

**Міністерство освіти і науки України**  
**Херсонський державний університет**  
**Факультет біології, географії і екології**  
**Кафедра біології людини та імунології**

**ВПЛИВ НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ НА БІОХІМІЧНІ  
ПОКАЗНИКИ КРОВІ**

Кваліфікаційна робота (проект)  
на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

Виконала: здобувачка  
Спеціальності 091 Біологія  
Освітньо-професійної програми  
Біологія  
Мельник Олена Володимирівна

Керівник к.б.н., доцент Гасюк О.М.  
Рецензент В.о. директора КНП  
«Херсонський обласний центр служби  
крові» Лагутіна Г.Г.

Херсон – 2021

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b> .....	3
<b>РОЗДІЛ 1. Огляд літературних джерел</b> .....	6
1.1. Біологічні властивості нікотинової кислоти.....	6
1.2. Біохімічні системи, пов'язані з нікотинамідом.....	10
1.3. Біологічні властивості нікотинової кислоти та її сполук....	13
1.4. Оксидативний стрес та його роль в організмі.....	18
<b>РОЗДІЛ 2. Матеріали і методи дослідження</b> .....	25
2.1. Організація дослідження .....	25
2.2. Визначення загального холестерину .....	26
2.3. Визначення рівня тригліцеридів за Gottfried та Rosenberg...	28
2.4. Визначення концентрації малонового діальдегіду у еритроцитах .....	29
2.5. Дослідження вмісту дієнових кон'югатів у еритроцитах....	30
<b>РОЗДІЛ 3. Аналіз та обговорення отриманих результатів</b> .....	32
3.1. Показники ліпідного обміну у крові тварин досліджуваних груп.....	32
3.2. Стан процесів перекисного окиснення ліпідів у крові тварин досліджуваних груп.....	36
<b>ВИСНОВКИ</b> .....	40
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....	42

## ВСТУП

Актуальність теми. Нікотинова кислота є цікавим та недостатньо вивченим метаболітом. Її вітамінні властивості та її похідних вивчені ще недостатньо, а нові дослідження розкривають все нові і нові її сторони. Такі дослідження мають як теоретичний так і практичний аспекти, адже дають змогу не тільки розширити наші уявлення про роль вітаміну РР в організмі, але і виокремити найбільш значущі її властивості та застосовувати їх для лікування різних хвороб та/або з метою профілактики виникнення різних хвороб та розладів [27, 33, 40].

Фізіологічні функції нікотинової кислоти полягають в тому, що вона спричиняє судинорозширювальний вплив на дрібні артерії та капіляри, здійснюючи глобальний вплив на гемодинаміку, секреторно-моторну функцію шлунка, регуляцію еритропоезу тощо. Вона модулює обмін вуглеводів, ліпідів, білків, знижує вміст холестерину і глюкози в крові, покращує функціональний стан центральної нервової системи, печінки і шлунка [8, 18, 30].

Останнім часом з'явилися повідомлення, що нікотинова кислота бере активну участь у ліпідному обміні, що робить її ще більш перспективним терапевтичним засобом [6, 20, 43].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана кваліфікаційна робота виконана в межах роботи над ініціативною науково-дослідною темою «Вплив деяких вазоактивних речовин на центральні та периферичні лімфоїдні органи білих мишей» (державний реєстраційний номер 0117U001764).

Мета дослідження. З'ясувати вплив нікотинової кислоти на окремі біохімічні показники крові лабораторних мишей.

Завдання дослідження:

1. Визначити вміст загального холестерину в крові досліджуваних тварин у порівнянні із контрольною групою;

2. Дослідити рівень тригліцеридів у крові дослідних тварин в умовах уведення нікотинової кислоти;

3. Дослідити концентрації малонового діальдегіду у еритроцитах крові лабораторних мишей в умовах дії нікотинової кислоти;

4. Визначити вміст дієнових кон'югатів у еритроцитах крові лабораторних мишей в умовах дії нікотинової кислоти.

Об'єкт дослідження. Вплив нікотинової кислоти на ліпідний обмін та процеси перокисного окиснення.

Предмет дослідження. Показники загального холестерину, тригліцеридів молочної кислоти, малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів у крові лабораторних мишей в умовах дії нікотинової кислоти.

Методи дослідження. Огляд наукової літератури; метод визначення загального холестерину в плазмі крові; метод визначення рівня тригліцеридів за Gottfried та Rosenberg; метод визначення концентрації малонового діальдегіду у еритроцитах; метод визначення вмісту дієнових кон'югатів у еритроцитах; методи математичної статистики (пакет програм Statistica 6.0 и Microsoft Excel 7. Достовірність розбіжностей оцінювали за непараметричним критерієм Манна-Вітні. Результати вважали валідними при  $p < 0,05$ ).

Наукова новизна одержаних результатів. Отримано дані щодо вмісту окремих метаболітів в крові лабораторних мишей в умовах дії значних концентрацій нікотинової кислоти, що дозволяє уточнити відомості стосовно участі нікотинової кислоти та її похідних в окисно-відновних процесах організму. Окремі дані вперше отримано на лабораторних мишах, що робить процедуру дослідження більш економічною та доступною.

Практична значущість результатів дослідження. Дані, отримані в результаті дослідження можна застосовувати у навчальному процесі для

викладання освітніх компонент «Фізіологія людини і тварин», «Обмін речовин та енергії живих систем» та «Основи здорового способу життя».

Апробація результатів дослідження. Результати, отримані в ході виконання кваліфікаційної роботи представлені на звітній студентській конференції на кафедрі біології людини та імунології у 2020 та 2021 роках. Також за результатами дослідження є наукова публікація.

Структура роботи. Робота складається з трьох розділів, вступу, висновків, списку використаних джерел. У роботі присутні 10 рисунків і 5 таблиць.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

#### 1.1. Біологічні властивості нікотинової кислоти

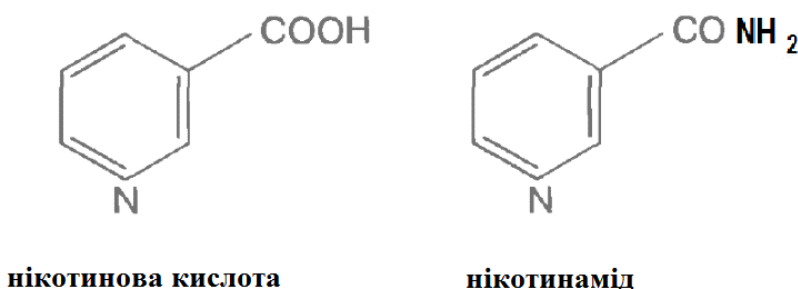
Вітамін РР (має кілька синонімів: нікотинова кислота, ніацин, нікотинамід, вітамін В<sub>3</sub>) є досить давно відомою речовиною. Певний час він мав назву «антипелагричний вітамін», так як його дефіцитарність є причиною відомого авітамінозного захворювання, що має назву «пелагра» і уражує переважно шкіру, шлунково-кишковий тракт і нервову систему [29].

Спочатку нікотинова кислота була синтезована ще в 1867 році, а назву «нікотинова кислота» нова речовина отримала через 6 років - у 1873 році. Однак про вітамінні властивості новосинтезованої сполуки дізналися лише у двадцятих роках двадцятого століття. У 1913 році К. Функ, а пізніше інші вчені виділили з рисових висівок, а також з дріжджів кристалічну речовину. Саме вона і виявилася нікотиновою кислотою. Функ намагався застосувати цю речовину проти хвороби «бери-бери», але вона не мала антіневритичного ефекту. Але задовго до цього були описані симптоми пелагри [4]. Тоді лікар із США М. Голдбергер припустив існування вітаміну, уведення якого лікує пелагру (антипеларгічний фактор, preventive pellagra). Офіційно вітамін РР був ідентифікований як нікотинова кислота тільки в 1937 році Конрадом Евельгеймом. Цікаво, що вже у 1938 році цей препарат був уведений у клінічну практику як ліки від пелагри та профілактичний засіб проти неї [26, 29].

Нікотинова кислота є стійкою до високотемпературних впливів та низки інших факторів. Вітамін РР погано розчиняється у воді, але, натомість, гарно розчиняється у водяних розчинах лугів [4, 29].

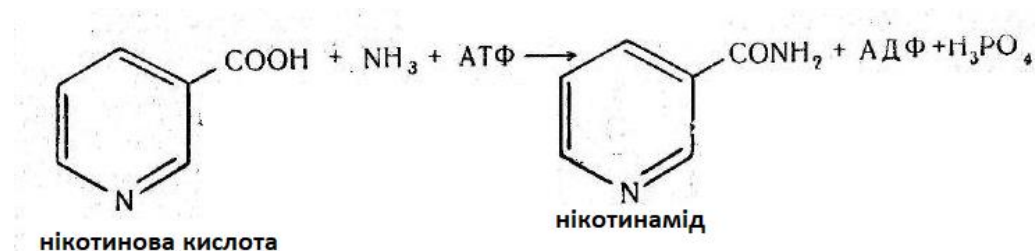
По́за організмом вона зазвичай утворюється безпосередньо із нікотину. Ендогенно ж джерелом утворення вітаміну В3 є амінокислота триптофан [26].

З хімічної точки зору ніотинова кислота є піридин-3-карбоною кислотою, а її похідне ніотинамід - її амідом (рис. 1.1). Також до цієї групи відносяться оксиметилпіридинові вітаміни (група В<sub>6</sub>) [26, 29].



**Рис. 1.1. Будо́ва ніотинової кислоти та ніотинаміду**

Цікаво, що обидві сполуки досить легко взаємоперетворюються, тож їх вітамінні властивості і активність практично ідентичні. Процес амідування ніотинової кислотності в організмі здійснюється за участю АТФ - донора енергії (рис. 1.2).



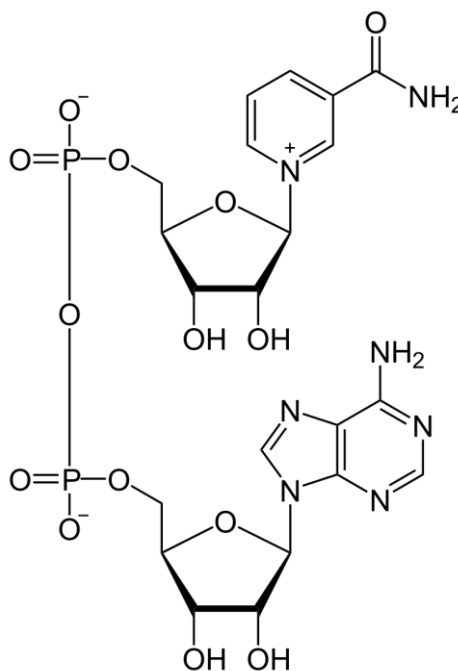
**Рис. 1.2. Процес амідування ніотинової кислоти за участі АТФ**

Для кращого розуміння ролі ніотинової кислоти в організмі потрібно розглянути особливості її метаболізму і роль в цьому найважливіших метаболітів – коферментів ніотинамідаденіндинуклеотиду [НАД<sup>+</sup> (NAD<sup>+</sup>)] та ніотинамідаденіндинуклеотидфосфату [НАДФ<sup>+</sup> (NADP<sup>+</sup>)]. Означений вітамін зустрічаються у складі коферментів численних дегідрогеназ в

формі динуклеотиду, тому звичайно ці коферменти називають пиридиндинуклеотидами [3].

Тож, вітамін РР, що надходить із їжею, завдяки водорозчинності швидко всмоктується у кишковоки та шлунку шляхом простої дифузії. Потім, за струмом крові, ніотинова кислота надходить у печінку та інші органи. Нікотинамід проходить такий же шлях, але дещо повільніше. Вже в тканинах і органах обидві ці сполуки організм використовує для синтезу коферментів  $\text{NAD}^+$  і  $\text{NADP}^+$ , які самостійно через мембрани на проходять [26].

Діфосфопіридиндинуклеотид можна розглядати як динуклеотид, що складається з аденозинмонофосфату і аміду ніотинової кислоти, що пов'язаний із залишками рибози і фосфорної кислоти. Міжнародна комісія по номенклатурі ферментів (1961 р.) рекомендувала назвати цей кофермент нікотинамідаденіндинуклеотид (скорочено  $\text{NAD}^+$ ) [3] (рис. 1.3).

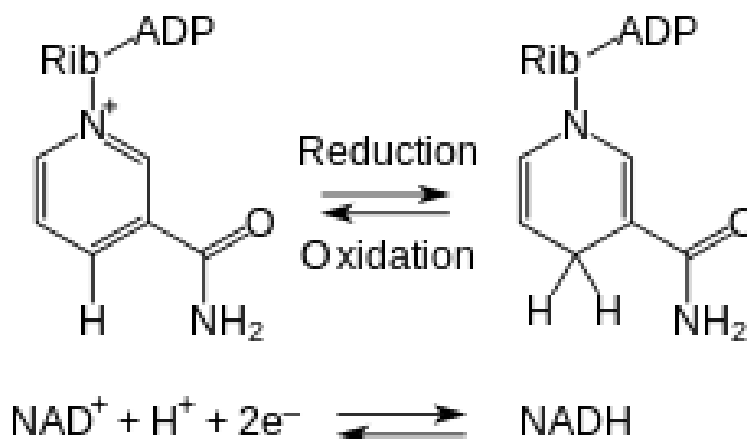


**Рис. 1.3. Структурна формула  $\text{NAD}^+$**

Утворення  $\text{NAD}^+$  в організмі проходить в два етапи: перший починається у цитоплазмі за допомогою ферменту нікотинмононуклеотидпірофосфорилази; другий етап продовжується у



ядрі клітини, а відповідна реакція каталізується  $\text{NAD}^+$ -пірофосфорилазою (рис. 1.4) [26].



**Рис. 1.4.** Структурна формула  $\text{NADP}^+$

Зауважимо, що синтезуватися даний кофермент може і мітохондріями.  $\text{NADP}^+$  утворюється у цитоплазмі клітини з  $\text{NAD}^+$  за участі  $\text{NAD}^+$ -кінази (рис. 1.5).



**Рис. 1.5.** Схема перетворень коферментів

Як вже показано, частина нікотинамідних коферментів утворюється у організмі тварин із триптофану. Однак цей путь, значно поступається у ефективності першому шляху (коли нікотинамідні коферменти утворюються із прямого вітамінного попередника) і складає, загалом, до 2 % метаболічного пула триптофана [15, 22].

Розпад нуклеотидів каталізується ферментами глікогідролазами (відповідно,  $\text{NADP}^+$ -глікогідролаза і  $\text{NAD}^+$ -глікогідролаза), які розщеплюють глікозидні зв'язки із утворенням нікотинаміду та АДФ-рибози. А вже потім нікотинамід окиснюється і продукти окиснення

цього вітаміну (серед яких переважає М-метілнікотинамід) виводяться з сечею [26].

## 1.2. Біохімічні системи, пов'язані з нікотинамідом

Головною функцією піридиндинуклеотидів є їх участь у реакціях окиснення. Це можна пояснити хімічною природою компонентів, що входять до складу динуклеотидів.  $\text{NAD}^+$  являє з себе катіонну форму молекули. Азот в піридиновому кільці нікотинаміду є сильною четвертинною основою, адже має в своєму складі один електровалентний зв'язок та чотири ковалентних. При рН 7,5 дві ОН-групи залишків фосфорної кислоти  $\text{NAD}^+$  залишаються йонізовані і їх йон водню у розчині опиняється у вільному стані. У  $\text{NADP}^+$  у такій формі знаходяться чотири кислотні групи трьох фосфатних залишків, що входять до складу кофермента. З цих чотирьох груп три групи є такими, що первинно дисоціюють, а одна – такою, що вторинно дисоціює. Така структурна особливість сприяє, наприклад, утворенню системи, яка заснована на зворотній реакції переходу чотирьохвалентного позитивно зарядженого атома азоту в тривалентний.

В процесі реакції відбувається приєднання кисню спирту до подвійного зв'язку ( $\text{C} = \text{O}$ ) амідної групи нікотинаміду. При тому утворюється тетраедричний вуглець. Цинк, беручи електрон від кисню  $\text{C}=\text{O}$ -зв'язку, сприяє приєднанню кисню від молекули спирту до вуглецю карбонільної групи. Надалі вся ця система сприяє відщепленню йона  $\text{H}^-$  від вуглецю спирту в L-положенні та переносу його до вуглецю в 4-му положенні кільця нікотинаміду. Коферменти  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$  входять до складу первинних дегідрогеназ, природа білка яких визначає специфічність ферменту. Зв'язок між апоферментом і коферментом дуже лабільний, легко розривається при діалізі, але також легко відновлюються при їх повторному з'єднанні [28, 44].

Завдяки своїй мобільності  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$  можуть переходити на інші апоферменти, перетворюючись в коферментні різноманітних ферментів. Ці властивості нікотинаміддинуклеотидів важливі для окислення відновлених або відновлення окислених форм. Кофермент може відновлюватися на одному апоферменті, а окислюватися на іншому. Типовим прикладом такого процесу є оксидоредукція при алкогольному бродінні. Відновлення  $\text{NAD}^+$  в  $\text{NADP}^+\cdot\text{H}_2$  може відбуватися в живих системах також і при впливі молекулярного водню. Подальше окислення (реоксидація)  $\text{NADP}^+\cdot\text{H}_2$  не обов'язково відбувається при взаємодії з  $\text{NAD}^+$ . Воно може здійснитися також ферментом, що містить  $\text{NADP}^+$  в якості коферменту піридиндинуклеотидтрансгідрогенази [34].

$\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$  є коферментами так званих анаеробних дегідрогеназ - ферментів, які після відщеплення атомів водню від субстрату беруть їх на свій кофермент, а відновлені форми піридинових дегідрогеназ передають прийняті атоми водню не кисню, а флавіновим ферментам, що входять до складу флавінових дегідрогеназ. Крім коферментної ролі в процесах оксидоредукції, похідні вітаміну РР  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$  беруть участь у багатьох інших важливих процесах, оказуючи вплив на різні ферменти [3].

Навіть дуже короткий виклад аспектів впливу похідних нікотинової кислоти та нікотинаміду дозволяє побачити величезну роль вітаміну РР в обміні речовин.  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$  в якості коферментів входять до складу ферментних систем, з яких починається окислювальне перетворення більшості субстратів живого організму. Не тільки енергетичний, але і пластичний метаболізм тварин і людини тісно пов'язаний з цим вітаміном. Він, також, є регулятором структурних змін білка ферментів [36].

Отже, майже весь вітамін РР, що знаходиться у клітинах та рідких середовищах організму представлений у вигляді нікотинаміду, що

включений до складу коферментів  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$ . Тому і біологічне значення ніацина визначається роллю цих коферментів. А ця роль є надзвичайно багатогранною.

$\text{NAD}^+$  - кофермент дегідрогеназ, який бере участь у реакціях окислення глюкози, жирних кислот, гліцерину, амінокислот, також слід зазначити, що він є коферментом дегідрогеназ циклу Кребса (за виключенням сукцинатдегідрогенази). В цих реакціях кофермент виконує функцію проміжного акцептора електронів та протонів, що робить його незамінним компонентом обмінних процесів.

$\text{NAD}^+$  - переносник протонів та електронів у дихальному ланцюгу мітохондрій (від субстрата, що окислюється до першого комплексу ланцюгу тканинного дихання).

$\text{NAD}^+$  - субстрат ДНК-лігазної реакції при синтезі та репарації ДНК, а також субстрат для синтезу полі-АДФ-рибози у полі-(АДФ)-рибозорилуванні білків хроматину [35].

$\text{NADPH}\bullet\text{H}^+$  - донор гідрогену у реакціях синтезу жирних кислот, холестерину, стероїдних гормонів та деяких інших сполук. Ця функція, також, є дуже важливою і потребує уточнення та подальших досліджень. Саме участь у означеній ланці обміну речовин робить вите мін РР та його похідні ще цікавішим для досліджень.

$\text{NADPH}\bullet\text{H}^+$  - компонент монооксигеназного ланцюгу мікросомного окислення, який виконує функцію детоксикації антибіотиків та інших іншорідних речовин [48].

$\text{NAD}^+$  та  $\text{NADPH}\bullet\text{H}^+$  - алостеричні регулятори ферментів енергетичного обміну, зокрема, ферментів циклу Кребса, а також реакцій новоутворення глюкози (глюконеогенезу).

Також слід зазначити, що нікотинамід та N-метілнікотинамід (метаболіт нікотинамиду) є учасниками процесу метилювання т-РНК та багатьох білків [37].

### 1.3. Біологічні властивості нікотинової кислоти та її сполук

Багато проводиться досліджень впливу новосинтезованих сполук нікотинової кислоти. На моделі ішемічного інсульту у щурів, викликаного одномоментною перев'язкою обох загальних сонних артерій, нове похідне нікотинової кислоти ЛХТ 6-19 має виражені нейропротекторні властивості. Сполука в дозі 50 мг / кг / добу значно перевершує препарат порівняння мексидол в аналогічній дозі по впливу на летальність тварин, а в дозах 25 і 50 мг / кг / добу - у відношенні зменшення вираженості неврологічного дефіциту [31, 38].

Також досліджували комплексну новосинтезовану речовину під шифром  $\pi$ Q-1043 (цинквмісна сполука нікотинової кислоти). Введення її в дозі 25 мг / кг в перші 1-3 год. після введення зменшує споживання кисню (на 13-28%) і знижує температуру тіла експериментальних тварин (на 6-10%). Також зафіксовано, що сполука  $\pi$ Q-1043 не впливає на показники гліколітичного обміну вуглеводів у інтактних мишей, але істотно коригує зміни цих показників після впливу на тварин гострої гіпоксії з гіперкапнією (підвищує вміст глюкози в крові та глікогену в печінці відповідно на 33% і 35%, зменшує рівень піровиноградної кислоти і активність лактатдегідрогенази відповідно на 24% і 23%). Сполука  $\pi$ Q-1043 не змінює гематологічні показники у інтактних мишей, але підтримує адаптивний еритроцитоз при впливі на тварин гіпоксії. Зроблено висновок, що антигіпоксичний ефект сполуки  $\pi$ Q-1043, ймовірно, реалізується шляхом зворотного пригнічення окисного обміну, що призводить до зменшення потреби тварин в кисні і забезпечує їх пролонговане перебування в умовах гострої гіпоксії [14].

Похідне нікотинової кислоти ЛБК-149 показало гарні результати у порівнянні із традиційними препаратами при корекції антиоксидантної системи у тканинах міокарду та нирок, що зменшувало зростання маркерів цитолітичного синдрому [34].

Цікавими є дослідження впливу нікотинової кислоти на стан зорового нерва. Наведемо короткий опис: «У зв'язку з неефективністю лікування консилиумом лікарів було рекомендовано поряд з базисною терапією внутрішньовенне введення 1% нікотинової кислоти по схемі: 2-3-4-5-6-5-4-3-2 мл з наступним вливанням 5 мл пентоксифіліну на фізіологічному розчині. На 3-й день лікування з'явилося світловідчуття, ще через 2 дні - предметний зір 0,02-0,03 ексцентрично. Після курсу лікування гострота зору в OS підвищилася до 0,6-0,7 з корекцією. В полі зору центральна скотома стала відносною, площа її зменшилася. При повторному огляді через 2 тижні в OS відновилися межі поля зору і покращилася гострота зору до 0,9 з корекцією. Таким чином, результати наших досліджень і клінічні спостереження свідчать про високу ефективність застосування *нікотинової кислоти* і пентоксифіліну за розробленим способом в комплексному лікуванні невритів запального і судинного генезу, що дозволяє рекомендувати використання запропонованої схеми лікування в офтальмологічній практиці». [17].

Великим є значення нікотинової кислоти і як кардіопротекторного засобу. Дані різних досліджень з застосуванням препаратів нікотинової кислоти демонструють її позитивний вплив на рівень всіх показників ліпідного спектра, включаючи такі, що важко піддаються корекції, в результаті чого протягом 12-24 міс. сповільнюється прогресування атеросклерозу в коронарних і сонних артеріях, поліпшується прогноз хворих на ішемічну хворобу серця. Як поодиноке введення нікотинової кислоти, так і її комбінація із статинами може бути визнана ефективною і безпечною для лікування хворих на ішемічну хворобу [33].

Подібні до описаних вище ефекти були отримані при застосування нікотинової кислоти при хворобах нирок [23].

Велику роль відіграє нікотинова кислота на перебіг стрес-реакції. У дослідження Мещанінова В.М. показано, що «Імобілізаційний стрес викликав фазні зміни процесів перекисного окислення ліпідів і

антиоксидантної активності в системі крові щурів, які відповідають стадіям стрес-реакції; зі збільшенням віку у старих щурів відзначалася більш рання активація перекисного окислення ліпідів. З віком в системі крові щурів відбувалося ослаблення впливу парасимпатичної нервової системи і посилювалося дію симпатичної, що може призводити до вік-залежним змін інтенсивності перекисного окислення ліпідів при стрес-впливі. L-триптофан і нікотинова кислота при стрес-впливі у зрілих і старих щурів викликали антиоксидантний, у старих щурів - гіполіпидемический геропротективний ефект» [25].

Не можна оминати і тему впливу нікотинової кислоти на клітини імунної системи. Нещодавно було встановлено, що нікотинова кислота здатна активізувати рецептор GPR109A (G-protein-coupled receptor), який розташований на мембранах клітин жирової тканини (адіпоцитів), та обумовлюючи тим самим, різке зменшення виділення вільних жирних кислот з цих клітин до периферичної крові. Результатом є зниження інтенсивності біосинтезу холестерину та його транспорту до судин. В результаті дослідження вчені визначили, що нікотинова кислота не тільки нормалізує обмін ліпопротеїдів, а й активно впливає на клітини імунної системи, стимулюючи діяльність їх рецептора GPR109A і призводячи, тим самим, до зниження інтенсивності запального компонента склерозу судин. Саме тим, що імунні клітини (макрофаги) грають дуже важливу роль в формуванні атеросклеротичного процесу, а нікотинова кислота впливає на їх активність, різко знижуючи швидкість утворення атеросклеротичних бляшок на стінках судин, можна пояснити настільки виражений ефект від застосування вітаміну PP [2, 36].

У дослідженні Yang J, Klaidman LK, Nalbandian A, Oliver J, Chang ML, Chan PH, Adams JD Jr., (2002) вивчався вплив нікотинаміду на рівні аденозинтрифосфату (АТФ) та нікотинамідаденіну (НАД) та активність полі (аденозиндифосфат-рибози) (полі (АДФ-рибоза)) після ішемії та реперфузії у щурів, які попередньо отримували кетамін. Нікотинамід

уводили наприкінці ішемічного періоду. Було з'ясовано, що нікотинамід захищає від виснаження АТФ та НАД через 6 та 24 години реперфузії. Відомо, що нікотинамід інгібує полі (АДФ-рибоза) полімерази у ранні моменти часу, але також було з'ясовано, що він збільшує активність полі (АДФ-рибози) полімерази через 24 години реперфузії. Тож, у дослідженні показано, що нікотинамід може допомогти підтримувати клітинну енергетику під час реперфузії, тим самим захищаючи клітини від некрозу і апоптозу [48, 49].

Дослідженнями Martens C.R., Denman B.A., Mazzo M.R. у 2018 році показано, нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД +) став важливим супутнім субстратом для ферментів, що беруть участь та благотворно впливають на обмін речовин, зокрема, регулюють обмеження калорій для підвищення тривалості життя [45].

Таким чином, використання попередників НАД + для збільшення біодоступності НАД + було запропоновано в якості стратегії підтримання на належному рівні серцево-судинних та інших фізіологічних функцій у людей з віком. Дослідження, яке тут наведено проводилось у вигляді рандомізованого подвійного сліпого плацебо-контролюємого перехресного клінічного дослідження тривалістю  $2 \times 6$  тижнів, і показало, що хронічний прийом вітаміну-попередника NAD +, нікотинаміду рибозида (NR), гарно переноситься та ефективно стимулює метаболізм NAD + у здорових людей. люди середнього та старшого віку. Ці результати також дають попередні уявлення про вплив хронічних добавок нікотинової кислоти на фізіологічні функції у людей и дають змогу припустити, що, наступні клінічні випробування повинні додатково оцінити потенційні переваги нікотинової кислоти для зниження артеріального тиску та артеріальної жорсткості у цій віковій групі [45].

Незважаючи на всі переваги, нікотинова кислота не знайшла широкого застосування в клінічній практиці. Це пов'язано з тим, що



прийом нікотинової кислоти у високих дозах та надвисоких дозах може супроводжуватися певними побічними явищами [33]. Основним побічним ефектом при застосуванні кристалічної форми нікотинової кислоти є її погана переносимість, пов'язана з «припливами» і гіперемією шкірних покривів. Реакція обумовлена активним вивільненням простагландинів (простациклін і простагландин E2 і D2) [41]. У великих дозах нікотинова кислота зменшує екскрецію сечової кислоти і може спровокувати напад подагри, погіршує толерантність до вуглеводів, особливо у осіб з цукровим діабетом. Побічні ефекти з боку печінки проявляються підвищенням трансаміназ, в окремих випадках можливий розвиток печінкової недостатності. Міопатія зустрічається рідко і головним чином при комбінації зі статинами і фібратами. Ніацин підвищує секрецію гістаміну і моторику шлунку. Однак найбільш грізним, але разом з тим рідкісним ускладненням є розвиток печінкової недостатності [46]. Побічні ефекти можуть бути нівельовані, якщо починати застосування нікотинової кислоти з малих доз з поступовим збільшенням дози. Оцінці ефективності застосування нікотинової кислоти були присвячені великі дослідження SEACOAST (Safety and Efficacy of a combination of Extended Release Niacin and Simvastatin trial) і OCEAN (Open label Evaluation of the safety and Efficacy of a combination of Niacin ER and Simvastatin) [39]. У дослідженні SEACOAST-I було показано, що з 319 пацієнтів, включених у дослідження, тільки у одного мало місце серйозне небажане явище. У SEACOAST-II, з 345 учасників - одне серйозне небажане явище. Серед небажаних явищ були переважно припливи, що виникали на тлі ніацину. Останні дані свідчать про те, що гіперемія і припливи можуть бути маркером підвищеної ліпідної відповіді на терапію ніацином проте це не послужило підставою для відмови від лікування [42].

Але найновіші дослідження роблять нікотинову кислоту перспективною речовиною. Відомо, що зміни в обміні речовин мають

ключове значення для процесу старіння. Тому розуміння субклітинних функціональних і структурних змін, пов'язаних з метаболічним старінням, має вирішальне значення. Встановлені в даний час методи дослідження клітинного метаболізму або вимагають використання екзогенних агентів, або є деструктивними для тканини або клітин. Візуалізація двухфотонної-збудженої флуоресценції (ТРЕФ) стала методом неінвазивного моніторингу тонких метаболічних змін. У цьому дослідженні ми використовуємо візуалізацію ТРЕФ для отримання флуоресцентних зображень з високою роздільною здатністю від двох коферментів, NAD (P) H<sup>+</sup> і FAD (флавінаденіндинуклеотид), в фібробластах і кератиноцитах людини у відповідь на дію ВЗ (попередник нікотинаміду) і / або УФ-опромінення без додавання екзогенних міток. Крім того, методи багатопараметричного аналізу використовуються для вилучення функціональної інформації по клітинному метаболізму, включаючи окислювально-відновний стан клітин, час життя флуоресценції NAD (P) H і організацію мітохондрій. Результати демонструють, що такі оптичні оцінки метаболізму можуть служити в якості чутливих показників відомих ефектів ВЗ для підтримки, а в деяких випадках навіть для поліпшення дихальної функції мітохондрій при одночасному зниженні окисного пошкодження. Таким чином, візуалізація ТРЕФ, підкріплена високо кількісним аналізом, може служити інструментом для розуміння залежних від старіння метаболічних змін, а також впливу активних речовин на епідермальні і дермальні клітини людини [7, 49].

#### **1.4. Оксидативний стрес та його роль в організмі**

Вільнорадикальне окиснення безперервно відбувається за нормальних (фізіологічних) умов у всіх живих організмах. При цьому, вільнорадикальні процеси за їх низької інтенсивності є одним із типів

нормальних метаболічних процесів. Посилення інтенсивності вільнорадикальних процесів у тканинах може бути наслідком гіперпродукції вільних радикалів та (або) недостатньої активності антиоксидантної системи. Подібний фізіологічний стан клітин, спряжене із порушенням нормальної регуляції вільнорадикальних реакцій називають «окисним стресом», який являє собою універсальний механізм клітинних пошкоджень, які спричиняють різноманітні патологічні стани. Таким чином, проблема вивчення молекулярно-клітинних механізмів розвитку окисного стресу, а також пошук ефективних фізіологічних його модуляторів є надзвичайно актуальною.

Приблизно 95% кисню, який потрапляє до організму, у процесі окисного фосфорилування відновлюється у мітохондріях до води. Інші 5% кисню в результаті різноманітних (в основному ферментативних) реакцій перетворюється у його активні форми, що є високотоксичними для клітин. Активні форми кисню (АФК) – вільні радикали, прооксиданти – являють собою молекулярні частки, які мають непарний електрон на зовнішній орбіті та які володіють високою реакційною здатністю. Ця здатність проявляється в пошкодженні білків, нуклеїнових кислот та ліпідів біологічних мембран клітин. У здоровому організмі утворення АФК відбувається безперервно. Доведено, що АФК як і інші прооксиданти беруть участь у антибактеріальних механізмах, у синтезі біологічно-активних речовин, у обміні колагену, регуляції проникності мембран і таке інше [1, 12].

Утворення вільних радикалів є найважливішим захисним механізмом, який лежить в основі неспецифічного імунітету. Зокрема, у фагоцитованих клітинах з одночасним підвищенням споживання кисню підвищується приблизно у 20 і більше разів (так званий «респіраторний вибух»).

Разом з тим, АФК є основою для розвитку патогенезу багатьох патологічних процесів, володіють антигенними властивостями,

запускають аутоімунні процеси пошкодження тканин, спричиняють бронхоконстрикцію і т.п. Необхідно зазначити, що існування людини у несприятливих умовах зовнішнього середовища (забруднення повітря вихлопними газами автотранспорту, підприємств, опалювальних установок, цигарковий дим і т.д.), радіоактивне та ультрафіолетове випромінювання, ксенобіотики (зокрема лікарські засоби, пестициди, промислові розчинники), надмірне фізичне навантаження, стрес, переважно супроводжується утворенням вільних радикалів. Процес порушення обміну речовин і енергії, накопичення активних пошкоджуючих агентів (вільних радикалів, прооксидантів, АФК), які ініціюють пошкодження клітин та спричиняють розвиток різноманітних патологічних станів, отримало назву оксидативного стресу. Його основою є вільнорадикальне окиснення жирних кислот, або так зване перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) [5, 16].

Увага до проблеми пошкодження клітин при різноманітних захворюваннях, у тому числі серцево-судинних, у сучасній науці почали досліджувати з 20-30-х років минулого століття. До нещодавно біологи вважали, що вільні радикали можуть виникати та зникати під час біохімічних процесів в організмі людини і тварин. Зокрема, Joe M. McCord та Irwin Fridovich у 1969 році довели, що супероксидний аніон (який є небезпечним вільним радикалом) утворюється у живому організмі, а такий фермент як супероксиддисмутаза здатний його знешкодити. Значний внесок у розуміння процесів вільно радикального окиснення було зроблено біохіміком Richard Passwater. Він довів, що існує зв'язок між злоякісними новоутвореннями та рівнем АФК, показав вплив вільних радикалів на серцевий м'яз [11].

На сьогодні відомо, що процес утворення ПОЛ починається з реакції ініціювання ланцюга, внаслідок чого утворюється супероксидний та гідроксильний радикали. Якщо такий радикал утворюється поблизу клітинної мембрани, він має тенденцію реагувати

із полі ненасиченими жирними кислотами бічних ланцюгів молекул ліпідів з утворенням вільного радикалу у мембрані. Останній реагує з молекулярним киснем, утворюючи пероксильний радикал. У випадку відсутності відповідного антиоксиданту пероксид ліпиду вилучає водень з іншої найближчої полі ненасиченої жирної кислоти з утворенням гідропероксиду. Ця реакція починає новий етап вільнорадикального ланцюгового процесу, коли гідро перекиси розкладаються, ініціюючи нові ланцюги. Не усі радикали продовжують ланцюг, частина з них взаємодіє один з одним, утворюються неактивні продукти, що призводить до обриву ланцюга [21].

Окрім спонтанного обриву ланцюга переривання можливе при взаємодії із двовалентним залізом, а також при взаємодії з антиоксидантами. В результаті реакції вільно радикального окиснення, яка самоприскорюється, утворюється велика кількість продуктів ПОЛ. До цих продуктів належать: гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати, перекисні радикали, малоновий діальдегід, шифові основи. Зокрема, гідроперекиси ліпідів – нестійкі речовини, які легко перетворюються у більш стійкі вторинні сполуки окиснення: альдегіди, кетони, низькомолекулярні кислоти. Ці сполуки є токсичними для клітини, спричиняють порушення функцій мембран та метаболізму. Дієнові кон'югати утворюються шляхом відриву атома водню від молекули ненасичених жирних кислот, найчастіше арахідонової (утворюються ліпоперекиси зі спряженими подвійними зв'язками). Малоновий діальдегід утворюється у процесі окисної деструкції ліпідів, входить до складу вторинних продуктів ПОЛ [28].

Для оцінки інтенсивності ПОЛ найбільш часто використовують кількісне визначення малонового діальдегіду. Його підвищення є методом раннього виявлення метаболічних порушень в організмі, навіть на до клінічній стадії захворювання. На противагу вільно радикальним процесам в організмі існує антиоксидантна система, яка являє собою

сукупність захисних механізмів клітин, тканин, органів і систем, які спрямовані на збереження та підтримку гомеостазу в організмі. Рівновага між цими двома протилежними складовими направлена на збереження і підтримку гомеостазу в організмі. Рівновага між цими двома протилежними складовими у стані фізіологічного оптимуму утримує перекисне окиснення на певному низькому рівні, перешкоджаючи розвиткові ланцюгового окисного процесу і характеризує антиоксидантний статус організму. Без цієї універсальної системи захисту нормальне існування організму у біосфері було б неможливим [32].

Розрізняють ферментативні та не ферментативні складові антиоксидантної системи. Ферментативний ланцюг представлений глутатіонпероксидазою, супероксиддисмутазою та каталазою. Вони мають певну спеціалізацію по відношенню до певних видів радикалів і перекисів. До не ферментативного ланцюга антиоксидантної системи належать сполуки низькомолекулярної та білкової природи. Вітамін Е (або токоферол) серед жиророзчинних антиоксидантних мембранопротекторів відіграє важливу роль, оскільки він володіє здатністю підвищувати рівень природних ліпідних антиоксидантів. Він взаємодіє із гідроксильним радикалом, знижуючи рівень синглетного кисню, інактивує супероксидний радикал та інгібує ліпідні радикали, захищає від токсичного впливу дії озону, блокуючи утворені ним радикальні реакції. Єдиним ліпідорозчинним антиоксидантом, який синтезується у клітинах і постійно регенерується з окисненої форми, є убіхінон. Його роль як важливого переносника електронів у дихальному ланцюгу попереджає покращення прогнозу при різноманітних патологіях серцево-судинної системи, при анеміях, гіпоімунних станах, посилюючи фагоцитарну активність макрофагів, число гранулоцитів у кістковому мозку і плазмі крові, збільшуючи кількість імуноглобулінів, підтримуючи функцію тимуса [30].

Антиоксидантна функція вітаміну А полягає у захисті будь-яких біологічних мембран від пошкодження активними формами кисню. Аскорбінова кислота (вітамін С) є одним із найбільш важливих антиоксидантів міжклітинної рідини, не синтезується та не має депо в організмі людини. Цей вітамін інактивує активні форми кисню і органічні пероксиди, захищає ліпопротеїди низької щільності та інші ліпіди від окисного пошкодження, захоплюючи вільні радикали до того, як вони досягають мембрани, відновлюють окиснену форму вітаміну Е, відіграють провідну роль у антиоксидантному захисті головного мозку.

Глутатіон виконує функцію донору водню та кофактора ряду антиоксидантних ферментних систем. Зниження внутрішньоклітинного вмісту відновленого глутатіону, обумовлене генетичною недостатністю ферментів його синтезу або уведенням антагоністів, суттєво знижує стійкість клітин і організму до опромінення. Глутатіон міститься усередині клітин. На глутатіон припадає до 90% усіх небілкових толових сполук. Найбільш багаті глутатіоном тканини печінки та мозку. Функції глутатіону в організмі різноманітні: захист від активних форм кисню, відновлення дисульфідних зв'язків, вплив на активність багаточисленних ферментів, підтримка оптимального складу біомембран, реалізація коферментних функцій, участь у обміні ейкозаноїдів, функціонування у якості резерву цистеїну, участь у біосинтезі нуклеїнових кислот, участь у метаболізмі ксенобіотиків, підвищення клітинної резистентності до токсикантів та інших шкідливих впливів, стимуляції проліферації [39].

Особливої уваги заслуговують біофлавоноїди. Вони знижують артеріальний тиск, активність мускулатури кишкового, зміцнюють капіляри. Одним із відомих представників цієї групи є вітамін Р (рутин). У антиоксидантній. У антиоксидантному захисті рідкого середовища організму відіграють важливу роль також сірковмісна амінокислота таурин, сечовина, білірубін, поліаміни. Сечовина захищає центральну

нервову систему, легені і кров від окисного пошкодження. Сечова кислота також інгібує ПОЛ та відновлює метгемоглобін з утворенням малоактивного урату. Захищає клітини крові, частково зв'язана із білками та вивільняється при стресових реакціях [19].

Церуплазмін є багатофункціональним мідь-вмісним білком сироватки крові, являє собою глікопротеїн. Він синтезується гепатоцитами та є глікопротеїном. Синтез відбувається у гепатоцитах та будучи головним позаклітинним антиоксидантом крові здатен пригнічувати перекисне окиснення ліпідів до 50% за рахунок інактивації супероксидного радикалу. Діючи як антиоксидант, він володіє протизапальною дією. Ця сполука здійснює транспорт купруму, доставляючи його у тканини для синтезу цитохром-С-оксидази та інших ферментів, приймає участь у регуляції біогенних амінів та регуляції їх функцій, є стимулятором кровотворення та регулятором функцій крові. Особливу роль відіграє ця сполука у антиоксидантному захисті дітей. Це пов'язано із незрілістю фізіологічних та метаболічних систем дитячого організму та легким виникненням порушень під впливом різних несприятливих факторів зовнішнього середовища. У крові і тканинах за патологічних умов відбувається підвищення концентрацій продуктів перекисного окиснення ліпідів, зокрема малонового діальдегіду, який дестабілізує клітинну мембрану. Відомо, що інтенсивність процесів ПОЛ залежить від ступеню вираженості запального процесу. Необхідно пам'ятати, що деякі продукти харчування є джерелами природних антиоксидантів, а відповідно, володіють вищеперерахованими властивостями [47].

Таким чином, дослідження показників антиоксидантного стресу, який розвивається в результаті дисбалансу між оксидантною та антиоксидантною системами, допомагає розкрити патогенез багатьох патологічних процесів, оцінити ризик їхнього виникнення, прогнозувати особливості перебігу захворювання.



## РОЗДІЛ 2.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Організація дослідження

Для підтвердження гіпотези дослідження та для досягнення поставленої мети і завдань нами була проведено експериментальне дослідження. Воно проводилось на базі лабораторії фізіології кровообігу кафедри біології людини та імунології та на базі міжкафедральної молекулярної лабораторії Херсонського державного університету. В якості тваринної моделі виступали статевозрілі самці білих безпородних лабораторних мишей, які утримуються у віварії кафедри біології людини та імунології ХДУ. Усі тварини не мали видимих ознак хвороб, були одного віку та утримувались на стандартному раціоні віварію та у стандартних умовах життя [10].

Для проведення дослідження було відібрано дві групи тварин по 10 особин, з яких перша група – інтактні тварини.

До другої групи належали тварини, яким вводили нікотинову кислоту у концентрації 250 мг/кг протягом 5 діб. По завершенні експерименту на наступний день із хвостової вени збирали зразки крові за допомогою інсулінового шприца та поміщали їх до пластикових пробірок. Ці зразки крові були розділені на 2 частини: перша частина була використана для визначення показників ліпідного обміну, друга – для дослідження антиоксидантної системи.

Було складено відповідну схему дослідження (рис. 2.1).

Дослідження проводили із дотриманням Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту про захист тварин, що використовуються для наукових цілей та Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».



Рис. 2.1. Схема експериментального дослідження

## 2.2. Визначення загального холестерину

Холестерин являє собою вторинний одноатомний ароматичний спирт, у молекулі якого знаходиться спільне для всіх стеринів поліциклічне ядро циклопентанпергідрофенантрону. Його можна виявити у всіх тканинах та рідинах людського організму як у вільному стані, так і у вигляді його складних ефірів – сполук спиртової групи холестерину з жирними кислотами (переважно насиченими, зокрема лінолевою).

У сироватці холестерин перебуває у вигляді  $\beta$ - та пре- $\beta$ -ліпоптротейдів. При цьому, до 70% його представлено у вигляді складних ефірів. 30-40% холестерину не естерифіковано. Вільний та естерифікований холестерин складає фракцію загального холестерину.

Методи визначення загального холестерину поділяються на колориметричні, флюорометричні та ферментативні. Визначення загального холестерину проводили із використанням реакції Лібермана-Бурхарда (метод Ілька) [13].

Принцип реакції полягає в тому, що холестерин у присутності оцтового ангідриду та суміші оцтової та сульфатної кислот дають зелене забарвлення розчину. Для проведення реакції використовували реактив Лібермана-Бурхарда. Цей реагент отримують шляхом змішування однієї частини оцтової кислоти, п'яти частин оцтового ангідриду та однієї частини концентрованої сірчаної кислоти.

Для отримання стандартного розчину холестерину відміряли 180 мг холестерину, наважку розчиняли у 2.5 мл хлороформу. Перенесли отриманий розчин до мірної колби та доводили етиловим спиртом до мітки 100 мл. Приготований розчин зберігали у пляшці з темного скла у холодильнику. 1 мл містить 1.8 мг холестерину. Для отримання абсолютного спирту до аптечного спирту додавали просушений порошок сульфату купруму для повного зневоднення.

Визначення холестерину проводили наступним чином: до 2.1 мл реактиву Лібермана-Бурхарда обережно додавали 0.1 мл негемолізованої сироватки таким чином, щоб вона стікала по стінкам пробірки. При цьому пробірку обережно збовтували 10-12 разів, після чого її поміщали до термостату при 37 °C на 20 хв. Після інкубації визначали оптичну щільність суміші на спектрофотометрі Ulab-102 UV за довжини хвилі 630-690 нм у кюветі з довжиною оптичного шляху 5 мм. Показники екстинції визначалися по відношенню до контрольної проби. Для побудови калібрувального графіку виконували розведення вихідного

розчину холестерину до необхідних значень (таблиця 2.1).

Таблиця 2.1

**Вихідні дані калібрувального графіка**

№ пробірки	Об'єм стандартного розчину холестерину (мл)	Об'єм реактиву (мл)	Кількість холестерину в пробі (мг)	Концентрація холестерину (ммоль/л)
1	0,05	2,15	0,09	2,3
2	0,1	2,10	0,18	4,7
3	0,15	2,05	0,27	7,0
4	0,20	2,00	0,36	9,3
5	0,25	1,95	0,45	11,6

Після додавання сироватки до реактиву по краплям спостерігалася зміна забарвлення на смарагдовий колір. Після інкубації отримані розчини фотометрували та визначали за калібрувальним графіком вміст холестерину в пробі [13].

### **2.3. Визначення рівня тригліцеридів за Gottfried та Rosenberg**

Останні роки все більше уваги приділяють дослідженню тригліцеридів у крові. Методи їхнього дослідження базуються на трьох основних етапах: екстракція тригліцеридів розчинником, хімічний гідроліз екстракту, кількісне визначення отриманого гліцерину.

Методика визначення полягала в наступному: до 0.5 мл сироватки крові додається 2 мл гептану, 3.5 мл ізопропілового спирту та 1 мл 0.1 N розчину сірчаної кислоти. Вміст пробірки струшували протягом 30 секунд та залишали на 30 хвилин до повного розшарування. Екстракцію проводили у біологічних пробірка із шліфами. З верхнього шару відбирали 0.8 мл та доливали 2 мл ізопропілового спирту та 2 краплини 6.25 N розчину гідроксиду калію. Суміш надалі інкубували за температури 70 °C на водяній бані протягом 10 хвилин.

По завершенню інкубації до отриманої суміші додавали 0.4 мл розчину метаперіодату (600 мг натрійметаперіодату розчиняли у 50 мл води, доливали 5 мл оцтової кислоти та доводили водою до 100 мл) та 2 мл реактиву ацетилацетону (1.5 мл ацетилацетону в 200 мл 2 моль/л оцтовокислого амонію), усе добре перемішували та повторно нагрівали до 70<sup>0</sup>С на водяній бані протягом 15 хвилин.

Для приготування контрольної проби, замість сироватки використовували 0.5 мл дистильованої води. Після охолодження розчини фотометрували за допомогою спектрофотометру із використанням світлофільтру з довжиною хвилі 360-460 нм. Результати порівнювали з результатами контрольної проби. Розрахунок проводили із використанням формули:

$$C_{\text{ош}}(\text{ммоль/л}) = E_{\text{досл}}/E_{\text{ст}} * 1.13$$

де 1.13 – фактор перерахунку у ммоль/л, відповідно концентрації триацилгліцеринів 100 мг/100 мл [24].

#### **2.4. Визначення концентрації малонового діальдегіду у еритроцитах**

Визначення рівня молотового діальдегіду (МДА) в еритроцитах полягає у тому, що при взаємодії МДА із декількома молекулами тіобарбітурової кислоти (ТБК) за високої температури (90-100 °С) спостерігається утворення забарвленого розчину триметинового комплексу який має максимум поглинання при 532 нм. Для проведення дослідження зразки крові поміщали до центрифужнонь пробірки до якоь попередньо вносили 1 мл антикоагулянта та центрифугували протягом 10 хвилин при 1500 обертыв за хвилину. Надосадову рідину зливали, а еритроцити двічі промивали потрійним об'ємом 0.85% розчину натрій хлориду (кожного разу відкидаючи над осадову рідину) [13].

Після відмивання еритроцити поміщали до пробірки (0.1 мл) та додавали до неї 1.9 мл розчину гемолітика та ретельно перемішували. Після цього додавали 2 мл розчину 30% розчину трихлороцтової кислоти та 2 мл 0.75% ТБК та перемішували. Пробірку поміщали до киплячої водяної бані на 15 хвилин. Після охолодження до кімнатної температури проводили центрифугування протягом 10 хвилин та при швидкості 3 тисячі обертів за хвилину.

Отриманий центрифугат поміщали до кювети спектрофотометра та колориметрували за довжини хвилі 530-540 нм проти контрольного зразка. Розрахунок концентрації малонового діальдегіду виконували за формулою:  $C = D \cdot 50 / 1,56$  нМоль/мл.

де: C-концентрація;

D – оптична щільність;

50 – розведення;

1.56 – молярний коефіцієнт екстинкції малонового діальдегіда.

## **2.5. Дослідження вмісту дієнових кон'югатів у еритроцитах**

Метод виявлення присутності дієнових кон'югатів у еритроцитах базується на принципі розрахунку спектру поглинання екстрактом еритроцитів монохроматичного світлового потоку із використанням ультрафіолетового спектру. Дієнові коню гати екстрагуються у гептан-ізопропанольній фракції. Зокрема, в гептані екстрагуються в основному нейтральні ліпіди, а у ізопропанолі – фосфоліпіди. Таким чином, гептанові фракція свідчить про активність перекисного окиснення ліпідів у нейтральних ліпідах, а ізопропанольна – у фосфоліпідах.

Дослідження проводили наступним чином: до 0.1 мл сироватки крові додавали 8 мл гептан-ізопропанольної суміші у співвідношенні 1:1. Після цього перемішували протягом 15 хвилин та центрифугували

при 6 тисячах обертів за хвилину протягом 10 хвилин. Після цього ліпідний екстракт переносили до чистої пробірки та додавали 5 мл гептан-ізопропанольної суміші у співвідношенні 3:7. Після цього до пробірки додавали 2 мл 0.01 Н водного розчину хлоридної кислоти для розведення отриманих фаз та видалення домішок, які не належать до ліпідів. Після розділення фаз, верхню гептанові переносять до чистої пробірки, а до нижньої додають 1 г хлориду натрію для зневоднення ізопропанольного екстракту, який переносять до чистої пробірки. Вимірювання спектру поглинання дієнових кон'югатів проводили за довжини хвилі 232 нм, а поглинання ізольованих подвійних зв'язків – за довжини 220 нм. При цьому, вміст дієнових кон'югатів оцінювали за допомогою відносних величин  $E_{232}/U_{220}$  та виражали у відносних одиницях [13].

## РОЗДІЛ 3.

### АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

#### **3.1. Показники ліпідного обміну у крові тварин досліджуваних груп**

Необхідність корекції ліпідних порушень для профілактики та лікування захворювань серцево-судинної системи мабуть вже в нікого не викликає сумнівів. За останнє десятиріччя було оприлюднено декілька міжнародних рекомендаційних матеріалів з діагностики та лікування розладів ліпідного обміну. Наведемо декілька з них: «Рекомендації по лікуванню дислипидемий », 2019 рік, 2020 рік (ESC / EAS); «Зниження рівня холестерину в крові для зменшення ризику серцево-судинних ускладнень у дорослих», 2013 рік (ACC / AHA); «Оцінка серцево-судинного ризику і корекція ліпідного профілю для первинної та вторинної профілактики серцево-судинної смертності», 2014 рік (NICE) тощо [9].

З означених документів видно, що ведучим підходом до терапії та профілактики є зниження рівня холестерину, ліпопротеїдів низької щільності та підвищення ліпопротеїнів високої щільності. Існують досить суперечливі відомості про роль різних речовин, а для медикаментозної корекції ліпідного обміну пропонується використання різноманітних за механізмом речовин [20]. Серед них є і ніотинова кислота (ніацин), яка то з'являється у рекомендаціях то зникає.

Зважаючи на участь ніотинової кислоти у метаболізмі вуглеводнів та ліпідів та її беззаперечний вплив на тонус судин, нами було проведено дослідження окремих показників ліпідного обміну у крові мишей, які отримували ін'єкції ніотинової кислоти у порівнянні із показниками інтактних тварин.



При визначенні показників холестерину було отримано наступні результати (табл. 3.1, рис. 3.1).

Таблиця 3.1

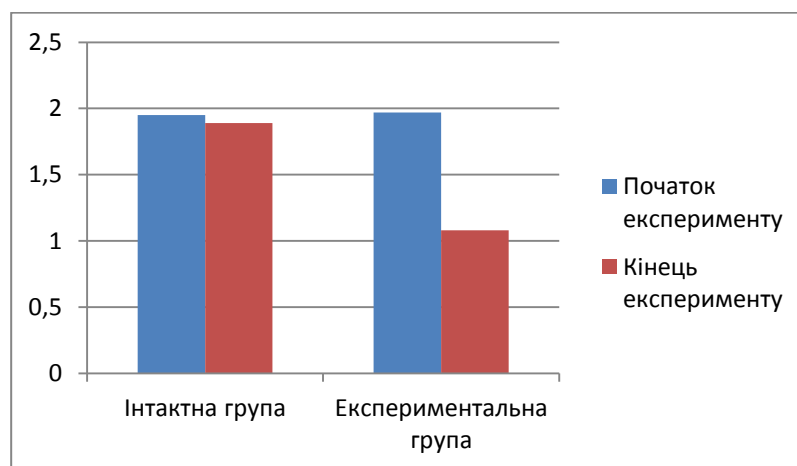
**Вміст холестерину у крові досліджуваних мишей в умовах дії нікотинової кислоти**

Групи досліджуваних тварин	Холестерин, ммоль/л	
	Початок експерименту	Кінець експерименту
Інтактна (n - 10)	1,95 ± 0,04	1,89 ± 0,06
Експериментальна (n - 10)	1,97 ± 0,07	1,08 ± 0,08 #*

Примітки: # - різниця достовірна між показниками досліджуваних груп на початку експерименту та наприкінці експерименту;

\* - різниця достовірна між показниками інтактної групи та експериментальної групи;

Різниця достовірна при  $p \leq 0,05$



**Рис. 3.1. Порівняння показників вмісту холестерину в крові мишей досліджуваних груп, ммоль/л**

З'ясовано, що уведення нікотинової кислоти достовірно впливає на вміст холестерину у крові мишей, що отримували ін'єкції нікотинової кислоти. Так, якщо порівнювати показники контрольної групи та

експериментальної групи, виходить, що на початку експерименту показники вмісту холестерину були практично однаковими і склали  $1,95 \pm 0,04$  ммоль/л у інтактних тварин і  $1,97 \pm 0,07$  ммоль/л у мишей експериментальної групи. Після уведення нікотинової кислоти ми зафіксували достовірне зниження показників вмісту холестерину в експериментальній групі, а саме  $1,08 \pm 0,08$  ммоль/л у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $1,89 \pm 0,06$  ммоль/л. Відповідно, рівень холестерину виявився меншим і у порівнянні із його рівнем у мишей експериментальної групи на початку експерименту.

Також для оцінки ліпідного обміну в крові досліджуваних тварин ми визначали вміст тригліцеридів. Було отримано наступні результати (рис. 3.2, таблиця 3.2)

Таблиця 3.2

**Вміст тригліцеридів у крові досліджуваних мишей в умовах дії нікотинової кислоти**

Групи досліджуваних тварин	Тригліцериди, ммоль/л	
	Початок експерименту	Кінець експерименту
Інтактна (n - 10)	$0,76 \pm 0,09$	$0,78 \pm 0,07$
Експериментальна (n - 10)	$0,77 \pm 0,04$	$0,63 \pm 0,08$ # *

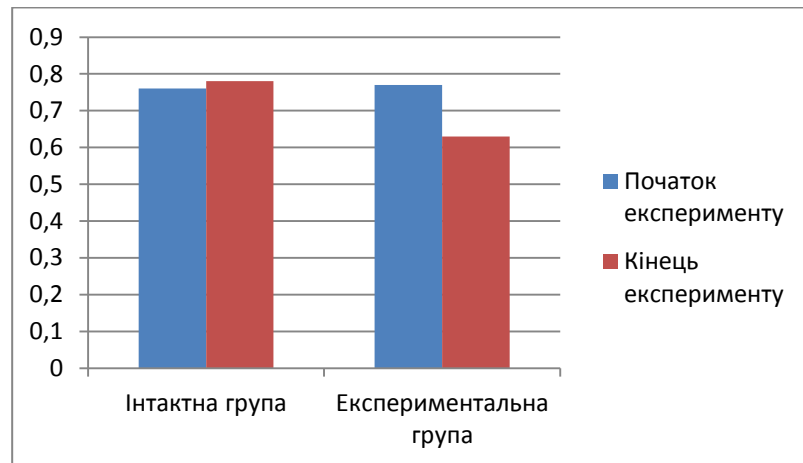
Примітки: # - різниця достовірна між показниками досліджуваних груп на початку експерименту та наприкінці експерименту;

\* - різниця достовірна між показниками інтактної групи та експериментальної групи;

Різниця достовірна при  $p \leq 0,05$

Ми з'ясували, що екзогенне підвищення вмісту нікотинової кислоти достовірно впливає на вміст тригліцеридів в крові мишей, що отримували ін'єкції нікотинової кислоти. Ми провели порівняння показників інтактної групи та експериментальної групи і з'ясували, що

на початку експерименту показники вмісту тригліцеритів були не відрізнялися у тварин досліджуваних груп і склали  $0,76 \pm 0,09$  ммоль/л у інтактних тварин і  $0,77 \pm 0,04$  ммоль/л у мишей експериментальної групи. Після п'ятикратного уведення ніотинової кислоти ми побачили достовірне зниження показників вмісту тригліцеридів в експериментальній групі, а саме:  $0,63 \pm 0,08$  ммоль/л у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $0,78 \pm 0,07$  ммоль/л. Відповідно, рівень вмісту тригліцеридів у мишей експериментальної групи виявився меншим і у порівнянні із його рівнем на початку експерименту.



**Рис. 3.2. Порівняння показників вмісту тригліцеридів у крові мишей досліджуваних груп, ммоль/л**

Отже, ніотинова кислота є фактором, який достовірно зменшує вміст в крові досліджуваних тварин таких важливих показників ліпідного обміну як холестерин та тригліцериди. Така властивість ніотинової кислоти обумовлена властивостями її похідних коферментів  $NAD^+$  та  $NADP^+$ , адже вони, входячи в якості коферментів до складу різноманітних ферментних систем, є тригерами з яких починається окислювальне перетворення більшості субстратів, які надходять до живого організму.

Вочевидь, що дане дослідження потребує уточнення, адже необхідно з'ясувати який саме холестерин знижується та дослідити

наскільки відтерміновано у часі відбувається таке зниження і чи стійким є ефект.

Але можна стверджувати, що ніотинова кислота є фактором, який впливає на ліпідний обмін у організмі і змінює певні біохімічні показники периферичної крові.

### **3.2. Стан процесів перекисного окиснення ліпідів у крові тварин досліджуваних груп**

Для характеристики стану процесів перекисного окиснення ліпідів ми визначали показники вмісту у еритроцитах малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів. Ці показники дозволяють швидко оцінити загальний стан процесів перекисного окиснення та загальний стан ліпідного обміну.

При визначенні показників вмісту малонового діальдегіду у еритроцитах периферичної крові мишей було отримано наступні результати (табл. 3.3, рис. 3.3).

*Таблиця 3.3*

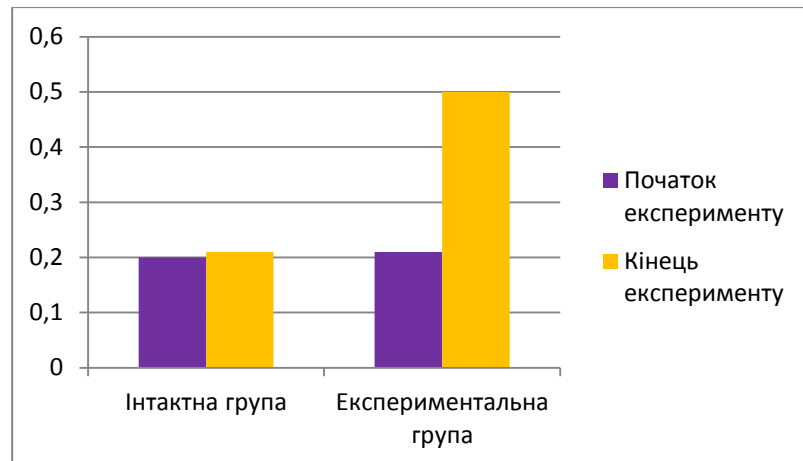
#### **Вміст малонового діальдегіду у еритроцитах крові досліджуваних мишей в умовах дії ніотинової кислоти**

Групи досліджуваних тварин	Малоновий діальдегід, мкмоль/мл	
	Початок експерименту	Кінець експерименту
Інтактна (n - 10)	0,2 ± 0,07	0,21 ± 0,01
Експериментальна (n - 10)	0,21 ± 0,05	0,5 ± 0,06

Примітки: # - різниця достовірна між показниками досліджуваних груп на початку експерименту та наприкінці експерименту;

\* - різниця достовірна між показниками інтактної групи та експериментальної групи;

Різниця достовірна при  $p \leq 0,05$



**Рис. 3.3. Порівняння показників вмісту малонового діальдегіду у еритроцитах крові мишей досліджуваних груп, мкмоль/мл**

В ході експериментального дослідження ми з'ясували, що уведення нікотинової кислоти достовірно підвищує (і досить значно) вміст малонового діальдегіду в еритроцитах мишей експериментальної групи. Так, якщо порівнювати показники інтактних тварин та експериментальної групи, з'ясовано, що на початку експерименту показники вмісту малонового діальдегіду в еритроцитах мишей не мали значущих розбіжностей між тваринами досліджуваних груп та склали  $0,2 \pm 0,07$  мкмоль/мл у інтактних тварин і  $0,21 \pm 0,05$  мкмоль/мл у мишей експериментальної групи. Після уведення нікотинової кислоти ми зафіксували достовірне підвищення показників вмісту малонового діальдегіду в експериментальній групі, а саме  $0,5 \pm 0,06$  мкмоль/мл у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $0,21 \pm 0,01$  мкмоль/мл. Відповідно, рівень вмісту малонового діальдегіду був збільшений і у порівнянні із його рівнем у мишей експериментальної групи на початку експерименту. В групі інтактних тварин значущих змін не спостерігалось.

Також для оцінки стану перекисного окиснення ми в крові досліджуваних тварин визначали вміст так званих дієнових кон'югатів. Було отримано наступні результати (рис. 3.4, таблиця 3.4).

Таблиця 3.4

**Вміст дієнових кон'югатів у еритроцитах крові досліджуваних мишей в умовах дії нікотинової кислоти**

Групи досліджуваних тварин	Дієнові кон'югати мкмоль/мл	
	Початок експерименту	Кінець експерименту
Інтактна (n - 10)	0,4 ± 0,04	0,39 ± 0,03
Експериментальна (n - 10)	0,38 ± 0,02	0,81 ± 0,04 # *

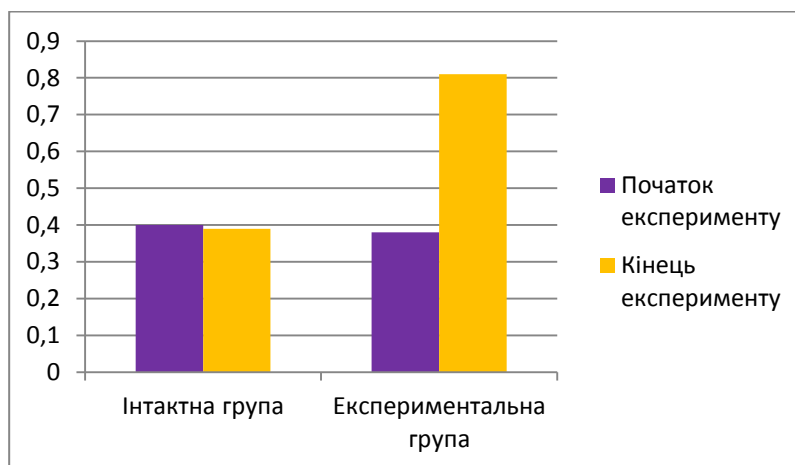
Примітки: # - різниця достовірна між показниками досліджуваних груп на початку експерименту та наприкінці експерименту;

\* - різниця достовірна між показниками інтактної групи та експериментальної групи;

Різниця достовірна при  $p \leq 0,05$

Ми з'ясували, що екзогенне підвищення вмісту нікотинової кислоти достовірно впливає на вміст дієнових кон'югатів в крові мишей, що отримували ін'єкції нікотинової кислоти. Ми провели порівняння показників інтактної групи та експериментальної групи і з'ясували, що на початку експерименту показники вмісту дієнових кон'югатів в еритроцитах не відрізнялися у тварин досліджуваних груп і склали  $0,4 \pm 0,04$  мкмоль/мл у інтактних тварин і  $0,38 \pm 0,02$  мкмоль/мл у мишей експериментальної групи. Після п'яти діб уведення нікотинової кислоти ми зафіксували достовірне підвищення показників вмісту дієнових кон'югатів в експериментальній групі, а саме:  $0,81 \pm 0,04$  мкмоль/мл у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $0,39 \pm 0,04$  мкмоль/мл. Відповідно, рівень вмісту дієнових кон'югатів у мишей

експериментальної групи виявився вищим і у порівнянні із його рівнем на початку експерименту.



**Рис. 3.4. Порівняння показників вмісту дієнових кон'югатів у еритроцитах крові мишей досліджуваних груп,  $\mu\text{моль/мл}$**

Отже, ніотинова кислота є фактором, який достовірно підвищує вміст в крові досліджуваних тварин таких важливих показників антиоксидантної системи як малоновий діальдегід і дієнові кон'югати. Така властивість ніотинової кислоти також обумовлена властивостями її похідних  $\text{NAD}^+$  та  $\text{NADP}^+$ , які активно впливають на відповідні ферментні системи.

Отже, можна стверджувати, що ніотинова кислота є фактором, який впливає на стан перекисного окиснення у організмі і змінює відповідні біохімічні показники периферичної крові.

## ВИСНОВКИ

1. Уведення нікотинової кислоти спричиняло зниження рівня загального холестерину у крові досліджуваних тварин у порівнянні із контрольною групою. Показники знизилися з  $1,97 \pm 0,07$  ммоль/л до  $1,08 \pm 0,08$  ммоль/л. При цьому, на початку експерименту показники вмісту холестерину були практично однаковими.
2. Уведення нікотинової кислоти достовірно впливає на вміст тригліцеридів в крові мишей. Було з'ясовано, що на початку експерименту показники вмісту тригліцеритів не відрізнялися у тварин досліджуваних груп. Наприкінці експерименту спостерігалось достовірне зниження показників вмісту тригліцеридів в експериментальній групі, а саме:  $0,63 \pm 0,08$  ммоль/л у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $0,78 \pm 0,07$  ммоль/л. Таким чином, рівень тригліцеридів у експериментальній групі виявився меншим.
3. Уведення нікотинової кислоти значно підвищує вміст малонового діальдегіду в еритроцитах мишей. Встановлено, що на початку експерименту показники вмісту малонового діальдегіду в еритроцитах мишей не мали значущих розбіжностей між тваринами досліджуваних груп. Вплив нікотинової кислоти спричиняв підвищення показників вмісту малонового діальдегіду в експериментальній групі.
4. Встановлено, що вміст дієнових кон'югатів у крові мишей після ін'єкції нікотинової кислоти мав певні зміни. Зокрема, на початку експерименту показники вмісту дієнових кон'югатів в еритроцитах не відрізнялися у тварин досліджуваних груп. На п'яту добу уведення нікотинової кислоти спостерігалось достовірне підвищення показників вмісту дієнових кон'югатів в



експериментальній групі, а саме:  $0,81 \pm 0,04$  мкмоль/мл у порівнянні із показником інтактної групи, який склав  $039 \pm 0,04$  мкмоль/мл. Таким чином, ніотинова кислота призводила до підвищення рівня вмісту дієнових кон'югатів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: в 2-х т. 2-е изд., перераб. и доп. / В.Н. Анисимов. - СПб.: Наука, 2008. - Т. 1. - 481 с.
2. Ахмад Эль-Абед Т.Д. Патогенез действия никотиновой кислоты на иммунные клетки // Здоровье и образование в XXI веке. 2012. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/patogenez-deystviya-nikotinovoy-kisloty-na-immunnye-kletki>
3. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительноантиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под. ред. акад. АМН Украины Ю.А. Зозули. — К.: Чернобыльинтеринформ, 1997. — Ч. 1, 2
4. Витамины. Роль в обмене веществ : учеб.пособие [Электронный ресурс]/ Л. В. Зотова, Е. Н. Коваленко, Е. В. Громова, Л. Я. Лабзина. – Саранск : Изд-во Мордов. ун-та, 2018. – 65 с.
5. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252с.
6. Волкова, Ю.В. Активность ферментов первой линии антиоксидантной защиты в печени крыс пубертатного возраста при стрессе / Ю.В. Волкова, Л.Л. Сухова, В.В. Давыдов, А.В. Голобородько // Биомедицинская химия. - 2012. - Т. 58. - Вып. 5. - С. 573-578.
7. Волощенко Д.Б. Эффекты производных дифосфоната германия с никотиновой кислотой, никотинамидом и магнием на активное избегание у крыс / Д.Б. Волощенко, О.А. Кащенко // Интегративна антропологія. - 2005.- № 1-2 (5-6) – С. 51-54.
8. Гасюк, О. М. Формування умовних рефлексів мишей в умовах довгострокової дії нікотинової кислоти / Є. Д. Ярошенко, Ю. С. Самойленко, О. М. Гасюк // Зб. матер. Всеукр. студент. наук.-практ. конф. “STEM–освіта як напрям модернізації методик

- навчання природничо-математичних дисциплін у середніх і вищих навчальних закладах” (м. Херсон, 26-27 квітня 2018 р.) / уклад. : В. Д. Шарко. – Херсон : Вид-во ХНТУ. – 2018. – Вип. 18. – С. 129-130. – (Пошук молодих).
9. Дисліпідемія: оновлені рекомендації 2020 р. // Український медичний часопис. Режим доступу: <https://www.umj.com.ua/article/196348/dislipidemiya-onovleni-rekomendatsiyi-2020-r>
10. Западнюк П. И. Лабораторные животные, Разведение, содержание, использование в эксперименте: учебное пособие [Текст] / И. П. Западнюк, И. В. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк – 3-е изд. перераб. и доп. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1983. – 383 с.
11. Зенков, Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Лайкин, Е.Б. Меньшикова. - М.: Наука «Интерпериодика», 2001. - 340 с.
12. Иваненко Е.Ф. Биохимия витаминов / Е.Ф.Иваненко. - «Вища школа», 1970, 212 с.
13. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Т.2. – Мн.: Белорусь, 2002. 463 с.
14. Катунина Н.П., Новиков В.Е., Гнеушев И.М. К механизму антигипоксического действия комплексного соединения никотиновой кислоты // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2019. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/k-mehanizmu-antigipoksicheskogo-deystviya-kompleksnogo-soedineniya-nikotinovoy-kisloty>
15. Кучменко О.Б. Біохімія вітамінів (монографія) [Текст] / О.Б.Кучменко. – Київ: Університет «Україна». – 2012. – 528 с.

16. Кучмеровська Т.М. Вплив нікотинаміду на життєздатність острівцевих клітин підшлункової залози / Т.М. Кучмеровська, Г.В. Донченко, Т.М. Тихоненко, М.М. Гузик, С.П. Степаненко, А.П. Клименко // Укр. біохім. журн. – 2012. – Т. 84, № 2. – С. 81-88.
17. Латыпова Э.А. Эффективность применения никотиновой кислоты и пентоксифиллина в комплексном лечении заболеваний зрительного нерва // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. №1 (61). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-primeneniya-nikotinovoy-kisloty-i-pentoksifillina-v-kompleksnom-lechenii-zabolevaniy-zritel'nogo-nerva>
18. Леутский К. М. Никотиновая кислота. Витамин РР / К.М. Леутский. - Львов: Изд-во Львовского ун-та, 1980. - 156 с.
19. Лікування дисліпідемій. Європейські рекомендації 2019 р. Назва з екрану: URL: <https://www.webcardio.org/likuvannya-dyslipidemijjevropsjki-rekomendatsiji-2019-r.aspx>
20. Лутай Ю.А., Крючкова О.Н., Ицкова Е.А., Турна Э.Ю. Современные перспективы улучшения контроля липидного обмена // Терапевтический журнал. 2016. №2 (29). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-perspektivy-uluchsheniya-kontrolya-lipidnogo-obmena>
21. Мажитова, М.В. Возрастные и половые особенности антиоксидантной защиты и свободнорадикальных процессов в мозгу белых крыс / М.В. Мажитова, Н.Н. Тривно, Д.Л. Тёплый // Успехи геронтол. - 2010. - Т. 23. - № 3. - С. 396-400.
22. Машковский М. Д. Лекарственные средства. В 2-х ч. / М.Д. Машковский. - М.: Медицина, 2002. - 540 с.
23. Мельник А.А. Нарушение липидного обмена и его коррекция при хронической болезни почек // Почка. 2016. №2 (16). URL:

<https://cyberleninka.ru/article/n/narushenie-lipidnogo-obmena-i-ego-korreksiya-pri-hronicheskoy-bolezni-pochek>

24. Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови. Составители: Дерюгина А.В., Корягин А.С., Копылова С.В., Таламанова М.Н. - Нижний Новгород: Издательство Нижегородского госуниверситета, 2010.- 25 с.
25. Мещанинов В.Н. Влияние нейромедиаторов на перекисное окисление липидов при иммобилизационном стресс-воздействии у крыс разного возраста // Казанский мед.ж.. 2015. №5. URL: <https://www.dissercat.com/content/vliyanie-neiromediatorov-na-perekisnoe-okislenie-lipidov-i-antiokislitelnyu-aktivnost-pri-i>
26. Морозкина Т.С. Витаминны: Краткое рук. Для врачей и студентов мед., фармацевт. и биол. специальностей / Т.С. Морозкина, А.Г. Мойсеенок. – Мн.: ООО «Астар», 2002. – 112 с.
27. Овсепян, Л.М. Исследование перекисного окисления белков и липидов при острой гипоксии / Л.М. Овсепян, Г.В. Захарян, Г.С. Казарян // Биологический журнал Армении. - 2010. - Т. 62. - Вип. 3. - С. 42-45.
28. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова [и др.] - М.: Фирма «Слово», 2006. - 556 с.
29. Рыбкина Е.И., Чуйкова К.А. Биологическая роль никотиновой кислоты в организме человека // Материалы IX Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум» URL: <https://scienceforum.ru/2017/article/2017036689>
30. Самойленко, Ю.С. Динаміка засвоєння глюкози ізольованою селезінкою в умовах впливу нікотинової кислоти / Ю.С.Самойленко, О.М. Гасюк // Сучасні проблеми біології,

- екології та хімії: збірник матеріалів V Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 30-річчю біологічного факультету ЗНУ. – Запоріжжя: АА Тандем, 2017. – С. 139 – 140.
- 31.Сергійчук Ю.Т. Вплив сумісної дії нікотинаміду, ацетил-І-карнітину і  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти на окремі ланки обміну вуглеводів за експериментального діабету 2 типу / Ю.Т. Сергійчук, Т.М. Тихоненко, М.М. Гузик, Л.В. Яніцька, Т.М. Кучмеровська // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. – 2014. – Т. 8/№3–4. - С. 41–52.
- 32.Тарасевич, И.С. Активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и уровень глутатиона восстановленного в печени, мозге и эритроцитах крыс в возрастном аспекте / И.С. Тарасевич, О.Н. Ринейская // Труды молодых ученых 2011: сб. науч. работ. - Минск, 2011. - С. 167-171.
- 33.Трухачева П., Ежов М. В. Значение никотиновой кислоты в современной кардиологии // РФК. 2011. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/znachenie-nikotinovoy-kisloty-v-sovremennoy-kardiologii>
- 34.Усанова А.А. Влияние оригинальных отечественных химических соединений антиоксидантного действия на сочетанные метаболические нарушения в эксперименте // Вестник МГУ. 2013. №1-2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-originalnyh-otchestvennyh-himicheskikh-soedineniy-antioksidantnogo-deystviya-na-sochetannye-metabolicheskie-narusheniya-v>
- 35.Халмурадов А.Г. Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов: монография / А.Г. Халмурадов, В.Н. Тоцкий, Р.В. Чаговец; отв. ред. В.К. Лишко; Ин-т биохимии им. А.В. Палладина АН УССР. - К.: Наук. думка, 1982. - 280 с.
- 36.Чеснокова, Н.П. Возможности эффективного использования антиоксидантов и антигипоксантов в экспериментальной и клинической медицине / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н.

- Бизенкова, Г.А. Афанасьева // Успехи современного естествознания. - 2006. - № 8. - С. 18-25.
37. Шиманський І.О. Цитопротекторна дія нікотинаміду на бета-клітини підшлункової залози / І.О. Шиманський, Г.В. Донченко, І.М. Трофимова, Н.М. Гуріна, С.М. Супрун, А.П. Клименко, Е.В. Овчіннікова, Т.М. Кучмеровська // Доповіді Національної академії наук України. - 2010. - №9. – С. 156 – 161.
38. Яснецов В.В. Действие нового производного никотиновой кислоты при ишемии головного мозга у животных / В.В.Яснецов, Д.Е.Каурова, С.Я.Скачилова, Е.Ю.Берсенев // ВНМТ. 2021. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/deystvie-novogo-proizvodnogo-nikotinovoy-kisloty-pri-ishemii-golovnogo-mozga-u-zhivotnyh>
39. Ballantyne C.M., Davidson M.H., McKenney J. et al. Comparison of the safety and efficacy of a combination tablet of niacin extended release and simvastatin vs simvastatin monotherapy in patients with increased non-HDL cholesterol: from the SEACOAST I study. *Am J Cardiol* 2008;101:1428–143.
40. Beschasnyi S. et al. Oxidative stress in athletes after occasional smoking // *Journal of Physical Education and Sport*. – 2021. – Т. 21. – №. 2. – С. 942-947.
41. Cheng K., Wu T.J., Wu K.K. et al. Antagonism of the prostaglandin D2 receptor 1 suppresses nicotinic acid-induced vasodilation in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:6682-6687.
42. Harikrishnan S., Rajeev E., Tharakan J.A. et al. Efficacy and safety of combination of extended release niacin and atorvastatin in patients with low levels of high density lipoprotein cholesterol. *Indian Heart J* 2008;60(3): 215-222.
43. Kaneko S. Protecting axonal degeneration by increasing nicotinamide adenine dinucleotide levels in experimental autoimmune

- encephalomyelitis models / S.Kaneko, J.Wang, M.Kaneko et al. // *J. Neurosci.* – 2006. – 26. – P. 9794–9804.
44. Maiese K. Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus / K.Maiese, S.D.Morhan, Z.Z.Chong // *Curr. Neurovasc. Res.* – 2007. – №4. – P. 63–71. Режим доступа: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2387116/>
45. Martens, C.R., Denman, B.A., Mazzo, M.R. *et al.* Chronic nicotinamide riboside supplementation is well-tolerated and elevates NAD<sup>+</sup> in healthy middle-aged and older adults. *Nat Commun* **9**, 1286 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03421-7>
46. National guidelines for diagnosis and correction of disorders of lipid metabolism in order to prevent and treat atherosclerosis. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*, 2009; 8(6) suppl 3: 1-32. // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*, 2009; 8(6) Приложение 3: 1-32).
47. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: the Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J.* 2011;32(14):1769-1818. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21712404/>
48. Yang J, Klaidman LK, Nalbandian A, Oliver J, Chang ML, Chan PH, Adams JD Jr. The effects of nicotinamide on energy metabolism following transient focal cerebral ischemia in Wistar rats. *Neurosci Lett.* 2002 Nov 22;333(2):91-4. doi: 10.1016/s0304-3940(02)01005-4. PMID: 12419488. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12419488/>
49. Zhiyi Liu, Chung-Yi Chiang, John Nip, Lin Feng, Yang Zhang, Sheila Rocha, and Irene Georgakoudi, "Nicotinamide effects on the metabolism of human fibroblasts and keratinocytes assessed by



quantitative, label-free fluorescence imaging," *Biomed. Opt. Express* 12, 6375-6390 (2021)