

УДК: 577.16: 502.08

**О. О. Кокошкіна**, ст. викл., **О. В. Запорожченко**, доц.  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
кафедра біохімії,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 650082, Україна; sana33@ukr.net

### ВМІСТ ДЕЯКИХ МЕТАБОЛІТІВ НІКОТИНАТУ В ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

За допомогою радіохроматографічного методу вивчали вміст нікотинату, НАД + НАДФ, НАДН + НАДФН та нікотинурової кислоти в тканинах щурів за умов опромінення в дозі, що викликає променево хворобу III ступеня важкості. Опромінення щурів (поглинена доза 6 Гр) призводить до збільшення вмісту нікотинамідних коферментів, особливо їх окиснених форм. Парентеральне введення екзогенного нікотинату до опромінення супроводжується відносним збільшенням вмісту в тканинах НАДН + НАДФН, що дозволяє рекомендувати вітамін РР як радіопротекторний засіб.

**Ключові слова:** нікотинова кислота, нікотинамідні коферменти, нікотинурова кислота, рентгенівське опромінення, щурі.

Важливим напрямом сучасної біохімії є вивчення впливу різних хімічних та фізичних чинників, у тому числі радіації, на обмін речовин в клітинах і механізми його регуляції, які мають особливе значення для підтримки гомеостазу біологічних систем [1–3].

Аналіз індукованих опроміненням процесів свідчить, що на першому етапі розвитку променевої патології відбуваються суттєві біохімічні зміни в клітинах, утворюються вільні радикали, які у подальшому ушкоджують нуклеофільні компоненти біомембран, ферментів, нуклеїнових кислот тощо.

Рівень вільнорадикального окиснення контролюється біоантиоксидантною системою захисту, яка містить у якості одного з основних компонентів НАДФН. Саме тому встановлення взаємозв'язку між вмістом нікотинамідних коферментів у тканинах тварин та дією іонізуючої радіації може надати інформацію для прогнозування наслідків опромінення, а також використання нікотинату та його коферментних форм з профілактичною чи терапевтичною метою за умов іонізуючого опромінення [4–8].

Метою наших досліджень було вивчення вмісту нікотинату, НАД + НАДФ, НАДН + НАДФН та одного з кінцевих продуктів катаболізму нікотинату – нікотинурової кислоти – у тканинах щурів за умов їх одноразового рентгенівського опромінення дозою, що викликає променево хворобу III ступеня важкості.

#### Матеріали та методи

Дослідження проведено на 24 щурах лінії Вістар середньою масою 200 г. Тварини були поділені на чотири групи. Тваринам першої групи (контроль) внутрішньом'язово вводили ізотонічний розчин хлориду натрію. Тваринам другої групи (НК) внутрішньом'язово вводили нікотинову кислоту в терапевтичній дозі (10 мг/кг). Щурів третьої групи (РО) після введення ізотонічного розчину NaCl опромінювали за допомогою апарату РУМ-17 рентгенівськими променями.

ми так, щоб поглинена доза становила 6 Гр. Тваринам четвертої групи (РО + НК) внутрішньом'язово вводили нікотинову кислоту (10 мг/кг) і опромінювали за тих же умов і тією ж дозою. Одразу після опромінення тваринам усіх груп внутрішньом'язово вводили мічену по вуглецю нікотинову кислоту (1 мкг на щура), але з достатньо високою питомою радіоактивністю (4,2 ГБк/ммоль). Незначна кількість введеної міченої сполуки дозволяла не враховувати біологічні ефекти доданого міченого вітаміну, але надавала можливість визначити відповідні метаболіти нікотинату з використанням радіоіндикаційного методу.

Через 6 годин після введення міченого нікотинату отримували препарати крові, головного мозку, печінки, нирок, тонкого кишечника досліджуваних тварин. Гомогенізацію органів і тканин провадили в 0,9% NaCl у співвідношенні 1 : 20 (маса : об'єм). Гомогенати витримували протягом 6 годин на холоді при постійному перемішуванні з метою більш повної екстракції нікотинату та його похідних і центрифугували при 20000 g протягом 20 хвилин. Осад перевіряли на залишкову радіоактивність, а супернатант наносили на смужки хроматографічного паперу 50 × 1 см.

Хромоторграфію здійснювали з використанням суміші *n*-бутанол – оцтова кислота – вода у співвідношенні 1 : 1 : 1. Після завершення процедури хроматограми висушували. Зони, які містили нікотинурову кислоту, а також коферментні форми нікотинату, яких ідентифікували за допомогою стандартних зразків цих сполук, розрізали на фрагменти розміром 1 x 0,5 см і визначали їх радіоактивність. Вміст нікотинату, НАД + НАДФ, НАДН + НАДФН і нікотинурової кислоти визначали в мкг на г тканини.

Результати обробляли з використанням диференційної статистики і непараметричного методу Манна-Уїтні за допомогою комп'ютерної програми «Statistika 5.5» [9].

### Результати досліджень та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що вміст нікотинової кислоти в досліджених тканинах тварин усіх піддослідних груп не змінювався (табл. 1).

Таблиця 1  
Вміст нікотинової кислоти (мкг/г тканини) в крові і тканинах щурів після введення <sup>14</sup>C-нікотинової кислоти за різних умов експерименту (n = 6)

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Кров	М	0,17	0,12	0,13	0,12
	m	0,03	0,02	0,02	0,02
	σ	0,08	0,04	0,05	0,04
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Печінка	М	2,42	2,10	2,38	2,23
	m	0,10	0,11	0,13	0,12
	σ	0,25	0,26	0,32	0,29
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05

Закінчення таблиці 1

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Тонкий кишечник	M	1,67	1,72	1,50	1,57
	m	0,10	0,08	1,10	0,10
	σ	0,24	0,19	0,25	0,23
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Нирки	M	1,53	1,48	1,55	1,33
	m	0,6	0,09	0,10	0,08
	σ	0,14	0,23	0,24	0,20
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Мозок	M	0,68	0,63	0,65	0,68
	m	0,08	0,07	0,08	0,07
	σ	0,19	0,16	0,19	0,17
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05

Примітка: тут і далі p – рівень вірогідності по відношенню до контролю; p<sub>1</sub> – рівень вірогідності при порівнянні групи “НК” з групою тварин “РО + НК”.

Вміст окиснених форм нікотинамідних коферментів після рентгенівського опромінення тварин суттєво збільшувався – на 49, 38, 30 та 19% відповідно в тканинах головного мозку, печінки, тонкого кишечника та нирок. В крові, навпаки, вміст НАД + НАДФ був майже вдвічі меншим, ніж у контрольних тварин (табл. 2). Збільшення вмісту окиснених форм нікотинамідних коферментів у тканинах піддослідних щурів може бути результатом компенсаторних процесів, які реалізуються в організмі щурів у відповідь на дію фізичного фактору.

Таблиця 2

Вміст суми НАД+НАДФ (мкг/г тканини) в крові і тканинах щурів після введення <sup>14</sup>C-нікотинової кислоти за різних умов експерименту (n = 6)

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Кров	M	0,25	0,13	0,23	0,15
	m	0,03	0,02	0,02	0,02
	σ	0,08	0,05	0,05	0,06
	p	—	0,025	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Печінка	M	8,03	11,05	12,77	12,78
	m	0,17	0,26	0,36	0,38
	σ	0,43	0,64	0,92	0,92
	p	—	0,004	0,004	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Тонкий кишечник	M	6,52	8,45	9,52	9,30
	m	0,14	0,21	0,24	0,18
	σ	0,33	0,52	0,59	0,44
	p	—	0,004	0,004	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,020

Закінчення таблиці 2

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Нирки	M	5,53	6,57	7,22	7,63
	m	0,15	0,12	0,16	0,10
	σ	0,36	0,29	0,40	0,25
	p	—	0,004	0,004	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,004
Мозок	M	3,00	4,48	5,40	6,12
	m	0,13	0,12	0,14	0,18
	σ	0,32	0,30	0,35	0,44
	p	—	0,004	0,004	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,004

Внутрішньом'язові ін'єкції нікотинової кислоти призводили до ще більш значного зростання вмісту окиснених форм нікотинамідних коферментів у тканинах шурів як у порівнянні з контролем, так і з опроміненими тваринами.

Опромінення тварин після введення їм нікотинової кислоти також супроводжувалося достовірним у порівнянні з контролем збільшенням вмісту коферментів, особливо в тканинах головного мозку.

Таблиця 3

Вміст суми НАДН + НАДФН (мкг/г тканини) в крові і тканинах шурів після введення <sup>14</sup>C-нікотинової кислоти за різних умов експерименту (n = 6)

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Кров	M	0,13	0,15	0,12	0,12
	m	0,02	0,02	0,02	0,02
	σ	0,05	0,06	0,04	0,04
	p	—	>0,05	>0,05	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Печінка	M	6,03	8,57	6,13	10,27
	m	0,19	0,12	0,12	0,23
	σ	0,47	0,29	0,30	0,57
	p	—	0,004	>0,05	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,004
Тонкий кишечник	M	4,23	6,48	4,28	10,03
	m	0,12	0,13	0,13	0,20
	σ	0,29	0,32	0,32	0,50
	p	—	0,004	>0,05	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,004
Нирки	M	3,43	5,35	3,42	5,80
	m	0,14	0,12	0,12	0,28
	σ	0,33	0,30	0,29	0,68
	p	—	0,004	>0,05	0,004
	p <sub>1</sub>	—	>0,05	—	>0,05

Закінчення таблиці 3

Досліджув. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО + НК
Мозок	М	1,95	3,50	2,17	6,13
	m	0,08	0,15	0,16	0,24
	σ	0,19	0,36	0,39	0,59
	p	—	0,004	>0,05	0,004
	p <sub>1</sub>	—	—	—	0,004

Опромінення тварин також призводило до зростання вмісту відновлених форм нікотинамідних коферментів у тканинах головного мозку, нирок, тонкого кишечника та печінки відповідно на 80, 56, 53 та 42%. Збільшення вмісту відновлених форм нікотинамідних коферментів у тканинах піддослідних шурів може бути наслідком не тільки процесів біосинтезу коферментних форм, але й відбитком процесів, у яких НАДФН грає роль відновлювального еквівалента для знешкодження вільних радикалів і продуктів вільнорадикального окиснення, що накопичуються за дії радіації (табл. 3). Ще більш виразне зростання вмісту НАДН + НАДФН спостерігається за умови опромінення після введення нікотинату: в тканинах головного мозку – на 200%, тонкого кишечника – на 150%, нирок та печінки – на 70%.

Введення самого нікотинату без подальшого опромінення не призводило до суттєвих змін вмісту відновлених коферментів у досліджуваних тканинах.

Таблиця 4

Вміст нікотинурової кислоти (мкг/г тканини) в крові і тканинах шурів після введення <sup>14</sup>C-нікотинурої кислоти при різних умовах експерименту (n = 6)

Дослідж. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО+НК
Кров	М	0,13	0,13	0,77	0,12
	m	0,02	0,02	0,03	0,02
	σ	0,05	0,05	0,08	0,04
	p	—	>0,05	0,004	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Печінка	М	0,97	0,72	2,52	0,72
	m	0,06	0,06	0,14	0,05
	σ	0,14	0,15	0,34	0,13
	p	—	0,016	0,004	0,013
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05
Тонкий кишечник	М	0,57	0,50	2,38	0,47
	m	0,04	0,04	0,12	0,03
	σ	0,10	0,09	0,30	0,08
	p	—	>0,05	0,004	>0,05
	p <sub>1</sub>	—	—	—	>0,05

Закінчення таблиці 4

Дослідж. тканини	Стат. показ.	Умови експерименту			
		Контроль	РО	НК	РО+НК
Нирки	M	0,50	0,43	3,43	0,33
	m	0,05	0,05	0,12	0,05
	$\sigma$	0,13	0,12	0,29	0,12
	p	—	>0,05	0,004	>0,05
	$p_1$	—	—	—	>0,05
Мозок	M	0,20	0,27	2,10	0,22
	m	0,03	0,04	0,11	0,03
	$\sigma$	0,06	0,10	0,26	0,08
	p	—	>0,05	0,004	>0,05
	$p_1$	—	—	—	>0,05

Як видно з таблиці 4, вміст нікотинурової кислоти під впливом радіації, а також радіації після введення нікотинату суттєво зменшувався тільки в тканинах печінки щурів на 20% у порівнянні з тваринами контрольної групи.

У тварин, яким вводили нікотинат і в подальшому не проводили опромінення, вміст нікотинурової кислоти в усіх тканинах в 3–10 разів перевищував показники тварин контрольної групи.

Таким чином, дія радіації за умов нашого експерименту не супроводжується змінами вмісту нікотинату та нікотинурової кислоти в тканинах, що досліджувалися. Водночас опромінення тварин супроводжується зростанням вмісту в тканинах відновлених і, особливо, окиснених форм нікотинамідних коферментів. На нашу думку, такі зміни, з одного боку, є відбитком сукупності компенсаторних реакцій організму, спрямованих на утворення з відповідних попередників НАДФН, що безпосередньо бере участь у реакціях нейтралізації вільнорадикального окиснення. З іншого боку, НАДФН дуже швидко використовується в глутатіонредуктазній та інших реакціях антиоксидантної системи захисту тканин, завдяки чому вміст відновлених форм нікотинамідних коферментів нижчий за вміст окиснених форм.

### Висновки

1. Рентгенівське опромінення щурів в дозі 6 Гр не викликає суттєвих змін вмісту в досліджуваних тканинах нікотинату та його катаболіту – нікотинурової кислоти.

2. Дія радіації супроводжується зростанням вмісту в тканинах окиснених і особливо відновлених нікотинамідних коферментів, що відображає компенсаторні реакції клітин на пошкоджуючий чинник.

3. Введення нікотинової кислоти супроводжується значним зростанням вмісту НАДН + НАДФН в тканинах щурів за умови подальшого їх опромінення, що дозволяє рекомендувати її у якості радіопротекторного засобу.

### Література

1. Зимин Ю. В., Сяткин С. П., Березов Т. Т. Молекулярные механизмы метаболической адаптации патологически измененной печени при токсическом гепатите // Вопр. мед. химии. — 2001. — Т. 47, Вып. 3. — С. 28–31.

2. *Биохимические механизмы радиационного поражения природной популяции мышевидных грызунов* / А. Г. Кудряшева, Л. Н. Шишкина, И. Г. Загорская, А. И. Таскаев. — СПб.: Наука, 1997. — 156 с.
3. *Леус Н. Ф.* Уровень никотинамидных коферментов и активность ферментов их биосинтеза и распада в тканях животных при воздействии экстремальных патогенных факторов // Укр. биохим. журн. — 1986. — Т. 58, № 1. — С. 21–25.
4. *Розанов А. Я.* Механизмы регуляции биокатализа. — К.: Вища школа, 1989. — 240 с.
5. *Розанов А. Я., Трещинский А. И., Хмелевский Ю. В.* Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях. — Киев: Здоров'я. — 1989. — 240 с.
6. *Ярмоненко С. П.* Радиобиология человека и животных. — М.: Высшая школа, 1988. — 424 с.
7. *Биохимия человека: В 2 т. Т. 1* / В. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. — М.: Мир, 2004. — 381 с.
8. *Substrate channeling in glycolysis: A phantom phenomenon* / Wu Xiaomao, H. Gutfreund, S. Lakatos, P. B. Chock // Proc. Nat. Acad. Sci USA. — 1991. — Vol. 88, № 2. — P. 497–501.
9. *Боровиков В.* STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. — СПб.: Питер, 2001. — 656 с.

**О. А. Кокошкина, А. В. Запорожченко**

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,  
кафедра биохимии  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина; sana33@ukr.net

**СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ МЕТАБОЛИТОВ НИКОТИНАТА В ТКАНЯХ КРЫС  
В УСЛОВИЯХ ОДНОРАЗОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ**

**Резюме**

При помощи радиохроматографического метода изучали содержание никотината, НАД + НАДФ, НАДН + НАДФН и никотинуровой кислоты в тканях крыс в условиях рентгеновского облучения в дозе, которая вызывает лучевую болезнь III степени тяжести. Облучение крыс (поглощенная доза 6 гр) приводит к увеличению содержания никотинамидных коферментов, особенно их окисленных форм. Парентеральное введение экзогенного никотината до облучения сопровождается относительным повышением тканевого содержания НАДН + НАДФН, что позволяет рекомендовать витамин PP как радиопротекторное средство.

**Ключевые слова:** никотиновая кислота, никотинамидные коферменты, никотинуровая кислота, рентгеновское облучение, крысы.

**О. А. Kokoshkina, A. V. Zaporozhchenko**

Odessa Mechnikov National University, Department of Biochemistry  
Dvoryanska st., 2, 65082, Odessa, Ukraine; sana33@ukr.net

**CONTENT SOME OF METABOLITS OF NICOTINIC ACID IN THE TISSUES OF  
RATS WITH SINGLE RADIATION EXPOSURE**

**Summary**

We studied nicotinic acid, NAD + NADP, NADH + NADPH and nicotinuric acid content by radiochromatography method in the tissues of rats with X-ray radiation in the dose causes radiation sickness of the III degree. Irradiation of rats (absorbed dose 6 gr) causes increasing of nicotinamide coenzymes content, especially their oxidized forms. Parenterally introduction of eczogenic nicotinic acid before irradiation accompanied the relative increase tissue content NADH + NADPH, that allows to recommend the vitamin PP as radioprotector substance.

**Key words:** nicotinic acid, nicotinamide coenzymes, nicotinuric acid, X- ray, rats.