

30. Kasman K., Kakol I. The influence of ethylenediaminetetraacetate on white skeletal muscle myosin // *Biochim. et biophys. acta.*— 1977.— 491, N 2.— P. 509—514.
31. Schaub M. C., Huber P., Jauch A. et al. Removal of regulatory light chains from skeletal muscle myosin affects its interaction with actin by exposing a sticky patch at the base of the head portion // *J. Muscle Res. Cell Motil.*— 1988.— 9, N 1.— P. 81.

НИИ физиологии ун-та им. Тараса Шевченко, Киев
Ин-т эксперим. биологии им. Ненцкого ПАН, Варшава

Получено 24.07.92

УДК 577.161.25:577.112.828

Л. Б. Бондаренко, Р. И. Яхимович, В. К. Бауман

ВЛИЯНИЕ 1α -ОКСИВИТАМИНА D_3 И 24,25-ДИОКСИВИТАМИНА D_3 НА ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ДРУГИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ

В экспериментах на цыплятах проведено сравнительное изучение антирахитической активности витамина D_3 , 1α -ОН D_3 и 24,25-(ОН) $_2D_3$ и их способности снижать уровень холестерина и изменять содержание свободных аминокислот в сыворотке крови.

Эффекты витамина D_3 и его производных, хотя и сходны по характеру, однако заметно различаются в зависимости от дозы и химической структуры вещества. Наибольшим эффектом на данные показатели обладал 1α -ОН D_3 . Введение ОН-группы по С-24 вместо С-1 обуславливает снижение способности производного витамина D_3 регулировать обмен Са и Р, и увеличение — при воздействии на обмен холестерина.

Введение. Важной химической особенностью веществ D-витаминной природы является их способность к различным структурно-функциональным модификациям. В результате существует большое количество аналогов витамина D, антирахитическая активность которых варьирует в широких пределах. Наиболее изучены производные витамина, содержащие гидроксильные группы в положениях С-1, С-24 и С-25. Физиологическая значимость гидроксирования витамина D_3 по данным положениям до настоящего времени полностью неясна. Несет ли каждая из указанных гидроксильных групп строго специфическую функциональную нагрузку — окончательно не выяснено даже для антирахитической активности метаболитов витамина D. Исследования же новых, нетрадиционных направлений биологической активности веществ D-витаминной природы велись, в основном, с использованием самого витамина и его гормонально активной формы — 1,25-(ОН) $_2D_3$.

Полученные нами ранее результаты свидетельствуют о том, что как витамин D_3 , так и 1,25-(ОН) $_2D_3$ способны, помимо регуляции обмена Са и Р, воздействовать на пул свободных аминокислот и содержание холестерина в сыворотке крови цыплят [1, 2]. При этом метаболит оказывал на данные показатели более сильный и далеко не всегда аналогичный витамину D_3 эффект.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение влияния двух других веществ D-витаминной природы — 1α -ОН D_3 и 24,25-(ОН) $_2D_3$ на антирахитические показатели, содержание различных фракций холестерина и пул сыворотки крови цыплят.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на цыплятах породы Хайсекс белый кросс в первый месяц их жизни. Первая группа цыплят получала рацион, полноценный в отношении всех необходимых питательных компонентов, но лишенный витамина D_3 [3]. Цыплята второй группы получали, кроме исходного рациона, еще и витамин D_3 из расчета 10 МЕ в день на птицу, что обеспечивало 100 % физиологической потребности в данном витамине [3]. Птицам третьей группы вместо витамина D_3 давали 1α -ОН D_3 в дозе 2,5 МЕ в день на птицу, а

четвертая группа цыплят получала вместо витамина D₃ 24,25-(ОН)₂D₃ из расчета 100 МЕ в день на птицу, что также обеспечивало 100 % физиологической потребности.

На 30-й день эксперимента птиц декапитировали и для исследования отбирали кровь, большую берцовую кость, слизистую двенадцатиперстной кишки, паращитовидные железы. В сыворотке крови определяли содержание Са с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра Перкин — Элмер 403; P_н — колориметрическим методом с молибдатным реактивом; активность щелочной фосфатазы — с β-глицерофосфатом натрия в качестве субстрата [3]. Свободный, общий и этерифицированный холестерин в сыворотке определяли с помощью реактива, содержащего Fe, уксусную и серную кислоты [4], а содержание свободных аминокислот — с помощью анализатора ААА-881. Общую зольность кости выявляли по методу [3]; содержание кальцийсвязывающего белка (СаСБ) — иммунохимическим методом с использованием антисыворотки к СаСБ [3].

Результаты и обсуждение. Результаты определения антирахитической активности витамина D₃ и его производных приведены в табл. 1. Видно, что витамин D₃ в дозе 10 МЕ в день, 1α-ОНD₃ в дозе 10 МЕ в день и 1α-ОНD₃ в дозе 2,5 МЕ в день оказывают примерно одинаковый эффект на большинство показателей, за исключением зольности кости, что вполне согласуется с данными ряда авторов [3] о преобразовании витамина D₃ и 1α-ОНD₃ в организме до 1α, 25-(ОН)₂D₃, являющегося гормонально активной формой витамина D₃.

Своеобразие влияния 24,25-(ОН)₂D₃ на данные показатели, возможно, связано с наличием гидроксильной группы в положении С-24. Данному метаболиту витамина D₃ присущ более выраженный эффект действия на содержание P_н и активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови и более слабый — на обмен Са в организме (содержание Са в сыворотке, зольность кости, уровень СаСБ, относительную массу паращитовидных желез). В целом из трех изученных соединений D-витаминной природы наибольшей антирахитической активностью обладал 1α-ОНD₃, а наименьшей — 24,25-(ОН)₂D₃, что вполне согласуется с литературными данными [3].

Результаты определения влияния витамина D₃ и его производных на содержание свободного, общего и этерифицированного холестерина в сыворотке крови приведены в табл. 2. Из приведенных данных видно, что в отличие от антирахитической активности эффекты витамина D₃ и 1α-ОНD₃ заметно разнятся. Если под воздействием витамина D₃ содержание свободного и этерифицированного холестерина в сыворотке крови снижалось примерно одинаково, то 1α-ОНD₃ вызывал большее снижение концентрации этерифицированного холестерина, почти не

Таблица 1

Антирахитическая активность витамина D₃ и его производных (M ± m, n = 5-6)

Группа	Прирост живой массы, г	Паращитовидная железа, мг/100 г живой массы	Сыворотка крови			Зола кости, %	Кальцийсвязывающий белок, мкг/мг белка
			Са, мг %	P _н , мг %	Активность щелочной фосфатазы, ед.		
1 — Рахит	71,7 ± ±5,9**	6,14 ± ±0,4**	8,40 ± ±0,2**	5,03 ± ±0,5**	35,41 ± ±1,1**	23,86 ± ±0,2**	—
2 — Витамин D ₃	166,3 ± ±5,4*	0,64 ± ±0,04*	10,74 ± ±0,2*	6,62 ± ±0,1*	16,73 ± ±0,3*	39,06 ± ±0,5*	51,44 ± ±0,7*
3 — 1α-ОНD ₃	164,7 ± ±10,7*	0,69 ± ±0,1*	10,76 ± ±0,2*	6,69 ± ±0,1*	15,3 ± ±1,0*	37,70 ± ±0,3**	49,67 ± ±1,6*
4 — 24,25-(ОН) ₂ D ₃	162,0 ± ±7,8*	1,49 ± ±0,1***	10,77 ± ±0,2*	7,07 ± ±0,1***	13,87 ± ±0,9***	35,59 ± ±0,4***	47,54 ± ±0,9***

* p < 0,05 по отношению к группе с рахитом; ** p < 0,05 по отношению к группе с витамином D₃.

влияя на свободный. В ходе проведенных нами ранее исследований [2] такого различия в эффектах витамина D₃ и 1α, 25-(OH)₂D₃ на холестерин сыворотки отмечено не было. Таким образом, полученные результаты, по-видимому, указывают на наличие у 1α-OHD₃ специфического биологического действия, не приравняющегося к эффекту его метаболита — 1α, 25-(OH)₂D₃. Поскольку метаболизм 1α-OHD₃ до 1α, 25-(OH)₂D₃ осуществляется достаточно быстро [3], то, вероятно, его действие на обмен холестерина должно происходить в первые же часы поступления данного вещества в организм.

Таблица 2

Влияние витамина D₃ и его производных на содержание холестерина в сыворотке крови цыплят (мг %, M±m, n=5-6)

Холестерин	Рахит (1)	Витамин D ₃ (2)	1 α-OHD ₃ (3)	24,25-(OH) ₂ D ₃ (4)
Свободный	93,10±3,9**	78,00±1,5*	90,00±3,4**	71,10±1,5*.*
Общий	186,40±6,2**	157,10±5,9*	134,80±2,7*.*	133,30±2,5*.*
Этерифицированный	93,30±2,5**	79,10±3,6*	44,80±1,1*.*	62,20±1,2*.*

* p<0,05 по отношению к группе с рахитом; ** p<0,05 по отношению к группе с витамином D₃.

Таблица 3

Влияние витамина D₃ и его производных на пул свободных аминокислот сыворотки крови цыплят (1 мг/100 мл сыворотки, M±m, n=5)

Показатель	Рахит (1)	Витамин D ₃ (2)	1 α-OHD ₃ (3)	24,25-(OH) ₂ D ₃ (4)
Лизин	15,44±0,3**	13,11±0,9*	13,60±0,3*	11,27±2,5
Гистидин	2,59±0,05**	1,97±0,1*	2,08±0,1*	2,16±0,2
Аргинин	5,92±0,2	5,84±0,4	6,36±0,4	6,53±0,8
Оксипролин	5,66±0,1**	3,90±0,2*	2,68±0,2*.*	3,41±0,1*.*
Аспарагиновая кислота	5,00±0,2	4,60±0,3	4,06±0,2*	3,53±0,2*.*
Треонин	11,25±0,1**	13,31±0,6*	9,34±0,2*.*	8,38±0,9*.*
Серин	14,02±0,1	13,84±0,4	15,44±0,7	15,81±0,9
Глутаминовая кислота	5,02±0,1	4,80±0,1	6,15±0,3*.*	5,59±0,3**
Пролин	8,47±0,4**	9,78±0,6*	5,49±0,9*.*	8,82±0,6
Глицин	7,29±0,1	7,20±0,2	6,89±0,1*	7,31±0,7
Аланин	7,70±0,1**	8,16±0,1*	9,15±0,4*.*	8,79±1,1
Цистеин	0,90±0,1	1,13±0,1	1,33±0,1*	1,18±0,1*
Валин	4,23±0,04	4,19±0,3	4,66±0,2*	5,05±0,6
Метонин	0,11±0,1	0,10±0,04	0,10±0,03	0,24±0,05**
Изолейцин	1,88±0,04	1,84±0,1	2,42±0,1*.*	2,62±0,3*.*
Лейцин	3,29±0,1	3,32±0,2	4,55±0,2*.*	5,12±0,2*.*
Тирозин	4,00±0,04	4,33±0,2	3,83±0,1	3,98±0,3
Фенилаланин	2,87±0,1**	2,50±0,05**	3,11±0,1*.*	3,60±0,2*.*

* p<0,05 по отношению к группе с рахитом; ** p<0,05 по отношению к группе с витамином D₃.

Поступление 24,25-(OH)₂D₃ в дозе 100 МЕ в день вызывало заметное большее снижение содержания всех фракций холестерина, чем витамина D₃ и 1α-OHD₃.

Результаты определения влияния витамина D₃ и его производных на пул свободных аминокислот сыворотки крови цыплят приведены в табл. 3. Полученные данные свидетельствуют о том, что под действием всех веществ D-витаминовой природы меняется содержание свободных аминокислот в сыворотке крови по сравнению с рахитом. При этом, хотя для большинства аминокислот характеры их эффектов были сходны, однако действия 1α-OHD₃ (на содержание треонина, серина, глутаминовой кислоты, пролина, фенилаланина) и 24,25-(OH)₂D₃ (на содержание треонина, серина, глутаминовой кислоты и фенилаланина)

было противоположным влиянию витамина D_3 на содержание данных аминокислот. Состав пула свободных аминокислот сыворотки крови цыплят, получавших 1α -ОН D_3 , достоверно отличался от пула рахитичных птиц по содержанию 14 аминокислот, а от пула цыплят, получавших витамин D_3 — по 8. Введение 24,25-(ОН) $_2D_3$ вызывало заметно меньшие изменения (достоверные отличия: по 7 аминокислотам в группе с рахитом и по 8 — с введением витамина D_3).

В целом наибольший эффект на пул свободных аминокислот сыворотки крови цыплят оказал 1α -ОН D_3 в дозе 2,5 МЕ в день. Ранее аналогичная картина была отмечена нами при сравнительном изучении влияния витамина D_3 и 1α , 25-(ОН) $_2D_3$ на пул свободных аминокислот сыворотки [2].

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что 1α -ОН D_3 и 24,25-(ОН) $_2D_3$ способны влиять не только на обмен Са и Р_n в организме, но также и на содержание различных фракций холестерина и пул свободных аминокислот в сыворотке крови цыплят. При этом эффекты витамина D_3 и его производных, хотя и сходны по характеру, однако заметно разнятся в зависимости от дозы и химической структуры вещества. Наибольшее влияние как на обмен кальция и фосфора, так и на содержание холестерина и свободных аминокислот в сыворотке крови цыплят оказал 1α -ОН D_3 . Своеобразие его эффекта на данные показатели по сравнению с действием витамина D_3 и 1α , 25-(ОН) $_2D_3$, возможно, обусловлено его меньшей, чем у гормонально активной формы витамина, скоростью деградации и/или существованием прямого физиологического эффекта 1α -ОН D_3 в организме, не опосредованного связыванием со специфическим рецептором и синтезом СаСБ. Введение гидроксильной группы по С-24 вместо С-1 также существенно изменяет биологическую активность D-витаминных соединений, определяя одновременно снижение способности влиять на обмен Са и ее увеличение при действии на обмен Р_n и содержание различных фракций холестерина в сыворотке крови.

S u m m a r y. Comparative investigation of vitamin D_3 , 1α ОН D_3 and 24, 25(ОН) $_2D_3$ antirachitic activities and their abilities to lower cholesterol levels and to change pool of free aminoacids in serum was carried out in experiments on chickens.

Though vitamin D_3 and its derivatives effects were similar by characters, but they differed markedly in dependence of dose and chemical structure of compounds. 1α ОН D_3 had the greatest effect on these indices. Introduction of ОН-group in C-24, instead of C-1, caused the lowering of vitamin D_3 derivative ability to regulate Ca and P_n metabolism and increasing — to influence on cholesterol metabolism.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бондаренко Л. Б., Яхимович Р. И., Бауман В. К. и др. Пул свободных аминокислот и другие биохимические показатели сыворотки крови цыплят при различной обеспеченности витамином D_3 // Докл. АН УССР.— 1990.— № 9.— С. 56—59.
2. Яхимович Р. И., Бондаренко Л. Б., Гогоман И. В. и др. Влияние 3β-фторвитамина D_3 и 1α , 25-дигидроксивитамина D_3 на некоторые показатели сыворотки крови цыплят // Там же.— 1991.— № 5.— С. 149—151.
3. Бауман В. К. Биохимия и физиология витамина D.— Рига: Зинатне, 1989.— 480 с.
4. Колб В. Г., Камышников В. С. Клиническая биохимия.— Минск: Беларусь, 1976.— С. 154—161.

Ин-т биоорг. химии и нефтехимии АН Украины, Киев

Получено 13.04.92