

УДК: 577.164.1

**Влияние витамина В<sub>6</sub> на активность некоторых ферментов цикла трикарбоновых кислот  
С.А.Петров, С.С.Чернадчук, З.Е.Захариева, Н.Л.Федорко, А.В.Сорокин**

*Одесский национальный университет имени И.И.Мечникова (Одесса, Украина)*

Установлено, что введение пиридоксина как *in vitro*, так и *in vivo* оказывает, в основном, ингибирующее действие на активность пируватдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы в органах крыс, что может быть связано с конкуренцией между пиридоксальфосфатом и никотинамидадениндинуклеотидом при присоединении к апоферментам и при транспорте через биомембраны.

Ключевые слова: *пируватдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа, пиридоксин.*

**Введение**

Изучению механизмов межвитаминных отношений посвящено значительное количество исследований (Hasegawa et al., 1957; Nakayama, 1959; Боброва, 1975; Inone et al., 1976; Розанов и др., 1985; Петров и др., 1987; Петров, Донеско, 1989; Петров та ін., 1990, 1991а, б; Петров, Желязкова, 1991). В этом направлении достигнуты определенные успехи. В частности, описаны уровни таких отношений. Установлены синэргические и антагонистические эффекты во взаимодействии витаминов в организме.

В последние два десятилетия показано, что на уровне межвитаминных отношений рельефно проявляются некоферментные функции витаминов (Петров, 2006).

Одним из наиболее важных направлений в изучении некоферментных функций витаминов является изучение их прямого действия на ферменты вообще и, в частности, на ферменты, содержащие в качестве коферментов метаболиты других витаминов.

Такие исследования позволяют изучить не только некоферментные функции витаминов, но и определить характер взаимоотношений между ними.

Особый интерес в этом отношении представляют исследования воздействия пиридоксина на НАД-зависимые ферменты, поскольку пиридоксин и никотиновая кислота содержат в основе пиридиновое кольцо.

В связи с этим целью нашей работы – исследовать влияние витамина В<sub>6</sub> на активность ключевых НАД-зависимых ферментов: пируватдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы и ФАД-зависимой сукцинатдегидрогеназы.

**Материалы и методы**

При выполнении работы использовали половозрелых крыс – самцов линии Wistar массой 180–200 г. Активность ферментов определяли феррицианидным методом (KieSSLing, Lunquist, 1962). В исследованиях *in vivo* животным внутривенно вводили пиридоксин в дозе 100 мкМ/200 г крысы. Контрольным животным вводили 0,9% NaCl. Исследования проводили в динамике. Время декапитации: 1,0; 24 часа. Для исследований использовали гомогенаты и митохондрии печени, почек, сердца и головного мозга.

Исследуя активность ферментов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК): пируватдегидрогеназы (ПДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ),  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы ( $\alpha$ -КГДГ) *in vitro*, к инкубационной среде добавляли витамин В<sub>6</sub> в концентрации 1 мкМ/мл среды.

Статистическую обработку результатов проводили по общепринятой схеме с использованием методов статистики (критерий Стьюдента) (Рокицкий, 1967). Достоверно различными считали результаты при  $P \leq 0,05$ .

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Европейской Конвенцией о защите животных, которые используются для экспериментальных научных целей.

**Результаты и обсуждение**

В результате наших исследований установлено, что пиридоксин, добавленный *in vitro* к гомогенатам исследуемых тканей: печени, почек, сердца, в большинстве случаев вызывал снижение активности ПДГ,  $\alpha$ -КГДГ, СДГ в 1,3–6 раз (табл. 1). Исключение составляли гомогенаты головного мозга, где наблюдалась тенденция к увеличению активности данных энзимов.

Таблиця 1.

Активність ферментів ЦТК (мкМ/г ткани) в гомогенатах крыс *in vitro* (n=8–10)

Орган	Пируватдегідрогеназа		α-Кетоглутаратдегідрогеназа		Сукцинатдегідрогеназа	
	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч
		0,5		0,5		0,5
Печень	14,8±1,58	9,62±1,06↓	8,15±0,79	14,39±1,37↑	18,34±1,9	16,34±1,32
Почки	17,05±1,8	8,62±0,98↓	23,83±2,71	9,67±1,06↓	15,22±1,16	16,48±1,69
Мозг	13,48±1,12	10,09±1,08↓	15,34±1,61	9,61±1,06↓	9,16±0,85	11,20±1,09
Сердце	11,25±1,8	8,49±0,76↓	19,67±2,06	10,86±1,04↓	16,14±1,65	11,64±1,17↓

Примечание: ↑ – достоверное повышение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ );  
↓ – достоверное снижение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ ).

Таблиця 2.

Активність ферментів ЦТК (мкМ/г ткани) в митохондриях крыс *in vitro* (n=8–10)

Орган	Пируватдегідрогеназа		α-Кетоглутаратдегідрогеназа		Сукцинатдегідрогеназа	
	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч
		0,5		0,5		0,5
Печень	303,75±29,05	194,88±21,05↓	69,17±7,34	64,96±6,48	54,10±4,76	156,39±16,46↑
Почки	129,32±13,32	92,02±8,51↓	49,85±5,16	102,85±9,57↑	57,14±5,09	22,16±1,9↓
Мозг	63,49±5,56	66,16±6,34	36,76±3,61	78,19±8,23↑	50,12±4,39	84,21±8,54↑
Сердце	120,50±11,76	90,22±8,37↓	60,15±5,97	45,16±4,51↓	65,16±6,58	10,80±1,27↓

Примечание: ↑ – достоверное повышение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ );  
↓ – достоверное снижение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 3.

Активность ферментов ЦТК (мкМ/г ткани) в органах крыс при внутрибрюшинном введении пиридоксина (n=8–10)

Орган	Пируватдегидрогеназа			α-Кетоглутаратдегидрогеназа			Сукцинатдегидрогеназа		
	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч		Контроль	Время после введения пиридоксина, ч		Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	
		1	24		1	24		1	24
Печень	223,83±18,06	169,35±14,78↓	162,49±14,36↓	201,46±18,32	181,06±16,45	116,55±10,32↓	255,95±21,89	213,44±19,51	184,55±16,03↓
Почки	129,32±10,5	136,65±11,43	92,33±8,46↓	177,57±16,21	187,04±16,8	102,85±8,96↓	187,15±19,6	114,29±9,84↓	156,43±14,81
Мозг	63,49±4,98	27,25±2,08↓	35,92±2,89↓	144,70±12,97	120,70±10,76	126,89±11,31	81,87±7,56	42,77±3,25↓	31,88±2,8↓
Сердце	120,50±10,34	175,88±16,11↑	95,23±8,78↓	150,16±13,56	109,51±9,78↓	144,23±12,66	110,95±10,02	68,12±7,59↓	77,78±8,56↓

Примечание: ↑ – достоверное повышение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ );  
↓ – достоверное снижение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 4.

Активность ферментов ЦТК (мкМ/г ткани) в митохондриях крыс при внутрибрюшинном введении пиридоксина (n=8–10)

Орган	Пируватдегидрогеназа			α-Кетоглутаратдегидрогеназа			Сукцинатдегидрогеназа		
	Контроль	Время после введения пиридоксина, ч		Контроль	Время после введения пиридоксина, ч		Контроль	Время после введения пиридоксина, ч	
		1	24		1	24		1	24
Печень	11,82±1,45	16,35±1,98↑	5,09±0,46↓	6,16±0,6	16,35±1,98↑	15,71±1,6↑	26,34±2,65	16,35±1,98↓	14,35±1,12↓
Почки	13,09±1,56	8,17±0,6↓	6,55±0,6↓	25,58±2,95	5,45±0,45↓	3,64±0,4↓	16,32±1,98	16,35±1,98	16,80±1,43
Мозг	11,04±1,7	5,45±0,44↓	9,10±0,8	18,06±1,78	2,72±0,3↓	3,64±0,4↓	8,41±0,76	32,40±2,97↑	27,25± 3,07↑
Сердце	16,65±1,58	2,72±0,24↓	6,06±0,57↓	23,80±2,05	2,72±0,3↓	0,24±0,03↓	19,16±2,05	5,45±0,6↓	12,14±1,37↓

Примечание: ↑ – достоверное повышение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ );  
↓ – достоверное снижение активности фермента по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ ).

Так как ПДГ, α-КГДГ и СДГ являются митохондриальными ферментами, то несомненный интерес представляли аналогичные исследования на митохондриях, выделенных из печени, почек, мозга и сердца.

Как видно из табл. 2, активность исследуемых ферментов, также как и в гомогенатах, в основном, снижалась под действием витамина В<sub>6</sub>. Только в одном случае в митохондриях печени регистрировалось достоверное увеличение активности α-КГДГ в 1,7 раза, по отношению к контролю.

Следующий этап наших исследований был посвящен изучению динамики изменения активности ПДГ, α-КГДГ и СДГ при введении пиридоксина *in vivo*.

Введение животным пиридоксина уже через 1 час приводило к снижению активности исследуемых ферментов в гомогенатах крыс (табл. 3). Данный эффект сохранялся и через 24 часа после введения витамина В<sub>6</sub>.

Исключением являлась только активность ПДГ в гомогенате сердца через 1 час после введения витамина, которая достоверно увеличилась в 1,5 раза, однако через 24 часа активность фермента снизилась и была ниже по отношению к контролю. Такая же закономерность регистрировалась и по отношению к активности α-КГДГ в гомогенате почек.

При исследовании активности ферментов из выделенных митохондрий (табл. 4), в большинстве случаев, мы также регистрировали снижение активности ПДГ, α-КГДГ и СДГ. Увеличение активности ферментов наблюдалось в некоторых случаях: α-КГДГ – в митохондриях печени, СДГ – в митохондриях мозга, что, возможно, связано с тем, что в митохондриях существует некоторое количество свободных от коферментов апоэнзимов, которые взаимодействуют с пиридоксальфосфатом (ПАЛФ) и реактивируются.

Следует отметить, что в большинстве случаев ингибиторные эффекты пиридоксина проявляются значительно больше на ПДГ и α-КГДГ, чем на СДГ. Вероятно, данный эффект связан с тем, что в первых двух ферментах присутствует НАД (никотинамидадениндинуклеотид), являющийся, как и пиридоксин, пиридиновым соединением, тогда как ФАД (флавинадениндинуклеотид), присутствующий в СДГ, содержит изоаллаксазиновое ядро.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что введение пиридоксина как *in vitro*, так и *in vivo* вызывает в основном снижение активности ПДГ, α-КГДГ. Поскольку в эти два мультиэнзимных комплекса в качестве одного из коферментов входит НАД, являющийся пиридиновым соединением, можно предположить существование конкуренции между ПАЛФ и НАД за присоединение к апоферментам. Конкуренция может осуществляться также и за транспортные белки, переносящие эти соединения через биомембраны.

### Список литературы

- Боброва Н.П. Взаимотношения тиамин и его производных с рибофлавином // Материалы конференции «Межвитаминные взаимоотношения». – Гродно: Редакционно-издательский совет ЛН БССР, 1975. – С.12.
- Петров С.А. Некоферментные эффекты тиамин и его метаболитов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т.52, Вып.4. – С. 335–345.
- Петров С.А., Донеско Е.В. Влияние тиамин и его метаболитов на активность аспартат- и аланинаминотрансферазы в организме белых крыс и донорской крови // Физиол. ж. – 1989. – Т.35, №4. – С. 94–96.
- Петров С.А., Желязкова И.А. Влияние тиамин и его метаболитов на активность тканевой и очищенной алкогольдегидрогеназы // Физиол. ж. – 1991. – Т.37, №1. – С. 45–49.
- Петров С.А., Котенко О.А., Ель-Абсі М. Вплив тіаміну та його метаболітів на активність тканинної та очищеної лактатдегідрогенази // Укр. біохім. журнал. – 1991. – Т.63, №2. – С. 105–108. (а).
- Петров С.А., Розанов А.Я., Гаврилюк І.В., Міськова О.Б. Вплив тіаміну та його метаболітів на активність пепсину й трипсину // Укр. біохім. журнал. – 1990. – Т.62, №1. – С. 102–104.
- Петров С.А., Розанов А.Я., Тищенко Д.В. Влияние тиамин и его производных на активность ацетилхолинэстеразы мозга и крови белых мышей // Укр. биохим. журнал. – 1987. – Т.59, №3. – С. 76–79.
- Петров С.А., Федорко Н.Л., Семерюкова І.А. Накопичення тіаміну та його метаболітів у клітинах і мітохондріях печінки щурів // Укр. біохім. журнал. – 1991. – Т.63, №3. – С. 109–113. (б).
- Розанов А.Я., Карпов Л.М., Петров С.А. Влияние коферментов пируватдегидрогеназы и белков митохондрий на накопление в них <sup>35</sup>S-липоевой кислоты // Укр. биохим. журнал. – 1985. – Т.57, №3. – С. 71–74.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1967. – 326с.
- Hasegawa E., Tamaki T., Tanaka T., Fujita A. Studies on thiamine-decomposing thermostable factors. III. On a reaction product produced by the reaction between thiamine and rutin // J. Vitaminol. – 1957. – Vol.3, №1. – P. 30–38.

Inone A., Shim S., Iwata H. The activation of thiamine diphosphatase by ATP in rat brain // J. Neurochem. – 1976. – Vol.17, №9. – P. 1373–1382.

Kiessling K.H., Lunquist C.G. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and from thiamine diphosphate deficient adult rats // Expt. Cell. Res. – 1962. – Vol.26, №1. – P. 189–197.

Nakayama I. Studies of the relationship between thiaminopropyldisulfide and riboflavin. I. Effect of oral administration of TPD on riboflavin content in the urine of normal children and in the urine as well as blood of healthy infant under artificial feeding // Vitamins. – 1959. – Vol.16, №4. – P. 294–300.

**Вплив вітаміну В<sub>6</sub> на активність деяких ферментів циклу трикарбонових кислот  
С.А.Петров, С.С.Чернадчук, З.Є.Захарієва, Н.Л.Федорко, А.В.Сорокін**

Встановлено, що введення піридоксину як *in vitro*, так і *in vivo*, в більшості випадків, справляє інгібуючу дію на активність піруватдегідрогенази,  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогенази та сукцинатдегідрогенази в органах щурів, що, можливо, пов'язано з існуванням конкуренції між піридоксальфосфатом та нікотинамідаденіндинуклеотидом при приєднанні до апоферментів та при транспорті через біомембрани.

Ключові слова: *піруватдегідрогеназа, сукцинатдегідрогеназа,  $\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназа, піридоксин.*

**Influence of B<sub>6</sub> vitamin on activity of some enzymes of Krebs (tricarboxylic acid) cycle  
S.A.Petrov, S.S.Chernadchuk, Z.E.Zacharieva, N.L.Fedorko, A.V.Sorokin**

It has been ascertained that pyridoxine injection both *in vitro* and *in vivo* caused inhibiting influence on pyruvate dehydrogenase, succinate dehydrogenase and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase activity in organs of rats. This is possibly connected with existing of various mechanisms of realization of interactions between vitamins.

Key words: *pyruvate dehydrogenase, succinate dehydrogenase and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase, pyridoxine.*

---

**Представлено М.Ф.Леусом  
Рекомендовано до друку Н.І.Буланкіною**