

Академик АН УССР Р. В. ЧАГОВЕЦ, А. Г. ХАЛМУРАДОВ,  
С. И. ШУШЕВИЧ

### НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ РЕГУЛЯЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ НИКОТИНУРОВОЙ КИСЛОТЫ В ТКАНЯХ КРЫС

Было установлено, что в условиях избыточного поступления никотиновой кислоты (НК) происходит повышение образования никотинуровой кислоты (НУК) в печени и почках крыс *in vivo*. Эти данные позволили относить систему синтеза НУК в тканях к средствам поддержания постоянства концентрации НК в клетках (<sup>1</sup>). В связи с этим представлялось существенным выяснение механизмов регуляции образования НУК в тканях. Для ее синтеза кроме НК и глицина, как субстрата, необходимы также АТФ и КоА (<sup>2</sup>). Поэтому задачей настоящей работы явилось изучение зависимости образования НУК в тканях от содержания глицина и энергетического обеспечения протекания реакции синтеза НУК, определяемой наличием АТФ и системами, обуславливающими ее регенерацию.

Постановка экспериментов, процедура хроматографического разделения и определения НК и НУК, выделения и обработки клеточных фракций печени, а также определения радиоактивности были такими, как в предыдущей работе (<sup>1</sup>).

Подопытным белым крысам вводили глицин (10 мг на 1 кг веса) и по истечении 1 и 9 час.

определяли содержание НК и НУК в печени и почках. Если в условиях введения животным избытка НК происходило максимальное возрастание содержания НУК (через 9 час.) в печени в 8 раз, в почках в 6 раз (<sup>1</sup>), то, когда животным вводили глицин (рис. 1), отмечалось некоторое повышение уровня НУК в печени и почках (в среднем в 1,2 раза через 1 час и в 1,4 раза через 9 час.). При этом содержание НК в тканях не претерпевало существенных изменений. Можно заключить, что образование НУК в тканях в большей мере зависит от концентрации НК и не лимитируется концентрацией глицина. При одновременном введении крысам обоих субстратов (НК и глицина) за 9 час. до их забоя и в печени и в почках отмечалось значительно меньшее повышение уровня содержания НУК по сравнению с введением одной НК (<sup>1</sup>). Если образование НУК через 9 час. после введения НК принять за 100%, то в случае совместного введения крысам НК и глицина прирост концентрации НУК в печени и почках составляет лишь 36%. Поскольку в этих условиях концентрация НК в

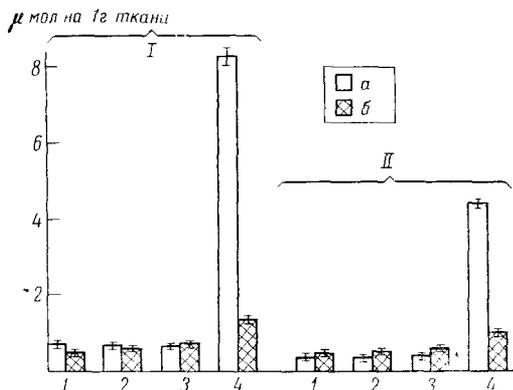


Рис. 1. Зависимость образования НУК в тканях крыс от субстратов. а — НК; б — НУК; I — печень, II — почки. Контроль (введен физиологический раствор) (1), введены глицин (10 мг на 1 кг веса) за 1 час до забоя (2) и за 9 час. до забоя (3), НК (150 мг на 1 кг веса) и сразу же глицин (10 мг на 1 кг веса), забой через 9 час (4)

Таблица 1

Включение НК-7-С<sup>14</sup> в НК и НУК клеточных фракций печени крыс при различных условиях опыта, имп/мин на 1 г свежей печени

Условия опыта	Статистические показатели			Никотиновая кислота				Никотинуровая кислота			
	M m ± n %	P	%	гомогенат	надосадочная	ядра	митохон- дрии	гомогенат	надосадочная	ядра	митохон- дрии
Введена НК-7-С <sup>14</sup> (7·10 <sup>-4</sup> мС на 1 г веса) за 9 час. до забоя n = 6	M			126 080	82 726	3227	9611	67 012	11 446	381	47 873
	m ± n			2293	1490	115	256	890	274	14	1043
	%			100	65,7	2,5	7,6	400	17,1	0,5	71,4
Введена НК-7-С <sup>14</sup> (7·10 <sup>-4</sup> мС на 1 г веса) и сразу же введен глицин (10 мг на 1 кг веса). Забой через 9 час. n = 6	M			420 651	91 505	1294	3565	23 349	6318	378	14 648
	m ± n			1004	329	9	27	140	30	7	108
	%			<0,05	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,5
Введен этионин (100 мг на 1 кг) и через 5 час. после него введена НК-7-С <sup>14</sup> (7·10 <sup>-4</sup> мС на 1 г веса). Забой через 14 час. после первой инъекции n = 6	M			56 302	35 140	2294	4898	21 089	12 245	363	6514
	m ± n			162	78	13	13	54	93	40	40
	%			<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,2	>0,001
				100	62,4	4,1	8,7	100	58,1	1,7	30,9

тканях такая же как и при введении только НК (<sup>1</sup>), то придется допустить, что избыток глицина вызывает в них заметное торможение образования НУК. Подобное снижение синтеза НУК отмечалось при повышенной концентрации глицина в инкубационной смеси в опытах *in vitro* (<sup>2</sup>). Для выявления внутриклеточных участков, где выражены эффекты совместного введения НК и глицина на образование НУК, животным вводили НК-7-С<sup>14</sup> (7·10<sup>-4</sup> мС на 1 г веса) совместно с глицином (10 мг на 1 кг веса) и через 9 час. определяли включение радиометки в НК и НУК, выделенных из различных клеточных фракций печени хроматографическим методом. В этих условиях включение радиометки в НК гомогената и надосадочной жидкости было таким, как и при введении самой НК-7-С<sup>14</sup> (табл. 1), тогда как в митохондрии поступало меньше меченой НК. Возможно, этим обстоятельством в некоторой мере можно объяснить ограниченный синтез НУК в печени при избыточных количествах НК и глицина, поскольку эти органеллы содержат систему синтеза НУК (<sup>1</sup>).

Для выявления зависимости образования НУК в тканях от содержания АТФ животным вводили этионин, связывающий ее в виде S-аденозил-этионина (<sup>3, 4</sup>). При введении этионина (100 мг на 1 кг веса) за 5 час. до забоя крыс он не оказывал влияния на содержание НК и НУК в печени и почках (рис. 2). При забое животных, которым вводилась НК после этионина, ограничивается поступление в ткани НК и значительно снижается образование НУК (в печени на 71,4%, в почках на 73,8%) по сравнению с результатами введения одной НК (<sup>1</sup>). При аналогичной постановке опыта, но с введением вначале этионина, а затем НК-7-С<sup>14</sup> подтвердилось то, что вызываемое этионином снижение образования НУК в печени отчасти яв-

ляется следствием пониженного поступления НК в ткань. В этих условиях не только снижается включение радиометки в НУК субклеточных органелл клеток печени, но и происходит пониженное поступление радиометки как в гомогенат, так и в митохондрии и надосадочную фракцию (табл. 1). Следует отметить, что снижающее содержание НУК действие этионина при его совместном введении с НК особо выражено в митохондриях печени (как в отношении включения метки в НК, так и в НУК). Если учесть, что он тормозит окислительное фосфорилирование в этих органеллах (5),

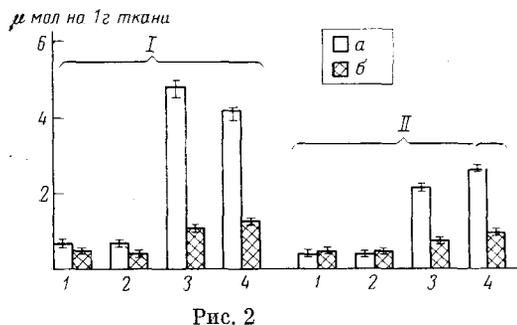


Рис. 2

Рис. 2. Зависимость образования НУК из НК в тканях крыс от снижения концентрации АТФ, вызванного этионином. а — НК, б — НУК, I — печень, II — почки. Контроль (I), введены этионин (100 мг на 1 кг) за 5 час. до забоя (2), этионин (100 мг на 1 кг) и спустя 5 час. НК (150 мг на 1 кг), забой через 9 час. после введения НК (3), НК (150 мг на 1 кг) и через 4 часа после нее этионин (100 мг на 1 кг), забой через 9 час. после первой инъекции (4)

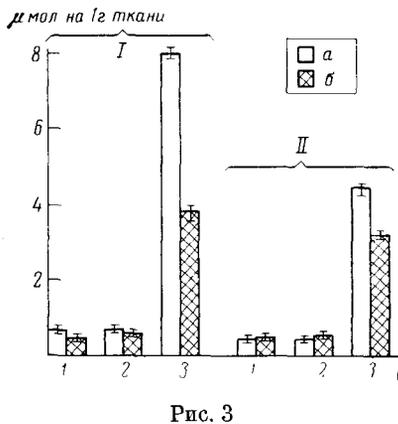


Рис. 3

Рис. 3. Влияние блокирования пути синтеза НАД<sup>+</sup> на образование НУК из НК в тканях крыс. а — НК, б — НУК. I — печень. II — почки. Контроль (I), введены 6-меркаптопурин (150 мг на 1 кг веса) за 1 час до забоя (2), НК (150 мг на 1 кг веса) и сразу же после нее введен 6-меркаптопурин (150 мг на 1 кг веса), забой через 9 час. (3)

то становится очевидным, что вызванное им снижение концентрации АТФ, в первую очередь, сказывается на образовании в них НУК. Эти данные указывают на существенную роль АТФ как в поступлении НК в ткань, так и в утилизации ее в синтезе НУК. Учитывая, что АТФ используется в начальной реакции между НК и КоА, где образуется никотинил-КоА как промежуточный продукт синтеза НУК (6), можно допустить, что обусловленное этионином снижение концентрации АТФ в клетке лимитирует именно это звено синтеза НУК.

Следующей задачей изучения было выяснить в какой мере возрастает использование НК в синтезе НУК при блокировании пути синтеза НАД<sup>+</sup> посредством введения животным 6-меркаптопурина (150 мг на 1 кг веса) (7). При введении последнего за 1 час до забоя уровень НУК в печени возрастает на 23,5%, а в почках на 13% по сравнению с контролем при неизменных концентрациях НК (рис. 3). Когда же его вводили одновременно с НК, уровень НУК в печени остается таким же, как и при введении только НК за 9 час. до забоя (1). В почечной ткани в этих условиях происходит некоторое повышение концентрации НУК — на 13% по сравнению с ее уровнем через 9 час. после нагрузки только НК (1). При поступлении физиологических количеств НК в ткани синтез НАД<sup>+</sup>, очевидно, является основным путем ее использования. Поэтому блокирование этого пути 6-меркаптопурином ограничивает синтез НАД<sup>+</sup> из НК, что приводит к некоторому повышению содержания НУК в тканях.

При избыточном поступлении НК в значительном количестве превращается в НУК, и в меньшей мере растёт образование из нее НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup> (<sup>8</sup>). Возможно, в силу этого при совместном введении НК с 6-меркаптопурином повышение концентрации НУК остается таким же, как и при введении только НК.

На основании изложенных данных можно думать, что субстратное лимитирование образования НУК, а следовательно и глицил — N-ацилтрансферазы (КФ 2.3.1.13), катализирующей этот процесс (<sup>6</sup>), зависит в большей мере от концентрации НК в тканях. В механизме регуляции образования НУК значительную роль играет и уровень эндогенной концентрации АТФ как вещества, потребляющегося как при «доставке» субстрата (НК) в соответствующие клеточные участки синтеза НУК, так и в самом процессе синтеза НУК. Блокирование пути использования НК в синтезе НАД<sup>+</sup> может сказаться лишь на физиологическом уровне поступления витамина. При избытке же концентрации НК в тканях использование ее для образования НУК следует считать основным путем превращения и механизмом регуляции, при помощи которого поддерживается постоянство ее концентрации в клетках тканей животных.

Институт биохимии  
Академии наук УССР  
Киев

Поступило  
26 VI 1971

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Г. Халмуратов, Р. В. Чаговец и др., ДАН, **200**, № 4 (1971). <sup>2</sup> К. М. Jones, W. H. Elliot, *Biochem. J.*, **73**, 706 (1959). <sup>3</sup> L. Baglio, E. Farber, *Federat Proc.*, **24**, 2, part 1, 362 (1965). <sup>4</sup> S. H. Kenneth, C. Lean et al., *J. Biol. Chem.*, **241**, 5060 (1966). <sup>5</sup> S. A. Singal, V. Knowles et al., *Federat. Proc.*, **24**, № 2, Part 1, 362 (1965). <sup>6</sup> K. M. Jones, *Biochim. J.*, **73**, 714 (1959). <sup>7</sup> N. O. Kaplan, A. Goldin et al., *J. Biol. Chem.*, **219**, 287 (1956). <sup>8</sup> Р. В. Чаговец, А. Г. Халмуратов, С. И. Шушевич, *Укр. біохім. журн.*, **42**, 191 (1970).