

А. Г. ХАЛМУРАДОВ, академик АН УССР Р. В. ЧАГОВЕЦ,
С. И. ШУШЕВИЧ, Г. Ф. СТЕПАНОВА

ОБРАЗОВАНИЕ НИКОТИНУРОВОЙ КИСЛОТЫ КАК СРЕДСТВО РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ *IN VIVO* В ТКАНЯХ

Избыточный синтез НАД⁺ и НАДФ⁺, с одной стороны, и образование конечных выводимых продуктов метаболизма, с другой, следует рассматривать как механизм поддержания внутриклеточного гомеостаза витамина РР — никотиновой кислоты (НК) и пиридиновых коферментов в животных тканях. В отношении превращения НК в НАД⁺ и НАДФ⁺ при избытке витамина в тканях накопился достаточный экспериментальный материал (^{1, 2}). Образование же таких специфических конечных метаболитов НК, как никотинуровая кислота (НУК) — никотинилглицин, никотинилглюкоронид у млекопитающих и диникотинилорнитин — у птиц, хотя и установлено (³), однако их роль как средств удаления из организма избыточных количеств НК остается недостаточно выясненной.

Задачей настоящей работы явилось изучение особенностей образования НУК в печени и почках крыс *in vivo* при избыточном поступлении НК. Это позволило бы установить удельный вес системы синтеза НУК в процессах «уборки» и высвобождения организма от избыточной экзогенной НК.

Опыты проводили на белых крысах-самцах весом 150—200 г. НК вводили подкожно в количестве 150 мг на 1 кг веса за 1, 3, 6, 9, 12 и 24 часа до забоя животных. Из печени и почек готовили перхлорные экстракты (⁴), аликвоты которых разделяли хроматографией на бумаге в системе *n*-бутанол, насыщенный водой. На хроматограммах выявляли индивидуальную локализацию НК и НУК, которые элюировали разбавленным раствором HCl. Спектрофотометрическое определение НУК проводили на приборе СФ-4А при 262 мμ по Джонсу (⁵), а НК — согласно методу Хайеса и Виллиамсона при 372 мμ (⁶). Так же поступали и с элюатами из разделенных хроматографией на бумаге перхлорных экстрактов митохондрий, ядер и надосадочной фракций клеток печени. Клеточные фракции выделяли дифференциальным центрифугированием гомогенатов, приготовленных в 0,25 *M* сахарозе, по модифицированному Донченко (⁷) методу Шнейдера и Хогбума (⁸). Контроль за чистотой и морфологический целостностью фракций осуществляли электронномикроскопически. Препарат НУК — свидетеля получали синтетически по Рерлиху (⁹). В опытах с НК-7-С¹⁴ ее вводили подкожно из расчета 200 000 имп/мин на 1 г живого веса крыс (7·10⁻⁴ мС/г) за 9 час. до их забоя. Радиоактивность подсчитывали в элюатах пятен НК и НУК, разделенных хроматографически.

Проведенные опыты показали, что НУК является естественным компонентом тканей (в контроле ее содержание в печени составляет 0,476 ± ± 0,026, а в почках 0,461 ± 0,013 μмол/г). При введении избытка НК происходит четкое повышение содержания НУК в печени уже через час. Оно достигает своего максимума к 9 часу, при котором уровень НУК почти в 8 раз превышает исходное. Через 12 час. содержание НУК оказывается значительно ниже и приходит к исходным величинам к концу 24 час. (рис. 1А). Такой же закономерный характер имеет динамика содержания НУК

в почках при нагрузке крыс НК (рис. 1Б), хотя максимум и менее выражен. Становится очевидной связь между поступлением избыточных количеств НК и содержанием, а значит и новообразованием НУК из НК. В этом убеждают результаты рис. 1. Если рассчитать максимальную концентрацию НУК относительно максимального уровня НК в тканях, то оказывается, что повышение НУК в почках выше (68,5%), чем в печени (42%).

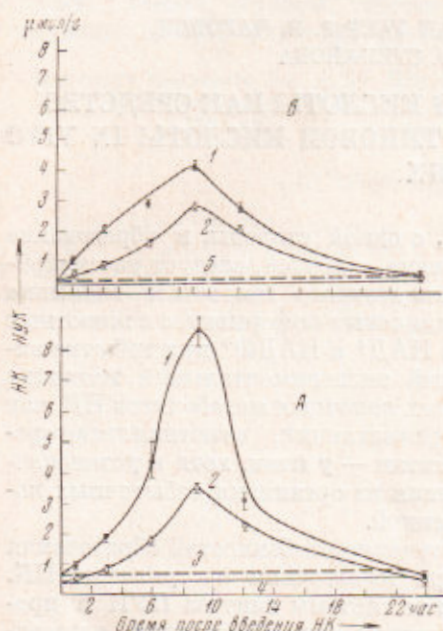


Рис. 1. Содержание НК и НУК в печени (А) и в почках (Б) крыс в норме и при введении НК (150 мг/кг). 1 — НК, 2 — НУК, 3, 6 — нормальный уровень НК, 4, 5 — нормальный уровень НУК

участии фермента, локализованного в митохондриях. Это согласуется с данными, показавшими преимущественное наличие глицин-N-ацилтрансферазы (КФ 2.3.1.13) во фракции клеточных митохондрий (10).

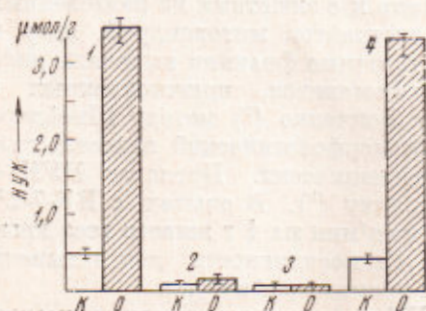


Рис. 2

Рис. 2. Содержание НУК в клеточных фракциях печени крыс в норме и при введении НК (150 мг/кг) за 9 час. до забоя. К — контроль, О — опыт. 1 — гомогенат, 2 — надосадочная жидкость, 3 — ядра, 4 — митохондрии

Отсюда можно было бы сделать предположение, что интенсивность превращения НК в этой ткани возрастает в большей мере, чем в печени. Однако, учитывая выделительную функцию почек, нельзя исключить возможности увеличения концентрации НУК в тканях этого органа за счет ее поступления из других органов.

Определение содержания НУК в различных клеточных фракциях печени показало, что до 82% этого соединения, содержащегося в гомогенате, приходится на долю митохондрий, а при введении избытка НК — до 92,5% (рис. 2). Это давало основание предположить, что синтез НУК происходит в митохондриях клеток. В опытах, в которых крысам вводилась НК-7-С¹⁴, включение радиометки было наиболее выражено в НУК, хроматографически выделенной из митохондриальных перхлорных экстрактов (рис. 3). Ее радиоактивность составляла в среднем 71,4% радиоактивности НУК гомогената. Тем самым можно было убедиться, что синтез этого соединения происходит при

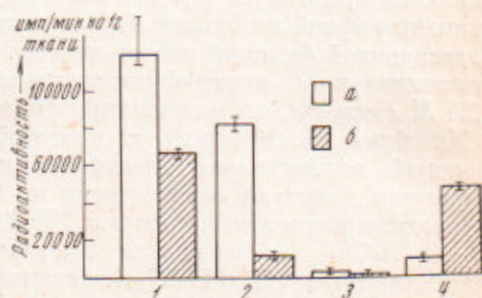


Рис. 3

Рис. 3. Включение НК-7-С¹⁴ в НК (а) и НУК (б) клеточных фракций печени крыс при введении ее за 9 час. до забоя. 1 — гомогенат, 2 — надосадочная жидкость, 3 — ядра, 4 — митохондрии

Проведенные исследования демонстрируют, что система образования НУК усиленно функционирует в условиях избытка в тканях НК и это указывает на ее вероятную регуляторную роль в поддержании постоянства внутриклеточных концентраций витамина РР, как предшественника пиридиновых коферментов. Вероятно, при избытке НК происходит активация или адаптивный синтез глицин-N-ацилтрансферазы, благодаря чему происходит «уборка» излишка НК путем интенсивного синтеза НУК и выключения НК из внутриклеточного обмена. Исходя из того, что глицин-N-ацилтрансфераза в одинаковой степени катализирует как образование гиппуровой кислоты из бензойной (¹¹), так и синтез НУК из НК (¹²), представляется, что она в проявлении своего каталитического действия специфична не только к наличию ароматического кольца (пиридинового или бензольного), но и к карбоксильной группе боковой цепи. Благодаря этому реакцию образования НУК из НК и глицина можно отнести к типичным механизмам образования связей —CO—NH—, включающим конденсацию ацил-КоА с аминогруппой. Аналогичный механизм обнаружен при ацетилировании ароматических аминокислот (¹³) и при синтезе таурохолевой кислоты (¹⁴).

Изложенные данные, таким образом, дают возможность предполагать, что система синтеза НУК, ее активирование *in vivo* в значительной мере определяется клеточной концентрацией НК.

Институт биохимии
Академии наук УССР
Киев

Поступило
25 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Р. В. Чаговец, А. Г. Хаабурадов, С. И. Шумевнч, Укр. бнхнм. журн., 42, 191 (1970). ² L. S. Dietrich, O. Muniz, M. Powanda, J. Vitaminology (Japan), 14, Suppl., 123 (1968). ³ T. W. Goodwin, In: The Biosynthesis of Cofactors of Enzyme Systems, London, 1966, p. 234. ⁴ А. Г. Хаабурадов, С. И. Шумевнч, Р. В. Чаговец, Укр. бнхнм. журн., 42, 779 (1970). ⁵ K. M. Jones, Biochem. J., 73, 719 (1959). ⁶ D. E. Hughes, D. H. Williamson, Biochem. J., 55, 581 (1953). ⁷ Г. В. Донченко, Вопр. мед. химии, 11, 78 (1965). ⁸ W. S. Schneider, G. H. Hogeboom, J. Biol. Chem., 183, 123 (1950). ⁹ M. Rohrllich, Arch. Pharmacol., 284/56, 6 (1951). ¹⁰ K. M. Jones, W. H. Elliott, Biochem. J., 73, 706 (1959). ¹¹ D. Schachter, J. V. Taggart, J. Biol. Chem., 208, 263 (1954). ¹² K. M. Jones, Biochem. J., 73, 714 (1959). ¹³ E. R. Stadtman, G. D. Novelli, R. Lippmann, J. Biol. Chem., 191, 365, 377 (1951). ¹⁴ W. H. Elliott, Biochem. J., 62, 427, 433 (1956).