

УДК: 577.15.16:502.08

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ В ТКАНЯХ КРЫС

О.А. Кокошкина, А.В. Запорожченко
Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова

Досліджували активність піруватдегідрогенази (ПДГ) в крові, печінці, нирках, мозку і тонкому кишечнику щурів через 30, 60, 120, 240 хв, 24 години, 3 і 15 діб після внутрішньом'язового введення нікотинової кислоти (НК) в дозі 10 мг/кг маси і одноразового загального рентгенівського опромінення в дозі 6 Гр. Відзначалося зниження активності в тонкому кишечнику і підвищення активності ПДГ в різний термін в інших тканинах після введення НК. Опромінення викликало зниження активності ПДГ в крові, нирках, печінці і тонкому кишечнику щурів. Опромінення на фоні попереднього введення НК викликало підвищення активності ПДГ в ранні строки (1 доба). На третю добу активність ПДГ в нирках, крові і мозку щурів цієї групи знижувалась, а в печінці і тонкому кишечнику підвищувалась відносно опромінених тварин.

Ключові слова: нікотинова кислота, піруватдегідрогеназа, рентгенівське опромінення, щурі.

Введение. В настоящее время большое значение придается изучению механизмов биокатализа и возможности регуляции ферментативной активности в организме как в норме, так и при экстремальных состояниях [2, 4 – 9, 15].

Пируватдегидрогеназа (ПДГ), осуществляющая в митохондриях окислительное декарбоксилирование пирувата, является основным механизмом ввода окисляемых метаболитов в цикл Кребса и может заметно преобладать над другими путями метаболизма различных субстратов в митохондриях в зависимости от ткани и функционального состояния организма [3, 9 - 11, 13 - 15].

Учитывая важную роль в метаболизме кетокислот ферментов цикла трикарбоновых кислот, мы исследовали влияние общего однократного рентгеновского облучения и возможного защитного действия никотиновой кислоты (НК) на активность пируватдегидрогеназы, обуславливающей вовлечение углеводов в цикл Кребса, в тканях крыс.

Материалы и методы исследований. Исследования проведены на 132 крысах линии Вистар. Интактным животным (1 группа) внутримышечно вводили 0,9% раствор хлорида натрия. Животным 2 группы внутримышечно вводили никотиновую кислоту в дозе 10 мг/кг массы. Животных 3 группы подвергали однократному общему рентгеновскому облучению в дозе 6 Гр (160 кВ, 10 мА, фильтр Al 1,0, фокусное расстояние 50 см) при использовании рентгенотерапевтического аппарата РУМ – 17. Крысам 4 группы внутримышечно вводили никотиновую кислоту в дозе 10 мг/кг массы и подвергали однократному общему рентгеновскому облучению в дозе 6 Гр, после чего через 30, 60, 120, 240 мин, 24 часа, 3 и 15 суток крыс выводили из эксперимента при использовании тиопенталового наркоза. Животные 3 и 4 групп на 15 сутки эксперимента погибли. Количество животных в каждой группе составляло 6 крыс. В гомогенаты тканей и кровь добавляли детергент – 0,1% тритон X- 100. После центрифугирования в полученных экстрактах крови,

печени, почек, мозга и тонкого кишечника определяли активность пируватдегидрогеназы [12].

Полученные данные обрабатывали с помощью непараметрических методов – критериев Крускала – Уоллиса и Манна – Уитни с использованием компьютерной программы SPSS – 10. Для визуализации данных использовали описательную статистику, данные представляли в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (σ) [1].

Результаты исследования. При сравнительном анализе с помощью критерия Крускала – Уоллиса активности пируватдегидрогеназы в исследуемых тканях всех четырех групп на каждый срок эксперимента было установлено, что достоверные различия между группами характерны для крови, печени и мозга на сроках 60 мин, 120 мин, 240 мин, 24 часа и 3 суток, для почек – 240 мин, 24 часа и 3 суток и тонкого кишечника – 120 мин, 240 мин, 24 часа и 3 суток. В дальнейшем применяли попарное сравнение полученных данных с помощью критерия Манна – Уитни (табл. 1 - 3).

При исследовании активности пируватдегидрогеназы в тканях крыс установлено, что у животных при введении никотиновой кислоты активность фермента достигает максимального значения в разные сроки после введения в зависимости от ткани. В крови окислительное декарбоксилирование пирувата существенно возрастало к 60 мин после введения НК при сравнении с интактными животными, составляя 125,8%, и снижалось на протяжении всего периода наблюдения (табл. 1).

При облучении животных активность пируватдегидрогеназы достоверно повышалась через 60 мин, но в дальнейшем отмечался спад активности до 47,6% на 3 сутки по отношению к 1 группе. Для крыс 4 группы характерно значительное возрастание активности фермента в крови, начиная с ранних сроков как по отношению к интактным животным, так и по отношению к 3 группе. Однако, на 3 сутки эксперимента отмечалось резкое снижение активности пируватдегидрогеназы до 35,1% по отношению к 1 группе и до 73,7% по отношению к 3 группе.

В печени активность пируватдегидрогеназы достигла максимального значения только через 24 часа после введения никотиновой кислоты, что составляло 127,8% при сравнении с интактными животными (табл. 1). После рентгеновского облучения в печени наблюдалось увеличение активности фермента до 120,1% через 60 мин и спад активности до 64,0% и 44,7% через 24 часа и 3 суток соответственно при сравнении с 1 группой.

Введение никотиновой кислоты на фоне облучения способствовало активации пируватдегидрогеназы по отношению к 3 группе, составляя 115,2% (60 мин), 172,0% (120 мин), 219,3% (240 мин), 173,1% (24 часа) и 159,9% (3 суток). Следует отметить, что несмотря на повышение активности фермента в печени в отмеченные сроки, при сравнении с данными 1 группы на 3 сутки эксперимента активность пируватдегидрогеназы составляла 71,5%.

Введение никотиновой кислоты не оказывало существенного влияния на активность пируватдегидрогеназы в почках по отношению к интактным животным (табл. 2). Окислительное декарбоксилирование пирувата значимо

знижалося в почках через 240 мин (75,4%), 24 часа (70,5%) и на 3 сутки (66,8%) по отношению к 1 группе. При облучении животных и введении никотиновой кислоты в почках отмечалось через 24 часа повышение активности пируватдегидрогеназы до 133,7% при сравнении с 3 группой и выраженное снижение до 63,5% на 3 сутки эксперимента по отношению к 1 группе.

Существенно активизируется пируватдегидрогеназа в мозге через 120 мин (133,9%) с незначительными колебаниями в последующие сроки после введения никотиновой кислоты при сравнении с интактными животными (табл. 2). Активность пируватдегидрогеназы в мозге после облучения животных на всех сроках эксперимента достоверно не отличалась от 1 группы. Отмечались достоверные отличия при сравнении данных активности пируватдегидрогеназы в 4 группе через 60 мин (138,0%), 120 мин (178,0%), 240 мин (224,2%) и 3 суток (36,4%) как по отношению к интактным животным, так и в эти же сроки по отношению к 3 группе (152,%, 182,1%,

1. Сравнительный анализ активности пируватдегидрогеназы в крови и печени крыс в различных условиях эксперимента

Группы (n = 6)	Стат. показ.	Сроки						
		30 мин	60 мин	120 мин	240 мин	24 час	3 сут	15 сут
Кровь								
Интактные животные (1)	М σ	6,87 1,21	6,87 1,21	6,87 1,21	6,87 1,21	6,87 1,21	6,87 1,21	6,87 1,21
Никотиновая кислота (2)	М σ p	7,02 1,39 >0,05	8,64 1,09 0,025	6,40 0,93 >0,05	6,06 1,52 >0,05	5,86 0,66 >0,05	5,89 1,36 >0,05	5,58 1,37 >0,05
Облучение (3)	М σ p	7,42 1,09 >0,05	9,39 1,33 0,025	5,97 0,86 >0,05	5,16 0,88 0,037	3,88 0,69 0,006	3,27 0,49 0,004	- - -
Облучение + никотиновая кислота (4)	М σ p p ₁	7,88 1,26 >0,05 >0,05	9,70 1,22 0,008 >0,05	13,65 2,17 0,004 0,004	16,89 1,36 0,004 0,004	6,70 0,66 >0,05 0,004	2,41 0,71 0,004 0,029	- - -
Печень								
Интактные животные (1)	М σ	11,42 1,61	11,42 1,61	11,42 1,61	11,42 1,61	11,42 1,61	11,42 1,61	11,42 1,61
Никотиновая кислота (2)	М σ p	12,32 2,01 >0,05	12,33 0,74 >0,05	12,96 1,77 >0,05	12,69 2,48 >0,05	14,59 1,92 0,020	12,34 0,62 >0,05	13,18 1,71 >0,05
Облучение (3)	М σ p	13,26 0,92 >0,05	13,72 2,07 >0,05	11,61 0,53 >0,05	10,93 1,71 >0,05	7,31 0,74 0,004	5,11 0,83 0,004	- - -
Облучение + никотиновая кислота (4)	М σ p p ₁	13,79 2,15 0,004 0,045	15,80 1,00 0,004 0,004	19,97 2,35 0,004 0,004	23,97 2,47 >0,05 0,004	12,65 1,75 >0,05 0,004	8,17 1,72 0,006 0,016	- - -

Примечание: p – уровень значимости по отношению к интактным животным с использованием критерия Манна – Уитни; p₁ – уровень значимости при сравнении данных 4 группы по отношению к данным 3 группы с использованием критерия Манна – Уитни.

2. Сравнительный анализ активности пируватдегидрогеназы в почках и мозге крыс в различных условиях эксперимента

Группы (n = 6)	Стат. показ.	Сроки						
		30 мин	60 мин	120 мин	240 мин	24 час	3 сут	15 сут
Почки								
Интактные животные (1)	M σ	6,74 0,79	6,74 0,79	6,74 0,79	6,74 0,79	6,74 0,79	6,74 0,79	6,74 0,79
Никотиновая кислота (2)	M σ p	6,42 0,90 >0,05	6,78 0,96 >0,05	7,03 0,87 >0,05	7,23 0,89 >0,05	7,33 1,18 >0,05	7,48 0,74 >0,05	7,25 1,13 >0,05
Облучение (3)	M σ p	6,91 1,38 >0,05	7,02 0,53 >0,05	5,52 1,16 >0,05	5,08 1,05 0,010	4,75 0,92 0,004	4,50 1,16 0,006	- - -
Облучение + никотиновая кислота (4)	M σ p p ₁	7,55 1,28 >0,05 >0,05	7,52 1,33 >0,05 >0,05	5,51 1,40 >0,05 >0,05	6,31 1,03 >0,05 >0,05	6,35 0,81 >0,05 0,006	4,28 0,80 0,004 >0,05	- - -
Мозг								
Интактные животные (1)	M σ	7,56 1,31	7,56 1,31	7,56 1,31	7,56 1,31	7,56 1,31	7,56 1,31	7,56 1,31
Никотиновая кислота (2)	M σ p	7,20 1,20 >0,05	8,15 0,73 >0,05	10,12 1,56 0,016	9,22 0,86 0,030	9,51 1,41 0,025	9,63 0,58 0,016	10,13 1,08 0,013
Облучение (3)	M σ p	6,63 1,16 >0,05	6,86 0,97 >0,05	7,39 1,79 >0,05	7,14 1,14 >0,05	7,30 1,15 >0,05	7,61 1,21 >0,05	- - -
Облучение + никотиновая кислота (4)	M σ p p ₁	8,38 0,89 >0,05 >0,05	10,43 0,76 0,005 0,004	13,46 1,22 0,004 0,004	16,95 2,04 0,004 0,004	6,56 1,12 >0,05 >0,05	2,75 0,63 0,004 0,004	- - -

Примечание: p – уровень значимости по отношению к интактным животным с использованием критерия Манна – Уитни; p₁ – уровень значимости при сравнении данных 4 группы по отношению к данным 3 группы с использованием критерия Манна – Уитни.

3. Сравнительный анализ активности пируватдегидрогеназы в тонком кишечнике крыс в различных условиях эксперимента

Группы (n = 6)	Стат. показ.	Сроки						
		30 мин	60 мин	120 мин	240 мин	24 час	3 сут	15 сут
Тонкий кишечник								
Интактные животные (1)	М σ	10,49 1,01	10,49 1,01	10,49 1,01	10,49 1,01	10,49 1,01	10,49 1,01	10,49 1,01
Никотиновая кислота (2)	М σ p	10,17 1,25 >0,05	10,18 1,58 >0,05	8,48 1,14 0,020	9,58 1,06 >0,05	9,24 1,91 >0,05	7,30 1,29 0,004	7,17 0,80 0,004
Облучение (3)	М σ p	10,51 0,88 >0,05	9,85 1,08 >0,05	9,85 0,91 >0,05	7,41 0,65 0,004	4,26 0,87 0,004	4,25 0,79 0,004	- - -
Облучение + никотиновая кислота (4)	М σ p p ₁	10,43 1,80 >0,05 >0,05	10,79 2,02 >0,05 >0,05	13,88 1,77 0,006 0,004	17,92 2,33 0,004 0,004	9,77 0,44 >0,05 0,004	6,56 1,24 0,004 0,006	- - -

Примечание: p – уровень значимости по отношению к интактным животным с использованием критерия Манна – Уитни; p₁ – уровень значимости при сравнении данных 4 группы по отношению к данным 3 группы с использованием критерия Манна – Уитни.

237,4%, 36,1% соответственно). Обращает внимание значительная активация фермента в ранние сроки и резкое снижение на 3 сутки эксперимента.

Для тонкого кишечника, в отличие от других тканей, характерно постепенное снижение активности фермента на всех сроках по отношению к интактным животным. Значимые отличия отмечались через 120 мин (80,8%) и на 3 сутки (69,6%) эксперимента (табл. 3). При облучении отмечалось снижение активности пируватдегидрогеназы до 70,6% (240 мин), 40,6% (24 часа) и 40,5% (3 суток) по отношению к данным 1 группы. При облучении животных и введении никотиновой кислоты в тонком кишечнике отмечалось повышение активности фермента в ранние сроки, что составляло 132,3% и 140,9% (120 мин), 170,8% и 241,8% (240 мин) по отношению к интактным и облученным животным соответственно. Через 24 часа активность пируватдегидрогеназы в тонком кишечнике была повышена до 229,3% при сравнении с 3 группой, а через 3 суток составляла 62,5% по отношению к 1 группе и 154,4% по отношению к 3 группе.

Таким образом, активация пируватдегидрогеназы во 2 группе животных в зависимости от ткани в различные сроки после введения НК, как и снижение активности в тонком кишечнике, очевидно, связана с различной скоростью поступления, механизмов регуляции, особенностями метаболизма НК, являющейся предшественником никотинамидных коферментов и прочностью их связывания.

Однократное общее рентгеновское облучение в дозе 6 Гр вызывает достоверное увеличение активности ПДГ в ранние сроки (60 мин) только в крови, а через 240 мин, 24 часа и 3 суток активность фермента существенно понижалась в крови, печени, почках и тонком кишечнике крыс.

Введение НК до рентгеновского облучения в ряде случаев способствовало не только нормализации, но и значительной активации ПДГ по отношению к интактным животным в ранние сроки эксперимента. Так, введение НК вызывало увеличение активности ПДГ в крови, печени, мозге и тонком кишечнике в ранние сроки (60, 120, 240 мин) как относительно интактных животных, так и облученных крыс. Через 24 часа после рентгеновского облучения отмечалось достоверное повышение активности ПДГ в крови, печени, почках и тонком кишечнике крыс при сравнении с животными подвергнутым только рентгеновскому облучению. На третьи сутки эксперимента после введения НК и рентгеновского облучения активность ПДГ была значительно снижена в крови и мозге по отношению к 1 и 3 группе животных, а в почках только по отношению к интактным крысам. Для печени и тонкого кишечника характерно достоверно сниженный уровень активности фермента относительно интактных животных и повышенная активность по отношению к облученным животным.

Выводы

1. Изменение активности ПДГ в различных условиях эксперимента характеризуется чертами тканевой специфичности как по времени наступающих изменений, так и по их направленности и выраженности.

2. Выраженное снижение активности ПДГ в тканях крыс после рентгеновского облучения в дозе 6 Гр может быть обусловлено уменьшением уровня коферментов, а также конформационными изменениями ультраструктуры митохондриальных мембран и нарушением их проницаемости [5, 6, 8].

3. Увеличение активности пируватдегидрогеназы в ряде тканей при различных условиях эксперимента было существенным, что может быть обусловлено усилением и преимущественным использованием быстро окисляющихся субстратов, в первую очередь CoA-SH.

4. Отмеченные эффекты могут являться предпосылкой для использования НК в качестве средства, нормализующего дисферментозы энергетического обмена при различных экстремальных состояниях организма.

Список литературы

1. Бююль А., Цефель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. - СПб.: ООО "ДиаСофтЮП", 2001.- 608 с.
2. Коэн Ф. Регуляция ферментативной активности: Пер. с англ. – Москва: Мир, 1986. – 144 с.
3. Марри В., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т-х. т. 1. – М: Мир, 2004. – 318 с.
4. Москалев Ю. И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. – М: Медицина, 1991. – 464 с.
5. Розанов А. Я. Механизмы регуляции биокатализа.- Киев: Вища школа,- 1989,- 240 с.
6. Розанов А. Я., Трещинский А. И., Хмелевский Ю. В. Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях.- Киев: Здоров'я.- 1989,- 240 с.
7. Романцев Е. Ф., Блохина В. Д., Жуланова З. И. и др. Биологические основы действия радиопротекторов. – М.: Атомиздат, 1980. - 168 с.
8. Утешев А. Б. Роль окислительно – восстановительных ферментов при радиационном поражении. Алма – Ата: Наука КазССР, 1981. – 148 с.
9. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы.- Москва.: Мир, 1986.- 374 с.
10. Хухо Ф. Нейрохимия: Основы и принципы,- Москва.: Мир, 1990.- 384 с.
11. Agriles Jozep M. The oxidation of methylglyoxal by mammalian pyruvate dehydrogenase // Arch. Biochem. And Biophys. – 1989. – 273, № 1. – P. 238 – 244.
12. Gubler C. Studies on the physiological function of thiamine // J. Biol. Chem., 1961. – 1961. – 12. – P. 3112 – 3120.
13. Laj J. C. K., Di Lorenzo J. C., Sheu Kwan-Fu Rex. Pyruvate dehydrogenase complex is inhibited in calcium-loaded cerebrocortical mitochondria // Neurochem. Res. – 1989. – 13, № 11. – P. 1043 – 1048.
14. Matuda S., Nakano K., Ohta S. et al. The α -ketoacid dehydrogenase complexes. Sequence similarity of rat pyruvate dehydrogenase with Escherichia coli and Azotobacter vinelandii α -ketoglutarate dehydrogenase // Biochim. Et Biophys. Acta. Gene Struct. and Express. – 1991. – 1089, № 1. – P. 1 – 7.
15. Weiss R. G., Chako V. P., Gerstenblith G. Fatty acid and regulation of glucose metabolism in the intact beating rat heart assessed by carbon-13 NMR spectroscopy three critical role of pyruvate dehydrogenase // J. Mol. and Cell. Cardiol. – 1989. – 21, № 5. – P. 469 – 478.

Кокошкина О.А., Запорожченко А.В. Влияние общего рентгеновского облучения и никотиновой кислоты на пируватдегидрогеназную активность в тканях крыс.

Исследовали активность пируватдегидрогеназы (ПДГ) в крови, печени, почках, мозге и тонком кишечнике крыс через 30, 60, 120, 240 мин, 24 часа, 3 суток и 15 суток после внутримышечного введения никотиновой кислоты (НК) в дозе 10 мг/кг массы и однократного общего рентгеновского облучения в дозе 6 Гр. Отмечалось снижение активности в тонком кишечнике и повышение активности ПДГ в различные сроки в других тканях после введения НК. Облучение вызывало снижение активности ПДГ в крови, почках, печени и тонком кишечнике крыс. Облучение на фоне предварительного введения НК вызывало повышение активности ПДГ в ранние сроки (1 сутки). На третьи сутки активность ПДГ в почках, крови и мозге крыс этой группы снижалась, а в печени и тонком кишечнике повышалась относительно облученных животных.

Ключевые слова: никотиновая кислота, пируватдегидрогеназа, рентгеновское облучение, крысы.

Kokoshkina O.A., Zaporozhchenko A.V. Influence of whole – body X – ray irradiation and of nicotine acid injection on pyruvate dehydrogenase activity of rat tissues.

Activity of pyruvate dehydrogenase (PDH) from rat blood, liver, kidneys, brain and small intestines has been studied after 30, 60, 120, 240 min., 24 hours, 3 and 15 days after 10 mg/kg nicotinic acid (NA) injection and after single whole – body X – ray irradiation in 6 Gy dose. Decreasing activity of PDH in the small intestines and growing activity of enzyme in the other tissues at the different terms after NA application have been observed. The irradiation caused the decrease of the PDH activity in their blood, liver, kidneys and small intestine. The irradiation on a background preliminary injection of NA caused the increase of the PDH activity in rats tissues in early terms (1 day). On the third day the PDH decreased in blood, kidneys and brain of rats of this group, and increased in liver and small intestine.

Key words: nicotinic acid, pyruvate dehydrogenase, x-ray irradiation, rats.