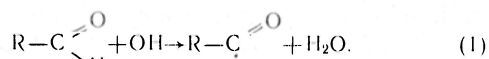
4. Комплексы с ионами переходных металлов.

Аутоокисление ионов переходных металлов сопровождается образованием супероксиданионов и гидроксильных радикалов. Витамины могут связывать ионы переходных металлов, образуя хелаты, или же формировать тройные комплексы: белок — витамин — Me^{n+} , что способствует снижению свободных форм металлов и как следствие процессов генерации активных форм кислорода. Защитный эффект может быть обусловлен, во-первых, уменьшением доступности катионов металла действию H_2O_2 или органических пероксидов, во-вторых, свободные кислородные радикалы, образовавшиеся при окислении ионов металла, взаимодействуют с витамином, находящимся в близком соседстве с ионом. В этом случае витамин выступает как «жертвенный антиоксидант».

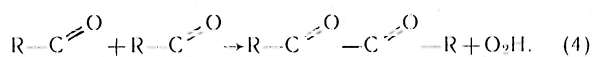
Рассмотрим на примере нескольких витаминов изложенные выше возможные механизмы антиоксидантной защиты.

Пиридоксаль-5-фосфат. Как уже отмечалось, при воздействии ультразвука на водные растворы, насыщенные атмосферным воздухом, образуются те же продукты распада воды и кислородные свободные радикалы, что и при радиолитической воды. В спектре поглощения пиридоксаль-Р наблюдается после воздействия ультразвука (880 кГц) падение поглощения в области 390–400 нм и последовательное возрастание поглощения в районе 320 нм, а затем 290–300 нм. Спирты давали выраженный защитный эффект. Причем повышение устойчивости молекулы пиридоксаль-Р к действию свободных радикалов (уменьшение изменений оптической плотности) при добавлении одинаковых молярных концентраций спиртов — метанола, этанола и н-бутанола — соотносится как 1:2:4, что хорошо коррелирует со значениями констант скоростей взаимодействия гидроксильных радикалов с указанными выше спиртами [43]: $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $2 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, $5 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ соответственно. Удаление O_2 из раствора (барбирование N_2) также снижает повреждающее действие свободных радикалов на молекулу кофермента. Хроматографией на бумаге выделены четыре соедине-

ния, одно из которых обладает интенсивной флюоресценцией ($\lambda=420$ нм) и было идентифицировано по данным УФ- и ИК-спектроскопии как фосфорный эфир 4-пиридоксидовой кислоты. Другие продукты, полученные при сонолизе, совпали по своим свойствам (спектральным) с продуктами фотолиза, строение которых установлено [14, 60]. Это позволяет предположить, что пиридоксаль-Р эффективно взаимодействует с гидроксильными радикалами, атомами водорода, супероксиданионами:



Образовавшийся фосфопиридоксидовый радикал формирует димеры:



Супероксиданионы под действием супероксиддисмутазы или спонтанно образуют перекись водорода. В последнем случае, по данным ряда авторов [21, 60], образуется синглетный кислород, способный окислять пиридоксаль-Р до пиридоксидовой кислоты.

Таким образом, пиридоксаль-Р выступает как антиоксидант, перехватывая очень токсичные гидроксильные радикалы с образованием фосфопиридоксидового радикала, который затем окисляется кислородом воздуха до фосфорного эфира 4-пиридоксидовой кислоты.

Сходными свойствами обладает также пиридоксаль. Однако эффективность его как антиоксиданта в воде мала, так как содержание альдегидной группы низко вследствие гидратации и образования полуацеталей [14]. Пиридоксин под действием гидроксильных радикалов превращается в оксипиридоксин, который был идентифицирован по данным УФ- и ИК-спектроскопии. Гидроксильрование пиридоксина наблюдали также под действием аскорбиновой кислоты [54].

Пиридоксаль-Р взаимодействует с аминокислотами [12–14], белками [12, 13] с образованием основания Шиффа — очень мощного акцептора электронов, константа скорости реакции взаимодействия электронов с альдиминной связью имеет порядок $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$. Это приводит к восстановлению альдиминной связи и образованию стабильного фосфопиридоксил-Р, ковалентно связанного с первичными аминогруппами аминокислотных остатков белков ($\epsilon\text{-NH}_2$ группы Lys или $\alpha\text{-аминогруппа N-конца полипептидной цепи}$). При действии УФ-света в белке происходит фотоионизация ароматических аминокислот триптофана, тирозина и фенилаланина [10]. При этом электрон, возникший в результате фотоионизации, может быть захвачен альдиминной связью. Показано, что образование фосфопиридоксил-Р, ковалентно связанного с белком, под действием света возрастает при переходе от кислотных к нейтральным и щелочным значениям pH и достигает максимума в области значений pH 9,5–

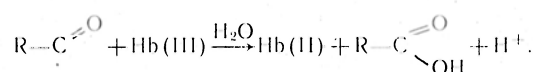
11,0 [23]. Сывороточный альбумин содержит встроенные внутримолекулярные ловушки свободных радикалов, организованные с участием остатков гистидина, цистина, тирозина. Так, при воздействии гидроксильных радикалов под действием УФ-излучения в сывороточном альбумине деструкцию и окисление с высокой скоростью претерпевает одна наиболее лабильная дисульфидная связь [22, 27], образованная остатками Cys-200 и Cys-245. Рядом с дисульфидной связью находятся остаток Lys-199 и остаток His-247. С $\epsilon\text{-аминогруппой}$ Lys-199 взаимодействует молекула пиридоксаль-Р с образованием основания Шиффа, что повышает стабильность белка к действию гидратированных электронов. Так как пиридоксаль-Р связывается рядом с сильными электроакцепторными группами, то захваченные ими электроны мигрируют на альдиминную связь и восстанавливают ее.

При освещении видимым светом наблюдали ковалентное связывание пиридоксаль-Р с гемоглобином [24] и другими белками и ферментами [61].

Пиридоксаль-Р образует со свободными аминокислотами основания Шиффа, которые взаимодействуют с анионсвязывающим центром молекулы сывороточного альбумина человека в основном за счет остатка фосфата и могут выступать в качестве акцепторов электронов. Стехиометрия этого тройного комплекса белок — аминокислота — пиридоксаль-Р 1:1:1. Восстановление альдиминной связи основания Шиффа, образованного аминокислотой и пиридоксаль-Р, гидратированными электронами и органическими свободными радикалами, приводит к образованию фосфопиридоксил-аминокислоты.

Таким образом, повышение уровня неэнзиматической модификации аминокислот и белков альдегидами свидетельствует об усилении процессов генерации гидратированных электронов и свободных радикалов в клетках.

При взаимодействии пиридоксаль-Р со свободными радикалами образуется фосфопиридоксильный свободный радикал [реакции (1–3)]. Последний взаимодействует не только с O_2 , но и с окисленными формами гемопротеинов, восстанавливая их в дезокси-форму, а сам окисляется до пиридоксидовой кислоты:



Иными словами, фосфопиридоксидовый радикал выступает в качестве донора электрона в реакции с ферриформой гемоглобина.

Ионы переходных металлов при физиологических концентрациях катализируют образование гидроксильных радикалов как в свободном состоянии, так и при связывании с широким кругом лигандов. Пиридоксаль-Р, связываясь с аминокислотами [35] и аминогруппами белков [13], формирует тройные комплексы с ионами металлов [25, 26], что способствует снижению свободных форм катионов переходных металлов и как следствие процессов перекисного окисления липидов, повреждения биологических структур. Для этих хелатов было показано отсутствие координационной воды [35], и практически для них не

наблюдалась генерация свободных радикалов под действием H_2O_2 .

Известно, что разрушение молекулы сывороточного альбумина, вызванное совместным действием $Cu(II)$ и H_2O_2 , легко фиксируется по изменению спектров поглощения белков, уменьшению триптофановой флуоресценции, деградации молекулы белка с образованием фрагментов меньшей молекулярной массы [66]. Пиридоксаль-Р, связываясь с белком, вызывает выраженный защитный эффект, снижая деградацию белка.

Известно, что сывороточный альбумин человека полностью подавляет гемолиз эритроцитов, вызванный совместным действием ионов меди и аскорбата [56]. Гликозилированный альбумин в отличие от нативного немодифицированного дает значительно менее выраженный стабилизирующий эффект против разрушения эритроцитарной мембраны. Причем уменьшение антиоксидельного действия альбумина прямо пропорционально степени ковалентного лигандирования белка глюкозой [37].

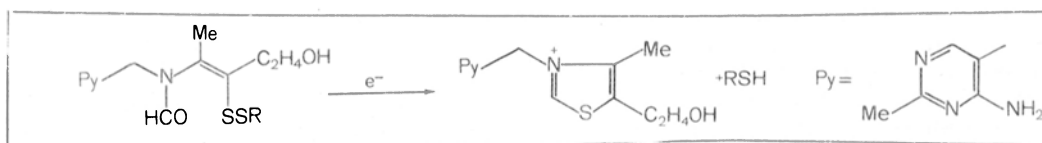
Ионы меди $Cu(II)$ в присутствии H_2O_2 вызывают генерацию гидроксильных радикалов, которые окисляют оксиHb в метHb. Для гликозилированного оксиHb наблюдается усиление окисления в метHb.

Добавление пиридоксаль-Р также дает выраженный защитный эффект в случае как гликозилированного белка, так и немодифицированного исходного оксигемоглобина (оксиHb).

Связывание ионов меди $Cu(II)$ с сывороточным альбумином и гемоглобином человека осуществляется при участии первых аминокислотных остатков N-конца полипептидных цепей Asp-1 для сывороточного альбумина человека или Val-1 β -цепи оксиHb [55, 65]. Вероятно, ион меди, связанный с белками, обладает меньшей эффективностью в разрушении перекиси водорода или же, подобно медьсодержащим пероксидазам, разрушает перекиси без образования свободных радикалов [36]. Если центр связывания меди нарушен вследствие модификации аминокислотных остатков, которые входят в его состав, каким-то соединением, например глюкозой, образующей стабильные аддукты с аминокислотными группами, то может наблюдаться уменьшение взаимодействия ионов меди с белком. Это в свою очередь может при-

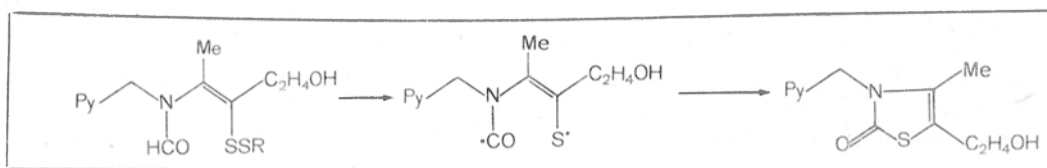
вести к возрастанию количества свободных ионов меди и некоторых других ионов переходных металлов в крови больных сахарным диабетом [37]. Пиридоксаль-Р, взаимодействуя с α -NH₂-группами N-конца полипептидных цепей молекул альбумина и гемоглобина, повышает сродство иона меди к первичным центрам этих белков, а также, связываясь с ϵ -аминогруппами остатков лизина, формирует вторичные центры для ионов металлов. Ионы меди взаимодействуют как с α -NH₂-группами N-конца полипептидных цепей белков, так и с остатками His [4]. Так как часть остатков His соседствует, пространственно сближена с остатками лизина, то можно предположить, что пиридоксаль-Р защищает от повреждения остатки His свободными радикалами, генерируемыми, например, ионами меди в присутствии H_2O_2 , аскорбиновой кислоты [66], хелатируя катионы металла. Это справедливо не только для ионов переходных металлов, связанных с основаниями Шиффа белков или аминокислот, но и для свободных ионов, которые могут образовывать комплексы с молекулами пиридоксаль-Р. Так, ионы $Fe(II)$ формируют комплексы с пиридоксаль-Р со стехиометрией ион — лиганд 1:2. ОксиHb в присутствии этих комплексов превращается в дезоксиHb. Это убедительно свидетельствует о том, что супероксиданион, образованный при окислении иона $Fe(II)$, реагирует с пиридоксаль-Р, что и приводит к поглощению O_2 без образования H_2O_2 .

Тиамин и его производные. Как известно, дисульфидные производные тиамин поступают в организм человека с пищей и легко восстанавливаются тиолсодержащими соединениями, например восстановленным глутатионом, цистеином и т. д., с образованием тиамин [16]. Некоторое количество дисульфидных производных тиамин находится в клетках, деонируется в виде смешанных дисульфидов с белками [67]. Относительно высокое количество дисульфидных производных тиамин содержится в коже человека, которая может подвергаться воздействию солнечного излучения [53]. Тиаминдисульфиды под действием гидратированных электронов восстанавливаются в нейтральной и слабодислой среде с образованием тиамин и соответствующего тиола.



Количество образовавшегося тиамин легко контролируется тиохромным методом [2], а соответствующего тиола — по реактиву Элмана. Тиаминдисульфиды под действием света $\lambda > 290$ нм практически количественно претерпевают восстановление дисульфидной связи. В области $\lambda = 290$ —320 нм поглощает карбонильная группа дисуль-

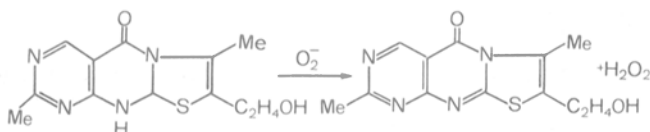
фида ($\eta \rightarrow \pi^*$ переход). Под действием света фотоэжектированный электрон захватывается дисульфидной связью с образованием промежуточного продукта, который затем расщепляется с образованием тиаминтиазолон и соответствующего тиольного соединения:



При облучении ультрафиолетовым светом ($\lambda = 257\text{--}290\text{ нм}$) наблюдается фотолиз тиаминдисульфидов вследствие прямого поглощения света дисульфидной связью [20]. В этом случае также наблюдали образование тиамин, который окисляется в нейтральной среде до сульфоксидов и разрушается до 2-метил-4-амино-5-аминометилпиримидина в кислой среде [18, 20]. Тиамин, его фосфорные эфиры фотоокисляются с образованием тиаминсульфоновых соединений при воздействии ультрафиолета. Фотоокисление сопровождается поглощением кислорода [18, 19]. Тиазоловый компонент в свободном, не включенном в состав тиамин состояний также легко фотоокисляется в присутствии кислорода до S-диоксидов и S-сульфоксидов. Скорость реакции зависит от характера замещений в 5- β -оксиэтильном остатке и возрастает в ряду $T > TMF > TDF > \beta$ -хлорэтилтиамин-5-порттиамин $>$ 3-бензилэтизолий, что указывает на зависимость процесса окисления от электронной плотности на атоме серы [18].

Тиамин в органических растворителях окисляется под действием O_2 в тиохром.

Нашими исследованиями было показано, что тиохром не является конечным продуктом окисления тиамин [15, 29]. Тиохром под действием синглетного кислорода окисляется до оксодигидро-тиохрома. Последний, вероятно, под действием супероксиданиона образует оксотиохром:



Так как тиохром и его производные достаточно хорошо растворимы в органических растворителях [71], то можно ожидать, что они будут избирательно накапливаться в гидрофобных отделах клеток, липидной фракции мембран, связываться в гидрофобных участках белков и давать определенный защитный эффект.

Тиаминдисульфидные производные легко восстанавливаются различными тиоловыми соединениями [16] до тиамин и соответствующего смешанного дисульфида. Аналогичная реакция тиолдисульфидного обмена может протекать и с белками, имеющими доступные сульфгидрильные группы [68].

Смешанные тиамин-белковые дисульфиды образуются и при взаимодействии сывороточного альбумина с тиоловыми формами тиамин при pH 9,0 [67]. Дисульфидные связи обладают сильными электронакцепторными свойствами и высокими константами скорости взаимодействия с OH-радикалами, поэтому могут защищать от повреждения белки активными свободнорадикальными соединениями. Так, под действием УФ-света в сывороточном альбумине человека происходит фотоионизация ароматических аминокислот — триптофана, тирозина. При этом электрон, возникший в результате ионизации, может быть захвачен электронакцепторной дисульфидной группой смешанного дисульфида тиамин-белок, что приводит к образованию свободного тиамин. Это свидетельствует о возможности данного защитного механизма и о том, что электронакцепторные свойства

тиаминдисульфидной связи очень высоки и сравнимы с электронакцепторными свойствами собственно белковых групп.

Учитывая тот факт, что какая-то часть дисульфидных производных тиамин протедизируется, ассимилируется белками тканей [16], нельзя исключать данный механизм защиты производными тиамин.

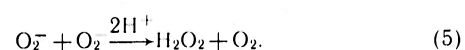
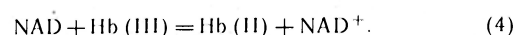
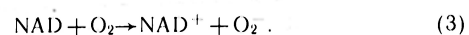
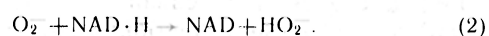
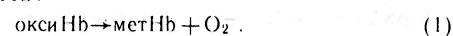
При воздействии гидроксильными свободными радикалами на смешанные тиамин-белковые дисульфиды, выделен низкомолекулярный продукт, который был идентифицирован нами по данным ИК-спектроскопии как тиаминцистеиновая кислота.

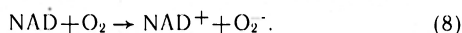
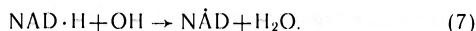
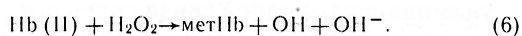
Тиамин и особенно его фосфорные эфиры образуют комплексы с ионами двухвалентных металлов, в том числе ионами меди, причем, как следует из ЭПР- и ЯМР-измерений, ион металла взаимодействует с одним из атомов азота (1---N') пиримидинового компонента молекулы тиаминдифосфата [47, 48]. Применение ЭПР-метода позволило непосредственно по интенсивности сигналов оценить концентрацию свободного Mn^{2+} и находящегося в комплексе с лигандом [6].

Учитывая полученные сравнительно высокие значения констант ассоциации ТПФ и других фосфорилированных производных тиамин с двухвалентными ионами, кажется возможным механизм некоферментного действия тиаминдифосфата, заключающийся в связывании ионов переходных металлов и вследствие этого снижении генерации свободных радикалов, а также их переноса собственно молекулой кофермента.

NAD·H (NAD·H). В нашей лаборатории показано, что NAD·H (в меньшей мере NAD·H) очень эффективно ингибирует протекание реакций аутоокисления растворов оксигемоглобина. Как известно, оксигемоглобин аутоокисляется с образованием супероксиданиона и метгемоглобина (метгемоглобин) [30]. Затем в процессе реакций аутоокисления гемоглобина продуцируется перекись водорода и гидроксильные радикалы, которые ответственны за протекание деструктивных процессов, приводящих к повреждению белковой глобулы, расщеплению гема с освобождением катионов железа. Если к водному раствору оксигемоглобина добавить NAD·H, то не наблюдается повреждения молекулы гемоглобина.

В закрытых сосудах без доступа воздуха растворы оксигемоглобина в присутствии NAD·H переходят количественно в дезоксигемоглобин. Скорость поглощения кислорода при добавлении NAD·H очень хорошо совпадает со скоростью образования метгемоглобина в растворах в отсутствие NAD·H и константы скорости в обоих случаях примерно равны $0,02\text{ ч}^{-1}$. Вероятно, супероксиданион, возникший в процессе аутоокисления оксигемоглобина, взаимодействует с NAD·H, а образовавшиеся радикалы NAD·H восстанавливают метгемоглобин:





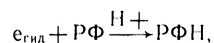
В конечном счете происходит восстановление O_2 до воды, а метHb до дезоксиHb.

При воздействии гидроксильных радикалов на растворы метHb наблюдаются деструкция белка, повреждение остатков триптофана, окисление сульфгидрильных групп, разрушение гемина. В присутствии NAD^\cdotH наблюдали восстановление метHb в ферроформу без повреждения белковой глобулы.

Как известно, ионы Fe (II) и их комплексы с ЭДТА в водных растворах окисляются с образованием O_2^\cdot . При добавлении Fe (II) или $\text{Fe (II)} - \text{ЭДТА}$ к раствору метHb происходит восстановление дезоксиHb вследствие протекания реакции: $\text{O}_2^\cdot + \text{метHb} \rightarrow \text{Hb (II)} + \text{O}_2$. Образовавшийся Hb (II) окисляется H_2O_2 в конкурентной реакции (6). Если в растворе метHb присутствовал, кроме $\text{Fe (II)} - \text{ЭДТА}$, еще и NAD^\cdotH , то наблюдали полное восстановление метHb в дезоксиHb. Эффективность восстановления метHb радикалами NAD^\cdot , вероятно, связана с высоким значением равновесной константы взаимодействия NAD^\cdot с метHb ($3 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}$), но не оксиHb [58]. Воздействие ионизирующего излучения или другие процессы, сопровождающиеся генерацией свободных радикалов, приводят к образованию метHb, очень эффективно восстанавливающегося в дезоксиHb радикалами NAD^\cdot , которые при этом окисляются в NAD^+ . Аналогично взаимодействуют с метHb и радикалы NADP^\cdot только с меньшей скоростью.

Как известно, поток субстратов в эритроцитах через гликолитический путь определяется скоростью образования NAD^+ , а скорость функционирования пентозофосфатного шунта регулируется концентрацией NADP^+ [12]. При усилении генерации свободных кислородных радикалов в эритроцитах наблюдается активация пентозофосфатного шунта вследствие возрастания скорости окисления глутатиона и образования NADP^+ , так как усиливается потребление NADPH на восстановление глутатиона. При активации пентозофосфатного пути скорость гликолиза при физиологических концентрациях АТФ также возрастает [1]. Следовательно, можно предположить, что в активацию гликолиза и реакций пентозофосфатного шунта вносит вклад также образование окисленных эквивалентов NAD^+ и NADP^+ , реакции свободных радикалов с NAD^\cdotH и $\text{NADP}^\cdot\text{H}$ и метHb.

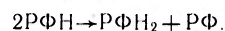
Рибофлавин. Антиоксидантное действие рибофлавина может реализоваться как вследствие реакции гидратированных электронов, полученных действием ионизирующего излучения на воду, атомов водорода:



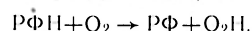
так и вследствие восстановления в семихинон-ную форму органическими свободными радикалами, в том числе свободными радикалами белков:



Семихинонные радикалы рибофлавина диспропорционируют, давая бесцветную лейкоформу и молекулу рибофлавина:



Лейкоформа под действием O_2 окисляется в рибофлавин [12]:



Кроме того, в крови протекает реакция восстановления метHb под действием лейкоформы и семихинонной форм рибофлавина с образованием окисленного рибофлавина. Цикличность протекания окислительно-восстановительных реакций с участием рибофлавина в присутствии органических свободных радикалов и O_2 или метHb позволяют предположить, что рибофлавин может выполнять роль антиоксиданта в животном организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атауллаханов Ф. И. Регуляция метаболизма в эритроцитах: Автореф. дис. ... д-ра физ.-мат. наук.— Пушкино, 1983.
2. Березовский В. М. Химия витаминов.— М., 1973.— С. 632.
3. Бердышев Г. Л. Ионизирующее излучение и витамины.— М., 1960.
4. Бреслоу Е. // Неорганическая биохимия: Пер. с англ.— М., 1978.— Т. 1.— С. 274—298.
5. Владимиров Ю. А. // Биофизика.— 1987.— Т. 32.— С. 830.
6. Заводник И. Б. Физико-химические свойства пируватдекарбоксилазы и ее субстрата в реакциях ферментативного и фотохимического декарбоксилирования: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Минск, 1985.
7. Игнатенко В. А., Коновалова Н. В., Степура И. И. и др. // Журн. физ. химии.— 1988.— Т. 62, № 9.— С. 2468—2476.
8. Колдин Е. Быстрые реакции в растворе.— М., 1966.
9. Кондрусев А. И., Спиричев В. Б., Чертков К. С., Рымаренко Т. В. // Хим.-фарм. журн.— 1990.— Т. 24, № 1.— С. 4—12.
10. Львов К. М., Бекмурзаев Б. М. // Биофизика.— 1990.— Т. 35, № 4.— С. 564—567.
11. Маргулис М. А. Звукохимические реакции и сополомисценции.— М., 1986.
12. Мецлер Д. Биохимия: Пер. с англ.— М., 1980.— Т. 2.— С. 606.
13. Мороз А. Р., Кондаков В. И., Степура И. И., Чайковская Н. А. // Биохимия.— 1987.— Т. 52, № 4.— С. 550—562.
14. Морозов Ю. В., Бажулина И. П. Электронное строение, спектроскопия и реакционная способность молекул. Нуклеиновые основания, витамины В₆ и их аналоги.— М., 1989.— С. 288.
15. Опарин Д. А., Степура И. И., Кондаков В. И. и др. // Химия природ. соединений.— 1985.— № 5.— С. 724—725.
16. Островский Ю. М. Активные центры и группировки в молекуле тиамин.— Минск, 1975.— С. 422.
17. Своллоу А. Радиационная химия: Пер. с англ.— М., 1976.
18. Степура И. И., Островский Ю. М. // Изв. АН БССР. Сер. биол.— 1974.— № 8.— С. 51—58.
19. Степура И. И., Кукреш М. И., Островский Ю. М. // Журн. физ. химии.— 1978.— № 12.— С. 3151—3154.
20. Степура И. И., Кукреш М. И. // Биофизика.— 1980.— Т. 25, № 1.— С. 360.
21. Степура И. И., Гайко Т. П., Опарин Д. А., Островский Ю. М. // Докл. АН БССР.— 1981.— Т. 21, № 6.— С. 565—567.
22. Степура И. И., Арцукевич А. Н., Островский Ю. М. // Биофизика.— 1981.— Т. 26, № 5.— С. 777—781.
23. Степура И. И., Солодунов А. А., Нефедов Л. И. // Молекул. биол.— 1982.— Т. 16, № 6.— С. 1284—1293.
24. Степура И. И., Митянок Н. В. // Биохимия.— 1983.— Т. 48, № 3.— С. 342—347.

25. Степура И. И., Солодунов А. А., Арцукевич А. И. // Молекул. биол.— 1984.— Т. 18, № 3.— С. 813—820.
26. Степура И. И., Солодунов А. А., Кукреш М. И. // Там же.— 1985.— Т. 19, № 5.— С. 1332—1337.
27. Степура И. И., Игнатенко В. А., Арцукевич А. И., Кукреш М. И. // Журн. физ. химии.— 1986.— № 10.— С. 2535—2539.
28. Степура И. И., Игнатенко В. А., Коновалова Н. В. // Там же.— 1988.— № 2.— С. 441—449.
29. Степура И. И., Опарин Д. А., Игнатенко В. А. и др. // Химия природ. соединений.— 1989.— № 4.— С. 585.
30. Степура И. И., Кашко М. Ф. // Биохимия.— 1988.— Т. 54, № 2.— С. 244—249.
31. Тицнов Л. А., Иванова В. А. // Вестн. АМН СССР.— 1988.— № 1.— С. 62—69.
32. Фут Х. // Свободные радикалы в биологии: Пер. с англ.— М., 1979.— Т. 2.— С. 96—150.
33. Фридович И. // Там же.— Т. 1.— С. 272—314.
34. Хаар Г. тер. Применение ультразвука в медицине.— Физические основы: Пер. с англ.— М., 1989.— С. 567.
35. Холм Р. Х. // Неорганическая биохимия / Под ред. Г. Эйхгорна: Пер. с англ.— М., 1978.— С. 599—633.
36. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов: Пер. с англ.— М., 1983.— С. 414.
37. Чайковская Н. А. Изменение физико-химических свойств сывороточного альбумина человека при его взаимодействии с глюкозой: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Минск, 1990.
38. Amez B. N., Cathcart R., Schwieters E., Hochstein P. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1981.— Vol. 78, N 11.— P. 6856—6862.
39. Baker M. S., Gebicki J. M. // Arch. Biochem.— 1984.— Vol. 234, N 1.— P. 258—264.
40. Bendlich A., Machlin L. I., Scandurra O. et al. // Advanc. Free Radical Biol. Med.— 1986.— Vol. 2.— P. 419—444.
41. Brawn K., Fridovich I. // Arch. Biochem.— 1981.— Vol. 206.— P. 414—419.
42. Butler L., Holy B. M., Swallow A. I. // FEBS Lett.— 1985.— Vol. 82, N 1.— P. 95—98.
43. Czapski G. // Israel J. Chem.— 1984.— Vol. 24.— P. 29—32.
44. Chambers D. E., Parks D. A., Patterson S. I. et al. // J. molec. cell. Cardiol.— 1985.— Vol. 17.— P. 145—152.
45. Freeman B. A., Crapo J. D. // Lab. Invest.— 1982.— Vol. 47.— P. 412—426.
46. Fridovich I. // Ann. Rev. Biochem.— 1975.— Vol. 44.— P. 147—159.
47. Gallo A. A., Hansen I. L., Sable H. Z. et al. // J. biol. Chem.— 1972.— Vol. 247, N 18.— P. 5913—5920.
48. Grande H. L., Houghten R. L., Veeger C. // Europ. J. Biochem.— 1973.— Vol. 37, N 3.— P. 563—569.
49. Halliwell B. // FEBS Lett.— 1978.— Vol. 92.— P. 321.
50. Halliwell B., Gutteridge I. M. // Biochem. J.— 1984.— Vol. 219.— P. 1—14.
51. Halliwell B. // Biochem. Pharmacol.— 1988.— Vol. 37, N 4.— P. 569—571.
52. Harel S., Kanner I. // Free Radical Res. Commun.— 1989.— Vol. 6, N 1.— P. 1—10.
53. Kawasaki C. J., Daira J. // Vitaminology.— 1963.— Vol. 9.— P. 264—269.
54. Kenjiro T., Midori A., Shinichiro V. et al. // J. Nutr. Sci. Vitaminol.— 1986.— Vol. 32, N 3.— P. 267—277.
55. Lanssac J., Sarcar P. // Biochemistry. (Wash.).— 1984.— Vol. 23, N 12.— P. 2832—2838.
56. Lovstad R. A. // J. Biochem.— 1984.— Vol. 16, N 2.— P. 155—159.
57. Makino K., Mossoba M. M., Riesz P. // J. phys. Chem.— 1983.— Vol. 87.— P. 1369—1377.
58. Ogo S., Foiesi A., Cashion R. et al. // J. biol. Chem.— 1989.— Vol. 264, N 19.— P. 11302—11306.
59. Pirisino R., Di Simplico P., Ignesti G. et al. // Pharmacol. Res. Commun.— 1988.— Vol. 20, N 7.— P. 545—552.
60. Reiber H. // Biochim. biophys. Acta.— 1972.— Vol. 279, N 2.— P. 310—315.
61. Rippa M., Sandro P. // Arch. Biochem.— 1969.— Vol. 133, N 1.— P. 112—118.
62. Singh A. // Canad. J. Physiol. Pharmacol.— 1982.— Vol. 60.— P. 1330—1345.
63. Slater T. F. // Biochem. J.— 1984.— Vol. 222.— P. 1—15.
64. Stewart J. M. // Biochem. Cell Biol.— 1990.— Vol. 68, N 9.— P. 1096—1102.
65. Tabak M., Zouro S., Wanderby R. // J. Magn. Reson.— 1985.— Vol. 62, N 3.— P. 370—377.
66. Uchida R., Kawakski S. // Agricult. biol. Chem.— 1988.— Vol. 52.— P. 1529—1535.

67. Utsumi J., Harada R., Kohno K. // J. Vitaminol.— 1963.— Vol. 9.— P. 50.
68. Utsumi J., Harada K., Kohno K. // Ibid.— 1964.— Vol. 10.— P. 9.
69. Watkins J. A., Kawasaki S., Canghey W. S. // Biochem. biophys. Res. Commun.— 1985.— Vol. 232.— P. 742.
70. Witherbourn C. C. // Chem. N. Z.— 1989.— Vol. 53, N 1.— P. 10—11.
71. Wittorf J. H., Gubler C. D. // Europ. J. Biochem.— 1971.— Vol. 22.— P. 544.

Поступила 08.08.91

© В. М. КОДЕНЦОВА, 1992

УДК 616.391-07:[616.634:577.16]-074

В. М. Коденцова

ЭКСКРЕЦИЯ С МОЧОЙ ВИТАМИНОВ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ КАК КРИТЕРИЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ВИТАМИНАМИ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Институт питания Российской академии медицинских наук, Москва

Определение экскреции с мочой витаминов (тиамин, рибофлавин) или продуктов их обмена (4-пиридоксидовая кислота — 4-ПК, 1-метилникотинамид) наряду с их концентрацией в крови широко используют в качестве биохимических показателей, отражающих обеспеченность организма соответствующими витаминами [7, 19]. В то же время многочисленные исследования свидетельствуют о существенных изменениях этих параметров при различных заболеваниях (сахарный диабет, анемии, хроническая почечная недостаточность, алкоголизм и др.) и физиологических состояниях (беременность, лактация, стресс и др.) [17—19, 25]. Это создает определенные сложности в трактовке получаемых данных и требует осторожного подхода при корректировке рационов людей, страдающих тем или иным заболеванием. Однако даже если исходить из предположения, что при массовых обследованиях мы в основном имеем дело с практически здоровыми людьми, то и в этом случае возникают некоторые трудности в трактовке получаемых данных. Это обусловлено существованием сложных межвитаминных взаимодействий в организме и прежде всего тем обстоятельством, что в метаболических превращениях тех или иных витаминов принимают участие ферменты, активность которых, в свою очередь, зависит от обеспеченности другими витаминами и (или) минеральными веществами, выступающими в роли коферментов или физиологических модификаторов. Именно этому вопросу посвящен наш обзор.

На рис. 1 представлена схема метаболизма пиридоксина [24]. Как следует из нее, в метаболических превращениях этого витамина участвуют по крайней мере два фермента, содержащих флавиновые коферменты и соответственно зависящих от витамина В₂. ФМН-зависимая пиридоксамин(пиридоксин)-фосфатоксидаза (КФ 1.4.3.5) (ПФО) катализирует превращение пиридоксамин(пиридоксин)-5-фосфата в пиридоксальфосфат (ПАЛФ) [16, 19]. Вторым ферментом метаболизма пиридоксина, зависимым от витамина В₂, является альдегидоксидаза (КФ 1.2.3.1), содержащая негемовое железо, молибден и ФАД в соот-

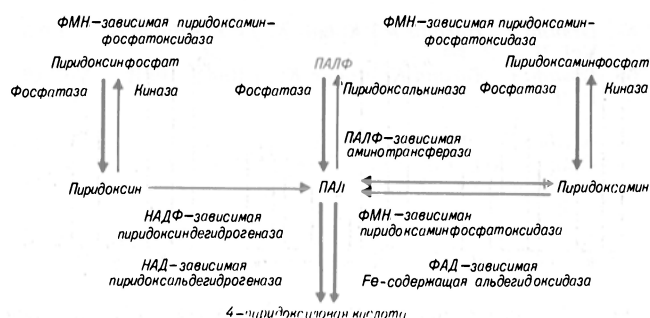


Рис. 1. Схема метаболизма пиридоксина.

ношении 4:1:1 [1, 18]. Этот фермент окисляет пиридоксаль (ПАЛ) до 4-ПК, экскретируемой с мочой. Как обнаружено в опытах с мутантными крысами, не имеющими альдегидоксидазы, эту реакцию катализирует также НАД-зависимая альдегиддегидрогеназа (КФ 1.2.1.4) [18]. В поддержании равновесия между ПАЛ и пиридоксамином принимают участие ФМН-зависимая ПФО и ПАЛФ-зависимые аминотрансферазы [пиридоксаминпируваттрансаминазы (КФ 2.6.1.30) и пиридоксоксалоацетаттрансаминазы (КФ 2.6.1.31)]. НАДФ-зависимая пиридоксин-4-дегидрогеназа (КФ 1.1.1.65) катализирует переход пиридоксина в ПАЛ.

На рис. 2 представлена схема окислительного метаболизма триптофана — предшественника никотинамидных коферментов. Первым ферментом этого метаболического пути является триптофан-2,3-диоксигеназа, содержащая 2 атом меди и 2 моля гема на 1 моль энзима (КФ 1.13.11.11). Для функционирования фермента необходимы либо ферро-, либо ферригем и Cu^+ [9]. Этот фермент лимитирует скорость всего процесса. Активность его регулируется концентрацией триптофана, НАДФН, гема, а синтез индуцируется глюкокортикоидными гормонами [12, 13]. Вторым ферментом, содержащим железо, является 3-гидроксиантранилатоксигеназа (КФ 1.13.11.11) [9].

Следующим лимитирующим скорость окислительного метаболизма триптофана участком явля-

ются два фермента: ФАД-зависимая кинуренин-3-монооксигеназа (КФ 1.14.13.9), использующая в качестве одного из субстратов НАДФН, гидроксилирующая кинуренин, и ПАЛФ-зависимая кинурениназа (КФ 3.7.1.3), катализирующая расщепление как кинуренина, так и 3-гидроксикинурина до антраниловой и 3-гидроксиантраниловой кислот соответственно [9, 13, 31]. В ходе переаминирования, катализируемого ПАЛФ-зависимой кинуренинаминотрансферазой (КФ 2.6.1.7), и последующего замыкания кольца из кинуренина и 3-гидроксикинурина образуются кинуреновая и ксантуреновая кислоты, экскреция которых с мочой сильно возрастает при увеличении активности триптофан-2,3-диоксигеназы.

Таким образом, триптофан является предшественником НАД и НАДФ. В связи с тем что 99 % поступившего в организм триптофана метаболизируют по кинурениновому пути, мнение о том, что «нормальным» предшественником никотинамидных коферментов является ниацин, поступающий с пищей, пересматривается. Накапливается все больше доказательств, что в нормальных условиях триптофан может быть более важным предшественником никотинамидных коферментов [13]. В частности, при многих патологических состояниях и приеме лекарственных средств, нарушающих метаболизм триптофана, несмотря на адекватное поступление ниацина, наблюдаются признаки недостаточности этого витамина [13]. По данным нашей лаборатории, пребывание крыс на рационе, содержащем 9 % казеина и лишенном никотиновой кислоты, приводило к снижению суточной экскреции 1-метилникотинамида (1-МНА) лишь на 25 %, при этом содержание окисленных и восстановленных коферментов в эритроцитах, печени и мозгу не изменялось.

Катаболизм НАД и НАДФ осуществляется посредством НАДФ- (КФ 3.2.2.6) и НАД-нуклеозидаз (КФ 3.2.2.5) и поли-АДФ-рибозосинтетазой [13]. Освобожденный никотинамид может использоваться для синтеза нуклеотидов, но большая его часть метилируется и экскретируется в виде 1-МНА. Экскреция этого соединения используется в качестве показателя обеспеченности ниацином. 1-МНА может подвергаться окислению до 1-метил-2-пиридон-5-карбоксиамида и 1-метил-4-пиридон-5-карбоксиамида, также экскретируемых с мочой [13, 18]. Катализирует эти реакции наряду с окислением ПАЛ, ФАД-зависимая железосодержащая альдегидоксидаза. Этот фермент активируется андрогенами, активность его у самцов в 2—3 раза выше, чем у самок [18].

Учитывая рассмотренные метаболические пути и обусловленные ими взаимосвязи, в ходе дальнейшего рассмотрения мы остановимся более подробно на изменениях метаболизма витамина B_6 и триптофана (последнего как источника НАД) при недостаточности витаминов B_2 , B_6 и железа.

Влияние алиментарной недостаточности рибофлавина на обмен пиридоксина у животных и человека изучено сравнительно хорошо. Установлено, что активность ПФО, являющейся ключевым ферментом обмена пиридоксина, сильно снижается при дефиците витамина B_2 практически во всех тканях крыс (в печени на 85 %, в почках и мозге на 50 %) [28, 29]. При этом активность ПФО и степень ее стимуляции экзогенным ФМН в эрит-

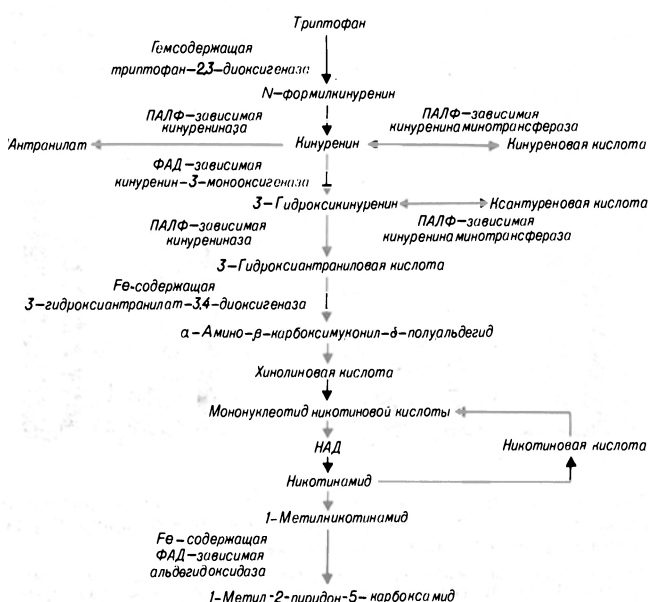


Рис. 2. Схема окислительного метаболизма триптофана.

роцитах хорошо коррелируют с величиной ФАД-эффекта, что позволяет использовать их в качестве специфического и чувствительного показателя рибофлавинового статуса [28]. Имеются также сведения об уменьшении концентрации пиридоксальных коферментов в крови, печени и тканях мозга в зависимости от времени пребывания животных на рационе, лишенном витамина В₂ [6, 15, 21, 22, 26, 27]. Сходные тенденции обнаружены и у людей с недостаточностью рибофлавина [6, 23]. При приеме рибофлавина скорость превращения инъектированного пиридоксина в ПАЛФ в эритроцитах, сниженная у людей с гиповитаминозом В₂, восстанавливается [11, 23, 27]. При этом отмечено увеличение концентрации некоторых ПАЛФ-содержащих апобелков, что может объясняться перераспределением ПАЛФ между ферментами и тем самым стимулировать одни и снижать другие ПАЛФ-зависимые процессы [14, 22]. При обследовании детей, больных серповидноклеточной анемией, обнаружена прямая корреляция между величинами ФАД- и ПАЛФ-эффектов [10].

В нашей лаборатории было показано, что алиментарный дефицит рибофлавина у растущих крыс-самцов приводил к существенному (на 50 %) уменьшению суточной экскреции с мочой 4-ПК (рис. 3). При умеренном дефиците железа в рационе этот показатель снижался на 39 %. Сочетанная недостаточность рибофлавина и железа приводила к снижению выделения 4-ПК на 57 %. Отсутствие аддитивности в данном случае позволило заключить, что механизм нарушения метаболизма витамина В₆ при недостаточности как рибофлавина, так и железа одинаков и, по-видимому, является в первую очередь результатом снижения активности ФАД-зависимой альдегидоксидазы, содержащей негемовое железо (см. рис. 2). Снижение окисления ПАЛ до 4-ПК при недостаточности рибофлавина, вероятно, может иметь компенсаторное значение для поддержания постоянной концентрации ПАЛ в крови, синтез которого может нарушаться за счет торможения ФМН-зависимой ПФО. Сохранение экскреции 4-ПК при дефиците обоих этих нутриентов на уровне 43 % от контрольной группы, по-видимому, определяется не только глубиной их дефицита, но и тем, что реакция окисления ПАЛ до 4-ПК может катализироваться НАД-зависимой альдегиддегидрогеназой (см. рис. 1).

Следует подчеркнуть, что снижение выделения 4-ПК при дефиците витамина В₂ происходило при нормальном содержании в рационе крыс пиридоксина. В то же время сходное (на 62 %) уменьшение экскреции 4-ПК наблюдалось при истинном алиментарном дефиците пиридоксина, развивающемся в течение месяца [3]. Экскреция 4-ПК с мочой не всегда отражает недостаточную обеспеченность организма витамином В₆ алиментарного происхождения; для однозначной его трактовки необходимо контролировать как минимум два параметра, отражающих обеспеченность организма железом и рибофлавином.

Экскреция 1-МНА имела сложную зависимость от обеспеченности организма рибофлавином, железом и витамином В₆, алиментарный дефицит которых приводил к снижению этого параметра на 75, 63 и 50 % соответственно. Уменьшение

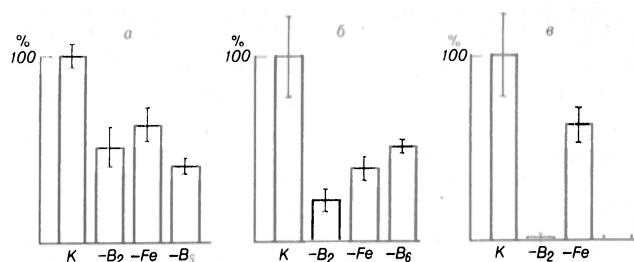


Рис. 3. Экскреция 4-ПК (а), 1-МНА (б) и рибофлавина (в) при различной обеспеченности растущих крыс витаминами и железом.

За 100 % (К) принята экскреция при нормальной обеспеченности всеми витаминами. — В₂ — лишение животных в течение месяца рибофлавина, — В₆ — пиридоксина, — Fe — железа.

экскреции 1-МНА при дефиците витамина В₆, по-видимому, является следствием снижения активности кинурениназы (см. рис. 2). Известно, что даже нагрузочные дозы триптофана при В₆-гиповитаминозе не сопровождаются увеличением экскреции 1-МНА [1, 13]. В случае недостаточности рибофлавина уменьшение экскреции 1-МНА можно объяснить снижением активности ФАД-зависимой кинуренин-3-монооксигеназы и (или) снижением активности ПАЛФ-зависимой кинурениназы вследствие возникновения сопутствующего, вторичного дефицита витамина В₆ при дефиците рибофлавина (см. рис. 2). Подтверждением первого предположения служат данные об увеличении при дефиците рибофлавина экскреции антралиновой и ксантуреновой кислот [19], что свидетельствует о высокой активности ПАЛФ-зависимой аминотрансферазы, поскольку сродство ее к ПАЛФ значительно ниже, чем у кинурениназы [2].

При дефиците железа снижение экскреции 1-МНА можно объяснить потерей активности железосодержащей 3-гидроксиантралилатоксигеназы и триптофан-2,3-диоксигеназы (см. рис. 2). При сочетанной недостаточности рибофлавина и железа наблюдалось некоторое увеличение экскреции этого метаболита по сравнению с его выделением при недостаточности одного рибофлавина, что может быть обусловлено снижением дальнейшего окисления 1-МНА до 1-метил-2-пиридон-4-карбоксамида, так как эта реакция катализиру-

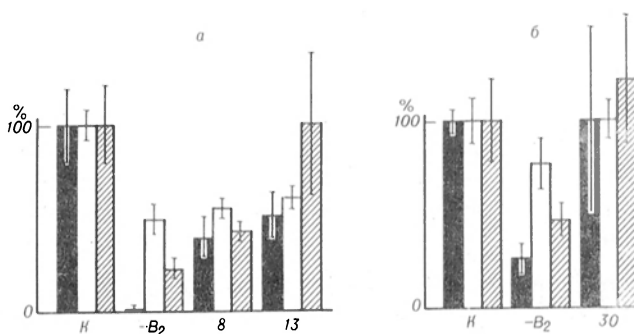


Рис. 4. Восстановление экскреции витаминов у растущих крыс (а) и женщин (б) с дефицитом рибофлавина в различные сроки его включения в рацион.

Темные столбики — рибофлавин, светлые — 4-ПК, заштрихованные — 1-МНА. За 100 % (К) принята экскреция витамина в соответствующий срок у группы, обеспеченной рибофлавином. А: — В₂ — лишение животных в течение месяца рибофлавина, 8 и 13 — срок (сутки) введения этого витамина в рацион; Б: — В₂ — женщины с низкой обеспеченностью рибофлавином, 30 — срок (сутки) дополнительного включения в их рацион рибофлавина.

ется ФАД-зависимой гемсодержащей альдегидоксидазой.

Включение рибофлавина в рацион животных, лишенных этого витамина, приводило в течение 8 и 13 сут к заметному увеличению экскреции рибофлавина, 4-ПК и 1-МНА (рис. 4). При этом к 13-му дню пребывания на полноценном рационе наблюдалось полное восстановление экскреции 1-МНА, тогда как выведение рибофлавина и 4-ПК продолжало оставаться сниженным на 48 и 39 % соответственно. Неполное восстановление экскреции рибофлавина, по-видимому, обусловлено тем, что насыщение ФАД- и ФМН-зависимых ферментов необходимыми им коферментами — процесс сложный и длительный и пока он не завершится, выведение рибофлавина остается сниженным. Более медленное восстановление выделения с мочой 4-ПК по сравнению с экскрецией 1-МНА, очевидно, обусловлено неодинаковой скоростью восстановления активности ФАД-зависимых ферментов, участвующих в обмене пиридоксина и ниацина, в процессе восполнения дефицита рибофлавина в организме лишенных этого витамина животных.

Таким образом, приведенные данные наглядно демонстрируют, что экскреция с мочой 4-ПК и 1-МНА не всегда является следствием недостаточного поступления соответствующего витамина с пищей, так как в данном случае причиной уменьшения экскреции была недостаточность рибофлавина и (или) железа.

Дальнейшее подтверждение этого вывода было получено при обследовании витаминной обеспеченности группы женщин, страдающих гипертонической болезнью и ожирением. У женщин с низкой обеспеченностью рибофлавином (экскреция патошак меньше 8,5 мкг/ч, ФАД-эффект больше 1,2) экскреция 4-ПК и 1-МНА была достоверно снижена по сравнению с таковой у женщин, адекватно обеспеченных витамином В₂ (экскреция рибофлавина больше 14 мкг/ч, ФАД-эффект меньше 1,1), и была ниже величин, соответствующих нормальной обеспеченности человека этими витаминами (см. рис. 4). Это снижение можно было расценить как свидетельство дефицита ниацина и витамина В₆, однако концентрация НАД+НАДФ в эритроцитах и ПАЛ+ПАЛФ в плазме крови этих женщин соответствовала норме. Включение в рацион обследуемых женщин в течение месяца взамен пшеничного хлеба витаминизированной булочки «Здоровье», содержащей 0,46 мг тиамина, 0,46 мг рибофлавина, 2,33 мг ниацина и 1,12 мг пиридоксина, приводило к улучшению обеспеченности их всеми витаминами в обеих группах. При этом экскреция рибофлавина, 4-ПК и 1-МНА в обеих группах находилась в пределах нормальных величин и не различалась между собой.

Подтверждение зависимости экскреции 1-МНА и 4-ПК от рибофлавинового статуса организма было получено и при обследовании 32 практически здоровых женщин. Корреляция между концентрацией НАД+НАДФ в эритроцитах и экскрецией 1-МНА обнаруживается только при нормальной обеспеченности организма рибофлавином (коэффициент ранговой корреляции по Спирмену $r=0,404$; $n=17$).

Аналогичная закономерность выявлена при

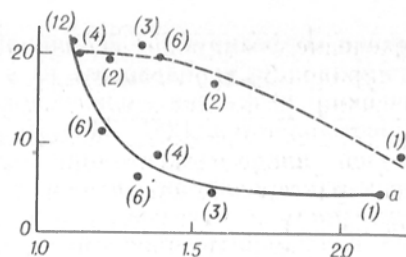


Рис. 5. Корреляция между часовой экскрецией рибофлавина с мочой и величиной ФАД-эффекта.

По оси абсцисс — величина ФАД-эффекта; по оси ординат — экскреция рибофлавина, мкг. а — экскреция рибофлавина, определенная методом титрования рибофлавинызывающим анопелком; б — экскреция рибофлавина, измеренная щелочным методом.

установлении зависимости между содержанием ПАЛ+ПАЛФ в крови и экскрецией 4-ПК. Корреляция между этими показателями ($r=0,792$; $n=8$) обнаруживается только у женщин, обеспеченных рибофлавином.

Таким образом, экспериментальные и клинические данные свидетельствуют о том, что снижение экскреции 4-ПК и 1-МНА не всегда можно рассматривать как свидетельство недостаточной обеспеченности организма витамином В₆ и ниацином алиментарного происхождения, поскольку это снижение может быть следствием дефицита рибофлавина или железа. Хотя при этом в результате нарушения превращения пиридоксина в ПАЛ и эндогенного синтеза ниацина из триптофана в организме возникает реальный дефицит витамина В₆ или ниацина, однако этот дефицит обусловлен не недостаточным поступлением указанных витаминов с пищей, а нарушением их обмена вследствие первичного дефицита рибофлавина и (или) железа.

Развитие вторичной недостаточности витамина В₆ и ниацина при алиментарном дефиците рибофлавина может являться, по мнению ряда авторов [2, 4, 8], одной из причин того, что недостаточность этих витаминов у человека в изолированном (чистом) виде практически не встречается и, как правило, носит характер сочетанного полигиповитаминоза.

Несоответствие между экскрецией 4-ПК и 1-МНА и обеспеченностью организма витамином В₆ и ниацином при дефиците рибофлавина накладывает определенное ограничение на использование этих показателей в качестве критериев адекватного поступления данных витаминов с пищей. Ошибок в диагностике алиментарного дефицита витамина В₆ и ниацина по величине экскреции их метаболитов можно избежать, используя ряд подходов.

Об алиментарном дефиците этих витаминов можно, очевидно, говорить лишь в том случае, когда снижение экскреции 4-ПК или 1-МНА обнаруживается на фоне нормальной экскреции рибофлавина, свидетельствующей о достаточном обеспечении организма витамином В₂. Во-вторых, можно определять содержание коферментных форм витаминов В₆ и РР в крови и экскрецию метаболитов этих витаминов с мочой. Одновременное снижение этих показателей в крови и моче можно рассматривать как признак первичного алиментарного дефицита. В-третьих, в случае ниацина, по-видимому, разумным является одновре-

менное определение суммарной экскреции 1-МНА и 1-метил-2-пиридон-5-карбоксамида и соотношения этих величин [20]. Поскольку образование пиридона катализируется ФАД-зависимым и железосодержащей альдегидоксидазой, последнее соотношение характеризует обеспеченность организма рибофлавином и железом.

В связи с изложенным проблема выявления дефицита рибофлавина приобретает особое значение. Сравнение методов определения рибофлавина в моче [5] показало полное совпадение таких высокоспецифичных методов, как ВЭЖХ и титрование с помощью рибофлавинсвязывающего апобелка [30] ($r=0,93$, различия не превышают 5 %). Широко применяемый метод с разрушением рибофлавина щелочью [7] или способ, основанный на гашении флюоресценции рибофлавина дитионитом [28], в силу низкой специфичности дает завышенные на 26–33 % результаты, особенно в области низких концентраций рибофлавина [5]. В ряде случаев это делает невозможным выявление недостаточности рибофлавина (рис. 5). При определении концентрации рибофлавина в моче с помощью рибофлавинсвязывающего апобелка обнаруживается четкая корреляция между величиной ФАД-эффекта и экскрецией рибофлавина ($r=-0,435$; $n=32$) и полное ее отсутствие при определении рибофлавина щелочным методом.

Удобным и простым способом выявления дефицита рибофлавина может служить разработанный в нашей лаборатории метод определения свободного рибофлавина в плазме или сыворотке крови с помощью рибофлавинсвязывающего апобелка. Установлена корреляция между величинами ФАД-эффекта и экскрецией рибофлавина с мочой, а также содержанием общего рибофлавина в плазме и экскрецией его с мочой. На основании этого и соответствия величин нижних границ, характерных для нормальной обеспеченности организма витамином, сделан вывод о полной взаимозаменяемости указанных методов, что позволяет рекомендовать их использование для выявления дефицита рибофлавина. Выявление последнего позволит сделать более корректное заключение об обеспеченности организма другими витаминами на основании экскреции самих витаминов и (или) продуктов их метаболизма с мочой.

Выражаем благодарность проф. В. Б. Спиричеву за плодотворное обсуждение и ценные замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Букин Ю. В. Биосинтез коферментных форм витамина В₆ и фолиевой кислоты, его регуляция и физиологическое значение: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук.— М., 1975.
2. Витамины.— М., 1974.
3. Глинка Е. Ю., Сокольников А. А., Коденцова В. М. // Вопр. мед. химии.— 1989.— № 2.— С. 52—59.
4. Ефремов В. В., Берулава И. Т. // Вопр. питания.— 1956.— № 5.— С. 26—30.
5. Коденцова В. М., Алексеева И. А., Сокольников А. А. и др. // Там же.— 1991.— № 2.— С. 30—32.
6. Межвитаминные отношения при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни.— Минск, 1988.
7. Методы оценки обеспеченности населения витаминами.— Т. 8.— М., 1987.
8. Основы биохимии / Уайт Л., Хендлер Ф., Смит Э. и др.— М., 1981.
9. Потребность человека в витаминах.— М., 1966.

10. Adelekan D. A., Adekile A. D., Thurnham D. I. // Amer. J. clin. Nutr.— 1987.— Vol. 46, N 1.— P. 86—90.
11. Anderson B. B., Saary M., Stephens M. D. et al. // Nature.— 1976.— Vol. 264.— P. 574—575.
12. Badawy A. A.-B., Evans M. // Biochem. J.— 1975.— Vol. 150.— P. 511—520.
13. Bender D. A., Bender A. E. // Nutr. Abstr. Rev. (Ser. A).— 1986.— Vol. 56, N 10.— P. 695—719.
14. Chatterjee A. K., Ghosh B. B. // Endokrinologie.— 1970.— Bd 56.— S. 218—221.
15. Chatterjee A. K., Jamdar S. C., Ghosh B. B. // Experientia (Basel).— 1966.— Vol. 22.— P. 794—797.
16. Clements J. E., Anderson B. B. // Biochim. biophys. Acta.— 1980.— Vol. 613.— P. 401—409.
17. Donald E. A. // Vitamin B₆ Pyridoxal Phosphate: Chemical Biochemical and Medical Spectrs.— New York, 1986.— Pt B.— P. 477—505.
18. Ebadi M. // Ibid.— P. 449—476.
19. Handbook of Vitamins.— New York, 1984.
20. Jacob R. A., Swendseid M. E., McKee R. W. et al. // J. Nutr.— 1989.— Vol. 119.— P. 591—598.
21. Lakshmi A. V., Ramji M. S. // Brit. J. Nutr.— 1974.— Vol. 32.— P. 249—255.
22. Lakshmi A. V., Bamji M. S. // Indian J. Biochem. Biophys.— 1975.— Vol. 12.— P. 136—138.
23. Lakshmi A. V., Bamji M. S. // Nutr. Metabol.— 1976.— Vol. 20.— P. 228—233.
24. McCormick D. B. // Physiol. Rev.— 1989.— Vol. 69, N 4.— P. 1170—1198.
25. McCoy E. E. // Vitamin B₆ Pyridoxal Phosphate: Chemical, Biochemical and Medical Aspects.— New York, 1986.— P. 573—600.
26. Nakahara I., Morino Y., Morisue T., Sakamoto Y. // J. Biochem.— 1961.— Vol. 49.— P. 339—345.
27. Perry G. M., Anderson B. B., Dodd N. // Biomedicine.— 1980.— Vol. 32.— P. 36—38.
28. Rasmussen K. M., Barsa P. M., McCormick D. B. // Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.).— 1979.— Vol. 161.— P. 527—530.
29. Sauberlich H. E. // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1980.— Vol. 355.— P. 88—97.
30. Tillotson J. A., Bashor M. M. // Analyt. Biochem.— 1980.— Vol. 107, N 1.— P. 214—219.
31. Tryfates G. P. // Vitamin B₆ Pyridoxal Phosphate: Chemical Biochemical and Medical Aspects.— New York, 1986.— Pt B.— P. 421—447.

Поступила 08.08.91

© В. М. БОРЕЦ, 1992

УДК 616.127-005.4-07:[616.154:577.16]

В. М. Борец

МЕТАБОЛИЗМ ВИТАМИНОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Гродненский медицинский институт

Исследования, посвященные изучению обмена витаминов у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), немногочисленны [2, 12, 13, 16]. Нет единого представления о метаболизме витаминов у больных ИБС. С одной стороны, это обусловлено отсутствием единых достоверных критериев, позволяющих определить степень нарушения обеспеченности витаминами в клинических условиях и трудностью методик исследования, с другой — неодинаковым состоянием внешней и внутренней среды организма в различных регионах страны.

Согласно нашим наблюдениям, только по результатам комплексного определения уровня витаминов в крови и моче с учетом информации о поступлении их в организм можно судить о степени нарушения обеспеченности витаминами больных [3], причем наиболее ранним показателем

нарушения обеспеченности организма витамином служит изменение его выделения с мочой. Для выявления нарушений в процессах всасывания витамина достаточно использовать метод нагрузкой им в одинаковой допороговой дозе (в двух однотипных по пазологической форме группах больных), введенной больным одной группы перорально, а второй — парентерально, или использовать группу здоровых лиц и одну группу больных с пероральным применением витамина. Отсутствие разницы в содержании витамина в моче больных сравниваемых групп в динамике исключает нарушение всасывания витамина в кишечнике.

В клинической практике достаточно информативным является изменение содержания витаминов в цельной крови, что особенно удобно для динамического наблюдения с помощью экспресс-микрометода. Этот показатель можно использовать и в тех случаях, когда возникают спорные вопросы при трактовке данных об изменении поступления витаминов в организм и выведения их с мочой. Более достоверно в этом плане определение содержания витаминов в эритроцитах и плазме крови, по величине которого можно судить о характере взаимоотношений между процессами транспорта витаминов и их депонирования в клетках крови. Концентрация витаминов в лейкоцитах отражает их непосредственное содержание в тканях, в связи с чем снижение его свидетельствует о развитии существенного дефицита витаминов.

Для выяснения механизма нарушений обеспеченности организма витаминами необходимо определение содержания коферментных форм и других производных витаминов, а также продуктов их катаболизма, что позволит раскрыть причину изменений их уровня в тканях в связи с нарушением процессов синтеза или деградации витаминов.

Следует поставить под сомнение диагностическую ценность таких показателей, как количество субстратов и продуктов реакции, в которых участвуют витаминсодержащие ферменты, и активность самих витаминзависимых энзимов. Определение их у больных людей или животных не даст объективной оценки обеспеченности организма соответствующими витаминами, так как их количество или активность представляют собой результат сложной многофакторной регуляции, изменение которой чаще всего обусловлено патологическим процессом. Недостаточно информативны и методы дополнительной активации фермента при добавлении *in vitro* соответствующего коэнзима, так как они в большей степени отражают только насыщение коферментом и служат косвенным свидетельством биосинтеза фермента.

Представленные нами соображения о критериях обеспеченности организма витаминами приемлемы не только для клинической практики, но и для экспериментальной патологии, моделируемой на животных. Однако в данном случае появляется возможность непосредственного изучения содержания витаминов в тканях, что поможет более объективно оценивать его величину на тканевом или органном уровне.

В настоящее время при изучении взаимоотношений витаминов необходим унифицированный выбор методов их тестирования. С целью прове-

дения сравнительного анализа следует использовать только специфические методы, в то время как косвенные или неспецифические неприемлемы.

Среди специфических методов самыми важными являются способы определения уровня общего витамина, его активных форм, например коферментов, связанных или свободных форм в тканях и крови. Наиболее быстрые в осуществлении и достаточно воспроизводимые методы химического анализа — колориметрические, спектрофотометрические или флюориметрические. Однако если чувствительность химического метода уступает микробиологическому, то последнему следует отдать предпочтение.

Наиболее высокой точности при исследовании содержания витаминов или их производных удастся достичь только с помощью использования нескольких методов одновременно. Достаточно высокой специфичностью характеризуются ферментативные способы определения коферментов.

На наш взгляд, из косвенных методов оценки недостаточности витаминов в современных исследованиях допустимо определение активности витаминзависимых ферментов (например, транскетолазы, дегидрогеназы, аминотрансферазы и др.).

Перед клинической витаминологией назрела необходимость решения ряда задач, связанных с изучением не только коферментного (специфического), но и неспецифического действия витаминов, выяснением межвитаминных отношений, особенно при моновитаминном воздействии, определением максимально действующих доз витаминов и показаний к моновитаминотерапии, длительности применения, поиском путей коррекции обмена витаминов при проявлении, помимо положительных, и нежелательных эффектов, разработкой новых эффективных препаратов, подобранных и апробированных с учетом взаимоотношений витаминов [8].

Современные данные убедительно доказали наличие патогенетической зависимости между недостаточностью витаминов и возникновением, а также прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний, в частности атеросклероза, ИБС и гипертонической болезни. Возникающая в процессе развития витаминная недостаточность замыкает порочный круг нарушения обмена веществ, дезорганизуя витаминзависимые биохимические реакции в организме больных с последующим изменением и усугублением функций тканей и органов.

Витамины как достаточно сильные метаболические препараты следует использовать для коррекции обмена веществ у больных ИБС с учетом специфического и неспецифического действия. Однако эффективность витаминотерапии зависит от дозы витаминов и характера межвитаминных отношений [8]. Использование в клинике избыточных доз витаминов и продолжительное их введение могут усилить недостаточность другого витамина и даже спровоцировать ее, а также привести к другим нежелательным побочным проявлениям, усугубляющим течение заболевания.

Основными предпосылками для витаминотерапии атеросклероза, ИБС и гипертонической болезни являются следующие: дефицит ряда витаминов в организме, повышенная потребность в них, усугубляющаяся в период обострения заболевания (при учащении приступов стенокардии, развитии

инфаркта миокарда, гипертонических кризов); нарушение липидного и белкового обмена (появление диспротеинемии, грубодисперсных белков), активация перекисного окисления липидов, повышение коагулирующих свойств крови; изменение активности витаминсодержащих ферментов, ведущее к нарушению аэробного, анаэробного гликолиза (гликогенолиза), цикла три- и дикарбоновых кислот с накоплением в организме недоокисленных продуктов, таких, как пировиноградная и молочная кислоты; снижение сократительной функции миокарда, нарушение эластичности артерий с нарастанием их локального или диффузного сужения, появлением ишемии миокарда и других органов.

В результате проведенных комплексных исследований у больных ИБС без артериальной гипертензии и в сочетании с ней был выявлен дефицит рибофлавина у 53 % обследованных больных, усугубляющийся при начальной стадии сердечной недостаточности (НССН) и составляющий 61 %. В₆-гиповитаминоз установлен у 84 % пациентов. Показатели, характеризующие обмен пиридоксина, достоверно не отличались у больных ИБС с НССН. РР-витаминная недостаточность выявлена у 98 % больных, увеличивающаяся при НССН. С-гиповитаминоз и гиповитаминоз пантотеновой кислоты, усугубляющиеся значительно при НССН, обнаружены у 100 % больных. Определялись особенности обмена тиамина, проявляющиеся повышением активности тиаминсодержащих ферментов, указывающих на нарушение фосфорилирования его при отсутствии выраженных изменений обеспеченности больных этим витамином. Эти изменения наиболее выражены у больных стенокардией напряжения II—III функциональных классов, прогрессирующей и спонтанной стенокардией и гипертонической болезнью II—III стадии, протекающих с кризами. Наряду с нарушениями метаболизма вышеуказанных витаминов выявлены изменения и других видов обмена, в частности липидного, углеводного, белкового, ферментативной и коагулирующей активности крови.

Изучение активности ряда ключевых витаминзависимых ферментов пентозофосфатного цикла (ПФЦ), гликолиза, цикла лимонной кислоты, находящихся в точках взаимосвязи углеводного с другими видами обмена, а также мембранно-связанных ферментов, в частности АТФазы, показали значительные отклонения.

Наши исследования и результаты экспериментальных работ других авторов свидетельствуют, что нарушение процессов аэробного окисления веществ при атеросклерозе, ишемической и гипертонической болезни связано с торможением активности двух витаминзависимых энзимов — пируватдегидрогеназы (ПДГ) и кетоглутаратдегидрогеназы (КГДГ), для обеспечения нормальной работы которых необходимо сразу 5 коферментов: тиаминдифосфат (ТДФ), флавинадениндинуклеотид, кофермент А (КоА), никотинамиддинуклеотид (НАД), никотинамиддинуклеотидфосфат (НАДФ) и липоат. Было показано, что прогрессирование ИБС и гипертонической болезни сопровождается уменьшением количества данных коферментов в организме больных. При этом выявлено снижение активности ключевых ферментов (играющих зна-

чительную роль не только в синтетических и пластических процессах, но и в субстратной разгрузке гликолиза, особенно, при аварийных метаболических ситуациях) пентозофосфатного цикла — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и транскетолазы. В коферментной регуляции Г-6-ФДГ и транскетолазы участвуют те же два витаминных коэнзима — НАД и ТДФ. Учитывая высокую чувствительность ферментов ПДГ и КГДГ к недостатку коферментных форм витаминов В₁, В₂, В₃, РР и N, а также Г-6-ФДГ и транскетолазы к дефициту В₁ и РР, следует считать перспективным одновременное использование данных витаминов для устранения нарушений активности энзимов.

Эти нарушения, по всей вероятности, обуславливаются наличием дефицита значительного ряда витаминов, а также гормональными сдвигами [14], наблюдающимися при ИБС и гипертонической болезни.

По активности ферментов в лейкоцитах и эритроцитах можно судить о скорости течения соответствующих процессов метаболизма в тканях. У больных ИБС с гиперлипидемией и гиперлипопротеидемией наблюдается повышение активности окислительного пути ПФЦ.

Параллельное исследование содержания неэтерифицированных жирных кислот показало наличие высокого уровня жирных кислот в плазме крови больных. Падение активности КГДГ в лимонном цикле препятствует окислению ацетил-КоА, который ресинтезируется в жирные кислоты и холестерин. Надо полагать, что рост концентрации холестерина и триглицеридов усиливает в свою очередь субстратную нагрузку на процесс образования β- и пре-β-липопротеинов, нарушая при этом липидный состав последних. Именно этот комплекс биохимических нарушений отмечался нами у больных ИБС. Наши выводы подтверждаются тем, что у больных ИБС резко повышается в крови уровень липидсодержащих лейкоцитов [15], а также результатами исследования влияния нагрузки глюкозой на показатели липидного обмена у больных ИБС. Нагрузка глюкозой у большинства больных ИБС приводит к повышению уровня холестерина и триглицеридов в крови. Аналогичные данные получены и другими авторами [1].

При ИБС происходит интенсификация процессов свободнорадикального окисления липидов. При этом было установлено, что в основе активации липопереокисления лежит обусловленное дефицитом витаминов торможение антиоксидантной защиты тканей. Значительное нарушение этих процессов наблюдается при нестабильной стенокардии, прединфарктном состоянии и максимальное — при инфаркте миокарда [11]. В то же время антиоксидантная активность и интенсивность перекисного окисления липидов снижались в период гипертонических кризов [11], что четко коррелирует с обеднением организма витаминами в кризовые периоды [5].

Недостаток коферментных витаминов отражается существенным образом на функциональном состоянии артериальной стенки, так как основные энергетические и пластические процессы интимальных и мышечных клеток, а также межклеточного вещества катализируются многими кофер-

ментами витаминного происхождения [17]. Поэтому нарушение обмена веществ в артериальной стенке вследствие дефицита одного или нескольких коферментных витаминов может привести к изменению ее структуры и функции, повышению проницаемости и снижению стабильности оболочек.

Получены данные, свидетельствующие о возможности атерогенного действия недоокисленных продуктов метаболизма, накопление которых наблюдается при недостатке некоторых коферментов. Так, торможение активности ПДГ вследствие дефицита витаминов B_1 , B_2 , B_3 , РР и липоата приводит к повышению уровня пирувата и лактата, нарушает равновесие в обмене триозофосфатов в сторону их накопления, что, по-видимому, и создает избыток субстратов в синтезе липидов. Экспериментально доказано, что длительное избыточное накопление недоокисленных продуктов сопровождается повышением содержания липидов и развитием атеросклеротического процесса [10]. При длительном стенокардитическом приступе или гипертоническом кризе эти метаболические нарушения носят временный, но выраженный характер, достаточный, чтобы отложить патологический след в миокарде или артериальной стенке. При стационарном варианте метаболической дисфункции в условиях увеличения степени тяжести коронарной недостаточности или стабилизации артериальной гипертензии эти нарушения менее выражены благодаря некоторым компенсаторным механизмам, но они стойкие и длительные. Параллельно возрастанию липоперекисей отмечается снижение окисленных ($\text{НАД} + \text{НАДФ}$) и увеличение восстановленных ($\text{НАД} \cdot \text{H}_2 + \text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$) пиридиннуклеотидов в эритроцитах, что ведет к уменьшению окислительно-восстановительного коэффициента. Присоединение НССН усугубляет нарушение окислительно-восстановительных процессов.

Таким образом, отмечен параллелизм между проявлением ишемических нарушений и витаминной недостаточностью.

Благодаря интенсивным клиническим исследованиям роль дефицита витаминов в атерогенезе получает свое практическое подтверждение [7, 12]. Так, нарушение обмена витаминов в организме больных атеросклерозом сопровождается полигиповитаминозом, а также снижением антиокислительной активности и повышением уровня липоперекисей в крови и артериальной стенке. Одновременно со снижением содержания витаминов и антиокислительной активности в крови у людей в зимне-весенний период активируется липоперекисление и учащаются клинические обострения атеросклероза в этот же сезон, особенно стенокардии и инфаркта миокарда.

Наши многолетние исследования позволили установить максимально действующие дозы большинства водорастворимых витаминов [8]. При этом было показано, что раздельное применение витаминов может быть рекомендовано на ранних стадиях ИБС и гипертонической болезни, а на более поздних с частыми приступами стенокардии, гипертоническими кризами, при проявлении сердечной недостаточности моновитаминотерапия менее эффективна. Это обусловлено не только вы-

раженностью обменных процессов в организме больного, но и развитием полигиповитаминоза.

Моноотерапия может проводиться только теми витаминами, которые не оказывают антагонистического действия друг на друга. Это касается витаминов B_2 , B_3 , B_{12} , Н и С, назначаемых в терапевтических дозах.

При ИБС и гипертонической болезни, сопровождающихся гиповитаминозом, при раздельном применении лечебных доз витаминов B_1 , B_6 , РР, B_{15} и липоата необходима их коррекция.

В условиях гиповитаминозных состояний при моновитаминотерапии конкурентные и взаимоконкурентные отношения не могут быть устранены дополнительным приемом изгоняемых витаминов, поскольку нарушаются процессы их ассимиляции.

Нами апробирован новый способ коррекции обеспеченности организма витаминами путем сочетанного назначения витамина с тем витамином, который не только способствует ассимиляции изгоняемого витамина, но и положительно влияет на обеспеченность другими витаминами и на обменные процессы.

Известно, что при ИБС как для лечения, так и при сопутствующих заболеваниях применяется тиамин благодаря его анальгезирующему, липотропному ганглиоблокирующему, диуретическому и гипотензивному влиянию. Можно полагать, что этому способствует и положительное действие тиаминна на обмен ряда других витаминов (пантотеновой и аскорбиновой кислот), коррекция которых не требуется. Однако при этом усугубляется дефицит биологически важного витамина — пиридоксина, который не удается ликвидировать одновременным приемом самого пиридоксина. При необходимости назначения тиаминна (0,05 г) рекомендовано его сочетание с рибофлавином (0,02 г), что устраняет пиридоксинизгоняющий эффект тиаминна. Помимо этого, рибофлавин, входя в состав многих ферментных систем организма, активно участвует в обменных процессах и в тканевом дыхании. Сочетание этих витаминов способствует улучшению метаболизма не только пиридоксина, но и тиаминна и рибофлавина в организме больного, а также благоприятно влияет на клиническое течение заболевания, липидный обмен, коагулирующую активность и активность АТФазы крови, электролитный обмен.

Тиамин в дозе 0,05 г/сут может применяться с пантотеновой кислотой в дозе 0,2 г/сут, способствующей ассимиляции пиридоксина, рибофлавина и аскорбиновой кислоты, обмен которых нарушен у больных ИБС и гипертонической болезнью. При этом пантотеновая кислота, помимо устранения дефицита КоА, способствует повышению активности КоА-зависимых систем, нормализации энергетических процессов и улучшению клинического течения заболеваний. Терапевтическое влияние тиаминна (0,05 г) усиливается и при сочетании его с биотином в дозе 0,001 г, пивелирующим тиаминизгоняющее действие пиридоксина и улучшающим обмен белков, жиров и углеводов.

При ИБС и гипертонической болезни рекомендуется следующее сочетание витаминов: B_1 с B_2 в дозе соответственно 0,05 и 0,02 г/сут, B_1 с B_3 — 0,05 и 0,2 г/сут; B_1 с Н — 0,05 и 0,001 г/сут.

В терапии ИБС и гипертонической болезни

широко применяется пиридоксин. Он оказывает благоприятное влияние на клиническое течение заболевания, липидный и белковый обмен и свертывающую систему крови. Однако на поздних стадиях у больных с дефицитом пиридоксина его применение вызывает недостаточность тиамина и аскорбиновой кислоты, что усугубляет нарушение метаболических процессов.

Для повышения терапевтической эффективности пиридоксина при дефиците его в организме с целью предупреждения развития тиаминовой недостаточности рекомендуется назначать витамин В₆ (0,05 г/сут) с рибофлавином (0,02 г/сут). Еще более эффективно в этих случаях его сочетание (в той же дозе) с пантотенатом кальция (0,2 г/сут), который способствует нормализации обмена тиамина, аскорбиновой кислоты, не ухудшает метаболизм никотиновой кислоты, положительно влияет на липидный и белковый обмен и клиническое течение заболевания. Известно, что пантотеновая кислота, являясь коферментом более 100 ферментов, активно участвует в метаболических процессах.

Весьма эффективным при нарушении метаболических процессов в сердце является сочетанное применение пиридоксина (0,05 г/сут) и биотина (0,001 г/сут). Последний не только нивелирует пиридоксинизгоняющее действие тиамина и аскорбиновой кислоты, но и способствует ассимиляции пиридоксина, рибофлавина, не ухудшает обмен никотиновой кислоты. Это сочетание витаминов оказывает положительное влияние на обмен липидов, белков, углеводов, ферментативную и коагулирующую активность крови. В литературе имеются данные о лечебной эффективности совместного приема пиридоксина и кокарбоксилазы.

Следовательно, пиридоксин назначать при полигиповитаминозном состоянии нерационально. Для повышения его эффективности рекомендованы следующие сочетания: В₆ с В₂ в дозе соответственно 0,05 и 0,02 г/сут, В₆ с В₃ — 0,05 с 0,2 г/сут; В₆ с Н — 0,05 и 0,001 г/сут, В₆ с кокарбоксилазой — 0,05 и 0,05 г/сут.

Необходимо подчеркнуть, что развивающийся дефицит аскорбиновой кислоты при лечении пиридоксином не удастся ликвидировать приемом самой аскорбиновой кислоты.

При ИБС и гипертонической болезни широко используется витамин С. Больным с дефицитом аскорбиновой кислоты рекомендуется назначать ее в сочетании с пантотенатом кальция (0,5 и 0,2 г/сут соответственно). Этот витаминный комплекс оказывает более выраженное, чем отдельный прием витамина С, положительное влияние на метаболизм не только аскорбиновой кислоты, но и рибофлавина, пиридоксина и никотиновой кислоты. Терапевтический эффект проявляется положительной динамикой клинического течения заболевания, липидного и белкового обмена.

Никотиновая кислота, входя в состав НАД, НАДФ, НАД-Н₂, НАДФ-Н₂, катализирует многие окислительно-восстановительные реакции в организме, улучшает клиническое течение сердечно-сосудистых заболеваний, липидный и углеводный обмен, снижает активность системы свертывания крови и способствует ассимиляции пантотената и пиридоксина. Однако при ее отдельном применении у больных с дефицитом никотиновой кислоты

развивается недостаток тиамина и аскорбиновой кислоты. Для нивелирования тиамин- и аскорбинатизгоняющего влияния никотината рекомендуется назначение никотиновой кислоты с кокарбоксилазой (0,2 и 0,05 г/сут соответственно). При этом повышается терапевтическая эффективность препаратов, выражающаяся в положительной динамике клинического течения заболевания и метаболических процессов.

Для предупреждения выведения рибофлавина под действием липоата, применяемого у больных ИБС и гипертонической болезнью с нарушением их обеспеченности, следует назначать не рибофлавин, а пантотенат, повышающий ассимиляцию витамина В₂, пиридоксина и аскорбиновой кислоты и не ухудшающий обмен тиамина и никотината.

Соотношение витаминов в комплексах должно способствовать ассимиляции тех применяемых витаминов, обеспеченность которыми в организме больного снижена, нивелировать конкурентные отношения друг к другу, оказывать нормализующее влияние на биохимические реакции, нарушенные при данном заболевании, улучшать клиническую симптоматику и не усугублять сдвиги в других метаболических процессах. Таким образом, в результате исследования витаминной обеспеченности при ИБС и гипертонической болезни, межвитаминных взаимоотношений при полигиповитаминозных состояниях нами разработаны рекомендации по применению рациональных сочетаний витаминов для повышения лечебной эффективности.

Предложенные нами витаминные сочетания, и среди них особенно комплекс пантотената с пиридоксином и биопирид (биотин+пиридоксин), а также витаминный комплекс пентапиривит (тиамин + рибофлавин + пантотенат + никотинат + липоат), апробированы в клинике и оказались высокоэффективными в лечении ИБС и ИБС в сочетании с гипертонией.

Из фармакологических средств для лечения больных ИБС, осложненной сердечной недостаточностью, препаратами выбора, используемыми для коррекции нарушенных обменных процессов в миокарде, являются анаболические стероиды [9, 18]. Однако, учитывая отрицательное влияние последних на обеспеченность витаминов В₂, В₆, окислительно-восстановительные процессы, мы разработали витаминно-анаболический комплекс (В₃+В₆+неробол в дозах 0,2, 0,05 и 0,005 г/сут соответственно), компенсирующий их отрицательное действие [4, 6].

При сравнительной оценке действия сочетания витаминов В₃ и В₆ и витаминно-анаболического комплекса определялся дифференцированный подход их применения. Витаминный комплекс показан в случаях нарушений окислительно-восстановительных процессов, иммунологических изменений с дефицитом витаминов В₆ и РР, тогда как витаминно-анаболический комплекс показан при дислипидотеинемии с дефицитом витаминов С и В₂.

Установлено, что терапевтическое действие достигается после двухнедельного, а максимальное — после трехнедельного лечения витаминами, в связи с чем более продолжительный курс нецелесообразен. После прекращения приема витаминов достигнутый эффект сохранялся в течение

ние 2—4 нед, к концу 2-го месяца показатели обменных процессов приближались к исходным. Следовательно, повторные курсы витаминотерапии рекомендуются проводить через 1,5—2 мес.

Таким образом, витамины и их производные рассматриваются как эффективные лекарственные препараты широкого спектра действия в комплексном лечении различных форм ИБС и ИБС в сочетании с гипертонией и сердечной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобкова В. И., Сидачкова Н. М., Фомченков С. И. // Кардиология.— 1978.— № 3.— С. 66—73.
2. Борец В. М. // Актуальные проблемы витаминологии.— М., 1978.— Т. 2.— С. 53—58.
3. Борец В. М. Витамины и сердечно-сосудистые заболевания.— Минск, 1984.
4. Борец В. М. // Ишемическая болезнь сердца и артериальная гипертония.— Минск, 1990.— С. 63—64.
5. Борец В. М., Лис М. А., Водоевич В. П. и др. // Ранняя диагностика и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний.— Новосибирск, 1983.— Ч. 2.— С. 269—270.
6. Борец В. М., Овчинников В. А., Мирончик В. В. и др. // Вопр. питания.— 1983.— № 1.— С. 45—49.
7. Борец В. М. // Ишемическая болезнь сердца.— Гродно, 1980.— С. 3—11.
8. Межвитаминные отношения при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни / Борец В. М., Мирончик В. В., Артаева Л. П. и др.— Минск, 1988.
9. Метелица В. И. Справочник кардиолога по клинической фармакологии.— М., 1987.
10. Мирончик В. В. // Вопр. питания.— 1983.— № 5.— С. 3—9.
11. Мирончик В. В. Особенности свободнорадикального липоперекисления плазмы крови при ишемической болезни сердца и гипертонической болезни: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Минск, 1983.
12. Подорожный П. Г., Вдовиченко В. И., Розанов Е. М. и др. // Врач. дело.— 1990.— № 9.— С. 18—19.
13. Подорожный П. Г., Томашевский Я. И. Клиническая витаминология.— Киев, 1977.
14. Протасова Т. Н. Гормональная регуляция активности ферментов.— М., 1975.
15. Раскин И. М. Липидосодержащие лейкоциты при ишемической болезни сердца.— М., 1977.
16. Титов В. И. // Тер. арх.— 1966.— № 2.— С. 80—84.
17. Хмелевский Ю. В., Розанов А. Я. Обмен витаминов при сердечно-сосудистых заболеваниях.— Киев, 1975.
18. Шхвацабая И. К. Ишемическая болезнь сердца.— М., 1975.— С. 242—243.

Поступила 08.08.91

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.31:547.979.8].017.615.277.3

А. В. Сергеев, С. А. Коростылев,
Н. И. Шеренешева

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ И АНТИКАНЦЕРОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ КАРОТИНОИДОВ

Всесоюзный онкологический научный центр Российской академии медицинских наук, Москва

Каротиноиды относятся к одному из наиболее распространенных в растительном и животном мире классов химических соединений. Известно около 1000 представителей каротиноидных пигментов, из которых более 600 структурно идентифицированы [9]. Возможно, основная функция каротиноидов в растительных и животных клетках и тканях связана с их свойством проявлять антиоксидантную активность. В опытах *in vitro* каротиноиды ингибируют перекисное окисление липидов,

индуцированное свободными радикалами и синглетным кислородом [7]. Большие дозировки каротиноидов обладают терапевтическим свойством при длительном лечении больных фотодерматозами, в патогенезе которых большую роль играет синглетный кислород [7]. Важнейшим свойством некоторых каротиноидов и прежде всего β -каротина является их провитаминная активность. В организме млекопитающих и птиц β -каротин превращается в витамин А и, таким образом, косвенно участвует в обеспечении роста тканей (их пролиферации и дифференцировке), репродуктивной и зрительной функций животных. В последнее десятилетие интерес к каротиноидам и ретиноидам (природные и синтетические аналоги витамина А) значительно повысился в связи с установлением их возможной роли в профилактике злокачественных новообразований [11]. Эпидемиологические исследования, проведенные в разных странах, показали наличие определенной обратной зависимости между количеством потребляемых с пищей каротиноидов и витамина А и частотой заболевания населения раком [2, 7]. В ряде работ доказана корреляция между низким уровнем β -каротина и ретинола в плазме крови человека и степенью риска возникновения злокачественных новообразований [2, 7]. В США с 1979 г. проводится наблюдение за несколькими десятками тысяч добровольцев из числа медицинских работников, которые систематически получают большие дозы β -каротина с целью выяснения влияния этого провитамина на частоту возникновения опухолей [11].

К настоящему времени накоплены также некоторые экспериментальные данные об антиканцерогенном действии каротиноидов. Так, изучено влияние каротиноидов на подкожные опухоли и опухоли кожи крыс, индуцированных диметилбензантраценом (ДМБА) [5]. В обоих случаях у животных, получавших корм, содержащий «нелимитированное количество моркови», опухоли развивались в меньшем количестве по сравнению с животными, диета которых не содержала моркови. Показано, что опухоли кожи при индуцировании у безволосых мышей с помощью УФ-облучения развиваются реже у животных, получавших β -каротин [6]. Наряду с β -каротином было изучено действие таких каротиноидов, как кантаксантин и фитоен. Показано, что каротиноидные пигменты независимо от наличия или отсутствия активности витамина А снижают частоту и замедляют у мышей рост опухолей кожи, индуцированных УФ-облучением или такими канцерогенами, как бензапирен, 8-метоксипсорален, с последующим УФ-облучением малыми дозами или применением опухолевого промотора.

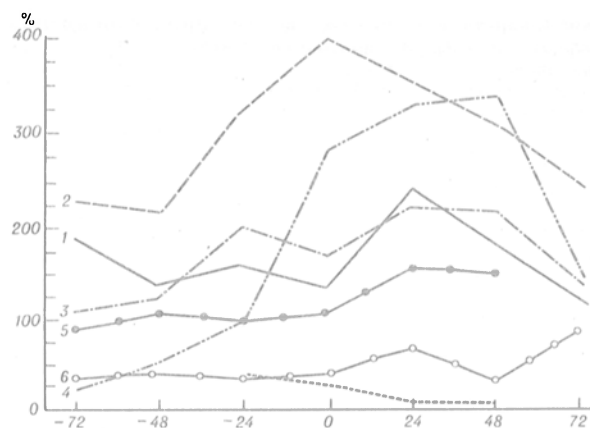
Исследование влияния низких доз (22 мг/кг) пищевого β -каротина на развитие опухолей толстой кишки, индуцированных диметилгидразином [15], показало, что частота и множественность опухолей толстой кишки у мышей, получавших β -каротин, снижались на 50 %. У этих же мышей, наблюдавшихся в течение дополнительных 13 нед, смертность от рака толстой кишки составляла 50 % по сравнению с контролем. В аналогичных исследованиях, проведенных на крысах, β -каротин оказался неэффективным [4]. Отмечено защитное действие природных каротиноидов в отно-

шении индуцированного 3-метил-диметиламино-азобензолом канцерогенеза в печени крыс [13]. Наиболее выраженный антиканцерогенный эффект оказывала абсцизовая кислота, синтезированная из каротиноида виолоксантина. Не было отмечено эффекта β -каротина у инбредных мышей при введении им канцерогена N-бутил-N-(4-оксибутил)-нитрозамина. Частота карцином мочевого пузыря была практически одинакова и не зависела от наличия или отсутствия β -каротина в диете [8]. В сингенной системе β -каротин усиливал лечебное действие рентгенотерапии у мышей СВА при инокуляции им клеток аденокарциномы [12]. β -Каротин способен ингибировать индуцированную ДМБА трансформацию клеток молочных желез *in vitro* [14]. Защитный эффект β -каротина проявляется на стадии как инициации, так и промоции. Предполагают, что защитный эффект обусловлен действием самого β -каротина и не является результатом метаболического превращения последнего в витамин А.

Проводимые нами в настоящее время исследования по оценке природных каротиноидов у экспериментальных животных с индуцированными опухолями желудочно-кишечного тракта свидетельствуют о модифицирующем влиянии их на канцерогенез в желудке. Так, продолжительное введение препарата, представляющего собой высококаротиноидный комплекс плодов шиповника (ВККШ) в дозах 15 и 30 мг/кг массы тела, достоверно снижало у крыс частоту опухолей преджелудка, индуцированных N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидином. Однако отмечалось достоверное увеличение частоты индуцированных опухолей железистого отдела желудка. В обоих случаях наблюдали значительное снижение латентного периода развития опухолей у экспериментальных животных. Отмечено стимулирующее действие β -каротина на частоту опухолей у крыс при инкорпорации стронция-90 [1]. У крыс, получивших β -каротин, кумулированная за год после инкорпорации частота развития остеосарком составила 23 % против 7 % в контроле.

Антиканцерогенная активность β -каротина и некоторых других каротиноидов может быть обусловлена как превращением их в витамин А, так и антиканцерогенными свойствами самой молекулы каротиноидов. Вероятно, одним из механизмов антиканцерогенной активности β -каротина является его влияние на иммунную систему. Мы изучили действие синтетического β -каротина и ВККШ на основные звенья иммунной системы в клинике и эксперименте.

Изучение влияния препаратов на гуморальное звено иммунитета проводили на модели первичного иммунного ответа мышей линии СВА на эритроциты барана при однократном парентеральном и курсовом пероральном введении. Однократное внутрибрюшинное введение синтетического β -каротина в зависимости от дозы и схемы введения оказывало неоднозначное влияние на содержание антителопродуцирующих клеток (АК) в селезенке (см. рисунок). Так, низкие дозы препарата (0,000 005—0,005 мг/кг) вызывали повышение этого показателя до 200—350 % относительно контрольного уровня. При использовании более высоких доз стимулирующий эффект β -каротина снижался, а при дозе более 0,05 мг/кг



Влияние однократного внутрибрюшинного введения β -каротина на содержание антителопродуцентов при первичном иммунном ответе мышей линии СВА на эритроциты барана.

По оси абсцисс — время введения препарата относительно иммунизации, ч. Дозы β -каротина, мг/кг массы тела: 1 — 0,000 005; 2 — 0,000 05; 3 — 0,0005; 4 — 0,005; 5 — 0,05; 6 — 0,5.

наблюдали иммунодепрессию, которая увеличивалась по мере возрастания дозы препарата. Подобный эффект наблюдали и при использовании природного каротиноидного комплекса.

При курсовом введении обоих препаратов умеренное повышение уровня гуморального иммунного ответа наблюдалось уже через 10 дней при их добавлении в пищевую рацион животных в дозах 0,1 и 1 мг/кг. При более длительном введении (30 дней) уровень стимулирующего эффекта возрастал. В этом случае более выраженное увеличение числа АК (до 320 %) наблюдали при использовании ВККШ. Дальнейшее повышение дозы или срока введения препарата не вызывало увеличения их стимулирующих свойств.

При изучении влияния синтетического β -каротина на пролиферативную активность спленоцитов, индуцированную фитогемагглютинином, препарат вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 0,0001—1 мг/кг или добавляли в пищевую рацион мышей линии СВА из расчета 10 и 40 мг/кг в сутки в течение 10—50 дней. Внутрибрюшинное введение препарата ни в одной из используемых доз не вызывало изменения пролиферативной активности спленоцитов. Стимулирующий эффект препарата проявлялся только при длительном пероральном его введении. Так, достоверное увеличение индекса пролиферации до 160—180 % наблюдали через 30 дней приема препарата только в дозе 40 мг/кг. Несколько раньше (через 10 дней после приема 40 мг/кг и через 20 дней после приема 10 и 40 мг/кг) проявлялись стимулирующие свойства природного каротиноида. При этом повышение индекса пролиферации достигало 130—170 % относительно контрольного уровня. При более продолжительном введении препаратов их стимулирующие свойства возрастали. Однако и в этом случае повышение индекса стимуляции под влиянием препаратов было относительно невелико.

Учитывая важность Т-клеточного звена в реализации противоопухолевого иммунитета, представлялось важным изучить влияние синтетического β -каротина и ВККШ на образование и активность цитолитических Т-лимфоцитов. Для этого была использована модель однопнаправленной смешан-

Влияние β-каротина на содержание лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови, продукцию иммуноглобулинов и пролиферативный ответ лимфоцитов, стимулированных митогенами и аллоантигенами, у 16 больных раком толстой кишки

Исследуемые показатели	До приема β-каротина	После приема β-каротина	p
Число лейкоцитов в 1 мм ³ крови	8 028±669	7 886±638	>5
Моноциты, %	4,2±0,48	4,96±0,91	>0,5
Число моноцитов в 1 мм ³ крови	329±46,3	352±77	>0,5
Лимфоциты, %	21,5±3,0	31,2±2,9	<0,05
Число лимфоцитов в 1 мм ³ крови	1 697±328	2 424±404	<0,05
Т-клетки, образующие активные розетки, %	28,4±3	53±7,8	<0,01
Число Т-клеток, образующих активные розетки, в 1 мм ³ крови	473±98	1 469±235	<0,001
Т-лимфоциты, %	37±1,66	40,6±2,19	>0,05
Число Т-лимфоцитов в 1 мм ³ крови	619±109	1 012±262	>0,05
В-лимфоциты, %	15,4±1,25	14,4±2,1	>0,05
Число В-лимфоцитов в 1 мм ³ крови	274±60	345±78	>0,05
Иммуноглобулины МЕ/мл:			
G	198±20	141±12	<0,05
A	203±35	166±15	>0,05
M	143±21	66±9,5	<0,01
Кон, ИС	3,79±0,49	4,49±0,5	>0,05
PWM, ИС	11,3±1,83	17,8±2,25	<0,05
СКЛ, ИС	3,48±0,54	3,58±0,57	>0,05

ной культуры лимфоцитов. При систематическом введении исследуемых препаратов мышам линии BALB/c в дозах 10 и 40 мг/кг на мышь происходило достоверное повышение цитолитической активности специфических Т-киллеров в 1,5–2 раза в ответ на стимуляцию аллоантигеном в том случае, если срок введения препаратов превышал 20 дней. При этом синтетический β-каротин обладал более выраженным эффектом по сравнению с ВККШ.

Клиническое изучение иммунофармакологии β-каротина проводили на здоровых добровольцах (4 человека) и больных раком толстой кишки (19 человек). После однократного приема 2000 мг β-каротина добровольцами наблюдали кратковременное снижение числа лейкоцитов периферической крови без существенного изменения соотношения форменных элементов, лимфоцитов и моноцитов. Не изменились также число эритроцитов, процент гемоглобина и число тромбоцитов. При приеме указанной дозы препарата не изменялась активность ферментов сыворотки крови, отражающих функцию печени. Однократный прием меньшей дозы (650 мг) β-каротина не приводил к лейкопении, наоборот, число лейкоцитов, относительное и абсолютное количество моноцитов нарастали более значительно на 7-й день. Количество лимфоцитов нарастало через сутки и снижалось на 7-е сутки. Не было обнаружено количественных изменений биохимических показателей крови. Однократный прием 650 мг β-каротина не вызывал существенных изменений пролиферативной активности лимфоцитов в ответ на митогены КонА и PWM, а также на антигены в смешанной культуре лимфоцитов.

После систематического приема 250 мг β-каротина больными раком толстой кишки в течение 10 дней не было обнаружено изменений в активности ферментов сыворотки. Однако выявлено уве-

личение относительного количества лимфоцитов периферической крови. Относительное и абсолютное число Т-лимфоцитов, образующих активные розетки, статистически достоверно увеличивалось. При изучении влияния курсового приема β-каротина на содержание иммуноглобулинов крови обнаружено, что высокие исходные показатели иммуноглобулинов значительно снизились, а у больных с нормальным или пониженным их содержанием не изменялись (см. таблицу). Систематический прием β-каротина в течение 10 дней вызывал у больных раком толстой кишки неоднозначные изменения в пролиферативной активности лимфоцитов. Пролиферативный ответ лимфоцитов на PWM статистически достоверно увеличивался, тогда как в ответ на КонА и аллоантигены не изменялся.

Полученные нами результаты показывают, что каротиноиды могут оказывать иммуномодулирующий эффект практически на все основные звенья иммунной системы. Это воздействие может быть обусловлено как непосредственным влиянием каротиноидов на иммунокомпетентные клетки, так и превращением их в витамин А, который обладает иммуноадьювантной активностью [10]. Систематическое введение каротиноидов в дозах и режимах, вызывающих стимуляцию или угнетение того или иного звена иммунитета, может проявляться в конечном счете в модифицирующем воздействии на канцерогенез.

При недостатке витамина А в организме животных наблюдается развитие чешуйчатой метаплазии эпителия респираторного и урогенитального трактов, протоков поджелудочной железы. Метапластические изменения при недостаточности витамина А напоминают гистологическую картину, которая наблюдается после воздействия на эпителий химических канцерогенов при предраковых состояниях кожи, бронхов, трахеи желудка, кишечника, матки [10]. Указанные изменения носят обратимый характер, так как введение животным ретиноидов вызывает восстановление нормальной картины эпителия. Показано также, что химические канцерогены и вирусы при А-авитаминозе приводят к более частому возникновению опухолей кишечника, легких, матки, мочевого пузыря [10]. Полагают, что в основе повышенной чувствительности к канцерогенам при А-авитаминозе лежат, с одной стороны, специфические изменения эпителиальной ткани, а с другой — нарушения Т- и В-клеточного иммунитета. Ранее мы показали, что у животных, содержащихся на А-авитаминной диете, наблюдается подавление пролиферативной и цитолитической активности Т-киллеров, обеспечивающих в первую очередь противоопухолевую защиту организма [3].

Данные о антиканцерогенном и иммуномодулирующем действии каротиноидов с учетом результатов исследований по эпидемиологии злокачественных новообразований позволяют рассматривать физиологические дозы каротиноидов в качестве естественных антиканцерогенов, постоянное присутствие которых в диете человека крайне желательно. Вопрос об использовании повышенных доз β-каротина и каротиноидов для профилактики рака, по-видимому, не может быть решен однозначно; необходимы дальнейшие исследования с различными каротиноидами.

1. Беляев И. К., Жорова Е. С., Зарайский А. В. // Молекулярно-клеточные механизмы хронического (внутреннего и внешнего) действия ионизирующих излучений на биологические системы. — Пуцино, 1990. — С. 20–21.
2. Заридзе Д. Г., Букин Ю. В. // Вопр. онкол. — 1990. — С. 643–652.
3. Сергеев А. В. // Вопр. мед. химии. — 1984. — № 7. — С. 55–59.
4. Colachio T. A., Vincet A., Memoli M. D. // Arch. Surg. — 1986. — Vol. 121. — P. 1421–1424.
5. Dorogokupa A. C., Troitzkaia E. Y., Adilgireieva L. K. et al. // Zdravookhr. Kazakh. — 1973. — Vol. 10. — P. 32–34.
6. Epstein J. H. // Photochem. Photobiol. — 1977. — Vol. 25. — P. 211–213.
7. Greenberg E. R., Baron J. A., Beck J. R. // Retinoids; New Trends in Research and Therapy. — Basel, 1985. — P. 360–370.
8. Hicks R. M., Turlon J. A., Tomlinson C. N. et al. // Proc. Nutr. Soc. — 1984. — Vol. 43, N 1. — P. 112.
9. Isler O. Carotenoids. — Basel, 1971.
10. Lotan R. // Biochem. biophys. Acta. — 1990. — Vol. 605. — P. 33–91.
11. Peto R., Doll R., Buckley J. D., Spron M. B. // Nature. — 1981. — Vol. 290. — P. 201–208.
12. Seifter E., Rettura G., Padawer J. et al. // J. nat. Cancer Inst. — 1982. — Vol. 68. — P. 835–840.
13. Shearer R. W. // Mediation Cancer Vitam. — Basel, 1983. — P. 89–94.
14. Som S., Chatterjee M., Banerjee M. R. // Carcinogenesis. — 1984. — Vol. 5. — P. 937–940.
15. Temple N. J., Basu T. K. // J. nat. Cancer Inst. — 1987. — Vol. 78. — P. 1211–1214.

Поступила 08.08.91

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.356:577.164.15].03:616.379-008.64].015.4:616-008.9

Н. Н. Великий, И. Г. Обросова, А. С. Ефимов, Е. И. Бабичева, О. П. Сокил

НИКОТИНАМИДНЫЕ КОФЕРМЕНТЫ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТочНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ ДИАБЕТА

Львовский университет им. И. Франко, НИИ эндокринологии и обмена веществ Минздрава Украины, Киев

В биохимии витаминсодержащих коферментов в силу широкого распространения в биологических системах и исключительной роли в функционировании ряда основополагающих процессов жизнедеятельности особое место принадлежит никотинамидным коферментам. Как биохимически активные формы витамина РР (никотиновой кислоты и ее амида) никотинамидные коферменты благодаря многогранности своих функциональных особенностей вовлечены в такие области физико-химической биологии, как биохимия витаминов и коферментов, энзимология (оксидоредукция и аллостерическая регуляция), молекулярная биология (регуляция генетической активности) и нейробиохимия (нейромодуляторная роль НАД⁺).

Каталитические функции никотинамидных коферментов в клетке обусловлены их способностью к окислительно-восстановительным превращениям. Обратимая оксидоредукция в дегидрогеназных системах как универсальный биохимический механизм ключевых процессов метаболизма по существу совершается молекулой никотинамида, включенной в нуклеотидную структуру НАД⁺ и НАДФ⁺ [14, 16]. Конформация последних и стационарность концентраций в соответствующих

компартаментах клетки, в которых осуществляют-ся биологическая оксидоредукция и метаболическое их состояние (окисленность или восстановленность), играют важную роль в регуляции скорости и направленности реакций обмена [25].

Ряд важнейших метаболических эффектов никотинамидных нуклеотидов реализуется в клетках через некоферментные функции. НАДН и НАДФН как низкомолекулярные эффекторные соединения способны выступать в роли аллостерических регуляторов ферментных процессов [7]. Как выяснилось, НАД⁺ является субстратом в реакциях АДФ-рибозилирования, ведущих к образованию АДФ-рибозы и ее гомополимера поли-АДФ-рибозы. Последний, присоединяясь к акцепторным ядерным белкам, в частности к гистонам, в значительной степени определяет интактность структуры ДНК и хроматина [15, 17]. НАД⁺ в качестве обязательного компонента ДНК-лигазной реакции участвует в процессах репарации ДНК [35]. Пр продемонстрирована нейротропная функция НАД⁺ как модулятора захвата и высвобождения нейромедиаторов в процессах синаптической передачи [18, 37].

Анализируя функциональные аспекты никотинамидных коферментов в живых системах, следует подчеркнуть значение этих соединений как факторов интеграции основных метаболических путей. В последние годы акцент в исследованиях клеточного обмена веществ сместился от изучения отдельных ферментов, катализирующих индивидуальные этапы метаболических путей, к анализу факторов, контролирующих скорость и величину потока через эти пути. На передний план выдвинулась проблема поиска интегративных факторов и показателей обмена, координирующих работу отдельных ферментных систем метаболического пути или нескольких метаболических путей как единой функциональной системы [5, 42]. Такими интегративными факторами системного уровня регуляции метаболизма выступают в первую очередь состояние фосфорилирования адениннуклеотидной системы и окислительно-восстановительное состояние свободных никотинамидных коферментов [26, 41].

Окислительно-восстановительное состояние свободных никотинамидных коферментов контролирует активность ключевых ферментов основных метаболических процессов в клетке. Отношение свободных НАД⁺/НАДН в соответствии с принципами стехиометрического контроля определяет переключение и регулирует скорость гликолиза и глюконеогенеза. Изменение восстановленности НАД-пар цитозоля обеспечивает обратимость окислительно-восстановительных реакций гликолиза и индуцирует биосинтез углеводов [8, 19]. Анализ кинетических данных позволяет заключить, что распределение потока пирувата между пируватдегидрогеназой и пируваткарбоксилазой в митохондриях, координация цикла трикарбоновых кислот и изменение потока в цепи транспорта электронов осуществляются главным образом через изменение окислительно-восстановительного состояния свободных НАД-пар [20, 26, 43]. На этом же принципе регуляции основывается динамическое равновесие между окислением глюкозы в НАД-зависимом гликолизе и НАДФ-зависимом пентозофосфатном пути, а также между скоростью

образования восстановительных эквивалентов в виде НАДФН (окислительные стадии пентозофосфатного пути и реакции циклической трансгидрогенизации) и их использованием в липогенезе [4, 38].

Из стехиометрии концентраций субстратов и коферментов дегидрогеназных реакций следует, что в регуляции скорости и направленности окислительно-восстановительных этапов метаболических путей определяющим является не уровень отдельных форм коферментов, а соотношение их окисленных и восстановленных форм в конкретном компартменте клетки, где протекает реакция. Отношения свободных НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН в цитозоле и митохондриях клеток различных тканей рассчитывают по экспериментально измеренным стационарным концентрациям окисленных и восстановленных метаболитов и значениям констант равновесия соответствующих дегидрогеназных систем согласно уравнению:

$$\frac{\text{НАДФ}^+}{\text{НАДФН}} = \frac{\text{Окисленный метаболит}}{\text{Восстановленный метаболит}} \cdot \frac{1}{K},$$

где K — константа равновесия соответствующей дегидрогеназной системы.

Ряд теоретических предпосылок и допущений позволяет с высокой точностью определить величины НАД⁺/НАДН, НАДФ⁺/НАДФН и на их основе проводить расчеты значений фосфатного потенциала (отношение $\text{АТФ}/\text{АДФ} \cdot \Phi_n$), а также концентрации метаболитов и эффекторных соединений в двух основных компартментах клеток — цитозоле и митохондриях [1, 3]. Величины отношений свободных НАД⁺/НАДН, НАДФ⁺/НАДФН и $\text{АТФ}/\text{АДФ} \cdot \Phi_n$ коррелируют в клетках с изменениями физиологического состояния, пищевого и гормонального статуса организма, поскольку являются интегральными показателями энергопродукции и энергопотребления в изменяющихся метаболических условиях. В норме и при интенсификации углеводного обмена НАД- и НАДФ-пары характеризуются высокой степенью окисленности. С другой стороны, высокая восстановленность НАД- и НАДФ-пар выступает непременным условием перестройки регуляторных звеньев метаболизма при голодании, диабете, содержании животных на низкоуглеводной диете и др. [8, 25, 29].

Выявление коррелятивной связи между показателями окислительно-восстановительного состояния свободных никотинамидных коферментов и скоростью протекания углеводного, энергетического

и липидного обмена выдвинуло в число первоочередных поиск моделей направленного изменения отношений свободных НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН в цитозоле и митохондриях клеток различных тканей, и в первую очередь печени. В качестве фактора, селективно воздействующего на систему пиридиновых нуклеотидов, мы использовали никотинамид — известный и широко применяемый предшественник в биосинтезе никотинамидных коферментов. Стабильное в течение 6—12 ч повышение биосинтеза НАД⁺ при введении никотинамида сопровождается значительным увеличением уровня НАД⁺ в тканях, сдвигом окислительно-восстановительного состояния свободных никотинамидных коферментов и специфическими изменениями метаболизма углеводов и липидов [3, 4, 9].

Открытие стимулирующего влияния НАД⁺ на секрецию и биосинтез инсулина, повышение чувствительности инсулиновых рецепторов, а также установление значения процессов АДФ-рибозилирования в развитии диабета послужили мощным толчком к всестороннему изучению роли никотинамидных коферментов в патогенезе диабета и его хронических осложнений, оценке терапевтического и профилактического действия витамина РР при данной патологии [23, 36, 39]. Установлен защитный эффект никотинамида при аутоиммунном и стрептозотоцининдуцированном диабете [30, 40, 44].

В настоящей работе обобщены результаты исследований, направленных на выяснение регуляторной роли окислительно-восстановительного состояния свободных никотинамидных коферментов в развитии метаболических нарушений при разных типах экспериментального диабета. Проанализированы биохимические механизмы гипогликемического и гиполипидемического эффекта никотинамида в эксперименте и клинике у больных сахарным диабетом.

Методика. В работе использовали модели экспериментального инсулинзависимого (I тип) и инсулиннезависимого (II тип) сахарного диабета (соответственно ИЗСД и ИНСД). Аллоксановый диабет вызывали внутрибрюшинным введением аллоксангидрата (18 мг на 100 г массы тела) голодавшим в течение 48 ч крысам линии Вистар. Для улучшения выживания животных на протяжении первых 3 дней вводили по 2 ЕД протамин-цинк-инсулина и использовали крыс в опыте через 2 нед при уровне глюкозы в крови выше 350 мг/дл [2].

Стрептозотоциновый диабет у крыс и мышей вызывали по следующим схемам. Крысам линии Вистар массой 100—120 г однократно внутрибрюшинно вводили 7 мг стрептозотоцина на 100 г массы тела. Животных использовали в опыте через 2—4 нед. Мышам линии С57В16 осуществляли 5 последовательных внутрибрюшинных инъекций (1 раз в сутки) стрептозотоцина в дозе 4 мг на 100 г массы тела. В опыт жи-

Таблица 1

Окислительно-восстановительное состояние свободных НАД- и НАДФ-пар в цитозоле печени крыс с аллоксановым диабетом и в хрусталике крыс со стрептозотоциновым диабетом ($n=8-12$)

Условия опыта	НАД ⁺ /НАДН	НАДФ ⁺ /НАДФН · 10 ³	НАД ⁺ /НАДН	НАДФ ⁺ /НАДФН
	печень		хрусталик	
Контроль	913±76	11±0,7	335±16	27±1,4
Диабет	345±29*	4,0±0,2*	192±9*	13±0,8*
Диабет+никотинамид	793±43**	12±0,6**	451±23**	22±1,2**

Примечание. Здесь и в табл. 2—5 одна звездочка — достоверность различий по сравнению с соответствующими показателями в контроле ($p<0,05$), две — достоверность различий по сравнению с соответствующими показателями животных с диабетом, не получавших никотинамид ($p<0,05$).

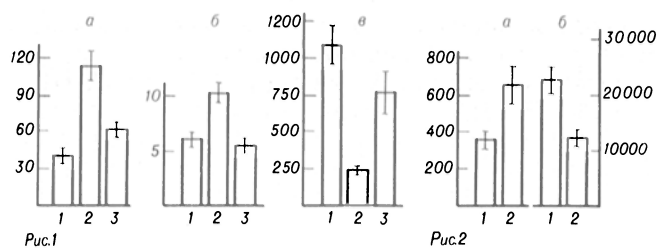


Рис. 1. Активность (в нмоль субстрата за 1 мин на 1 мг белка) ФЕПК-киназы (а), фруктозо-1,6-дифосфатазы (б) и пируваткиназы (а) в печени контрольных животных (1), крыс с аллоксановым диабетом (2) и крыс с диабетом, которым вводили никотинамид (3) ($n=10-12$).

Рис. 2. Включение $2-^{14}\text{C}$ -пирувата (в имп/мин на 1 мкмоль глюкозы и СЖК) в глюкозу (а) и СЖК (б) печени контрольных мышей (1) и мышей со стрептозотоциновым диабетом (2) ($n=8-10$).

вотных брали через 2 нед, контролируя развитие диабета по уровню глюкозы в крови.

Моделью ИЗСД служили мыши (db/db) с генетически детерминированным ожирением и диабетом. Мышей отбирали в возрасте 4-6 нед по массе тела. Мышей с избыточной массой тела (db/db) использовали в опыте, а животных с нормальной массой тела (db/+ и +/+) — в качестве контроля. В эксперименте использовали мышей в возрасте 3 мес с уровнем глюкозы в крови выше 300 мг/дл [31].

Результаты и обсуждение. Аллоксановый диабет у крыс наряду со значительным (до 519 ± 46 мг/дл) повышением уровня глюкозы в крови характеризуется существенными нарушениями внутриклеточного метаболизма в ткани печени. Расчеты окислительно-восстановительного состояния свободных НАД-пар, основанные на измеренных стационарных концентрациях интермедиатов лактатдегидрогеназной и малатдегидрогеназной систем, показывают, что отношение $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ в цитозоле клеток печени снижается (до 345 ± 29 против 913 ± 76 в контроле). Уменьшается также отношение свободных $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}$, рассчитанное по НАДФ -малатдегидрогеназной и НАДФ -изоцитратдегидрогеназной системам (до 0,0040 против 0,011 в контроле) (табл. 1). Эти изменения обусловлены существенным повышением концентрации восстановленных метаболитов (лактат, малат, изоцитрат) и снижением концентрации окисленных метаболитов (пируват, α -кетоглутарат, оксалоацетат) дегидрогеназных систем [2].

В условиях ограниченного поступления глюкозы в инсулинчувствительные ткани при диабете энергетические потребности организма обеспечиваются за счет усиленного окисления триацилглицеринов жировых тканей. Распад триацилглицеринов вызывает повышение концентрации свободных жирных кислот (СЖК) на 64 % (до $9,53 \pm 0,7$ мкмоль на 1 г ткани при диабете против

$5,81 \pm 0,4$ мкмоль на 1 г ткани в контроле) и кетонных тел — β -гидроксибутирата (в 14 раз) и ацетоацетата (в 17 раз). Метаболический ацидоз, развивающийся при ИЗСД вследствие накопления продуктов неполного окисления жирных кислот, сопровождается активацией синтеза углеводов в глюконеогенных тканях. В обмене углеводов поток углерода быстро и эффективно перекладывается в направлении гликолиза или глюконеогенеза на уровне глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназной реакции, поскольку даже небольшие изменения отношения свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ изменяют направление этой равновесной реакции [8, 21]. Повышение восстановленности НАД-пар (снижение отношения свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$) при аллоксановом диабете обуславливает эффективное превращение 1,3-дифосфоглицерата в глицеральдегид-3-фосфат с потреблением НАДН. Активация глюконеогенеза в этих условиях подтверждается изменениями активности ферментов окисления и синтеза глюкозы, а также скорости потока углерода в реакции глюконеогенеза. У контрольных животных наблюдалась высокая активность ключевого фермента гликолиза — пируваткиназы — и низкая скорость лимитирующих ферментов новообразования глюкозы — фосфоенолпируваткарбоксикиназы (ФЕПК-киназы) и фруктозо-1,6-дифосфатазы (рис. 1). При аллоксановом диабете активность пируваткиназы снижается (на 87 %), а активность ФЕПК-киназы и фруктозо-1,6-дифосфатазы повышается соответственно на 157 и 71 %.

Отношение действующих масс (ДМ) комбинированной реакции пируват (П) \rightarrow оксалоацетат (О) \rightarrow фосфоенолпируват (ФЕП) ($\text{ДМ}_{\text{П-О-Ф}} = \frac{\text{ФЕП} \cdot \text{Ф}_n \cdot \text{АДФ}^2}{\text{пируват} \cdot \text{АТФ}^2}$) характеризует скорость потока углерода в двух последовательных реакциях — пируваткарбоксилазной и ФЕПК-киназной [6]. Более чем 20-кратное повышение этого значения (от 2,2 в контроле до 48,5 при диабете) убедительно доказывает усиление потока углерода на ключевых этапах начальных реакций глюконеогенеза при диабете.

Аналогичная закономерность нарушений обмена углеводов при ИЗСД, индуцированном стрептозотоцином, наблюдалась у мышей линии С57В16. У мышей со стрептозотоциновым диабетом параллельно снижению отношения свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ в цитозоле печени (табл. 2) отмечено ингибирование ферментов гликолиза — глюкокиназы (на 50,7 %) и пируваткиназы (на 39,2 %). О скорости новообразования углеводов в печени судили по включению метки $2-^{14}\text{C}$ -пирувата в глюкозу. Удельная радиоактивность глюкозы повышается при диабете на 79,7 % наряду с увеличением содержания глюкозы в печени (до

Таблица 2

Окислительно-восстановительное состояние свободных НАД- и НАДФ-пар в цитозоле печени мышей со стрептозотоциновым и генетически детерминированным (db/db) диабетом ($n=8-12$)

Условия опыта	НАД ⁺ /НАДН	НАДФ ⁺ /НАДФН · 10 ³	НАД ⁺ /НАДН	НАДФ ⁺ /НАДФН · 10 ³
	стрептозотоциновый диабет		Диабет (мыши db/db)	
Контроль	97 ± 4,1	0,53 ± 0,02	96 ± 6,3	0,26 ± 0,03
Диабет	48 ± 3,4*	0,27 ± 0,01*	140 ± 8,2*	0,29 ± 0,04
Диабет + никотинамид	—	—	371 ± 15,2**	0,86 ± 0,07**

27,8 мкмоль/г против 10 мкмоль/г в контроле).

Активация глюконеогенеза сопровождается увеличением потребления АТФ, поскольку в глюконеогенезе используется 6 молекул АТФ на каждую молекулу образованной глюкозы. Этим объясняется обнаруженное нами снижение содержания АТФ и величины фосфатного потенциала (отношение $\text{АТФ}/\text{АДФ} \cdot \Phi_{\text{H}}$) при одновременном повышении уровня АДФ и Φ_{H} в печени мышей со стрептозотоциновым диабетом [33].

Интенсивность липогенеза при диабете мы оценивали по включению $2\text{-}^{14}\text{C}$ -пирувата в СЖК и общие липиды печени мышей. Увеличение содержания СЖК и снижение уровня липидов в печени мышей со стрептозотоциновым диабетом наблюдаются при одновременном снижении интенсивности включения $2\text{-}^{14}\text{C}$ -пирувата в СЖК и общие липиды. Удельная радиоактивность СЖК уменьшается на 47 % (рис. 2). Приведенные данные свидетельствуют о торможении биосинтеза СЖК и общих липидов в печени, усилении липолиза и высвобождения СЖК из жировых депо. В условиях ингибирования липогенеза при диабете использование восстановленных эквивалентов (НАДФН) в реакции биосинтеза жирных кислот заметно уменьшается. В результате повышается восстановленность НАДФ-пар и снижается отношение свободных $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}$ (см. табл. 2). Повышение восстановленности НАДФ-пар по принципу обратной связи ингибирует ферменты, продуцирующие НАДФН в цитозоле печени. Активность дегидрогеназ пентозофосфатного пути снижается на 19,5 %, а активность НАДФ-малатдегидрогеназы, включенной в путь циклической трансгидрогенизации, — на 54,5 % [34].

В качестве фактора, направленно воздействующего на систему никотинамидных коферментов, мы использовали никотинамид, который вводили крысам внутривенно за 6 ч до их использования в опыте из расчета 50 мг на 100 г массы тела. Никотинамид дает отчетливо выраженный гипогликемический эффект у крыс с аллоксановым диабетом. Уровень глюкозы в крови крыс с диабетом снижается под действием никотинамида с 519 ± 46 до 235 ± 12 мг/дл. В основе гипогликемического эффекта никотинамида лежит изменение окислительно-восстановительного состояния свободных НАД- и НАДФ-пар и активности ферментов углеводного обмена. Увеличение отношения свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ и окисленности цитозольных НАД-пар у крыс с диабетом под влиянием никотинамида ингибирует ферменты глюконеогенеза (ФЕП-киназу и фруктозо-1,6-дифосфатазу) и активирует пируваткиназу (см. табл. 1 и рис. 1). В пользу ингибирования глюконеогенеза свидетельствует и снижение скорости потока углерода на участке превращения пирувата в фосфоэнолипируват. Величина $\text{ДМ}_{\text{H.O.F}}$ снижается от 48,2 при аллоксановом диабете до 14,5 под действием никотинамида.

Следовательно, результаты экспериментов с использованием никотинамида позволяют заключить, что изменения отношения свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ являются тем первичным фактором, который определяет перестройку углеводного обмена в изменяющихся условиях эксперимента.

Нарушения сорбитолового пути метаболизма глюкозы в свободно проникаемых для глюкозы

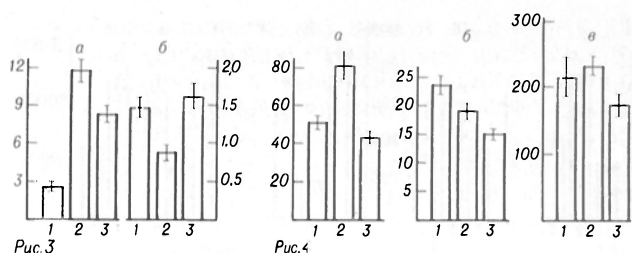


Рис. 3. Активность (в нмоль субстрата за 1 мин на 1 мг белка) альдозоредуктазы (а) и СДГ (б) в хрусталике контрольных животных (1), крыс со стрептозотоциновым диабетом (2) и крыс с диабетом, которым вводили никотинамид (3) ($n=14$).

Рис. 4. Активность (в нмоль субстрата за 1 мин на 1 мг белка) синтетазы жирных кислот (а), АТФ-цитратлиаза (б) и пируватдегидрогеназного комплекса (в) в печени контрольных мышей (1), мышей db/db (2) и мышей с диабетом, которым вводили никотинамид (3) ($n=10-12$).

(инсулиннечувствительных) тканях играют ключевую роль в развитии диабетических осложнений, включая катаракту [22, 27]. В нормальных условиях глюкоза, поступающая в хрусталик, окисляется в гликолитическом пути. При гипергликемии избыток глюкозы восстанавливается в сорбитол при участии альдозоредуктазы — первого фермента сорбитолового пути. Затем сорбитол под действием сорбитолдегидрогеназы (СДГ) окисляется во фруктозу. Трансгидрогенизация между НАДФН и НАД^+ , которые являются коферментами альдозоредуктазы и СДГ, лежит в основе регуляторных взаимоотношений системы никотинамидных нуклеотидов и ферментов сорбитолового пути. Мы исследовали влияние никотинамида на сорбитоловый путь обмена глюкозы у крыс со стрептозотоциновым диабетом.

Гипергликемия у крыс при стрептозотоциновом диабете ведет к значительному повышению содержания глюкозы в инсулиннечувствительных тканях, в том числе в 3 раза в ткани хрусталика. Расчеты, проведенные на основании измеренных стационарных концентраций лактата, пирувата и малата, демонстрируют существенное снижение отношений свободных $\text{НАД}^+/\text{НАДН}$ и $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}$ в цитозоле клеток хрусталика (см. табл. 1). Повышение восстановленности как НАД-, так и НАДФ-пар при диабете оказывает противоположно направленное влияние на два ключевых фермента сорбитолового пути. Альдозоредуктазная реакция, протекающая с потреблением восстановительных эквивалентов НАДФН, активируется при снижении отношения свободных $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}$. Активность альдозоредуктазы повышается при диабете более чем в 5 раз (рис. 3). В этих же условиях СДГ-реакция, сопровождающаяся образованием НАДН, тормозится. Активность СДГ снижается на 43 %. Ингибирование альдозоредуктазы и активация СДГ в конечном счете ведут к усиленному образованию в хрусталике сорбитола и фруктозы. Уровень сорбитола повышается в 9 раз (до $75,9 \pm 5,8$ мкмоль на 1 г ткани против $7,98 \pm 0,49$ мкмоль на 1 г ткани в контроле), фруктозы — до $10,4 \pm 0,83$ мкмоль на 1 г ткани против $1,2 \pm 0,08$ мкмоль на 1 г ткани в контроле [10]. Накопление сорбитола вследствие низкой проницаемости клеточной мембраны для этого метаболита изменяет осмотические свой-

Влияние никотинамида на содержание и удельную радиоактивность липидных компонентов в печени мышей ($n=8$)

Показатель	Контроль	Диабет (мышь db/db)	Диабет+никотинамид
<i>Содержание липидных компонентов</i>			
СЖК, мкмоль на 1 г ткани	2,54±0,01	2,64±0,17	5,55±0,26**
Общие липиды, мг/г	61,89±3,6	118,56±9,88*	71,62±7,34**
Триацилглицерины, мкмоль/г	39,56±8,28	59,01±9,24	57,26±3,66
Фосфолипиды, мг/г	39,31±6,4	47,7±7,6	42,0±2,9
Холестерин, мг/г	1,34±0,14	2,52±0,017*	1,18±0,09**
Диеновые конъюгаты, АЕ/г ткани	11,72±1,1	21,72±1,3*	11,92±1,26**
Малоновый диальдегид, мкмоль на 1 г ткани	4,73±0,43	10,11±0,69*	8,34±0,61
<i>Удельная радиоактивность (введен 2-¹⁴С-пируват)</i>			
СЖК, имп/мин/мкмоль СЖК	128 956±14 392	347 146±35 249*	64 794±4056**
Общие липиды, имп/мин/мг	1 766±468	5 037±926*	3 258±167**
Триацилглицерины, имп/мин/мг	1 475±114	3 090±372*	4 510±630
Холестерин, имп/мин/мг	421±41	1 431±168*	977±128**
Фосфолипиды, имп/мин/мг	917±82	1 909±164*	1 097±43**

ства, вызывает набухание, разрушение волокон хрусталика и развитие катаракты [28].

Введение высокой дозы никотинамида, усиливающего биосинтез и повышающего уровень НАД⁺ в тканях, моделирует совершенно новый тип метаболического состояния при диабете. Повышение отношения свободных НАД⁺/НАДН и НАДФ⁺/НАДФН под действием никотинамида ингибирует превращение глюкозы в сорбитол в альдозоредуктазной реакции и усиливает окисление сорбитола в СДГ-реакции. Активность альдозоредуктазы в этих условиях снижается на 31 %, активность СДГ повышается на 83,5 % (см. рис. 3). Сочетанное действие этих двух ферментов ведет к достоверному снижению уровня сорбитола (на 21,1 %) и фруктозы (на 25 %) в ткани хрусталика.

Молекулярные механизмы регуляторного воздействия редокс-состояния свободных НАДФ-пар на сорбитоловый путь во многом остаются невыясненными. Проведенные нами исследования на изолированной и частично очищенной СДГ из печени крыс продемонстрировали прямое влияние отношения НАД⁺/НАДН на эффективность связывания НАД⁺ и скорость прямой СДГ-реакции [11]. Оказалось, что НАДН является конкурентным по отношению к НАД⁺ ингибитором данного фермента с константой ингибирования, равной $7,65 \cdot 10^{-6}$ М. Следовательно, уменьшение отношения свободных НАД⁺/НАДН, которое имеет место при диабете, ведет к снижению связывания НАД⁺ с ферментом и уменьшает скорость СДГ-реакции. Приведенные данные могут служить теоретическим обоснованием применения никотинамида в качестве потенциального антисорбитолового препарата при диабете.

Мыши с генетически детерминированным ожирением и диабетом (db/db) характеризуются увеличением содержания в печени общих липидов (на 91,6 %), триацилглицеринов (на 49,2 %), общего холестерина (на 88 %), диеновых конъюгатов (на 85 %) и малонового диальдегида (на 113 %). Достоверных изменений в содержании свободных жирных кислот и фосфолипидов по сравнению с контрольными животными обнаружено не было (табл. 3).

Убедительные доказательства усиления синтеза липидных компонентов в печени мышей с диабе-

том получены в экспериментах с включением 2-¹⁴С-пирувата, результаты которых представлены в табл. 3. Удельная радиоактивность СЖК повышалась в 2,7 раза, общих липидов — в 2,8 раза, триацилглицеринов — в 2,1 раза, холестерина — в 3,4 раза, эфиров холестерина — в 2,3 раза, фосфолипидов — в 2,1 раза. При сравнении скорости включения двух предшественников — 2-¹⁴С-пирувата и 1-¹⁴С-ацетата — нами не было обнаружено столь выраженного повышения включения 1-¹⁴С-ацетата в липидные компоненты [32]. Эти результаты позволяют сделать вывод о преимущественном вкладе пируватного пути в липогенез при данном типе диабета.

Активация липогенеза при II диабете основывается на увеличении (на 57 %) активности синтетазы жирных кислот, катализирующей элонгацию ацил-СоА-производных (рис. 4). Усиление синтетазной активности происходит при одновременном повышении содержания АТФ (на 34 %), отношения АТФ/АДФ·Ф_i и концентрации фруктозо-1,6-дифосфата — мощного аллостерического модулятора, снижающего K_m фермента по НАДФН [12]. Не обнаружено корреляции между интенсификацией липогенеза и активностью ферментов начальных этапов биосинтеза жирных кислот. Так, активность пируватдегидрогеназного комплекса практически не изменяется, а активность АТФ-цитратлиазы даже снижалась в печени мышей с диабетом.

Изменения отношения свободных НАДФ⁺/НАДФН и структуры внутриклеточного фонда СоА являются первичными факторами, обеспе-

Таблица 4

Влияние никотинамида на структуру внутриклеточного фонда СоА (в нмоль на 1 г свежей ткани) в печени диабетических (db/db) мышей ($n=10$)

Показатель	Контроль	Диабет	Диабет+ +никотинамид
Свободный СоА	177,55±21,70	283,70±19,46*	138,24±16,93**
Общий СоА	318,3±30,88	420,1±21,46*	323,9±18,22**
Длинноцепочечные ацил-СоА	66,33±3,96	64,80±4,70	54,40±2,45
Кислоторастворимый СоА	252,44±35,11	353,8±19,56*	270,73±18,11
Короткоцепочечные ацил-СоА	74,89	70,10	132,48
Соотношение короткоцепочечные ацил-СоА/свободный СоА	0,42	0,24	0,95
Соотношение длинноцепочечные ацил-СоА/свободный СоА	0,37	0,22	0,39

чивающими гиперлипогенез при ИНЗСД. Существенное (на 60 %) повышение уровня свободного CoA, а также снижение отношений короткоцепочечных ацил-CoA к свободному CoA почти в 2 раза и длинноцепочечных ацил-CoA к свободному CoA на 41 % обеспечивают существенное повышение скорости потока углерода на начальных этапах липогенеза и в реакции, катализируемой синтетазой жирных кислот (табл. 4).

Гиполипидемический эффект никотиамида исследовали у мышей db/db, которым вводили 2,5 мг никотиамида на 100 г массы тела внутримышечно в течение 14 дней. Никотиамид вызывает снижение уровня общих липидов, фосфолипидов, холестерина, дисновых конъюгатов и малонового диальдегида в печени мышей с диабетом (см. табл. 3). Результаты экспериментов с использованием 2-¹⁴C-пирувата свидетельствуют о снижении скорости обменности таких липидных компонентов, как СЖК, общие липиды, холестерин и фосфолипиды. Их удельная радиоактивность снижается соответственно на 81,4, 35,4, 31,8 и 42,6 %. В то же время удельная радиоактивность триацилглицеринов повышается (на 45,9 %). По всей вероятности, никотиамид, воздействуя на ключевые окислительно-восстановительные стадии липогенеза, нарушает метаболическое равновесие между липолизом, липогенезом и обменностью триацилглицеринов, характерное для данного типа диабета.

Ингибирование липогенеза из 2-¹⁴C-пирувата согласуется с индуцируемой никотиамидом реорганизацией фонда CoA. Возрастание уровня свободного CoA (на 51,3 %) при одновременном снижении содержания короткоцепочечных ацил-CoA обуславливает четырехкратное повышение их отношения; в 2 раза увеличивается отношение длинноцепочечных ацил-CoA-производных к свободному CoA (см. табл. 4). Столь существенные изменения концентрации эффекторных соединений ведут к угнетению активности синтетазы жирных кислот, пируватдегидрогеназного комплекса, АТР-цитратлиазы и в конечном счете к снижению скорости синтеза липидов под действием никотиамида (см. рис. 4).

Гипогликемическое и гиполипидемическое действие никотиамида исследовали на 22 пациентах (8 больных с инсулиннезависимым сахарным диабетом — ИНЗСД и 14 больных с инсулинзависимым сахарным диабетом — ИЗСД), с легкой и средней тяжестью сосудистых поражений. Никотиамид (по 1 мл 5 % раствора) вводили внут-

римышечно 2 раза в день в течение 2 нед. Состояние сердечно-сосудистой системы в динамике лечения оценивали методами реовазографии и капилляроскопии; у всех больных обследовали состояние сосудов глазного дна.

У больных ИНЗСД под влиянием никотиамида гликемия снижается (в среднем по группе) на 19 % (8 ч), 32,7 % (12 ч), 25,9 % (15 ч), 17 % (18 ч) и 27 % (21 ч). При этом доза сахароснижающих препаратов не изменялась. Ухудшение показателей отмечено у 1 больного, улучшение — у 7. У 5 из 14 больных ИЗСД в процессе лечения была снижена доза инсулина на 5—16 ЕД (в среднем на 8 ЕД) при параллельном улучшении гликемического профиля. Ухудшение показателей отмечено у 2 больных ИЗСД с лабильным течением заболевания. В среднем у 14 больных ИЗСД снижение гликемии после курса введения никотиамида составляет 5,3 % (8 ч), 34,2 % (12 ч), 13 % (15 ч), 10 % (18 ч) и 35 % (21 ч) [13].

С целью адекватной оценки степени компенсации диабета после 2-недельного курса никотиамида в динамике лечения определяли уровень белковосвязанных гексоз (БСГ) в сыворотке крови и гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}) в эритроцитах. В группе больных ИЗСД содержание БСГ снижается на 30 %, а HbA_{1c} — на 8,2 % (табл. 5). В группе больных ИНЗСД не обнаружено уменьшения содержания HbA_{1c} после курсового введения никотиамида, в то время как уровень БСГ снижается на 43 %. Отсутствие достоверных изменений в содержании HbA_{1c} может определяться длительным (около 2 мес) периодом его полураспада в эритроцитах человека, что значительно превышает продолжительность курса терапии. В то же время высокая скорость обменности БСГ позволяет констатировать изменение их уровня в пределах 2-недельного курсового введения никотиамида.

Уменьшение гликемии у больных сахарным диабетом после введения никотиамида происходит параллельно снижению глюкозурии (в группе больных ИЗСД на 60,5 %, в группе больных ИНЗСД практически до аглюкозурии — на 98 %).

Введение никотиамида при сахарном диабете характеризуется положительными сдвигами в состоянии сердечно-сосудистой и нервной систем. Почти у половины больных отмечается существ-

Таблица 6

Влияние никотиамида на показатели обмена липидов и липопротеинов в сыворотке крови больных сахарным диабетом (n=22)

Показатель	До лечения	После лечения
------------	------------	---------------

Содержание в липопротеидном спек-

тре, %:		
ЛПОНП	26,4±2,94	35,0±5,53*
ЛПНП	47,8±3,34	35,5±3,40*
ЛПВП	25,3±3,05	28,9±4,90*
Общий холестерин, мм/л	6,99±0,52	6,41±0,41*
Триацилглицерины, мм/л	1,90±0,34	1,61±0,32*
Атерогенные липопротеины, г/л	6,89±0,75	5,8±0,65*

Примечание. Звездочка — достоверность различий по сравнению с соответствующими показателями до лечения никотиамидом (p<0,05). ЛПОНП — липопротеины очень низкой плотности, ЛПНП — липопротеины низкой плотности, ЛПВП — липопротеины высокой плотности.

Таблица 5

Показатели, характеризующие гипогликемический эффект никотиамида у больных сахарным диабетом

Показатель	ИНЗСД (n=8)		ИЗСД (n=14)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Гликемический профиль, мм/л:				
8 ч	10,65±0,54	8,63±0,85	11,73±0,85	11,11±1,15
12 ч	13,73±1,38	9,25±0,87*	12,23±1,07	8,05±1,10*
15 ч	12,77±1,53	9,44±0,63*	10,23±0,52	8,92±1,08
18 ч	10,81±1,57	7,89±0,8*	9,75±1,38	8,84±1,07
21 ч	10,83±0,65	9,01±1,02	11,35±1,12	7,39±0,57*
Глюкозурия, г/сут	12,11±4,26	0,2±0,19*	26,47±5,16	10,46±3,66*
БСГ, мг/дл	7,26±1,17	4,12±0,77*	6,44±1,40	4,47±0,67
Гликозилированный гемоглобин, %	6,06±0,61	6,04±0,83	7,53±0,36	6,9±0,29

венное улучшение микроциркуляции сосудов нижних конечностей и глазного дна.

Гиполипидемический эффект никотиамида у больных сахарным диабетом проявляется в снижении уровня атерогенных липопротеинов (на 16 %) и холестерина (на 9,3 %) сыворотки крови после 2-недельного курса никотиамида (табл. 6). Общее снижение уровня триацилглицеринов в сыворотке крови составляет 15,3 %, а в подгруппе больных с гипертриацилглицеринемией (33 % больных) уровень триацилглицеринов снижается на 24 %.

Никотиамид оказывает нормализующее действие на липопротеидный состав крови. Анализ содержания отдельных липопротеинов свидетельствует, что под действием никотиамида повышается содержание ЛПОНП (на 32,5 %), ЛПВП (на 14 %) и снижается содержание ЛПНП (на 25,3 %). Следует подчеркнуть, что в исследованиях, проведенных на мышах с генетически детерминированным ожирением и диабетом, нами получены сходные результаты, касающиеся изменений содержания отдельных фракций липопротеинов крови под действием никотиамида [31].

Полученные результаты позволяют высказать следующие предположения относительно механизма гиполипидемического действия никотиамида у больных сахарным диабетом. Повышение содержания ЛПОНП одновременно со снижением содержания ЛПНП согласуется с концепцией ингибирования никотиамидом активности липопротеинлипазы плазмы крови, которая лежит в основе представлений о антилиполитическом эффекте витамина РР [24]. Снижение ЛПНП — обогащенных холестерином липопротеинов — наряду с параллельным повышением уровня ЛПВП и снижением уровня холестерина в печени указывает на усиление катаболизма холестерина. Исходя из того что ЛПОНП и ЛПНП синтезируются преимущественно в печени, обнаруженный гиполипидемический эффект никотиамида выдвигает необходимость дальнейших детальных исследований изменений содержания и биосинтеза основных липидных компонентов, формирующих ЛПОНП и ЛПНП, под действием данного лекарственного препарата.

Представленные результаты являются экспериментальным обоснованием выдвинутых теоретических положений о регуляторной роли окислительно-восстановительного состояния свободных никотиамидных коферментов в контроле внутриклеточного метаболизма. Установлены принципиальные отличия в регуляции углеводного и липидного обмена при разных типах диабета. Развитие ИЗСД характеризуется переключением углеводного обмена на новообразование глюкозы и усилением распада липидов, обеспечивающих энергетические затраты организма. В инсулиночувствительных тканях этот тип диабета сопровождается накоплением интермедиатов сорбитолового пути обмена глюкозы — сорбитола и фруктозы, что ведет к развитию вторичных диабетических осложнений. У мышей с генетически детерминированным ИНСД (db/db) ведущим в развитии патологических процессов является гиперлипогенез.

Никотиамид, в основе биохимического механизма действия которого лежит резкое усиление

биосинтеза, повышение уровня НАД⁺ в тканях и селективное изменение окислительно-восстановительного состояния свободных никотиамидных коферментов, проявляет отчетливо выраженный гипогликемический эффект при ИЗСД и гиполипидемический эффект при ИНСД. У больных сахарным диабетом после курса введения никотиамида снижаются гликемия, уровень БСГ, атерогенных липопротеинов, холестерина и нормализуется липопротеидный состав крови. Метаболический контроль под действием никотиамида реализуется на уровне изменения активности ключевых ферментов углеводного обмена и начальных этапов липогенеза, ферментных систем, обеспечивающих высокий пул дву- и трехуглеродных предшественников, а также восстановительных эквивалентов в реакциях биосинтеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Великий Н. П., Пархомец П. К. // Витамины. — Киев, 1976. — Вып. 9. — С. 3—15.
2. Великий Н. П., Пархомец П. К., Симонова Н. Я. и др. // Пробл. эндокринологии. — 1978. — № 1. — С. 83—88.
3. Великий Н. П., Пархомец П. К. // Биохимия животных и человека. — Киев, 1978. — Вып. 2. — С. 46—58.
4. Великий Н. П. // Укр. биохим. журн. — 1984. — Т. 56, № 4. — С. 369—383.
5. Дынюк В. В. // Механизмы контроля мышечной деятельности / Под ред. Г. П. Пинаева, В. Б. Ушакова. — Л., 1985. — С. 21—50.
6. Косенко Е. А., Каминский Ю. Г., Кондрашова М. П. // Биохимия. — 1983. — Т. 48, № 1. — С. 17—22.
7. Курганов Б. И. // Коферменты / Под ред. В. А. Яковлева. — М., 1973. — С. 82—117.
8. Маевский Е. И., Кондрашова М. П. // Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. — М., 1978. — С. 145—165.
9. Могилевич С. Е., Великий Н. П., Халмуратов А. Г. // Биохимия. — 1981. — Т. 46, № 1. — С. 103—109.
10. Обросова И. Г., Великий Н. П., Ефимов А. С. // Докл. АН УССР. Сер. Б. — 1983. — № 2. — С. 75—78.
11. Обросова И. Г. // Там же. — 1984. — № 12. — С. 70—73.
12. Обросова И. Г., Великий Н. П., Ефимов А. С., Павленко А. К. // Там же. — 1987. — № 9. — С. 70—73.
13. Обросова И. Г., Ефимов А. С., Великий Н. П. и др. // Фармакол. и токсикол. — 1987. — № 2. — С. 113—115.
14. Северин С. Е., Теленева В. И., Цейтлин Л. А. // Витамины. — Киев, 1974. — Вып. 7. — С. 11—23.
15. Токарская В. И. // Успехи соврем. биол. — 1984. — Т. 98, № 1 (4). — С. 43—59.
16. Халмуратов А. Г. // Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. — Минск, 1979. — С. 411—437.
17. Халмуратов А. Г., Мулявко Н. А. // Биохимия. — 1985. — Т. 50, № 5. — С. 844—848.
18. Халмуратов А. Г., Куликовская Т. М., Пархомец П. К. // Нейрохимия. — 1987. — Т. 6, № 4. — С. 495—502.
19. Юровицкий Ю. Г., Ермолаева Л. П., Мильман Л. С. // Успехи биол. химии. — 1976. — Т. 17. — С. 217—233.
20. Aquis L., Alberti K. J. // Europ. J. Biochem. — 1985. — Vol. 152, N 3. — P. 699—707.
21. Cornell N. W., Leadbetter M., Veech R. L. // J. biol. Chem. — 1979. — Vol. 254, N 14. — P. 6522—6527.
22. Dvornik D. Aldose Reductase Inhibition. An Approach to the Prevention of Diabetic Complications. — New York, 1987.
23. Filletti S., Takai N. A., Rapoport B. // Endocrinology. — 1981. — Vol. 108. — P. 2409—2411.
24. Gross R. C., Carlson C. A. // Diabetes. — 1968. — Vol. 17. — P. 353—362.
25. Guma K. A., McLean P., Greenbaum A. L. // Assays Biochem. — 1971. — Vol. 7. — P. 39—86.
26. Hansford R. G. // Current Top. Bioenerget. — 1980. — Vol. 10. — P. 217—278.
27. Kador P. F., Kinoshita J. H. // Amer. J. Med. — 1985. — Vol. 79, Suppl. 5A. — P. 8—12.
28. Kinoshita J. H., Nishimura C., Carper D. A. // Polyol Pathway and its Role in Diabetic Complications / Eds N. Sakamoto, J. H. Kinoshita, P. F. Kador, N. Hotta. — Amsterdam, 1988. — P. 155—164.

29. Krebs H. A., Veech R. L. // *Advanc. Enzyme Regulat.*— 1969.— Vol. 7.— P. 397—413.
30. Manna R., Liang L., Migliore A. et al. // *Diabetologia.*— 1989.— Vol. 32, N 7.— P. 514A.
31. Obrosova I. G., Yefimov A. S., Veliky N. N. et al. // *Diabet. Croat.*— 1987.— Vol. 16, N 1.— P. 21—35.
32. Obrosova I. G., Yefimov A. S., Babicheva K. I., Moiseevnok A. G. // *Advances in Lipoprotein and Atherosclerosis Research, Diagnostics and Treatment.*— 1988.— Vol. 2.— P. 537—540.
33. Obrosova I., Babitchewa K., Mogilewitsch S. // *Aktuelle Endokr.*— 1989.— Bd 10, N 4.— S. 272.
34. LeDoux S. P., Hall C. R., Forbes P. M. et al. // *Diabetes.*— 1988.— Vol. 37.— P. 1015—1019.
35. Ohashi Y., Ueda K., Kawaishi M., Hayaishi O. // *Proc. nat. Acad. Sci. USA.*— 1983.— Vol. 80, N 12.— P. 3604—3607.
36. Okamoto H. // *Molec. Cell. Biochem.*— 1981.— Vol. 37.— P. 43—61.
37. Richards C. D., Snell C. R., Snell P. H. // *Brit. J. Pharmacol.*— 1983.— Vol. 79, N 2.— P. 533—564.
38. Rognstad R. // *Arch. Biochem.*— 1980.— Vol. 199, N 1.— P. 140—146.
39. Uchigata Y., Yamamoto H., Kawamura A., Okamoto H. // *J. biol. Chem.*— 1982.— Vol. 257.— P. 6084—6088.
40. Obrosova I., Babicheva E., Shermolovich Yu. et al. // *EASD "Control of Metabolism" Study Group Symposium, 3-d.*— London, 1989.
41. Veech R. L. // *Microenvironmental and Metabolic Compartmentation* / Ed. P. A. Srere.— New York, 1978.— P. 17—60.
42. Westerhoff H. V., Groen A. K., Wanders R. J. // *Biosci. Rep.*— 1984.— Vol. 4.— P. 1—22.
43. Williamson J. R., Cooper R. H. // *FEBS Lett.*— 1980.— Vol. 117, N 1.— P. K73—K85.
44. Yamada K., Notaka K., Hanafusa T. et al. // *Diabetes.*— 1982.— Vol. 31.— P. 749—753.

Поступила 08.08.91

NICOTINAMIDE COENZYMES IN THE REGULATION OF CELLULAR METABOLISM IN VARIOUS TYPES OF DIABETES

N. N. Veliky, I. G. Obrosova, A. S. Yefimov, E. I. Babicheva, O. P. Sokyl

I. Franko State University, Lvov, Research Institute of Endocrinology and Metabolism, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev.

Hypoglycemic and hypolipidemic effects of nicotinamide in insulin-dependent and noninsulin-dependent types of diabetes have been investigated. Hypoglycemic effect of nicotinamide in alloxan- and streptozotocin-induced diabetes resulted in activation of NAD^+ biosynthesis and corresponding alterations in the redox state of free nicotinamide coenzymes. Increase in the free NAD^+/NADH ratio was accompanied by inhibition of key gluconeogenic enzymes and by a decrease in the rate of $2\text{-}^{14}\text{C}$ -incorporation into glucose in liver tissue and by inhibition of sorbitol formation in lens tissue. Nicotinamide exhibited hypolipidemic effect in db/db mice with noninsulin-dependent diabetes. The agent inhibited the enzyme of primary steps of lipogenesis, altered the structure of intercellular CoA pool and lowered the rate of lipid biosynthesis in liver tissue, thus normalizing blood lipoprotein compositions.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.61-036.12-053.2-07:616.154:577.161.2

Ф. И. Руснак, А. К. Цыбышева, В. Г. Пинелис, Н. Н. Литвинова

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ВИТАМИНА D И ПРИМЕНЕНИЕ ЕГО МЕТАБОЛИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ

НИИ педиатрии Российской академии медицинских наук, Москва

Витамин D реализует свои функции после активации в печени с образованием 25-оксивитамина D (25-ОНD), являющегося основной транспортной формой метаболитов витамина D, которая циркулирует в крови, связанная с альбуминами [31, 39]. В дальнейшем в зависимости от потребностей организма в проксимальных канальцах почек из 25-ОНD образуется 1,25-дioxивитамин D_3 [1,25-(ОН) $_2\text{D}_3$] или 24,25-дioxивитамин D_3 [24,25-(ОН) $_2\text{D}_3$] [17, 26]. 1,25-(ОН) $_2\text{D}_3$ считается «аварийным» гормональным метаболитом витамина D. Он усиливает всасывание Ca в кишечнике и его реабсорбцию в канальцах почек, вымывает Ca из костной ткани, способствуя поддержанию постоянства уровня ионизированного Ca в крови. При этом параллельно увеличивается уровень фосфора в крови [19, 36, 41]. В условиях нормокальциемии образуется преимущественно 24,25-(ОН) $_2\text{D}_3$ [10]. Интенсивное изучение его биологической активности и функциональной значимости продолжается более 10 лет, однако достаточная ясность в этом вопросе не достигнута. В частности, до сих пор ряд исследователей придерживаются давнего предположения о том, что этот метаболит является продуктом инактивации витамина D и не выполняет каких-либо специфических функций [16]. Показано, что 24,25-(ОН) $_2\text{D}_3$ обладает выраженной, но отличающейся от 1,25-(ОН) $_2\text{D}_3$ антирахитической активностью. Кроме того, 24,25-(ОН) $_2\text{D}_3$, особенно в сочетании с 1,25-(ОН) $_2\text{D}_3$, обладает высокой эффективностью в профилактике и лечении ряда патологических состояний (гипокинезия, гиперкортицизм, переломы костей, остеопороз и др.), воспроизведенных в эксперименте на животных [10].

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) часто осложняется ренальной остеопатией. Под этим термином понимают развитие гипокальциемии, гиперфосфатемии, нарушение обмена витамина D, вторичный гиперпаратиреоз, нарушение минерализации костной ткани. Выявление признаков ренальной остеопатии и своевременное ее лечение предотвращают раннюю инвалидизацию больных.

Большинство авторов считают, что ренальная остеопатия проявляется в основном в условиях ХПН. Однако результаты наших исследований показали, что при таких заболеваниях, как гломерулонефрит (ГН), признаки ренальной остеопатии проявляются значительно раньше развития ХПН. У большинства детей в активной стадии функционально-компенсированного хронического ГН, сопровождающегося нефротическим синдромом (НС), выявляются гипокальциемия, умеренная гиперфосфатемия (у 75 %), снижение всасывания в кишечнике и баланса Ca, значительное уменьшение экскреции Ca и P_u с мочой —

демнерализация костной ткани [5, 7]. У 66,7 % больных с НС обнаружено снижение в сыворотке крови как общей концентрации Са, так и его свободной фракции. Гипокальциемия в сочетании с повышенным или нормальным уровнем ионизированного Са выявлена у 33,3 % детей [2], т. е. имеет место как абсолютная, так и относительная гипокальциемия. В обменных опытах у детей с НС наряду со снижением всасывания Са в кишечнике и повышением его выделения с калом всасывание Р не нарушено [13, 27]. Уровень щелочной фосфатазы у всех детей с НС также оказался в пределах нормы [5].

Одновременно с нарушением фосфорно-кальциевого обмена у большинства детей с активной стадией ГН отмечается снижение уровня 25-ОНД ($8,5 \pm 1,30$ нг/мл против $26,3 \pm 2,1$ нг/мл у здоровых) и тиреокальцитонина (ТКТ) в сыворотке крови. Выявленная при этом высокая корреляция уровня 25-ОНД в крови со степенью протеинурии свидетельствует о том, что одной из причин дефицита этого метаболита является его потеря с мочой [5, 7].

При обследовании 54 детей в функционально-компенсированной стадии ГН у большинства из них [48] не было признаков вторичного гиперпаратиреоза, на развитие которого указывают некоторые исследователи (22, 29). Повышение уровня паратгормона (ПТГ) в сыворотке крови у остальных 6 детей обусловлено, по-видимому, недостаточным выведением терминальных фрагментов ПТГ вследствие ограниченной функции почек.

Так как каналы почек являются предполагаемым местом образования активных метаболитов витамина D [$1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $24,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$], проводилось сравнительное изучение состояния фосфорно-кальциевого обмена и системы его регуляции в зависимости от морфологического состояния канальцев и интерстиция (тубулоинтерстициальный компонент, отсутствие изменений) в нефробиоптате [6]. Результаты указывают на возможность дефицита метаболитов витамина D у детей с тубулоинтерстициальным компонентом в результате не только потери с мочой 25-ОНД, но и нарушения синтеза диоксиметаболитов этого витамина в почечных канальцах. Потеря с мочой и недостаточное образование в канальцах почек метаболитов витамина D являются основными патогенетическими факторами сниженного всасывания Са в кишечнике и экскреции Са и Р_и с мочой, снижения уровня ТКТ, развития гипокальциемии и демнерализации костей у больных с активной стадией ГН, сопровождавшегося НС. Умеренная гиперфосфатемия у этих больных обусловлена выраженным снижением экскреции Р с мочой при нормальном его всасывании в кишечнике. Возможно, гипокальциемия частично обусловлена выделением Са кишечником или его поступлением с желчью.

В условиях частичной ремиссии ГН, наступившей спонтанно или вследствие лечения, включая глюкокортикоиды, протеинурия исчезает. Параллельно с ее исчезновением увеличивается содержание 25-ОНД в крови, вследствие чего нормализуется уровень Са и ТКТ, а также уменьшается концентрация Р в крови, однако сниженная экскреция Са и Р_и с мочой все еще сохраняется [7].

Применение преднизолона при лечении больных с ГН, сопровождавшихся НС, приводит к нарушениям фосфорно-кальциевого обмена и системы его регуляции, которые выражались в гипокальциемии (у 55,6 % больных), умеренной гиперфосфатемии (у 37,1 %), снижении уровня 25-ОНД (у 62,9 %), гипокальциурии (у 72,8 %) и гипофосфатурии (у 66,7 %) при повышенном уровне ПТГ (у 11,1 %) и ТКТ (18,5 %) в крови, а также в демнерализации костей (у 68,7 %). Эти изменения обнаруживаются при применении преднизолона в дозе более 10 мг/день, тогда как при меньшей дозе практически не выявлено изменений минерального обмена и системы его регуляции [5].

Создается впечатление о сглаживании нарушения фосфорно-кальциевого обмена при лечении глюкокортикоидами. Однако, как известно, глюкокортикоиды тормозят всасывание Са в кишечнике [24], а повышение его уровня в крови происходит в результате остеолитического действия глюкокортикоидов [42].

С развитием ХПН не у всех детей развивается ренальная остеопатия. Из 14 обследованных нами детей (9 с ГН, 5 с тубулоинтерстициальными болезнями почек) у 2 (с тубулоинтерстициальным поражением почек) все изучаемые показатели были в норме. У остальных выявлены определенные различия в зависимости от причины, приведшей к ХПН. У 66,7 % больных ГН в начальной стадии ХПН выявлена гипокальциемия, у 88,9 % — гиперфосфатемия, у всех снижено всасывание Са в кишечнике и имеется его отрицательный баланс. У 55,6 % детей обнаружен сниженный уровень 25-ОНД ($14,1 \pm 2,5$ нг/мл) и ТКТ, у 88,9 % — вторичный гиперпаратиреоз. У 7 из 9 детей выявлены рентгенологические признаки демнерализации костей. При тубулоинтерстициальных болезнях почек эти нарушения наблюдаются реже. В частности, гипокальциемия обнаружена в 20 % случаев, гиперфосфатемия — в 60 %, сниженный уровень 25-ОНД ($22,81 \pm 6,2$ нг/мл) — в 20 %. Примерно с такой же частотой (80 %) выявлен вторичный гиперпаратиреоз. Однако был обнаружен более тяжелый тип поражения костей (смешанный), сопровождавшийся выраженными клиническими проявлениями (боли в мышцах и костях, деформации трубчатых костей).

Такие существенные различия при одинаковых показателях гиперазотемии (креатинин 3,1—3,2 мг %, мочевины 85—92 мг %) и степени снижения клубочковой фильтрации (34 мл/мин) обусловлены этиологией ХПН. У детей с ГН они более выражены в связи с потерей 25-ОНД, сохраняющейся протеинурией, предшествующей глюкокортикоидной терапией. К другим причинам ХПН, независимо от ее этиологии, относятся токсическое действие гиперазотемии, вторичный гиперпаратиреоз, а также снижение уровня $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ в крови при падении клубочковой фильтрации ниже 30 мл/мин [20, 32].

Исследование состояния фосфорно-кальциевого обмена у больных с терминальной почечной недостаточностью, поступающих на лечение программным гемодиализом в детскую клиническую больницу № 13 Москвы, позволило выявить более глубокие нарушения [14]. Выраженная гипокальциемия выявлена в 100 % случаев, гиперфосфа-

темия — в 99 %, повышение активности щелочной фосфатазы — в 66 %, в основном за счет ее костной фракции. Гипокальциемия была обусловлена значительным нарушением всасывания Са в кишечнике, о чем свидетельствовала проба Коциан с пероральной нагрузкой кальцием. Обеспеченность витамином D, изучаемая по содержанию 25-OHD в крови, была снижена вдвое по сравнению со здоровыми детьми ($20,16 \pm 2,98$ и $37,2 \pm 2,3$ нг/мл соответственно) и не коррелировала с протеинурией. Отмечено резкое нарушение со стороны системы эндокринной регуляции фосфорно-кальциевого обмена. Содержание ПТГ в 5—50 раз превосходило показатели у детей контрольной группы, а ТКТ было увеличено у 39 (57,3 %) из 68 больных. Нарушения фосфорно-кальциевого обмена были более выражены у больных с врожденными и наследственными заболеваниями почек. Мы это объясняем более длительным течением стадии хронической почечной недостаточности у больных этой группы и более выраженным поражением тубулоинтерстициального аппарата почек.

В настоящее время для лечения ренальной остеопатии используются синтетические аналоги активных метаболитов витамина D — $1\alpha\text{OHD}_3$ (оксидевит), превращающийся в печени в $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ и 24P , $25\text{(OH)}_2\text{D}_3$ (диоксивит). С этой же целью продолжается использование эргокальциферола (витамин D₂) особенно при наличии НС. Лечение эргокальциферолом ($16\,000$ — $28\,000$ МЕ/сут) детей с ГН, сопровождавшимся НС, в течение 30—35 дней (лечение менее 1 мес было неэффективным) на фоне диеты, содержащей $0,751$ г/сут Са, способствовало нормализации уровня Са в крови, его экскреции с мочой и сохранению нормального их уровня в течение 1—2 мес после отмены препарата. Эргокальциферол способен нормализовать уровень 25-OHD в крови, дефицит которого является одной из главных причин нарушения минерального обмена у этих больных [1].

У детей с НС оксидевит применялся в дозе $0,25$ — $1,0$ мкг/сут в течение 1—4 мес (дозы подбирали с учетом данных литературы). На фоне диеты, содержащей $0,751$ г/сут Са и $1,04$ г/сут Р, оксидевит нормализует всасывание Са в кишечнике и его уровень в крови, снижает уровень ПТГ, нормализует уровень ТКТ и фосфора в сыворотке крови, значительно увеличивает экскрецию Са и Р с мочой. Содержание 25-OHD остается без изменений [1]. Использование в комплексной терапии ХПН начальной стадии диоксивита (100 мкг/сут) приводило после терапии в течение 1 мес к нормализации концентрации общего и ионизированного Са, снижению уровня ПТГ и остеокальцина в крови. В результате лечения диоксивитом наблюдалось значительное увеличение концентрации 25-OHD, которая была выше контрольной в 2,25 раза. Очевидно, такое повышение происходило за счет $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ в связи с техническими особенностями метода определения [8]. Применение высоких доз диоксивита обусловлено тем, что в меньшей дозе препарат был малоэффективен. Приведенные данные позволяют подтвердить специфическую кальцитропную активность $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, а также его способность нормализовать функцию остеобластов, о чем сви-

детельствует снижение концентрации в крови остеокальцина, являющегося маркерным белком этих клеток.

В отличие от многих литературных данных при применении эргокальциферола, оксидевита, диоксивита мы не наблюдали эпизодов гиперкальциемии у детей с НС и начальной стадией ХПН, что, вероятно, обусловлено низким содержанием Са (700 — 800 мг/сут) в применяемой диете, а также особенностью растущего организма.

Если лечение ренальной остеопатии при ГН проводится короткими курсами, что позволяет применять большие дозы витамина D и его метаболитов, то лечение остеодистрофии при хронической почечной недостаточности, особенно ее терминальной стадии, должно быть длительным и непрерывным. Нами проанализировано 3 метода лечения: витамином D₂ в высоких дозах, оксидевитом в сочетании с малыми дозами витамина D₂, диоксивитом.

Больным, находящимся на лечении программным гемодиализом, назначали витамин D₂ в дозе $20\,000$ ЕД/сут (суточная потребность здорового человека составляет 100 — 400 МЕ [33]). Эта доза является оптимальной для улучшения всасывания Са в кишечнике [23]. Одновременно с витамином D₂ назначали препараты кальция внутрь, исходя из суточной потребности Са, в виде карбоната кальция и препарат, связывающий фосфаты, на фоне диеты без ограничения фосфора. Содержание кальция в крови нормализовалось через 2 мес от начала лечения у всех детей, однако через 3—4 мес от начала лечения у 25 % больных возникла гиперкальциемия, которая потребовала отмены препарата. Гиперкальциемия сохранялась до 1 мес и после отмены препарата. У этих больных отсутствовала метастатическая кальцификация. После нормализации уровня Са в крови этим больным назначался витамин D₂ в дозе $10\,000$ ЕД/сут. Увеличение концентрации Са в сыворотке крови произошло за счет улучшения абсорбции его в кишечнике, о чем свидетельствовала проба Коциан. В норме концентрация Са увеличивается на $1,75 \pm 0,49$ мг % через 1 ч после нагрузки кальцием из расчета 10 мг Са на 1 кг массы. У больных этой группы до лечения она равнялась $0,15$ мг % и максимальное повышение отмечалось через 2 ч. Через 3 мес максимальное увеличение концентрации Са в крови составило $0,83$ мг %, но оно по-прежнему наступало через 2 ч. К году от начала лечения оно достигло 1 мг %, однако оставалось значительно ниже нормальной величины. Суточная экскреция Са, значительно сниженная до начала лечения, увеличилась в 3 раза через 6—12 мес, но оставалась вдвое ниже аналогичного показателя у детей контрольной группы. Увеличение экскреции Са было обусловлено снижением его реабсорбции с $91,6$ до $81,75$ % (при норме $98,2 \pm 0,2$ %).

Концентрация фосфора в сыворотке крови, повышенная до начала лечения до $2,56 \pm 0,2$ ммоль/л, снижалась через 3 мес от начала лечения до $1,78 \pm 0,2$ ммоль/л. Затем она вновь нарастала, приближаясь через 12 мес от начала лечения к исходной величине — $2,35 \pm 0,3$ ммоль/л. В отношении экскреции фосфатов и их реабсорбции отчетливой закономерности не прослежено.

То же самое касается и активности щелочной фосфатазы.

Содержание 25-ОНD в крови увеличивалось по мере увеличения сроков лечения, достигая у некоторых больных 300—400 нг/мл через 4—6 мес. После отмены витамина D₂ у больных с гиперкальциемией показатели 25-ОНD длительное время оставались на высоких цифрах, что свидетельствует о блоке его дальнейшего превращения в диоксиметаболиты витамина D и депонировании в организме.

Содержание ПТГ, которое при поступлении достигало $5,96 \pm 0,72$ нг/мл, через 3 мес уменьшалось в 4 раза, в дальнейшем оставаясь на тех же цифрах (в 3 раза выше нормы). Нормализация ПТГ не произошло ни у одного больного. Согласно данным литературы, добиться супрессии вторичного гиперпаратиреоза удастся лишь у некоторых больных спустя 24 мес от начала лечения [18]. ТКТ, повышенный до начала лечения у 5 больных, нормализовался через 4 мес у 1 из них, у остальных имел тенденцию к снижению.

Оксидевит назначали в дозе 1 мкг одновременно с небольшими дозами витамина D₂ — 2000 ЕД. Известно, что витамин D является источником 25-ОНD, содержание которого понижено у таких больных. Из 42 больных 24 получили отечественный оксидевит, 8 — датский альфа-кальцидол и 10 — японский ван-альфа. Содержание кальция в крови у этой группы больных нормализовалось через 1 мес от начала лечения и в дальнейшем было стойко нормальным. Лишь у одной больной, которой была назначена доза 2 мкг оксидевита, развилась гиперкальциемия в пределах 2,85 ммоль/л, которая после отмены препарата исчезла на 3-и сутки. О частом возникновении гиперкальциемии на более высоких дозах 1αОНD₃ имеются многочисленные публикации [15, 28].

Абсорбция Са в кишечнике приблизилась к норме через 6 мес от начала лечения. Максимальное увеличение концентрации Са составило 1,6 мг % и наступало через 1 ч после нагрузки кальцием.

Суточная экскреция Са с мочой на фоне лечения 1α-оксиколекальциферолом увеличилась спустя 3 мес от начала лечения и в дальнейшем в 2—3 раза превышала исходные показатели, оставаясь значительно ниже нормы. Реабсорбция Са, сниженная у больных до лечения на 4 %, через 6 мес от начала лечения снижалась на 17 %.

Некоторое снижение гиперфосфатемии наступило через 3 мес от начала лечения (с $2,8 \pm 0,09$ до $2,27 \pm 0,3$ ммоль/л). Однако в дальнейшем концентрация P_и нарастала и через 12 мес превысила исходную величину, несмотря на то что произведение Са×P_и часто превышало критическую величину, которая предрасполагает к выпадению солей, мы лишь у одной больной 16 лет наблюдали метастатическую кальцификацию. Столь низкая частота ее обусловлена, очевидно, тем, что скелет у детей содержит больше неупорядоченной кости, чем у взрослых, и вследствие этого захватывает больше Са и P_и. Суточная экскреция фосфатов на протяжении всего периода исследования была сниженной в пределах $5,18 \pm 0,71$ — $9,43$ ммоль/сут при норме $40,0 \pm 8,0$ ммоль/сут. Реабсорбция их также была

нарушенной ($52,8$ — $37,5$ % вместо $92,8 \pm 1,68$ % у детей контрольной группы).

У больных, леченных оксидевитом с малыми дозами витамина D₂, отмечалась положительная динамика со стороны системы эндокринной регуляции фосфорно-кальциевого обмена. Исходно низкое содержание 25-ОНD нормализовалось через 4 нед от начала лечения и в дальнейшем находилось в пределах нормы. Сообщается об увеличении содержания метаболитов 25-ОНD и 24,25-(ОН)₂D₃ при введении аналогичных доз витамина D₂ [40], но при этом не изменялся уровень 1,25-(ОН)₂D₃. При введении 1αОНD₃ происходила нормализация уровня 1,25-(ОН)₂D₃ и 24,25-(ОН)₂D₃, отсутствовали изменения уровня 25-ОНD. Поэтому при применении комбинированной терапии 1αОНD₃ с малыми дозами витамина D₂ мы рассматривали на нормализацию уровня всех активных метаболитов витамина D, принимающих участие в регуляции фосфорно-кальциевого обмена.

На фоне такого лечения наблюдалось отчетливое снижение уровня ПТГ в сыворотке. Если перед началом лечения средние показатели ПТГ в 14 раз превосходили норму, то через 3 мес они были увеличены лишь в 4 раза, а через 9 мес — в 2 раза. У 4 больных, получающих лечение в течение года, удалось добиться нормализации уровня ПТГ. Через 6 мес нормализуется уровень ТКТ в сыворотке, в то время как при поступлении он был увеличен в 8 раз.

Повышение уровня ТКТ при далеко зашедшей почечной недостаточности, очевидно, носит компенсаторный характер и направлено на предотвращение резорбции костной ткани вследствие гиперпаратиреоза. В первые 3 мес лечения происходит дальнейшее увеличение уровня ТКТ на 20 % по сравнению с исходным, а затем начинается его снижение. Через полгода от начала лечения содержание его нормализуется.

Применение физиологических доз 24,25-(ОН)₂D₃ (2 мкг) у взрослых пациентов с ХПН, находящихся на лечении программным гемодиализом в течение 6—18 мес, не принесло успеха [34]. Отмечалось дальнейшее усугубление гипокальциемии, гиперфосфатемии, гиперпаратиреоза и костного заболевания, что может свидетельствовать о недостаточной дозе препарата.

Уровень кальция в крови при применении оксидевита в дозе 10 мкг нормализовался через 1 мес и в дальнейшем находился в пределах нормы. Гиперфосфатемия при данном методе лечения в отличие от предыдущих удается нивелировать через 3 мес. Активность щелочной фосфатазы в первые 3 мес увеличивалась, особенно у больных с исходно повышенным ее уровнем, что может свидетельствовать об активации остеобластов. В дальнейшем ее активность постепенно снижалась.

Содержание 25-ОНD в крови нормализовалось к 3-му месяцу от начала лечения и в дальнейшем находилось на уровне нормальных величин. Содержание ТКТ у 50 % больных увеличилось в 2 раза через полгода от начала лечения, а через 9 мес нормализовалось. Супрессивное действие 24,25-(ОН)₂D₃ в дозе 10 мкг на активность паращитовидных желез выражено слабо. За 9 мес лечения содержание ПТГ снизилось всего лишь на 21 %.

Поэтому для достижения желаемого эффекта можно пойти двумя путями: увеличить дозу диоксидита, применять его совместно с $1\alpha\text{OH}\text{D}_3$. Результаты лечения оксидевитом в дозе 1 мкг и диоксидитом в дозе 20 мкг нескольких больных с терминальной почечной недостаточностью обнадеживающие.

К такому же выводу о целесообразности комбинированного лечения $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ и $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ либо дегидрохистерола с 25 мкг $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ пришли и другие авторы, отмечающие, что комбинированное лечение пациентов с ХПН приводит к улучшению минерализации костной ткани до 21 % — эффекту, не достигаемому под влиянием введения только $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. Японские ученые запатентовали в США препарат, включающий $24,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ в качестве активного компонента. Для проявления лечебного эффекта рекомендуются высокие фармакологические дозы, значительно превышающие физиологические. Все исследователи единодушны в коррекции гиперфосфатемии без применения препаратов алюминия.

Таким образом, анализ данных литературы и собственных исследований показывает, что, несмотря на нарушение регулирующей функции почек в поддержании фосфорно-кальциевого обмена у больных в терминальной стадии ХПН, применение активных метаболитов витамина D позволяет нормализовать отдельные биохимические и гормональные показатели и улучшить состояние костной ткани при ренальной остеодистрофии.

Выявление нарушений фосфорно-кальциевого обмена и гормональной системы его регуляции позволило предположить наличие нарушений механизмов внутриклеточной регуляции Ca у детей с ГН, сопровождавшимся НС.

У 34 детей с хроническим ГН, сопровождавшимся НС, изучали влияние экзогенного фактора активации тромбоцитов (ФАТ) и тромбина на внутриклеточный Ca в тромбоцитах. Кальций определяли в отмытых тромбоцитах с использованием флюоресцентного зонда Квин-2 АМ до и после 2-недельного лечения оксидевитом (по 1 мкг/сут).

В контрольной группе (5 здоровых детей) ФАТ (100 нМ) и тромбин (0,1 ЕД/мл) вызывали повышение Ca с базального уровня, равного $122 \pm 3,3$ нМ, до $455,6 \pm 15,6$ и $629 \pm 32,9$ нМ соответственно. У детей с ГН выявлен сниженный ответ Ca на действие ФАТ ($230,1 \pm 22$ нМ) и тромбина ($392,4 \pm 36,9$ нМ) по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$). После лечения оксидевитом происходило восстановление кальциевого ответа тромбоцитов на действие ФАТ и тромбина, хотя активность ГН сохранялась.

Наши данные, свидетельствующие о снижении кальциевого ответа тромбоцитов на действие ФАТ и тромбина у детей с ГН, сопровождавшимся НС, могут указывать, с одной стороны, на десенсибилизацию рецепторов к ФАТ в связи с обнаруженным ранее высоким содержанием ФАТ в крови и моче у этих больных [3]; с другой стороны, не исключено, что обнаруженное у детей с НС увеличение уровня простагландина [12] может активировать аденилатциклазу и тем самым уменьшить кальциевый ответ тромбоцитов. Действительно, применение оксидевита, который, как известно, ингибирует аденилатциклазу, приводит к восста-

новлению кальциевого ответа тромбоцитов у детей с НС.

В последние годы наряду с традиционными органами-мишенями активных метаболитов витамина D (кишечник, костная ткань, почки и др.) выявлена их способность воздействовать на иммунокомпетентные клетки. В находящихся в покое моноцитах и активированных *in vitro* Т- и В-лимфоцитах крови человека обнаружены рецепторы $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ [4, 30], а макрофаги, моноциты и активированные Т-лимфоциты даже способны синтезировать $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ [37, 38]. Этот гормон влияет на продукцию интерлейкинов, γ -интерферона, колониестимулирующего фактора, регулирует пролиферацию и дифференцировку лимфоцитов *in vitro* [4, 10, 25, 35].

У 50 детей с хроническим ГН установлено наличие в лимфоцитах периферической крови высокой концентрации рецепторов к гормональной форме витамина D — $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. В то же время среди здоровых детей рецепторы к $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ имелись только у 27 %, причем в более низкой концентрации [11]. Большое количество рецепторов к $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, по-видимому, связано с экспрессией рецепторов этого гормона в активированных лимфоцитах. Лишь в одной публикации подтверждена подобная направленность изменений: у больных ревматоидным артритом рецепторы $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ в лимфоцитах обнаружены у 76 %, среди здоровых — у 17 % [30]. Нами не установлено зависимости количества рецепторов $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ от формы и активности ГН и состояния почечных функций. Однако обнаружена прямая зависимость их количества от дозы преднизолона [9].

В связи с обнаружением большого количества рецепторов $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ в лимфоцитах мы изучили динамику иммунологических показателей на фоне лечения оксидевитом, назначенного при ренальной остеопатии у детей с ГН. У большинства детей лечение оксидевитом независимо от фонового лечения (преднизолон, цитостатики) способствовало нормализации уровня IgG и Т-лимфоцитов, а также снижению (до нормы) уровня О-лимфоцитов (клеток, лишенных основных фенотипических характеристик Т- и В-лимфоцитов). При этом уровень В-лимфоцитов не изменяется. Частичной ремиссии добились у 14 из 20 больных ГН. У 10 из этих детей впервые была получена ремиссия, сохраняющаяся в течение 1–2 лет. У 17 детей, леченных оксидевитом, снизилась частота острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) с 6–8 раз в год до 1–2 раз. У 2 детей после лечения оксидевитом частота ОРВИ не изменялась, у 1 сохранялись частые ОРВИ.

На основании данных литературы и результатов собственных наблюдений можно предположить воздействие оксидевита на клеточный иммунитет через повышение секреции $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ макрофагами или непосредственно на Т-лимфоциты, что восстанавливает их способность к продукции интерлейкина-2, являющегося одним из основных клеточных цитокинов, воздействующих на процессы пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов [4]. Об иммуномодулирующем влиянии оксидевита свидетельствуют повышение уровня Т-лимфоцитов, снижение содержания О-лимфоци-

тов в периферической крови, что, очевидно, способствует уменьшению частоты ОРВИ и развитию ремиссии ГН у ряда детей.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о важном значении нарушений обмена метаболитов витамина D в возникновении ренальной остеопатии у детей с хроническими болезнями почек. Доказана способность эргокальциферола, оксидевита, диоксидита нормализовать показатели фосфорно-кальциевого обмена, ПТГ, ТКТ, а также минерализацию костей. Выявлены иммуномодулирующие свойства оксидевита и его способность влиять на механизмы внутриклеточной регуляции Са.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наумова В. И., Руснак Ф. И., Верескова С. А. и др. // Педиатрия.— 1989.— № 5.— С. 19—22.
2. Панченко Е. Л. Клиническое значение изменений гомеостаза и интратеренального транспорта кальция при хронических болезнях почек у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1987.
3. Пинелис В. Г., Светлов С. И. // Всесоюзная конф. по физиологии и патологии водно-солевого обмена.— Иваново, 1989.— С. 109.
4. Плещитый К. Д. // Вопр. мед. химии.— 1988.— № 5.— С. 9—14.
5. Руснак Ф. И. Метаболизм витамина D и нарушения фосфорно-кальциевого обмена у детей с хроническими болезнями почек: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1984.
6. Руснак Ф. И., Горицина Л. К. // Тубулоинтерстициальные поражения почек. Организация и профилактика болезней почек в различных регионах СССР.— Ташкент, 1984.— С. 35.
7. Руснак Ф. И., Наумова В. И., Спиричев В. Б. и др. // Вопр. охр. мат.— 1984.— № 4.— С. 36—40.
8. Руснак Ф. И., Сергеев И. Н., Плещитый К. Д., Спиричев В. Б. // Проблемы детской нефрологии.— Душанбе, 1990.— С. 67—73.
9. Руснак Ф. И., Сергеев И. Н., Спиричев В. Б. // Всесоюзная конф. по детской нефрологии.— Винница, 1990.— С. 68.
10. Сергеев И. Н. // Вопр. мед. химии.— 1989.— № 1.— С. 2—11.
11. Сергеев И. Н., Плещитый К. Д., Руснак Ф. И., Спиричев В. Б. // Там же.— № 6.— С. 117—121.
12. Серебрянный В. И. Нарушение гомеостаза и методы их контролируемой коррекции при нефротическом синдроме у детей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1990.
13. Спиричев В. Б., Блажеевич Н. В., Куцафина Е. К. и др. // Вопр. питания.— 1988.— № 1.— С. 32—34.
14. Цыбышева А. К., Бурков И. В., Блажеевич Н. В. и др. // Вопр. мед. химии.— 1988.— № 4.— С. 112—117.
15. Balsan S., Garabedian M., Dumas R., Broyer M. // Actualite nephrologiques de l'hopital necker.— Paris, 1981.— P. 139—147.
16. Bromage H., De Luca H. F. // Endocr. Rev.— 1984.— Vol. 6.— P. 491—511.
17. Brunlle M. C., Chan M., Ferriere C., Roberts D. K. // Nature.— 1978.— Vol. 276, N 5685.— P. 287—289.
18. Bulla M., Stock G. J. et al. // Klin. Wschr.— 1980.— Bd 58, N 5.— S. 237—248.
19. Chan J. C. M., Kodroff V. B., Landwehr D. M. // Pediatrics.— 1981.— Vol. 68, N 4.— P. 559—571.
20. De Luca H. F. // Monograph on Endocrinology.— Berlin, 1979.— Vol. 13.— P. 1—80.
21. Dimen-Steenwoode R. // Clin. Nephrol.— 1985.— Vol. 24, N 6.— P. 282—299.
22. Goldstein D. A., Haldiman B., Sherman D. et al. // J. clin. Endocr. Metab.— 1981.— Vol. 52, N 1.— P. 116—121.
23. Gallager D., Aaron J. C., Horsman A. et al. // Endocr. Metab.— 1973.— N 2.— P. 293—315.
24. Hahn T. J., Halstead L. R., Baron D. T. // J. clin. Endocr. Metab.— 1981.— Vol. 52, N 1.— P. 111—115.
25. Haussler M. R. // Ann. Rev. Nutr.— 1986.— Vol. 6.— P. 527—562.
26. Kumar R., Schnoes H. K., De Luca H. F. // J. biol. Chem.— 1978.— Vol. 25.— P. 3804—3809.
27. Lim P., Jacob E., Tock E. P. C., Pwee H. S. // Quart. J. Med.— 1977.— N 183.— P. 327—338.
28. Madsen S. // Acta medica scand.— 1979.— Suppl.— P. 69—75.
29. Malluche H. H., Goldstein D. A., Massry S. C. // J. clin. Invest.— 1979.— Vol. 63.— P. 494—500.
30. Manolagas S. C., Provveini D. M., Isoucas C. D. // Molec. cell. Endocr.— 1985.— Vol. 43.— P. 113—122.
31. Massry Sh. C., Goldstein D. A. // Kidney int.— 1978.— Vol. 13, Suppl.— N 8.— P. 39—42.
32. Massry Sh. C. // Amer. J. clin. Nutr.— 1980.— Vol. 33, N 7.— P. 1530—1535.
33. Miller B. E., Norman A. W. // Vitamin D. Handbook of Vitamins.— New York, 1984.— P. 45—98.
34. Muirheard C. // Quart. J. Med.— 1982.— Vol. 51, N 204.— P. 427—444.
35. Ostrem V. H., Lau W. F., Lee S. H. et al. // J. biol. Chem.— 1987.— Vol. 262.— P. 519—526.
36. Queille M. Z., Miravet L., Bordier P. // Biomedicine.— 1978.— Vol. 28.— P. 237—242.
37. Reichel H., Koepler H. R., Norman A. W. // J. clin. Endocr.— 1987.— Vol. 65.— P. 519—526.
38. Reichel H., Koepler H. R., Norman A. W. // J. biol. Chem.— 1987.— Vol. 262.— P. 10931—10937.
39. Sato K. A., Gray R. W., Lemann J. // J. Lab. clin. Med.— 1982.— Vol. 99, N 3.— P. 325—330.
40. Shani S. // Nephron.— 1986.— Vol. 42, N 2.— P. 141—145.
41. Statopolsky E., Gray R. D., Adams M. D. et al. // Proc. Amer. Soc. Nephrol.— 1978.— N 11.— P. 99—101.
42. Wong J. L. // J. biol. Chem.— 1979.— Vol. 254.— P. 6357—6640.

Поступила 08.08.91

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 615.356.03:616.31-081.076.9

В. А. Пахомова, Г. Ф. Белоклицкая,
О. В. Деньга, О. О. Протункевич

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВИТАМИНОВ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Одесский НИИ стоматологии

Проявления витаминной недостаточности принимают преимущественно скрытую форму, являясь фоном для формирования и развития ряда патологических состояний, имеющих большое значение в возникновении стоматологических заболеваний. Профилактический и лечебный эффект витаминов в стоматологии известен [11, 14, 15], однако патогенетическое обоснование их применения представлено недостаточно. До настоящего времени определяли воздействие витаминов на отдельные звенья энергетического и пластического метаболизма. В то же время применение витаминов при многих заболеваниях предполагает их влияние на какие-то общие механизмы развития заболеваний. К основным нарушениям относится изменение в тканях и крови содержания водородных ионов, связанное с патологическими сдвигами обмена веществ в организме. Помимо трех основных систем поддержания кислотно-щелочного гомеостаза в организме человека и животных (респираторной, экскреторной и буферной), в последние годы установлено существование еще четвертой системы — метаболической [7]. На ранних этапах изменения кислотно-щелочного равновесия, помимо буферной системы, для обеспечения постоянства внутриклеточного pH включаются гомеостатические мо-

Показатель	Контроль	Ацидоз	Ацидоз+витамины	Алкалоз	Алкалоз+витамины
pH	$7,35 \pm 0,03$	$7,25 \pm 0,04$	$7,40 \pm 0,03$	$7,46 \pm 0,04^*$	$7,56 \pm 0,01$
HCO_3^- , ммоль/л	$31,0 \pm 4,55$	$15,7 \pm 1,24^*$	$25,7 \pm 1,35^{**}$	$34,6 \pm 4,87$	$55,6 \pm 2,50^*$
pCO_2 , мм рт. ст.	$49,7 \pm 1,70$	$30,0 \pm 2,05^*$	$40,1 \pm 1,15^{**}$	$47,0 \pm 2,10$	$58,7 \pm 4,20^{**}$
pO_2 , мм рт. ст.	$56,2 \pm 2,71$	$45,3 \pm 2,18^*$	$85,6 \pm 3,30^{**}$	$82,2 \pm 6,25^*$	$105 \pm 5,65^{**}$
Диагноз по номограммам	Норма	Метаболический ацидоз	Норма	Отчасти компенсированный метаболический ацидоз	Метаболический алкалоз

Примечание. Одна звездочка — достоверные отличия от контроля, две — достоверные отличия по сравнению с группой ацидоза или алкалоза.

лекулярные механизмы тканей, направленные на связывание избытка протонов при ацидозе и образование органических кислот при дефиците ионов водорода в случае алкалоза. Так называемый метаболический гомеостаз представляет собой совокупность определенных изменений в направленности и интенсивности обмена углеводов, липидов, аминокислот, нуклеотидов (и соответственно белков и нуклеиновых кислот), имеющих место непосредственно в клетках в ответ на нарушение кислотно-щелочного равновесия. Физиологический смысл указанных изменений обмена веществ заключается в регулировании интенсивности взаимопревращений сильных органических кислот и оснований в более слабые кислоты и основания или в нейтральные соединения, и наоборот. Так, диабетоподобная направленность обменных процессов при ацидозе выражается в преобладании процессов глюконеогенеза, что сопровождается связыванием ионов водорода при образовании такого нейтрального соединения, как глюкоза. Одновременно уменьшается образование кислых метаболитов в гликолизе и цикле трикарбоновых кислот. При алкалозе, наоборот, ускорение функционирования гликолиза и цикла трикарбоновых кислот способствует образованию органических кислот, направленных на сохранение pH. Соответственно при этом снижены процессы глюконеогенеза. В результате изменения направленности обменных процессов при компенсированных формах сдвигов кислотно-щелочного равновесия наблюдают преобладание восстановленных соединений, в том числе и тиоловых (при метаболическом ацидозе), и избыток окисленных метаболитов (при развитии метаболического алкалоза). Целью данной работы явилось изучение влияния комплекса витаминов «Аэровит» на со-

стояние метаболической системы регуляции кислотно-щелочного гомеостаза организма, имеющей важное значение в патогенезе стоматологических заболеваний.

Методика. Определяли показатели кислотно-щелочного состояния крови (с помощью биологического микроанализатора фирмы «Раделкис», содержание метаболитов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот [13], рассчитывали отношение окисленных метаболитов к восстановленным, содержание тиоловых соединений (водорастворимых белков и низкомолекулярных соединений) определяли с помощью реактива Элмана [4], активность дегидрогеназ определяли спектрофотометрически по приросту или убыли восстановленных никотинамидных коферментов (НАД- и НАДФ-зависимые: изоцитратдегидрогеназы, НАД-зависимая малатдегидрогеназа, гексокиназа, пируваткиназа) [1, 10, 12], активность липазы исследовали по методу [6]. Исследование выполнено на крысах-самцах Вистар массой 150—180 г. Сдвиги кислотно-щелочного равновесия моделировали введением в рацион животных избытка хлористого аммония или бикарбоната натрия [5], пародонит моделировали введением в рацион крыс избытка хлористого аммония [2].

Результаты и обсуждение. Моделирование у крыс сдвигов кислотно-щелочного равновесия сопровождается при развитии метаболического ацидоза достоверным снижением содержания в крови бикарбоната и углекислоты при уменьшении средних показателей pH (см. таблицу), а в случае метаболического алкалоза — достоверным увеличением pH. При ацидозе снижается содержание в крови кислорода, метаболический алкалоз вызывает увеличение насыщения крови кислородом, что связано с повышением сродства гемоглобина к кислороду в результате карбоксилирования молекулы гемоглобина [7]. Введение в рацион крыс комплекса витаминов нормализует показатели кислотно-щелочного равновесия крови при моделировании у них метаболического ацидоза и усиливает защелачивание в организме при исходном состоянии метаболического алкалоза (см. таблицу). Нормализующее влияние при ацидозе витаминов связано с их воз-

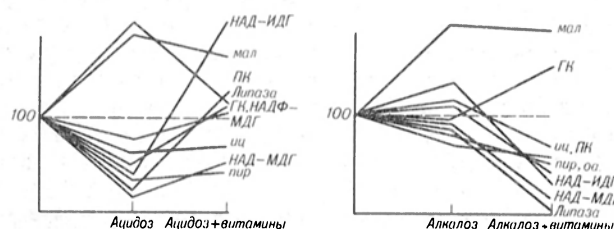


Рис. 1. Влияние комплекса витаминов на активность ферментов и содержание метаболитов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в печени крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

Здесь и на рис. 2—4: ИДГ — изоцитратдегидрогеназа, мал — малат, ПК — пируваткиназа, ГК — гексокиназа, МДГ — малатдегидрогеназа, иц — изоцитрат, пир — пируват, оа — оксалоацетат, лак — лактат.

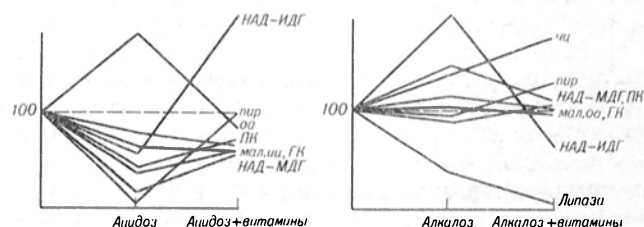


Рис. 2. Влияние комплекса витаминов на активность ферментов и содержание метаболитов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в почечной ткани крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

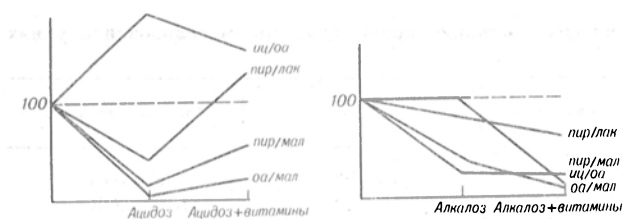


Рис. 3. Влияние комплекса витаминов на отношение окисленных метаболитов к восстановленным в печени крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

действием на окислительно-восстановительные процессы, так как многие витамины препарата «Аэровит» входят в состав коферментов. На рис. 1 и 2 представлены полученные нами результаты исследования активности ключевых ферментов и содержания метаболитов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот в печени и костной ткани крыс под воздействием препарата «Аэровит» при сдвигах кислотно-щелочного равновесия. Как видно из представленных данных, развитие ацидоза в тканях животных приводит к снижению активности гексокиназы, пируваткиназы, НАД-зависимых изоцитратдегидрогеназы и малатдегидрогеназы, уменьшению содержания пирувата. Применение комплекса витаминов способствует нормализации или вызывает тенденцию к нормализации перечисленных показателей, а также снижает активность липазы в печени крыс и содержание оксалоацетата в костной ткани.

Основное регуляторное воздействие на направленность внутриклеточных обменных процессов оказывает соотношение окисленных (пируват, оксалоацетат) и восстановленных (лактат, малат) метаболитов [3]. Преобладание в тканях окислительных свойств усиливает функционирование гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и липогенез, ингибируя одновременно глюконеогенез. Применение комплекса витаминов при ацидотическом состоянии способствует нормализации этих показателей в печени и костной ткани животных (рис. 3 и 4). Отношение изоцитрат/оксалоацетат, свидетельствующее об отношении ацетил-КоА/КоА, возрастает при ацидотическом состоянии и снижается под влиянием витаминов. Тиолы, взаимосвязанные с редокс-состоянием через систему низкомолекулярных тиоловых соединений — редокс-медиаторов [8], отражают рост восстановительных свойств тканей при ацидозе и нормализацию этих процессов при использовании комплекса витаминов (рис. 5 и 6). При развитии ацидотического состояния значительно уменьша-

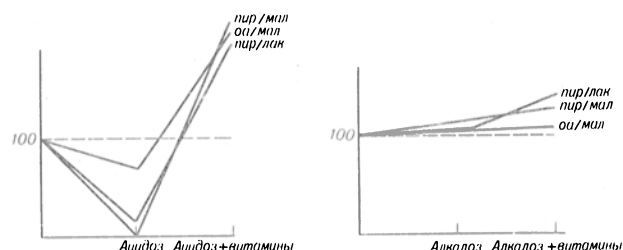


Рис. 4. Влияние комплекса витаминов на отношения окисленных метаболитов к восстановленным в костной ткани крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

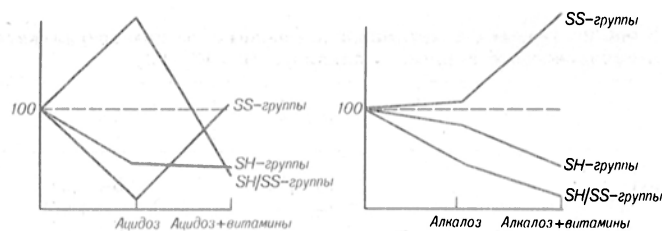


Рис. 5. Влияние комплекса витаминов на содержание сульфгидрильных и дисульфидных групп и их отношения в водорастворимых белках и низкомолекулярных соединениях печени крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

ется содержание в тканях окисленных форм тиолов и увеличивается соотношение сульфгидрильных и дисульфидных групп в печени и костной ткани крыс. Воздействие комплекса витаминов изменяет эти показатели в сторону нормализации.

Защелачивающее влияние на биологические ткани препарата «Аэровит», оказывающее положительное воздействие при метаболическом ацидозе, сохраняется и при развитии алкалоза. Однако на фоне метаболического алкалоза витамины приводят к усилению защелачивания в тканях, связанного, вероятно, с их способностью ускорять окислительные процессы. Этот факт находит подтверждение при исследовании окислительно-восстановительных процессов в печени и костной ткани крыс, получавших с рационом витамины. Применение витаминов на фоне алкалоза приводит к значительному отклонению биохимических показателей в тканях от контрольного уровня в печени крыс (см. рис. 1). В костной ткани при этом увеличивается содержание пирувата и изоцитрата и еще больше снижается активность липазы под влиянием витаминов (см. рис. 2). В печени препарат вызвал уменьшение отношения окисленных метаболитов к восстановленным, тогда как в костной ткани отмечают небольшое отклонение этих показателей в противоположную сторону (см. рис. 3 и 4). Характер изменений тиоловых соединений и отношения их восстановленных форм к окисленным при алкалозе под воздействием препарата «Аэровит» противоположно наблюдаемым при ацидозе, а именно наблюдают увеличение содержания дисульфидов, уменьшение содержания SH-групп и снижение отношения SH/SS-групп, отражающие усиление защелачивания в тканях (см. рис. 5 и 6).

Таким образом, комплекс витаминов «Аэровит» оказывал однотипное влияние на метаболическую систему регуляции кислотно-щелочного состояния и изменение его показателей в крови. Показа-

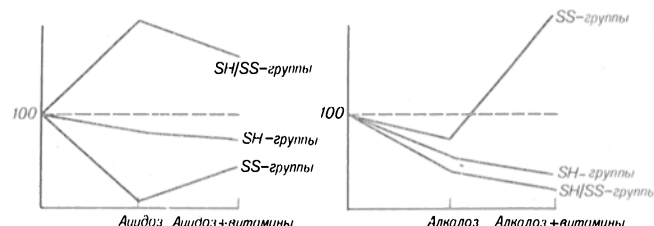


Рис. 6. Влияние комплекса витаминов на содержание сульфгидрильных и дисульфидных групп и их отношения в водорастворимых белках и низкомолекулярных соединениях костной ткани крыс при моделировании метаболического ацидоза и алкалоза (в % к контролю).

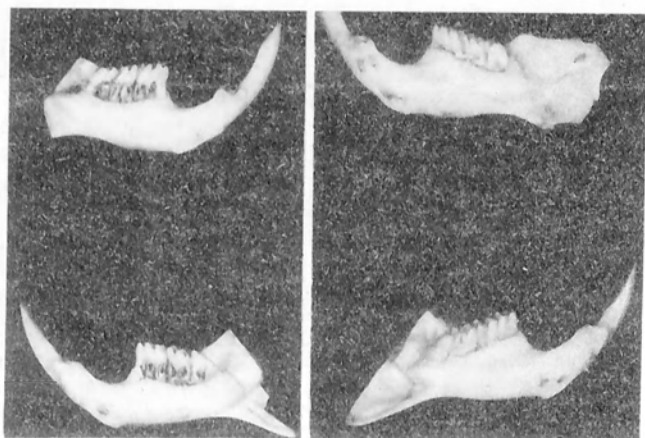


Рис. 7. Предотвращение развития атрофии альвеолярных отростков челюстей крыс при спонтанном пародонтите комплексом витаминов.

нием к применению препарата «Аэровит» является развитие в организме явлений метаболического ацидоза, в том числе его компенсированных форм. Известно, что ацидотические состояния сопутствуют или лежат в основе развития многих заболеваний. Вероятно, этим фактом объясняется широкое использование и профилактический эффект комплексов витаминов.

Нами установлено профилактическое влияние комплекса витаминов «Аэровит» при спонтанном пародонтите и при моделировании этого заболевания у крыс [9]. Пародонтит относится к широко распространенным заболеваниям полости рта, охватывающим 80–90 % всего взрослого населения земного шара и встречающимся у детей в значительном проценте случаев. Пародонтит выражается прежде всего прогрессирующей атрофией костной ткани альвеолярных отростков челюстей, что приводит со временем к полной потере зубов. Нами обнаружено, что ведущую роль в развитии атрофий костной ткани альвеолярных отростков челюстей играет ацидотическое состояние общего и местного характера в тканях. Это предположение нашло подтверждение при моделировании атрофии костной ткани челюстей крыс путем создания у них метаболического ацидоза и предотвращения развития атрофии альвеолярных отростков челюстей при защелачивании организма, в том числе введением в рацион животных витаминов «Аэровит». Применение комплекса витаминов предотвращает развитие атрофии альвеолярных отростков челюстей крыс при моделировании у них метаболического ацидоза. Активизируя окислительно-восстановительные процессы при спонтанном пародонтите крыс, препарат дает также профилактический эффект, препятствуя рассасыванию костной ткани альвеолярных отростков челюстей (рис. 7).

Таким образом, витамины «Аэровит» препятствуют развитию метаболического ацидоза в тканях, повышая в них окислительные свойства, выражающиеся в преобладании окисленных метаболитов над восстановленными, повышении отношений SH/SS-групп в водорастворимых белках и низкомолекулярных соединениях, активации ключевых ферментов гликолиза и цикла трикарбоновых кислот, снижении активности липазы, нормализации показателей кислотно-щелочного равновесия. Применение витаминов при заболевани-

ях, для которых характерно развитие ацидотического состояния, оказывает профилактическое действие, выражающееся, например, при пародонтите уменьшением атрофии альвеолярных отростков челюстей и повышением окислительно-восстановительных процессов в тканях, способствующим уменьшению явлений метаболического ацидоза как в печени, так и в костной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. с. 930122 СССР. Способ определения активности малатдегидрогеназы в биологических тканях / Пахомова В. А., Крюкова Г. Н., Козлянина Н. П. // Открытия.— 1982.— № 19.
2. А. с. 1399807 СССР. Способ моделирования пародонтита / Пахомова В. А., Мельничук Д. А., Журавский Н. И. и др. // Открытия.— 1988.— № 20.
3. Великий Н. П., Пархоменко П. К. // Биохимия животных и человека.— Киев, 1978.— Вып. 2.— С. 46–58.
4. Веревкина И. В., Тоцилкин А. И., Попова Н. А. // Современные методы в биохимии.— М., 1977.— С. 223–231.
5. Журавский Н. И., Мельничук Д. А., Лукинов Д. И. // Докл. АН УССР. Сер. «Б».— 1980.— № 1.— С. 65–68.
6. Левицкий А. П. // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины.— Киев, 1969.— С. 137–140.
7. Мельничук Д. А. // Укр. биохим. журн.— 1989.— Т. 61, № 3.— С. 3–21.
8. Октябрьский О. П., Смирнова Г. В. // Биохимия.— 1988.— Т. 53, № 2.— С. 2042–2049.
9. Пахомова В. А., Крюкова Г. Н., Розанов А. Я. и др. // Стоматология.— 1989.— № 1.— С. 20–21.
10. Практикум по биохимии / Под ред. С. Е. Северина.— М., 1979.— С. 259–260.
11. Самойлович В. А. // Мед. сестра.— 1989.— № 8.— С. 33–35.
12. Grignani P., Lohr C. // Chim. Wschr.— 1960.— Bd 38, N 16.— S. 769–799.
13. Methoden der enzymatischen Analyse / Hrsg. H. U. Bergmeyer.— Berlin, 1970.
14. Zamcy P. Y. // Brit. dent. J.— 1986.— Vol. 160, N 3.— P. 81–84.
15. Zeggott P. J. // J. Periodont.— 1986.— Vol. 57, N 8.— P. 480–485.

Поступила 08.08.91

EXPERIMENTAL RATIONALE FOR USING VITAMINS IN THE MULTIMODALITY TREATMENT OF DENTAL DISEASES

V. A. Pakhomova, G. F. Beloklitskaya, O. V. Denga, O. O. Pro-lunkevich

Institute of Stomatology, Odessa.

The "Aerovit" vitamin complex prevents metabolic acidosis development and increased the rate of oxidation in tissues, which is accompanied by predominance of oxidized metabolites of glycolysis and Krebs cycles, by activation of their key enzymes as well as by an increase in the ratio of SH/SS-groups in water-soluble protein and low molecular weight fractions, by a decrease in activity of lipase. At the same time, patterns of acid-alkaline equilibrium were normalized in blood. Preventive effect of the vitamin complex was noted in treatment of the diseases accompanied by acidosis; in parodontitis the vitamins suppressed the atrophy of maxillary alveolar bone structures, normalized the acid-alkaline equilibrium in blood and decreased the rate of metabolic acidosis in liver and bone tissues.