

## ЛІТЕРАТУРА

- Методы определения уровня пиридоксальных зон /Е.Л.Мачерет, В.П.Лысенюк, И.З.Самосюк. -К. : Вища шк. Головное изд-во, 1987. - 255 с.
- Манифестный диабет; Пировиноградный диабет; Цукровий диабет /За ред. проф. К.П.Томашевського. -Львів: НТШ, 2003. -168 с.
- Клиническое руководство по аурикулярной и корпоральной иглотерапии. Труфанова В.Ф., Бонина Т.П., Белевская О.М. - Х.: Вища шк. Изд-во при Харьк. ун-те, 1985 - 264 с.
- Сам. К. Самосюк. Медицинские и биологические аспекты / Пер. с франц. - М.: Медицина. - 1987. - 504 с.
- Английский язык / Под ред. Н.Лавина. Пер. с англ. - М. : Практика, 1999. - 1128 с.

О.Я.ТОМАШЕВСЬКА, Я.І.ТОМАШЕВСЬКИЙ,  
О.І.БУМБАР, Н.Я.ТОМАШЕВСЬКА

### ВСТАНОВЛЕННЯ РІВНЯ ПІРИДОКСАЛЕВИХ КОФЕРМЕНТІВ СЕЧІ У ПРОГРАМІ ЕНДОКРИНОЛОГІЧНИХ ОБСТЕЖЕНЬ НАСЕЛЕННЯ СТОСОВНО ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ

*В даній статті введена методика визначення рівня піридоксалевих коферментів та активності ензимів біосинтезу піридоксальфосфату - піридоксалькінази і піридоксальфосфат-оксидази у сечі.*

*В статті проведена методика определения уровня пиридоксальных коферментов, а также активности ферментов биосинтеза пиридоксальфосфата - пиридоксалькиназы и пиридоксальфосфат-оксидазы в моче.*

*The method of determination of pyridoxale enzymes level and pyridoxalkinase and pyridoxalphosphatase activity in urine is shown in the paper.*

**Актуальність проблеми.** Основними альфа-кислотами сечі є піруват та альфа-кетоглютарат, їх концентрація у здорових людей становить відповідно 10-25 мг/24 год. і 21-44 мг/24 год.[5]. Згідно з даними дослідженнями, під впливом ферментів сечі рівень альфа-кетокислот може спадати на 50% (наприклад із 1100 мкмоль/л до 600 мкмоль/л) протягом 60 хвилин інкубації проби при оптимальному буфері (рН 7,4).

Ферменти сечі можуть походити із плазми, підлягаючи фільтрації у ниркових клубочках, або мати нирковий генез. Відомо, що ферменти, які мають молекулярну масу вище 68 тисяч, не проходять через нирковий фільтр. З огляду на це, сечовий ензим з великою молекулярною масою повинен розглядатись як фермент ниркового походження. Так, наприклад, зростання активності креатиніна до великої молекулярну масу 45 тис., і рибонуклеази (молекулярна маса 12 тис.), слід розглядати як наслідок підйому їх рівня у крові; у той же час збільшення активності холінестерази свідчить про порушення метаболізму ниркової тканини або підсилення проникності мембран ниркової тканини [5].

Також при пошкодженні базальної мембрани капілярів клубочка через нирковий бар'єр можуть проникати і вискомолекулярні білки (наприклад, фермент гіалуронідаза, віруси тощо). Це зумовлене збільшенням пористості (ніздруватості) мембран клубочків стосовно білків плазми, отже і ферментів плазми.

До ферментів належать такі ферменти: трансаміназу, ліпазу, рибонуклеазу, дезоксирибонуклеазу, гіалуронідазу, гіалуронідазу, уропепсин тощо[5]. Наші дослідження показали наявність у сечі ферментів біосинтезу піридоксальфосфату із піридоксолу: піридоксалькінази та піридоксальфосфат-оксидази.

**Матеріал і методи.** У даному повідомленні обговорюється можливий механізм катаболізму піридоксальфосфату:  $\alpha$ -кетоглютарова кислота +  $\text{NH}_4^+$  +  $\text{НАД}\cdot\text{Н}^+$   $\leftrightarrow$  L-глутамат +  $\text{НАД}^+$  [4]. Реакція каталізується НАД-залежною L-глутаматдегідрогеназою, яка є активною і специфічною тільки для L-глутамату (глутамінової). Молекулярна маса її „мономерної форми” становить 280000, а „полімерної форми” - 2,2 млн. Відомим є вплив тироксину та деяких стероїдних гормонів на активність L-глутаматдегідрогенази [4]. Великий розмір молекули ферменту затруднює його проникнення через клітини і мембрани у фізіологічних умовах. Тому сумнівною є участь L-глутаматдегідрогенази у механізмі перетворення альфа-кетоглютарової кислоти сечі.

Участь пірувату та альфа-кетоглутарату сечі у реакціях переамінування, що активуються відповідно аланінамінотрансферазою та аспартатамінотрансферазою, є також дискусійною, оскільки при цьому у дослідних пробах сумарний вміст альфа-кетокислот повинен залишатися незмінним. Піровиноградна кислота може витрачатись за рахунок лактатдегідрогеназної активності, перетворюючись у молочну кислоту: Піруват + НАД·Н + Н<sup>+</sup> ↔ Лактат + НАД<sup>+</sup>. Піруватдегідрогеназний та альфа-кетоглутаратдегідрогеназний комплекси локалізовані в мітохондріях, вони не можуть проникати через нирковий бар'єр і брати участь у перетворенні відповідно пірувату та альфа-кетоглутарату у сечі.

Малік-фермент (малатдегідрогеназа) активує перетворення піровиноградної кислоти у яблукову (малат) і навпаки: Піровиноградна кислота + СО<sub>2</sub> + НАДФ·Н<sub>2</sub> ↔ Яблучна кислота + НАДФ.

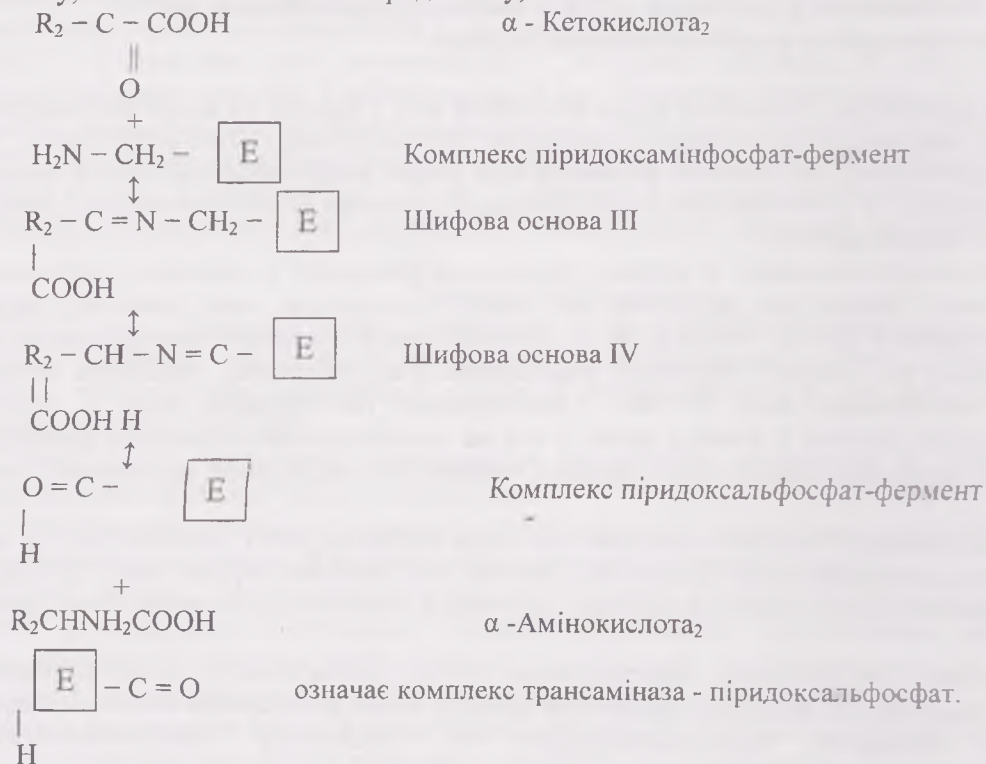
Піруваткарбоксилаза локалізована переважно у мітохондріях печінки, вона каталізує наступну реакцію [4]: Піруват + СО<sub>2</sub> + АТФ ↔ Оксалоацетат + АДФ + Ф<sub>н</sub>. Молекулярна маса ферменту становить 650000, що затрудняє її з'яву у сечі та участь у перетворенні піровиноградної кислоти.

Залишається припустити, що піруват та альфа-кетоглутарат сечі беруть участь у піридоксальовому каталізі і реагують із піридоксамінфосфатом, утворюючи шифові основи:

Стає очевидним можливість оцінювати спад рівня альфа-кетокислот у сечі в умовах інкубації при рН 7,4 як показник вмісту піридоксальових коферментів.

Зв'язок динаміки вмісту альфа-кетокислот сечі із В<sub>6</sub> - вітамінною забезпеченістю можна підтвердити, якщо різниця між їх вихідним та кінцевим (на 60-й хв інкубації) рівнями буде збільшуватись в умовах додавання до проби *in vitro* вітаміну В<sub>6</sub> або навантаження організму піридоксином.

Необхідні реактиви: 1. Фосфатний буфер, 0,15 М, рН 7,4. 2. 0,1% соляний розчин 2-динірофенілгідазину (ДНФГ). 50 мг реактиву розчиняють у 10 мл концентрованої НСІ при легкому підігріванні суміші, опісля об'єм доводять дистильованою водою до 50 мл. 3. Розчин натрію гідрооксиду, 12г/100 мл. 4. Розчин піридоксину, 5%.



Хід визначення. у чотири пробірки - вносять:	Д <sub>1</sub>	Д <sub>2</sub>	Д <sub>3</sub>	контрольну
1. Сечу, мл.	0,1	0,1	0,1	-
2. Фосфатний буфер, 0,15 М, рН 7,4, мл	0,5	0,5	0,5	0,5
3. Розчин піридоксину, 5%, мл	-	-	0,1	-
4. Дистильовану воду, мл	0,1	0,1	-	0,2
5. Розчин ДНФГ, мл	-	0,4	0,4	0,4
				0,4

(у пробірку Д<sub>1</sub> реактив вносять негайно після забору сечі, у пробірки Д<sub>2</sub> і Д<sub>3</sub> - після 60 хв інкубації при 25°C, залишаючи їх у темному місці ще на 20 хв.)

6. Розчин NaOH, 12%, мл . . . . . 0,1 0,1 0,1 0,1

Через 5 хв після додавання р-ну NaOH проби колориметрують на фотоелектроколориметрі з фільтром синій - 490 нм, кювети із довжиною оптичного шляху - 5 мм).

Для обчислення результатів досліджень використовують таблицю (табл. 1), яка складена на основі калібрувальної кривої стандартного розчину піривиноградної кислоти.

Таблиця 1

**Обчислення вмісту піридоксалевих коферментів та активності ферментів біосинтезу піридоксальфосфату у сечі.**

Оптична густина	Соті частки показника різниці оптичної густини									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
Рівень піридоксалевих коферментів (мкмоль/л) або активність ферментів синтезу піридоксальфосфату (мкмоль (год.л))										
0,0	-	50	100	150	200	250	300	350	400	450
0,1	500	550	600	650	700	750	800	850	900	950
0,2	1000	1050	1100	1150	1200	1250	1300	1350	1400	1450
0,3	1500	1550	1600	1650	1700	1750	1800	1850	1900	1950
0,4	2000									

У здорових людей вміст піридоксалевих коферментів у сечі перебуває в межах 250 - 500 мкмоль/л, активність ферментів біосинтезу піридоксальфосфату становить 300 - 550 мкмоль (год.л).

Приклад діагностики. Оптична густина проби Д<sub>1</sub> становить 0,22, проби Д<sub>2</sub> - 0,12, проби Д<sub>3</sub> - 0,18. Інтегральна інтенсивність оптичної густини (0,22 - 0,12) становить 10, що по табл. 1 відповідає 500 мкмоль/л піридоксалевих коферментів і є верхньою межею норми. Наступне зростання інтенсивності оптичної інтенсивності проби Д<sub>3</sub> у присутності піридоксину з 0,12 до 0,18 тобто на 0,06 відповідає 200 мкмоль (год.л) активності ферментів біосинтезу піридоксальфосфату, що знаходиться у межах норми.

Відхилення від наведених нормативів може вказувати на порушення обміну вітаміну В<sub>6</sub> в організмі.

Медичні рекомендації стосовно визначення рівня піридоксалевих коферментів та активності ферментів біосинтезу піридоксальфосфату (піридоксалькінази піридоксолфосфат-оксидази) доцільно широко впровадити у медичну практику.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Мітохондріальний діабет. Піривиноградний діабет. Цукровий діабет /За ред. проф. Я.І.Томашевського. -Львів: НТШ, 2003. -168 с.
2. Подорожний П.Г., Томашевский Я.И. Клиническая витаминология. - Київ: Здоров'я. - 1977. - 144 с.
3. Крю Ж. Биохимия. Медицинские и биологические аспекты / Пер. с франц. - М.: Медицина. - 1979. - 510 с.
4. Ленинджер А. Биохимия / Пер. с англ. - М.: Мир, 1976. - 557 с.
5. Рубин В.И., Ларский Е.Г., Орлова Л.С. Биохимические методы исследования в клинике. / Изд. Саратовского университета, 1980. - 321 с.
6. Островский Ю. М. Тиамин // Экспериментальная витаминология /Под ред. Ю. М. Островского. - Минск: Наука и техника, 1979. - 552 с.

**Т.Г.ТЮРИНА**

**СУЧАСНІ КОНЦЕПЦІЇ ЕВОЛЮЦІЙНОГО СХОДЖЕННЯ ЛЮДИНИ**

*У статті розглядаються сучасні концепції еволюційного сходження людини: його ступені, етапи становлення та їх сутнісні ознаки.*

*В статье рассматриваются современные концепции эволюционного восхождения человека: ступени, этапы становления и их характерные признаки.*

*Modern conceptions of human's evolution such as: steps, stages of formation and their characteristic features are considered in the article.*