

НИКОТИНАМИДГИПОКСАНТИНДИНУКЛЕОТИД КАК ВОССТАНОВИТЕЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ПРИ ГИПОТИРЕОЗЕ

Э. И. ГАСПАРЯН, О. М. НАЗАРЯН, С. Г. МОВСЕСЯН

Никотинамидгипоксантидинуклеотид (дезамино-НАД) вызывает выраженный эффект усиления процессов поглощения кислорода и утилизации неорганического фосфата в митохондриях печени и мозга тиреоидэктомированных животных как при добавлении его к суспензии митохондрий (*in vitro*), так и при внутримышечном введении (*in vivo*). В последнем случае наблюдается определенный срок пролонгированности указанного действия дезамино-НАД.

Ключевые слова: гипотиреоз, окислительное фосфорилирование, дезамино-НАД.

Существенными недостатками заместительной терапии при тиреоидной недостаточности являются кратковременность ее действия, отсутствие критериев количественной оценки необходимой дозы применяемого препарата, возможность при этом передозировки со всеми вытекающими последствиями [8], возможность возникновения зрительных нарушений [19], недостаточности коры надпочечников [3] и различных форм расстройств при прекращении применяемой при этом дополнительно кортикотерапии [17] и пр. Все это делает понятным поиск новых методов восстановления нарушений некоторых кардинальных процессов при гипотиреозе на основе существующих представлений о некоторых сторонах механизма влияния гормонов щитовидной железы. Известно, что одним из центральных звеньев в общей цепи механизма действия тиреоидных гормонов на уровне ультраструктур клетки является их влияние на окислительно-восстановительные процессы, осуществляемое в основном через процессы усиления синтеза митохондриального глицерофосфата [7], принимающего активное участие в осуществлении «челночного» механизма передачи восстановительных эквивалентов от внемитохондриальных молекул НАДН к внутримитохондриальной цепи переноса электронов. Можно предполагать, что нарушение окислительного фосфорилирования, наблюдаемое при тиреоидной недостаточности [4—6, 17], обусловлено именно этим механизмом.

В лаборатории аминокислот и нуклеотидов Института биохимии АН Армянской ССР уже много лет проводятся исследования процесса де- и реаминирования никотинамиддинуклеотидов, а также механизмов влияния деаминированной формы НАД (дезамино-НАД) в дыхательном фосфорилировании [1, 2, 9—13].

Действие Д-НАД на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени неорганического фосфата,

Субстрат	Контроль			15 дней			n
	о	р	р/о	о	р	р/о	
П е ч							
α -КГ	6,2±0,1	13,8±0,1	2,22				
α -КГ + Д-НАД	11,7±0,3	24,7±0,1	2,4				
α -КГ (т-э + физ. р.)							
α -КГ (т-э + Д-НАД)				10,5±0,1	20,9±0,1	1,99	
α -КГ (т-э + Д-НАД)							
сукцинат	8,1±0,2	13,7±0,2	1,7				
сукц. + Д-НАД	12,5±0,1	20,7±0,1	1,66				
сукц. (т-э + физ. р.)							
сукц. (т-э + Д-НАД)				12,7±0,2	18,4±0,3	1,45	
сукц. (т-э + Д-НАД)							
α -КГ (т-э + Д-НАД) +							
сукц. (т-э + Д-НАД)							
М о							
α -КГ	6,1±0,2	15,7±0,1	2,58				
α -КГ + Д-НАД	8,5±0,1	22,1±0,1	2,6				
α -КГ (т-э + физ. р.)							
α -КГ (т-э + Д-НАД)				10,9±0,1	16,1±0,1	1,5	
α -КГ (т-э + Д-НАД)							
сукцинат	7,7±0,1	12,7±0,1	1,65				
сукц. + Д-НАД	11,3±0,1	20,3±0,2	1,78				
сукц. (т-э + физ. р.)							
сукц. (т-э + Д-НАД)							
сукц. (т-э + Д-НАД)							
α -КГ (т-э + Д-НАД) +							
сукц. (т-э + Д-НАД)							

+ забой на 30 день после тиреоидэктомии и 15-дневной инъекции Д-НАД.

α -КГ— α -кетоглутарат.

т-э—тиреоидэктомия.

Показано, что дезамино-НАД в отличие от НАД обладает способностью легко преодолевать мембранный барьер митохондрий, энергично вовлекаясь при этом в процесс переноса электронов в дыхательной цепи.

Учитывая эти свойства дезамино-НАД, мы задались целью проверить возможность положительного влияния его на нарушенный в условиях тиреоидной недостаточности процесс окислительного фосфорилирования.

Материал и методика. Решение поставленной задачи было осуществлено путем изучения окислительного фосфорилирования на митохондриях печени и мозга: здоровых животных (контроль); здоровых животных при добавлении к их суспензии дезамино-НАД (второй контроль); тиреоидэктомированных животных после ежедневного введения им 0,5 мл физиологического раствора на 15-й и 30-й дни опыта (третий контроль); тиреоидэктомированных животных после ежедневного введения им дезамино-НАД из расчета 0,8 мг/100 г массы животного в 0,5 мл физиологического рас-

и мозга при экспериментальном гипотиреозе (поглощение кислорода и убыль мкг/мг на пробу)

vitro			in vivo					
30 дней			15 дней			30 дней		
о	р	р/о	о	р	р,о	о	р	р/о
е н ь								
14,7±0,1	22,1±0,02	1,5	3,7±0,1	2,1±0,1	0,6	5,8±0,2	3,5±0,1	0,7
			5,6±0,1	15,6±0,1	2,6	7,4±0,1	16,4±0,2	2,18
15,7±0,3	23±0,2	1,4	5,2±0,2	1,4±0,2	0,2	5,8±0,2	3,5±0,1	0,7
			9,2±0,2	13,9±0,1	1,5	7,8±0,1	15,0±0,2	1,8
						5,3±0,1	10,1±0,1	1,91
						6,0±0,2	6,9±0,2	1,15
з г								
15,3±0,2	23,9±0,1	1,8	3,6±0,1	1,8±0,2	0,5	4,9±0,1	4,6±0,2	0,9
			5,5±0,1	4,8±0,2	2,11	7,5±0,2	16,4±0,2	2,19
			5,4±0,1	1,1±0,1	0,1	5,3±0,1	2,6±0,2	0,5
			6,84±0,1	8,0±0,1	1,15	9,2±0,2	15,4±0,2	1,67
						5,0±0,2	7,6±0,3	1,31
						5,3±0,2	7,0±0,2	1,31

творя на 15-й и 30-й дни опытов (оптимальная доза дезамино-НАД определена экспериментально) (опыт in vivo); тиреоидэктомированных животных при добавлении к суспензии их дезамино-НАД (опыт in vitro); животных, забитых на 30-й день после субтотальной тиреоидэктомии и 15-дневной внутримышечной инъекции им дезамино-НАД в дозе, указанной выше (для выявления возможного пролонгированного влияния дезамино-НАД). Выбор сроков исследования продиктован полученными нами ранее данными, согласно которым 15-й и 30-й дни после субтотальной тиреоидэктомии у крыс являются по показателю общего тироксина сыворотки крови сроками наибольшей выраженности степени гипотиреоидного состояния.

Ткань изучаемых органов животных из контрольных и подопытных групп после размельчения и гомогенизации подвергали дифференцированному центрифугированию в рефрижераторной центрифуге К-24. Гомогенизацию проводили в девятикратном объеме 0,25 М раствора сахарозы (рН 7,4).

Выделение митохондрий из ткани мозга проводили по методу Броди и Байн [5] в модификации Палладина и Кирсенко [14]. Митохондрии печени выделяли по методу Хогбума. Окислительное фосфорилирование изучали в инкубационной среде, содержащей 0,2 мл 0,133 М К-фосфатного буфера (рН 7,4), 0,15 мл 0,2 М трис-НСl бу-

фера (рН 7,4), 0,1 мл 0,12 М MgSO₄, 0,1 мл 0,02 М АТФ, 0,1 мл 0,56 М глюкозы, 1 мг кристаллической гексокиназы фирмы «Сигма» (США) и 0,5 мл митохондриальной суспензии, что соответствует, примерно, 500 мг свежей ткани.

Субстратами окисления служили α -кетоглутарат (α -КГ) и сукцинат, которые добавлялись в инкубационную жидкость в количестве 26 мкмоль. Объем реакционной среды доводили до 2 мл 0,25 М раствором сахарозы и инкубировали при 26° в течение 30 мин в аппарате Варбурга. Неорганический фосфат (НФ) определяли по методу Лоури и Лопеса [18] в модификации Пила и Лохмана [20].

Полученные данные подвергали статистической обработке.

Результаты и обсуждение. Полученные фактические показатели приведены в таблице. Они свидетельствуют о том, что дезамино-НАД оказывает выраженный эффект стимуляции процессов поглощения митохондриями печени и мозга кислорода, а также утилизации неорганического фосфата как у здоровых (контрольных) животных, так и у животных с субтотальной тиреоидэктомией, предотвращая у последних разобщение окислительного фосфорилирования. Указанный эффект действия дезамино-НАД наблюдается и в случае добавления как α -КГ, так и сукцината к митохондриям тиреоидэктомизированных животных, и в случае внутримышечного введения указанного препарата подопытным животным, т. е. *in vitro* и *in vivo*. Так, потребление кислорода митохондриями печени и мозга у животных с тиреоидэктомией, но получавших внутримышечно дезамино-НАД, как в опытах с α -КГ, так и в опытах с сукцинатом, возрастает на 15-й и 30-й дни почти в 1,5—2 раза по сравнению с показателями у тиреоидэктомизированных животных. При этом резко возрастает, что особенно важно, утилизация НФ: почти в 7 раз на 15-й день опыта и 4 раза на 30-й.

Значительная, хотя и выраженная в несколько меньшей степени активация процессов потребления кислорода и утилизации НФ наблюдается и через 15 дней после прекращения внутримышечного введения дезамино-НАД тиреоидэктомизированным животным, т. е. наблюдается пролонгированность действия дезамино-НАД на изучаемые процессы.

Институт биохимии АН Армянской ССР,
Институт общей гигиены и профзаболеваний
МЗ Армянской ССР

Поступило 7.V 1980 г.

ՆԻԿՈՏԻՆԱՄԻՆԻԶԻՊՕՔՍՍՆՏԻՆ-ԴԻՆՈՒԿԼԵՈՏԻԿԸ ՈՐՊԵՓ
ՕՔՍԻԿԱՑԻՈՆ ՖՈՍՖՈՐԻԼԱՑՄԱՆ ՎԵՐԱԿԱՆԳՆԻՉ
ՀԻՊՈԹԻՐԵՈՋԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ե. Ի. ԳՍՍՊԱՐՅԱՆ, Օ. Մ. ՆԱԶԱՐԱՆ, Ս. Գ. ՄՈՎՍԵՅԱՆ

Մեր նախորդ ուսումնասիրության մեջ ցույց է տրվել, որ վահանաձև գեղձի թերֆունկցիայի ժամանակ խորը տեղաշարժեր են առաջանում առնետների լյարդի և ուղեղի օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսում:

Հաշվի առնելով գրականության տվյալները դեղամիոն-ՆԱԴ-ի խթանող ազդեցության մասին օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման վրա, ներկա աշխատանքում խնդիր է դրվել հետազոտել նշված միացության դերը հիպոթիրեոզի հե-

տևանքով առաջացած շնչառության և ֆոսֆորիլացման պրոցեսների խանդարման վերացման ու կարգավորման մեջ:

Ստացված արդյունքները վկայում են, որ ղեզամինո-ՆԱԴ-ը in vitro և in vivo փորձերում լիովին կանխարգելում, կամ ամբողջությամբ վերացնում է հիպոթիրեոզի ժամանակ օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսում առաջացած խանդարումները:

Ուշադրության արժանի է այն փաստը, որ ղեզամինո-ՆԱԴ-ի խթանող ազդեցությունը օքսիդացիոն ֆոսֆորիլացման վրա հիպոթիրեոզի ժամանակ բավական երկարատև է:

NICOTINAMIDHYPOXANTINDINUCLEOTIDE (DEZAMINO-NAD) AS A REDUCTER OF OXIDATIVE PHOSPHORILATION UNDER HYPOTHYREOSIS

E. I. GASPARYAN, O. M. NAZARYAN, S. G. MOVSESYAN

The received data show that dezamino-NAD prevents and completely liquidates the violations in the oxidative phosphorilation processes in brain and liver mitochondria as in vitro, so in vivo.

In this case a definite period of prolongation of the mentioned action of dezamino-NAD has been observed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бунатян Г. Х., Мовсесян С. Г. *Вопр. биохимии мозга*. Ереван, 2, 5—23, 1966.
2. Бунатян Г. Х., Мовсесян С. Г. *Докл. АН Армянской ССР*, 45, 218—221, 1967.
3. Вернер С. В. *кн. Щитовидная железа*. Л., 430—432, 1963.
4. Волков М. С., Глогов Н. А. *Укр. биохим. ж.* 40, 431—434, 1967.
5. Гаспарян Э. И., Назарян О. М., Мовсесян С. Г. *Биолог. ж. Армении*, 31, 2, 121—127, 1978.
6. Глушакова Н. Е., Тарнович Г. Л., Лагуто Ф. М. *Пробл. эндокринологии и гормонотер.* 10, 6, 24—27, 1964.
7. Ленинджер А. *Биохимия*, 482—483, 1974.
8. Милку Шт. *Терапия эндокринных заболеваний. А. Гипотиреоз*. 299—316, 1972.
9. Мовсесян С. Г., Мирзоян Р. А., Бунатян Г. Х. *Докл. АН Армянской ССР*, 49, 2, 98—101, 1969.
10. Мовсесян С. Г. *Вопр. биохимии мозга*, Ереван, 8, 19—49, 1973.
11. Мовсесян С. Г., Ниазян Р. М. *Биолог. ж. Армении*, 36, 105, 1973.
12. Ниазян Р. М., Урганджян М. Г., Мовсесян С. Г. *Биолог. ж. Армении*, 27, 66—72, 1974.
13. Ниазян Р. М., Назарян О. М., Мовсесян С. Г. *Биолог. ж. Армении*, 29, 1, 47—51, 1976.
14. Палладин А. В., Курсенко О. В. *Биохимия*, 26, 385, 1961.
15. Brody T. M., Bain J. M. *J. Biol. Chem.* 195, 685, 1952.
16. Charbonnel B., Hamza H. *Quest med.*, 30, 12, 805—8, 1977.
17. Chatagner F., Gautheron D. *Biochim., biophys. Acta*, 41, 544—545, 1960.
18. Lowri H., Lopez Y. A. *J. Biol. Chem.*, 162, 421, 1946.
19. Stocking J. R. et al. *J. Clin. Endocr.*, 43, 5, 1094, 1976.
20. Peel I. L., Loghman B. C. *Biochem. J.*, 65, 709, 1957.