

ДЕЙСТВИЕ ДЕАМИНО-НАД НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ МЫШЦ

Р. М. НИАЗЯН, О. М. НАЗАРЯН, С. Г. МОВСЕСЯН

Ключевые слова: деамино-НАД, митохондрии, окислительное фосфорилирование.

Изучение действия пиридиннуклеотидов на процессы гликолиза и окислительного фосфорилирования показало, что деамино-НАД, в отличие от других пиридиннуклеотидов, легко проникает сквозь мембрану митохондрий и оказывает влияние на дыхательную цепь, стимулируя процессы дыхания и фосфорилирования [1—7]. Он оказывает выраженное действие не столько на процесс поглощения кислорода, сколько на эстерификацию неорганического фосфата.

Учитывая важное значение скелетных мышц в энергетическом обмене организма, мы задались целью изучить действие деамино-НАД на процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях мышц при использовании различных экзогенных субстратов дыхания.

Материал и методика. Эксперименты проводили на белых крысах, содержащихся на обычном пищевом рационе. После декапитации животного быстро извлекали скелетные мышцы в холодных условиях, освобождали от соединительной ткани, взвешивали и погружали в ледяной раствор 0,15 М КСl. Ткань измельчали ножницами, ополаскивали раствором Чаппел-Перра (0,1 КСl, 0,05 трис-НСl буфер, рН 7,4, 0,001 Na—АТФ, 0,005 MgSO₄ и 0,001М ЭДТА) и суспензировали в равном объеме той же среды. Гомогенизацию провели в гомогенизаторе с тефлоновым пестиком. Процедуры производились при температуре 0—2°. Гомогенат разбавляли средой Чаппел-Перра в соотношении 1:9.

Митохондрии получали по методу Эрнстера и Норденбенда [8]. Для осаждения миофибрилл гомогенат центрифугировали при 600—650 g в течение 10—15 мин. Супернатант повторно центрифугировали в тех же условиях для освобождения от остаточных миофибрилл. Полученный супернатант затем центрифугировали при 14000 g в течение 15 мин. Осадок митохондрий суспензировали в среде Чаппел-Перра и повторно центрифугировали. Промывную жидкость сливали и поверхность компактного осадка ополаскивали 0,25 М сахарозой для удаления остатков среды. Осадок митохондрий суспензировали в 0,25 М сахарозе.

Окислительное фосфорилирование изучали в инкубационной смеси, содержащей 0,2 мл 0,133М К—фосфатного буфера (рН 7,4), 0,15 мл 0,2М трис-НСl буфера (рН 7,4), 0,1 мл 0,12М MgSO₄, 0,1 мл 0,02М АТФ, 0,1 мл 0,56М глюкозы, 1 мг кристаллической гексокиназы и 0,5 мл митохондриальной суспензии. В отдельные пробы добавляли

субстраты окисления по 10 мкмоль: глутаминовую кислоту (ГК), яблочную (ЯБК), пировиноградную (ПВ), лактат. Объем инкубационной смеси довели 0.25М сахарозой до 2 мл, инкубировали при 26° в течение 30 мин в атмосфере воздуха. Дыхание митохондрий измеряли манометрическим способом в аппарате Варбурга. Неорганический фосфат определяли по методу Лоури и Лопеса [9] в модификации Пила и Лохмана [10].

Результаты и обсуждение. Нами были использованы относительно малые количества экзогенных субстратов (2,5—10 мкмоль/проба), поскольку с повышением их концентрации стимулирующее действие деамино-НАД на процесс окислительного фосфорилирования несколько понижается.

Таблица

Действие Д-НАД на окислительное фосфорилирование в митохондриальной фракции мышц

Условия опыта	Убыль неорганического фосфата, мкатома	Поглощение кислорода, мкатома	P/O
Д-НАД	0,92±0,3	0,52±0,2	—
ГК	3,91±0,2	3,4 ±0,1	1,1
ЯБК	1,84±0,2	1,5 ±0,1	1,2
ПВ	4,27±0,15	2,52±0,2	1,6
Лактат	4,71±0,3	2,93±0,2	1,5
ГК+Д-НАД	6,44±0,3	3,8 ±0,2	1,7
ЯБК+Д-НАД	3,6 ±0,1	1,8 ±0,1	2,0
ПВ+Д-НАД	10,36±0,3	5,29±0,2	1,9
Лактат+Д-НАД	9,69±0,3	5,15±0,2	1,8

Количество митохондриального белка в каждой пробе составляло в среднем 2,3 мг.

Данные таблицы показывают, что без деамино-НАД процесс окисления субстратов и сопряженное с ним фосфорилирование протекают весьма слабо. При добавлении же деамино-НАД в инкубационную среду оба процесса заметно усиливаются, причем эстерификация неорганического фосфата усиливается в более выраженной степени, чем поглощение кислорода, за счет чего и повышается в основном коэффициент P/O.

Наибольший интерес представляют данные, касающиеся стимулирования процессов окислительного фосфорилирования под действием деамино-НАД при использовании в качестве субстратов пирувата и лактата. Как дыхание, так и фосфорилирование повышаются при этом более чем вдвое. Усиление окисления лактата под действием деамино-НАД приобретает значение при снятии утомления мышечной ткани. Полученные результаты еще раз свидетельствуют о том, что деамино-НАД является важным фактором сопряжения двух важнейших процессов энергетического обмена—гликолиза и окислительного фосфорилирования.

Ռ. Մ. ՆԱԶՅԱՆ, Օ. Մ. ՆԱԶԱՐՅԱՆ, Ս. Գ. ՄՈՎՍԵՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է Դ-ՆԱԴ-ի ազդեցությունը օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսի վրա՝ մկանային հյուսվածքի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում, ՆԱԴ-սպեցիֆիկ սուբստրատների առկայության պայմաններում (ԳԹ, ԽԹ, ՊԹ, կաթնաթթու): Ստացված արդյունքները ցույց տվեցին, որ Դ-ՆԱԴ-ը բավական ցայտուն ազդեցություն է էկզոգեն սուբստրատների օքսիդացումը և նրան համալուծ ֆոսֆորիլացումը այն դեպքում, երբ նշված սուբստրատները առանձին-առանձին համեմատաբար թույլ են խթանում օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսը:

Հատկանշանական է, որ որպես սուբստրատ ՊԹ-ի և կաթնաթթվի օգտագործման դեպքում՝ ինչպես շնչառությունը, այնպես էլ ֆոսֆորիլացումը բարձրանում է ավելի բան երկու անգամ: Այս փաստը ձեռք է բերում որոշակի նշանակություն մկանի հոգնածությունը վերացնելու գործում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мовсесян С. Г., Манасян Р. Ф. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 3, 31, 1967.
2. Мовсесян С. Г., Камалян Р. Г. ДАН АрмССР, 47, 81, 1968.
3. Мовсесян С. Г. Докт. дисс., Ереван, 1968.
4. Мовсесян С. Г., Мирзоян Р. А., Буниятян Г. Г. ДАН АрмССР, 49, 98, 1969.
5. Мовсесян С. Г., Ниазян Р. М. Биолог. ж. Армении, 26, 7, 1973.
6. Ниазян Р. М., Урганджян М. Г., Мовсесян С. Г. Биолог. ж. Армении, 27, 7, 1973.
7. Ниазян Р. М., Назарян О. М., Мовсесян С. Г. Биолог. ж. Армении, 1976, 29, 1, 47—51.
8. Ernster L. O., Nordenbrand K. Methods in Enzymology, 10, 86, 1967.
9. Lowry O. H., Lopez J. A. J. Biol. Chem., 162, 421, 1946.
10. Peel C. L. and Loughman K. L. Biochem. J., 65, 709, 1957.