

## ВПЛИВ ГІПОКСІЇ ЗАМКНЕНОГО ПРОСТОРУ НА ВМІСТ РИБОФЛАВІНУ ТА ЙОГО КОФЕРМЕНТІВ В ОРГАНАХ БІЛИХ ЩУРІВ

© Н. Л. Федорко, Н. Ю. Прокоф'єва, А. Е. Келар, С. А. Петров

*За умов гіпоксії замкненого простору спостерігалось суттєве збільшення вмісту рибофлавіну у всіх органах щурів, але більш в серці та мозку. Високий рівень флавінаденіндинуклеотиду відзначено у печінці та нирках щурів, а суттєве збільшення вмісту флавінмононуклеотиду спостерігалось лише в мозку. Отримані дані відображають порушення метаболізму рибофлавіну за умов дії гіпоксії замкненого простору, а зміна вмісту флавінів в органах тварин свідчить про різноспрямованість компенсаторних процесів*

**Ключові слова:** гіпоксія замкненого простору, рибофлавін, флавінаденіндинуклеотид, флавінмононуклеотид, метаболізм, печінка, серце, нирки, мозок

*During confined space-hypoxia syndrome it is observed a significant increase of riboflavin in all organs of rats, but more in the heart and brain. High level of flavin adenine dinucleotide is observed in rat liver and kidney, and significant increase of flavin mononucleotide is observed only in the brain. The data reflect the metabolism of riboflavin under conditions of confined space-hypoxia syndrome, and change of the flavin content in the bodies of animals indicates different compensatory processes*

**Keywords:** confined space-hypoxia syndrome, riboflavin, flavin adenine dinucleotide, flavin mononucleotide, metabolism, liver, heart, kidneys, brain

### 1. Вступ

У загальноприйнятому плані гіпоксія характеризується як стан клітини, органу та організму в цілому, що розвивається при невідповідності продукції енергії в ході окисного фосфорилування [1].

Метаболічні зміни при гіпоксії раніше всього наступають в енергетичному та вуглеводному обміні. Значно активується гліколіз, в наслідок чого падає вміст глікогену і збільшується концентрація пірувату і лактату, що сприяє уповільненню окислювальних процесів. Особлива роль належить рибофлавіну як попередника флавінових коферментів, які входять у велике число найважливіших окислювально-відновлювальних ферментів [2].

### 2. Постановка проблеми

Метою роботи було визначення вмісту загального рибофлавіну та його коферментних форм в органах щурів за умов гіпоксії замкненого простору.

### 3. Літературний огляд

Більшість патологічних станів організму супроводжується гіпоксією. Під час дії «гіпоксії замкненого простору» вміст  $O_2$  у середовищі поступово зменшується, а концентрація  $CO_2$  – збільшується, що викликає пригнічення газообміну. Накопичення вуглекислоти призводить до гіперкапнії, розвиток якої супроводжується пригніченням окисних процесів. Підвищення концентрації  $CO_2$  викликає зменшення вмісту в крові лактату і пірувату, знижується вміст глікогену в мозку, відбувається порушення регуляції ферментів циклу Кребса. Причинами тканинної гіпоксії є зниження кількості або активності дихальних ферментів, зокрема цитохромоксидази – кінцевого ферменту дихального ланцюга, роз'єднання окислення і фосфорилування. Зниження синтезу дихальних ферментів посилюється при порушенні метаболізму вітамінів, особливо рибо-

флавіну та нікотинової кислоти [3]. Рибофлавін є кофакторов флавінових ферментів, нікотинова кислота входить до складу НАД-залежних дегідрогеназ. При роз'єднанні окислення і фосфорилування знижується ефективність біологічного окислення, енергія розсіюється у вигляді вільного тепла, ресинтез макроергічних сполук знижується, наростає енергетичне голодування і метаболічні зрушення: порушується обмін ліпідів, білків, електролітів, нейромедіаторів; виникає метаболічний ацидоз, негативний азотистий баланс, порушується функціонування ферментів в циклі Кребса. Недостатність окислювальних процесів тягне за собою низку інших обмінних порушень, наростаючих при поглибленні гіпоксії [4].

Рибофлавін як простетична група флавінових ферментів виконує функцію транспорту водню в дихальному ланцюзі і регулює окисно-відновні реакції. Коферменти цього вітаміну є проміжними переносниками водню від НАД до цитохромів, входять до складу глутатіонредуктази – ферменту, що переводить окиснений глутатіон у відновлену форму. У складі оксидази амінокислот рибофлавінові коферменти приймають участь у синтезі та обміні амінокислот. В цілому, вітамін нормалізує обмін жирів та білків, відіграє важливу роль у підтриманні нормальної зорової функції ока (синтез колбочок та паличок), приймає участь у функції слизових оболонок, шкіри і в синтезі гемоглобіну [5]. Ферменти, що мають в своєму складі рибофлавін приймають участь в обміні інших вітамінів: пантотенової кислоти, піридоксину та фолієвої кислоти. Рибофлавін необхідний для життєдіяльності кишкової палички, а також, полегшує всмоктування заліза, підвищує стійкість організму до гіпоксії та інших несприятливих факторів. У теперішній час відомо декілька десятків ферментів, що містять ФМН або ФАД та складають родину флавінових ферментів [6].

Таким чином, флавінові ферменти – це найважливіші учасники процесів біологічного окислення.

**4. Матеріали і методи дослідження**

Експерименти проводили на кафедрі біохімії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Білих безпородних щурів, масою 180–220 грамів розділяли на 2 групи: група 1 – контроль, група 2 – щурі, які знаходились під дією гіпоксії замкненого простору. Гіпоксію замкненого простору викликали за методом Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачова [7]. Утримання тварин та проведення експериментів проводили у відповідності з міжнародними правилами дотримання принципів гуманності, викладеними у директиві Європейської Спільноти [8]. У гомогенатах тканин визначали вміст загального рибофлавіну, вміст ФАД та ФМН [9]. Отриманні дані обробляли статистично згідно з критерієм Стьюдента [10].

**5. Апробація результатів дослідження**

За умов гіпоксії замкненого простору вміст рибофлавіну збільшився у всіх досліджуваних органах щурів. Так, вміст рибофлавіну у печінці збільшився на 39 %, у нирках – на 24 %, у серці – на 69 %, а у мозку на 94 %, у порівнянні з інтактними щурами, що відображено на рис. 1.

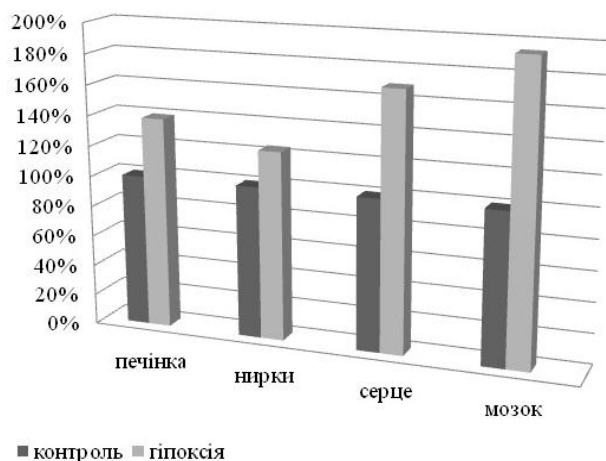


Рис. 1. Вплив гіпоксії замкненого простору на вміст рибофлавіну в органах щурів

Цей ефект демонструє реакцію метаболізму тварин на патологічний стан за умов гіпоксії замкненого простору та віддзеркалює різноспрямованість метаболізму рибофлавіну в окремих органах.

У тканинах вітамін В<sub>2</sub> міститься у вигляді коферментних форм: переважно ФАД (більше 90 %) та ФМН.

В активному центрі ряду флавінових ферментів виявлені залізовмісні похідні рибофлавіну – його комплекси із залізом, міддю, молібденом. Серед флавінових ферментів є ензими, що переносять водень від субстратів (різних речовин) на кисень, що називаються оксидазами та відновлюють інші акцептори протонів і електронів за відсутності кисню – дегідрогенази [6].

Без сумніву, центральне місце займає фермент сукцинатдегідрогеназа, що окислює янтарну кислоту

та являється складовою циклу Кребса. Унікальна функція сукцинатдегідрогенази полягає в тому, що в умовах напруження механізмів синтезу АТФ (гіпоксія, різні стресові дії), коли інші окислювальні процеси циклу пригнічені, сукцинатдегідрогеназа активно пропускає потік протонів і електронів на дихальний ланцюг, обходячи НАД залежну складову. Це має величезну фізіологічну суть в плані адаптації на рівні клітини [11].

Інший флавіновий фермент – глутатіонредуктаза – підтримує в клітині певну концентрацію важливої тіолової сполуки глутатіону, постійно регенеруючи його із окисленої форми. Цим фермент регулює окисно-відновний статус клітини і приймає участь в детоксикації надлишку окислювачів. Глутатіонредуктаза – це важливий компонент глутатіонової антипероксидної системи, фермент-антиоксидант, тому і вітамін В<sub>2</sub> відносять до речовин що володіють антиоксидантними властивостями не на пряму [11]. Активність вищезазначених ферментів на пряму залежить від концентрації ФАД у клітинах. Тому, у подальшому ми вивчали дію гіпоксії замкненого простору на вміст ФАД у тканинах щурів.

Таким чином, як порушення метаболізму при гіпоксії замкненого простору, так і специфічні пристосування до цього стану в окремих органах має свої особливості. Найбільш виразні зміни вмісту рибофлавіну відзначені у мозку та серці.

Вміст ФАД в органах щурів за умов дії замкненого простору представлено на рис. 2.

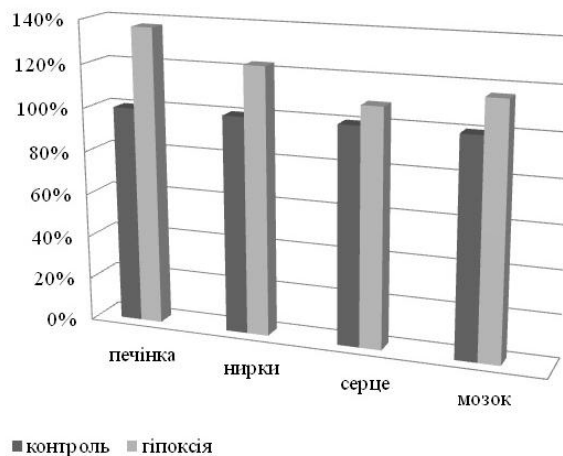


Рис. 2. Вплив гіпоксії замкненого простору на вміст ФАД в органах щурів

При даному патологічному стані, перш за все, порушується енергетичний та вуглеводний обмін, а рибофлавін у якості коферменту входить у склад флавінових ферментів, які каталізують процеси окислювального декарбосиловання пірувату та α-оксоглутарату у циклі Кребса, що пов'язано з виділенням АТФ [12].

ФАД разом із тіаміндифосфатом є компонентом піруват- і α-кетоглутаратдегідрогеназних комплексів. Флавінові оксидази каталізують окиснення пуринів і утворення сечовини (ксантиоксидаза), перетворення адреналіна і інших біологічно активних амінів (моноаміноксидаза).

Спостерігається дефіцит макроергічних сполук: зниження запасів АТФ при одночасному збільшенні АДФ, АМФ та Ф<sub>n</sub>.

В умовах дефіциту кисню відбувається активування безкисневих шляхів метаболізму. Найбільш поширеним видом анаеробного метаболізму в клітинах тканин і тварин являється гліколіз (окислення глюкози) і глікогеноліз (окислення глікогену) [5, 12].

Отримані експериментальні дані демонструють, перш за все, найбільш високі значення вмісту ФАД у печінці та нирках шурів за умов гіпоксії замкненого простору. Так, у порівнянні з інтактними щурами, вміст ФАД збільшився у печінці майже на 40 %, а у нирках – на 20 %. Вміст ФАД в мозку та серці шурів в умовах гіпоксії замкненого простору збільшився на 16 %, а в серці – на 10 % у порівнянні з інтактними тваринами.

З літератури відомо, що ФМН являється натуральним антиоксидантом, який здатний взаємодіяти з вільними радикалами, кількість яких лавиноподібно наростає при гіпоксії замкненого простору.

Вміст ФМН в органах шурів при гіпоксії замкненого простору представлено на рис. 3.

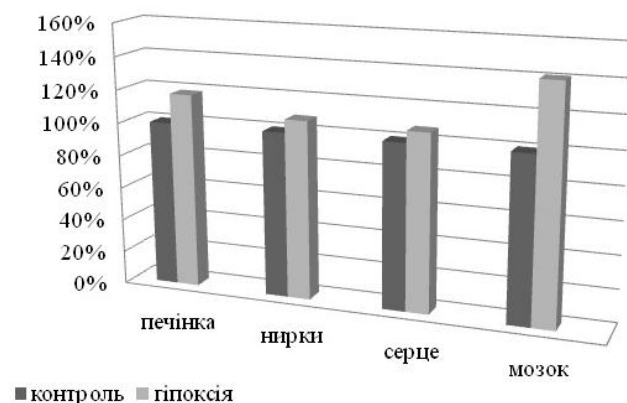


Рис. 3. Вплив гіпоксії замкненого простору на вміст ФМН в органах шурів

У нирках та серці відмічений практично однаковий вміст ФМН, який виріс за умов гіпоксії замкненого простору всього на 8% та 7 %, а в печінці – на 18 %. У мозку шурів за умов гіпоксії замкненого простору відзначено найбільш високий вміст ФМН у порівнянні з інтактними тваринами – на 41 %.

Отримані дані відображають порушення метаболізму рибофлавіну при патологічному стані в окремих органах.

Таким чином, за умов гіпоксії замкненого простору відзначена певна різниця та особливості метаболізму рибофлавіну в досліджених органах шурів. Підвищення рівня рибофлавіну вказують про порушення його анаболізму та утворення його коферментних форм. Підвищення вмісту ФАД та ФМН у досліджуваних органах шурів при гіпоксії замкненого простору свідчить про існування компенсаторних процесів в організмі тварин.

### 6. Висновки

Найбільший вміст рибофлавіну відзначено в нирках та серці, а максимальний вміст ФАД та ФМН відзначено у мозку та в серці інтактних шурів.

За умов ГЗП в досліджених органах шурів спостерігалось суттєве збільшення вмісту всіх форм флавінів (у 2–3 рази) у порівнянні з інтактними тваринами, але це явище було найбільш виражене у мозку. Підвищення рівня рибофлавіну та його коферментів в окремих тканинах, очевидно, пояснюється мобілізацією цього вітаміну з крові у відповідні тканини.

### Література

1. Лукьянова, Л. Д. Современные проблемы гипоксии [Текст] / Л. Д. Лукьянова // Вестник РАМН. – 2000. – № 9. – С. 3–12.
2. Карпов, Л. М. Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма [Текст]: дис. ... докт. биол. наук / Л. М. Карпов. – Одесса, 1994. – 505 с.
3. Розанов, А. Я. Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях [Текст] / А. Я. Розанов, А. Н. Трещинский, Ю. В. Хмелевский. – К. : Здоров'я, 1985. – 208 с.
4. Горанчук, В. В. Биохимические детерминанты и механизмы развития экстремальной гипоксической гипоксии [Текст] / В. В. Горанчук, Е. Б. Шустов, Л. И. Андреева и др. // Физиология человека. – 1999. – Т. 25, № 4. – С. 27–32.
5. Лескова, Г. Ф. Нарушение механизмов регуляции и их коррекция [Текст] / Г. Ф. Лескова. – М.: Медицина, 1989. – 749 с.
6. Морозкина, Т. С. Витамины: Краткое руководство для врачей и студентов медицинских, фармацевтических и биологических специальностей [Текст] / Т. С. Морозкина, А. Г. Мойсеенок. – Минск: «Асар», 2002. – 112 с.
7. Каркищенко, Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям биомедицинских технологий [Текст] / Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачев. – М.: Профиль, 2010. – 358 с.
8. Official Journal of the European Union L276/33 [Text]. – Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes/ 86/609/EC.20/10/2010. – 2010.
9. Островский, Ю. М. Экспериментальная витаминология [Текст] / Ю. М. Островский. – М.: Наука и техника, 1979. – 551 с.
10. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика [Текст] / П. Ф. Рокицкий. – Минск Высшая школа, 1973. – 267 с.
11. Мусил, Я. Основы биохимии патологических процессов [Текст] / Я. Мусил. – М.: Медицина, 1985. – 123 с.
12. Бизенкова, М. Н. Метаболические эффекты антиоксидантов в условиях острой гипоксической гипоксии [Текст] / М. Н. Бизенкова, Н. Г. Романцев, Н. П. Чеснокова // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 1. – С. 17.

### References

1. Lukyanova, L. D. (2000). Modern problems of hypoxia. Bulletin of the Russian Academy of medical Sciences, 9, 3–12.
2. Karpov, L. M. (1994). The implementation of the specific activity of functionally related b vitamins, their derivatives and complexes under different conditions of the body. Odessa, 505.
3. Rozanov, A. Y., Treshhynskiy, A. N., Hmelevskiy, Ju. V. (1985). Enzymatic processes and their correction in extreme conditions. Kyiv: Health, 208.
4. Goranchuk, V. V., Shustov, E. B., Andreeva, L. Y. et. al. (1999). Biochemical determinants and mechanisms of development of extreme hypoxic hypoxia. Human Physiology, 25 (4), 27–32.
5. Leskova, G. F. (1989). Violation of the mechanisms of regulation and their correction. Moscow: Medicine, 749.

6. Morozkina, T. S., Mojseenok, A. G. (2002). Vitamins: a Brief guide for physicians and students of medical, pharmaceutical and biological specialties. Minsk: Asar, 112.

7. Karkichenko, N. N., Grachov, S. V. (2010). A guide to laboratory animal and alternative models in biomedical technology. Moscow: Profile, 358.

8. (2010). Official Journal of the European Union L276/33. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, 86,609,EC.20, 10.

9. Ostrovsky, Y. M. (1979). Experimental vitaminology. Moscow: Science and technology, 551.

10. Rokitski, P. F. (1973). Biological statistics. Minsk: Vycshaja school, 267.

11. Musil, J. (1985). Fundamentals of biochemistry of pathological processes. Moscow: Medicine, 123.

12. Bizenkova, M. N., Romantsev, N. G., Chesnokov, N. P. (2006). Metabolic effects of antioxidants in acute hypoxic hypoxia. Fundamental research, 1, 17.

Дата надходження рукопису 22.07.2015

**Федорко Наталія Леонідівна**, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000  
E-mail: nataliafedorko.biochemistry@gmail.com

**Прокоф'єва Наталія Юрійівна**, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000  
E-mail: Nata\_1504@ukr.net

**Келар Анастасія Едуардівна**, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000

**Петров Сергій Анатолійович**, доктор біологічних наук, професор, кафедра біохімії, Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65000

УДК 635. 95. 581. 52 (477.60)

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.48371

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ РОДА *REBUTIA* K. SCHUM. СЕМЕЙСТВА САСТАСЕАЕ JUSS. И ИХ ГИБРИДНЫХ РАСТЕНИЙ F1

© Е. С. Чичканова, А. Е. Демкович

Выявлены параметры – диаметр и высота побегов, длина корня, количество колючек у *Rebutia senilis*, *Rebutia marsoneri* и ♀ *Rebutia senilis* × ♂ *Rebutia marsoneri* в F1, которые возможно применять при дифференциации в онтогенезе. Установлена возможность применения ISSR маркеров для генетической характеристики родительских форм *R. senilis*, *R. marsoneri*, их гибридных сеянцев

**Ключевые слова:** *Rebutia*, гибрид, F1, сеянцы, дифференциация, побег, корень, колючки, онтогенез, ISSR маркер

Some parameters were identified – the diameter and height of shoots, root length, number of spines in *Rebutia senilis*, *Rebutia marsoneri* and ♀ *Rebutia senilis* × ♂ *Rebutia marsoneri* in F1, which may be used in the differentiation in ontogeny. The possibility of using ISSR markers to the genetic characteristics of parental forms *R. senilis*, *R. marsoneri* and their hybrid seedlings were identified too

**Keywords:** *Rebutia*, hybrid, F1, seedlings, differentiation, shoots, roots, spines, ontogeny, ISSR marker

### 1. Введение

Виды рода *Rebutia* K. Schum. из семейства Састасеае Juss. произрастают в Андийской области (Боливия) Неотропического царства и в Патагонской области (Аргентина) Голантарктического царства на высотах от 1000 до 3500 метров над уровнем моря [1–5]. Они обладают значительной фенотипической изменчивостью, произрастая при экстремальных условиях среды [6–8]. Всё большее значение приобретают селекционные аспекты сохранения и приумножения генетического разнообразия представителей семейства Састасеае [9, 10]. Активно изучаются селекция, межвидовая генетическая связь представителей рода *Rebutia* и других родов семейства

Састасеае [11–15], биоморфологические особенности, фенология, всхожесть и энергия прорастания семян видов рода *Rebutia* [16–20]. С использованием RAPD методов был рассмотрен ряд вопросов относительно филогении рода *Rebutia* [21, 22].

### 2. Обоснование исследования

Следует отметить, что во многих коллекциях для получения новых форм осуществляется гибридизация кактусов, при этом гибриды, особенно при схожести родительских форм, могут от них не дифференцироваться [23]. Поэтому, оценка генетических и морфологических аспектов начальных этапов онтогенеза видов рода *Rebutia* позволит проводить иден-