

ЗАБЫТАЯ МОЛЕКУЛА, ИЛИ НОВЫЙ ВИТАМИН G

*Истинный Учитель, останется легендой...
Светлой памяти и 70-летию со дня рождения Е.П. Гуськова посвящая*

Т.П. Шкурат

В 2004 г. в журнале “Доклады Академии наук” появилась статья Евгения Петровича Гуськова с очень коротким и очень амбициозным названием “Аллантоин как витамин”. Редакционная комиссия журнала уже три раза откладывала принятие решение о публикации. “...Новый витамин? Этого не может быть! Все уже изучено – не могли же просмотреть? А кто он – этот Е.П. Гуськов. – Биохимик? Нет!? Генетик из Ростова?!...”. Но факты были более чем убедительны, и редакционная коллегия журнала, состоящая из числа ведущих академиков страны, приняла решение о публикации статьи, чтобы в истории науки о витаминах к имени российского ученого Н.И. Лунина, первооткрывателя витаминов (“жизненно важной субстанции”, 1880), к имени российского академика Н.Д. Зелинского, первооткрывателя механизмов действия витаминов (1921), присоединилось еще одно имя – российского ученого Е.П. Гуськова, открывшего новый витамин – аллантоин, или, как его назовут позже, витамин G (Guskov).

ПОЧЕМУ ЗАБЫЛИ МОЛЕКУЛУ?

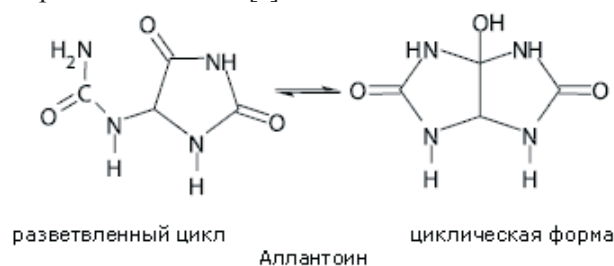
Впервые аллантоин был найден в эмбриональных тканях птиц, отсюда и название (от “аллантоис” – одна из зародышевых оболочек).

Аллантоин – $C_4H_6O_3N_4$ (диуреид глиоксильной кислоты), один из продуктов обмена веществ, является низкомолекулярным гетероциклическим соединением, широко распространенным в природе, синтезируется у большинства видов растений и животных, за исключением гоминид.

Аллантоин является ведущим фактором адаптации онтогенеза приматов к внешней среде. Однако его метаболические функции у человека до сих пор не ясны.

Шкурат Татьяна Павловна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой генетики Южного федерального университета, 344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105, e-mail: tshkurat@yandex.ru, т. 8(863) 2975070.

Структурная формула аллантоина впервые была установлена Д. Муц в 1965 г. на основании рентгеноструктурного анализа (рис.). Он рассматривал аллантоин как продукт метаболизма пурина в организме некоторых животных [1].



Структурная формула аллантоина

Первые упоминания об аллантоине, которые удалось обнаружить Е.П. Гуськову в доступной литературе, датировались 1838 г., когда Дж. Либиг и Ф. Вохлер выяснили, что мочевая кислота может окисляться в аллантоин [2]. Последовавшие за этим исследования показали наличие аллантоина и мочевой кислоты в моче собак и других животных [3]. В то время считалось, что мочевая кислота экскретируется у животных в виде мочевины, и происхождение аллантоина оставалось необъяснимым [4]. Однако вслед за этим в 1876 г. Е. Салковски показал, что у собак часть мочевой кислоты экскретируется в виде аллантоина [5]. Далее В. Вичковски удалось доказать, что аллантоин является эндогенным метаболитом у собак, кошек, кроликов и обезьян [6].

В 1909 г. В. Вичковски обнаружил, что суточная экскреция аллантоина с мочой у людей составляет 12–14 мг и повышается при лейкемии и подагре [6]. Несколько позже он показал, что введенный в организм человека аллантоин практически полностью экскретируется и не вызывает токсических

Shkurat Tatiana – doctor of biology, professor, chairman of Genetics Department in the Southern Federal University, 105 Bolshaya Sadovay Street, Rostov-on-Don, 344006, e-mail: tshkurat@yandex.ru, ph. +7(863) 2975070.

проявлений [7]. Семь лет спустя было обнаружено, что в моче беременных аллантоин обнаруживался в количествах, превышающих уровень нормы, а также его повышенные концентрации были обнаружены и в амниотической жидкости [8]. Однако эти данные противоречили результатам авторитетного В. Вичовски, не нашедшего аллантоина ни в моче, ни в амниотической жидкости новорожденных [7]. Исследования роли аллантоина закончились, не успев начаться, так как на основании вышеизложенных фактов В. Вичовски сформулировал теорию о неспособности мочевой кислоты окисляться в организме человека в аллантоин. Несмотря на недостаточную экспериментальную базу, данная концепция, не без оснований, прижилась, похоронив тем самым перспективы исследования аллантоина на многие годы. Об аллантоине забыли практически на сто лет, в эти годы основной акцент в изучении конечных продуктов деградации пуринов сместился на мочевую кислоту.

ПРОТЕКТОРНЫЙ КАТАБОЛИЗМ

“Метаболизм (обмен веществ) состоит из анаболизма (синтеза) и катаболизма (распада). При распаде биополимеры образуют различные катаболиты? которые защищают клетку от повреждений! Все учла природа, и выткала такие удивительные циклы распада веществ, при которых образующиеся продукты деструкции еще и выполняют важные функции. То есть одни молекулы умирают ради продолжения жизни других...”. Так Евгений Петрович объяснял студентам свою новую теорию “протекторного катаболизма”.

Концепция протекторного катаболизма была создана Е.П. Гуськовым в соавторстве с А.И. Лукашом в 80-х годах прошлого столетия [9]. Суть ее заключается в том, что после стрессового воздействия, связанного с усилением свободно-радикальных процессов, начинается деструкция клеток-мишеней, в результате которой образуются катаболиты, такие как билирубин, мочевины, мочевая кислота, обладающие значительным антиоксидантным эффектом. Повышение концентрации катаболитов-антиоксидантов тушит реакции свободно-радикальных процессов. Авторы предположили такую схему протекторного катаболизма: стресс – свободнорадикальные процессы на мембранах – алармоны – активация внутриядерных металлов – кариоаутофагия –

аларм-мутагенез – разрушение лизосом – цитофагия – увеличение гидролаз в сыворотке – усиление деструкции клеток – усиление мутационного процесса – усиление пролиферации – увеличение количества антиоксидантов-катаболитов – стабилизация и выход системы из стресса [9, 10].

Следует отметить, что общебиологический смысл концепции протекторного катаболизма позволяет связать воедино и дать объяснения целому ряду фактов, ранее казалось бы не связанных между собой. Наличие резерва избыточности и усиление катаболизма при окислительном стрессе является адаптивной реакцией, в связи с чем соматический аларм-мутагенез также выполняет адаптивную функцию и является только показателем стрессовой ситуации, а не отражением патологических процессов в системе [11].

Концепция протекторного катаболизма послужила хорошим фундаментом для создания новых научных направлений. Одно из таких направлений было посвящено изучению механизмов деградации ДНК и поиску антиоксидантных и антимутагенных свойств промежуточных продуктов катаболизма пуриновых оснований. Так в поле зрения попал и аллантоин – один из конечных продуктов распада пуриновых оснований у всех животных, кроме гоминид. Ученые НИИ биологии и НИИ физической и органической химии Ростовского государственного университета под руководством профессора Е.П. Гуськова и член.-кор. РАН Ю.А. Жданова начали цикл работ, посвященных изучению биологически активных свойств аллантоина. Таким образом, почти после векового забвения аллантоина начинается новая эра в его изучении.

АЛЛАНТОИН – НОВЫЕ СВОЙСТВА

Второе пришествие аллантоина, точнее его “реабилитация”, датируется началом 90-х годов прошлого столетия. Взрыв исследований по окислительному стрессу поднял из истории биохимии забытую молекулу. При поиске новых маркеров оксидантного повреждения вспомнили о продукте окисления мочевой кислоты – аллантоине [12, 13]. Появляются и наши публикации о биологически активных свойствах аллантоина, в которых, экспериментальные и теоретически рассчитанные данные полностью подтверждают эффективность аллантоина в качестве

антиоксиданта в реакциях его радикальной атаки активными формами кислорода [14–18]. В этих работах показано, что в условиях окислительного стресса аллантион модулирует активность ферментативной антиоксидантной системы. Аллантион нивелирует H_2O_2 -индуцированный мутагенез, вероятно, препятствуя восстановлению перекиси в гидроксильный радикал или инактивируя последний, и снижает токсичность высоких концентраций H_2O_2 .

Сходство квантово-химических и энергетических характеристик аллантиона и аскорбата определило и подобие биологических эффектов в модельных системах *in vitro* и *in vivo*, в их способности тушить свободно-радикальные процессы и инактивировать генотоксичность перекиси водорода [19]. Результаты по влиянию исследованных соединений на индуцированную перекисью водорода SOS-индукцию показали, что максимальная антимутагенная активность аллантиона регистрируется для концентрации 10^{-4} М, а аскорбата – для 10^{-2} М. Кроме того, антимутагенная активность аллантиона сохраняется и для малых концентраций, в которых аскорбат начинает усиливать SOS-индукцию, вызванную перекисью. Таким образом, оба исследованных соединения обладают способностью подавлять генотоксическое действие перекиси водорода. Так же показано, что после обработки проростков корешков лука аллантионом в концентрации 10^{-6} – 10^{-5} М в сочетании с H_2O_2 (фиксация через 18 ч) достоверно ($p < 0,001$) снижается уровень абберраций. При тех же концентрациях имеется тенденция ($p < 0,01$) к нормализации митотического индекса. При фиксации через 42 ч митотический индекс нормализуется. Уровень абберраций снижается с достоверностью ($p < 0,01$) в присутствии аллантиона в концентрациях 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-3} М. Несомненным является тот факт, что аллантион даже в очень высоких концентрациях, судя по величине митотического индекса, не оказывает ни цитотоксического, ни цитостатического эффекта, а заметным антимутагенным действием обладают дозы, примерно соответствующие физиологическим дозам его содержания в плазме крови человека – $6,5 \cdot 10^{-6}$ М [19].

Наши исследования показали, что уровень аллантиона в сыворотке крови беременных женщин, будучи втрое выше этого показателя у небеременных женщин, претерпе-

вает существенные изменения в течение всей беременности [20, 21]. Наиболее существенное повышение содержания аллантиона отмечается до 7-й недели беременности. Во втором триместре беременности отмечен также повышенный уровень. В третьем триместре концентрация аллантиона значительно снижается, приближаясь к его уровню у мужчин и небеременных женщин. Повышение содержания аллантиона во время беременности отмечено у других млекопитающих. В частности, было показано, что уровень аллантиона повышается в амниотической жидкости крыс на 21-й день беременности и сохраняется повышенным в сыворотке крови во время вскармливания потомков, в течение 20 дней после родов [22]. У крыс и других млекопитающих, за исключением приматов, имеется фермент – уриказа, в результате деятельности которого образуется аллантион. Увеличение содержания аллантиона во время беременности у грызунов можно объяснить увеличением экспрессии гена уриказы. Однозначно ответить на вопрос о происхождении аллантиона в сыворотке крови беременных женщин в настоящее время не представляется возможным, однако мы предполагаем, что значительное накопление аллантиона в сыворотке беременных женщин связано с его плодным происхождением. Вероятно, именно в этот период в печени плода происходит максимальная активация уриказы, образующей аллантион, который, обладая анаболическим, антиоксидантным и антимутагенным эффектами [19], обеспечивает значительный рост плода, наблюдаемый во втором триместре, и осуществляет его защиту от патогенных воздействий.

Таким образом, было показано что аллантион – это экзогенный витамин, который является *ведущим фактором адаптации онтогенеза приматов к внешней среде*. Также аллантион является одним из эндогенных доминирующих компонентов защиты развивающегося эмбриона от активных форм кислорода. Он обладает, как и ряд других водорастворимых витаминов, следующими свойствами:

- не синтезируется у приматов;
- является антиоксидантом;
- проявляет свойства репарагена и модулирует активность ROS-ферментов;
- обеспечивает жизнеспособность развивающегося эмбриона млекопитающих, в том числе и человека [19].

Вероятно, что в процессе эволюции изменение функций аллантина как катаболита позволило аккредитировать иные свойства этой малой молекулы для выполнения защитных функций, присущих экзогенным биологически активным соединениям – витаминам. Дальнейшие исследования биохимии аллантина станут ключом к разгадке многих биологических процессов – от беременности до канцерогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mootz D. The crystal structure of DL-allantoin // *Acta Crystallogr.* 1965. Vol. 19. № 5. P. 726–734.
2. Wohler F., Liebig J. // *Ann. Chem.* 1838. № XXVI. P. 241
3. Wohler F., Frerichs F.T. // *Ann. Chem.* 1848. № XV. P. 335.
4. Neubauer C. // *Ann. Chem.* 1856. № XCIX. P. 206.
5. Salkowski E. Bildung von Allantoin sua Ham? // *Ber. Chem. Ges.* 1876. № IX. P. 719.
6. Wiechowski W. // *Biochem. Z.* 1910. № XXV. P. 431.
7. Wiechowski W. // *Biochem. Z.* 1910. № . XXV. P. 431.
8. Uyeno D. The physical properties and chemical composition of human amniotic fluid // *Amer. Jornal. of Physiol.* 1917. Vol. 37. № 1. P. 77–103.
9. Гуськов Е.П., Лукаш А.И. Избыточность фенотипа. Кислородный мутагенез и теория протекторного катаболизма. М., 1986. 38 с. Деп. В ВИНТИ 11.05.86. № 3363-В.86.
10. Генетика окислительного стресса. Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ, 2009. 198 с.
11. Гуськов Е.П., Шкурят Т.П. Нестабильность генома соматических клеток человека, как адаптивная норма // *Успехи современной биологии.* 1989. Т. 108. Вып. 2. С. 163–172.
12. Andrews P. Evolution and environment in the Hominoidea // *Nature.* 1992. Vol. 360. P. 641–646.
13. Lagendijk J., Ubbink J.B., Vermaak W.J. The determination of allantoin, a possible indicator of oxidant status, in human plasma // *J. Chromatogr. Sci.* 1995. Vol. 33. P. 186–193.
14. Гуськов Е.П., Шкурят Т.П., Милютин Н.П. Влияние аллантина на активность ферментов? регулирующих ROS-зависимый статус организма // *Доклады Академии наук.* 2001. Т. 379. № 3. С. 398–401.
15. Гуськов Е.П., Клецкий М.Е., Корниенко И.В. и др. Аллантин как тушитель свободных радикалов // *Доклады Академии наук.* 2002. Т. 383. № 3. С. 105–107.
16. Покудина И.О. Модификация низкомолекулярными азотистыми катаболитами мутагенного эффекта гипербарической оксигенации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов н/Д, 2001. 24 с.
17. Шестопалов А.В., Шкурят Т.П., Микашинович З.И. и др. Биологические функции аллантина // *Известия РАН. Серия биол.* 2006. № 5. С. 541–545.
18. Шестопалов А.В., Шкурят Т.П., Микашинович З.И. и др. Аллантин – биологические свойства и функции // *Успехи современной биологии.* 2006. Т. 126. № 6. С. 586–591.
19. Гуськов Е.П., Прокофьев В.Н., Клецкий М.Е. и др. Аллантин как витамин // *Доклады Академии наук.* 2004. Т. 398. № 6. С. 1–6.
20. Александрова А.А., Шкурят Т.П., Ломтева С.В. и др. Роль аллантина в процессах репродукции // *Валеология.* 2008. № 4. С. 32–36.
21. Ломтева С.В. Изучение роли аллантина в процессе репродукции человека: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов н/Д, 2010. 24 с.
22. Morgan E.H., Hanson A. Serum and urine allantoin in pregnancy and lactation in the rat // *Acta Physiol. Scand.* 1964. Vol. 60. P. 164–169.

3 августа 2010 г.