

АКТИВНОСТЬ НАД(Ф)-ЗАВИСИМЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТИРЕОИДНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Мамцев А.Н., д-р биол. наук, профессор, Касьянова Ю.В., инж. 1 к., Лобырева О.В., н.с.
Филиал Московского государственного университета технологий и управления
им. К.Г.Разумовского, г.Мелеуз, Республика Башкортостан
Камилов Ф.Х., д-р мед. наук, профессор, Абдуллина Г.М., канд. мед. наук
Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

В статье представлены результаты исследования активности ферментов энергетического обмена печени крыс с мерказолиловым гипотиреозом и при его коррекции полисахаридным комплексом «йод-пектин». Установлено, что экспериментальный гипотиреоз, сопровождался снижением активности митохондриальных ферментов – малат- и глутаматдегидрогеназ с одновременным повышением активности сукцинатдегидрогеназы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о тиреотропной активности органоминерального комплекса «йод-пектин».

It was found that mercasolil-induced hypothyreosis (2,5 mg of mercasolil a day during 3 week) is accompanied by the decrease of malate- and glutamate dehydrogenase activity and the increase of activity of succinate dehydrogenase in the rat liver. The iodine enriched nutrition provided by the addition in the food of iodine-polysaccharide complex («iodine-pectin») increases the activity of investigated enzymes. These changes of enzymatic activity were same directed but more significant in comparison with changes found in the liver of animals that after modeling of hypothyreosis were given the standard nutrition. Results show the thyrotropic activity of the iodine-polysaccharide complex «iodine-pectin».

Ключевые слова: йододефицитная патология, тиреотропная активность, йодосодержащее органоминеральное соединение, экспериментальный гипотиреоз, окислительный метаболизм, митохондриальные ферменты, энергетический обмен.

Широчайшая распространенность йододефицитной патологии определяет поиск эффективных и безопасных средств для устранения йодного дефицита как одну из актуальных проблем современной медицины. В этой связи особый интерес вызывают средства на основе органически связанных форм этого микроэлемента. Препараты, где йод связан с какой-либо органической матрицей, могут обеспечивать более адекватное его усвоение, что снижает риск развития гиперйодизации с формированием таких осложнений, как узловый зоб, аутоиммунный тиреоидит, йодиндуцированный тиреотоксикоз, наблюдаемых в некоторых случаях при терапии минеральными соединениями йода [1-3]. В качестве органического носителя наиболее предпочтительными можно считать полисахариды растительного генеза. Выбор в их пользу основывается на низкой сенсибилизирующей активности биополимеров, возможности пролонгированного тиреоидного эффекта, а также наличии у них дополнительных положительных свойств, таких, например, как энтеросорбционная активность.

С целью исследования тиреотропной активности препарата «йод-пектин» (патент РФ № 2265376 от 10.12.2005) нами было исследовано влияние введения этого йодполисахаридного комплекса на активность некоторых окислительных ферментов энергетического обмена в ткани печени крыс с мерказолиловым гипотиреозом.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились на крысах-самцах массой 180-220 г. Экспериментальные животные были разделены на четыре группы: первая – контрольная, у животных 2-й, 3-й и 4-й групп вызывался гипотиреоз ежедневным внутрижелудочным введением мерказолила в дозе 2,5 мг/100 г массы тела в течение 3-х недель. После воспроизведения модели гипотиреоза, начиная с 22-го дня эксперимента, животные 3-й группы в течение месяца получали йодобогащенный рацион - в пищу добавлялся анализируемый препарат в дозе, обеспечивающей среднесуточную потребность крыс в йоде (от 2 до 3 мкг на 100 г массы тела). Животные 4-й группы в течение месяца находились на стандартной диете вивария. Заправку животных начинали с таким расчетом, чтобы воспроизведение модели гипотиреоза во 2-й группе совпадало с окончанием эксперимента в 3-й и 4-й группах. Забой осуществляли декапитацией под эфирным наркозом. Гомогенат печени готовили на 0,25 М растворе сахарозы, содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,01 М трис-НСl (рН 7,4), с помощью механического гомогенизатора Поттера (тефлон-стекло). Митохондриальную фракцию гомогената печени получали методом дифференциально-центрифугирования по Джонсону и Ларди [4]. Все процедуры по приготовлению гомогената и выде-

лению субклеточных фракций проводили при температуре от 0 до +4 °С. В митохондриальной фракции определяли активность сукцинат-, малат- и глутаматдегидрогеназ. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ, КФ 1.3.99.1.) определялась по регистрации восстановления феррицианида калия [4]', малатдегидрогеназы (МДГ, КФ 1.1.37) и глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.1.3) – кинетическим методом по скорости восстановления НАД⁺ при длине волны 340 нм [5,6]. Белок в субклеточных фракциях определяли по Лоури. Статистическую обработку результатов производили, рассчитывая среднее арифметическое значение, стандартные отклонения и ошибки средних по группам животных. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Ферменты энергетического обмена являются звеном метаболизма, наиболее чувствительным к изменениям тиреоидного статуса организма. В литературе имеется немало свидетельств о снижении активности окислительных ферментов энергообразования при самых различных моделях гипотиреоза – от гипофиз- и тиреоидэктомии до введения тиреостатиков [7-11]. В то же время, эксперименты с введением тиреоидных гормонов как эу-, так и гипотиреоидным животным, как правило, сопровождаются активацией окислительных ферментов – дегидрогеназ, флавопротеидов и дыхательных структур [11-14]. Наиболее ярко эти изменения прослеживаются в ткани печени – одной из главных мишеней тиреоидных гормонов.

С учетом всего вышесказанного неудивительно было обнаружить и в использованной нами модели мерказолилового гипотиреоза значительное снижение активности митохондриальных ферментов печени – малат- и глутаматдегидрогеназы (таблица 1). Как видно из таблицы, активность малатдегидрогеназы – одного из регуляторных ферментов основного энергопоставляющего процесса клетки - цикла Кребса – в печени гипотиреоидных животных составляла лишь 68,4 % от уровня активности контрольных животных ($p \leq 0,05$), активность глутаматдегидрогеназы, «подключающей» к окислению углеродные скелеты аминокислот, снижалась еще более выражено и составляла лишь 38,8 % от уровня контроля ($p \leq 0,05$). Однако, одновременно с выраженным снижением активности пиридинового дегидрогеназ обнаружена значительная активация флавинового фермента – сукцинатдегидрогеназы. Активность ее у животных, получавших мерказолил, составила 169,3 % от контроля ($p \leq 0,05$). Учитывая особую роль сукцинатного пути в адаптации митохондрий к гипоксии [15-16], полученные данные позволяют сделать вывод, что использованная модель гипотиреоза (мерказолил в дозе 2,5 мг/100 г массы тела в течение 3-х недель) не сопровождается срывом универсальной компенсаторной реакции митохондрий с переключением на более мощный сукцинатный путь окисления. Как указывалось выше, классические методы моделирования гипотиреоза – тиреоидэктомия, большие дозы тиреостатиков, как правило, сопровождаются снижением активности окислительных ферментов энергетического обмена. Так, например, сообщается о снижении активности ферментов цикла трикарбоновых кислот - изоцитрат-, малат- и сукцинатдегидрогеназ после введения мерказолила в дозе 20 мг/100 г массы тела в течение 18 дней [9]. В этой связи хочется отметить, что эксперименты с использованием малых «падающих» доз тиреостатиков могут представлять особый интерес, особенно, принимая во внимание большую распространенность частично компенсированных, субклинических, форм гипотиреоза по сравнению с тотальным снижением функции щитовидной железы, наблюдаемым при манифестном гипотиреозе.

Таблица 1 – Результаты исследования активности митохондриальных ферментов энергетического обмена печени крыс с экспериментальным гипотиреозом и после его коррекции препаратом «йод-пектин» ($M \pm m, n = 12$)

Группа животных	Группа животных			
	1-я – контроль	2-я – экспериментальный гипотиреоз	3-я – экспериментальный гипотиреоз + препарат «йод-пектин»	4-я – экспериментальный гипотиреоз + стандартная диета
Активность ферментов (нмоль/г·с)				
Сукцинат-дегидрогеназа; в % к контролю	10,1 ± 0,36	17,1 ± 0,86* 169,3	28,9 ± 0,71* ** 285,5 (110,5)''	26,2 ± 0,98* 258,4
Малат-дегидрогеназа; в % к контролю	2412,6 ± 60,9	1649 ± 71,47* 68,4	3214,0 ± 41,54* ** 133,2 (148,1)''	2169,8 ± 145,52 89,9
Глутамат-дегидрогеназа; в % к контролю	107,3 ± 4,66	41,6 ± 1,15* 38,8	124,7 ± 6,01* 116,2 (104,1)''	119,9 ± 2,91* 111,7

* – различие с контролем статистически значимо ($p \leq 0,05$);

** – различие с группой 4 статистически значимо ($p \leq 0,05$);

'' – в % от активности в группе 4.

Результаты исследования активности митохондриальных ферментов энергетического обмена у животных, которые после воспроизведения модели гипотиреоза получали йодобогатенный рацион (препарат «йод-пектин») также представлены в таблице 1. Как видно из таблицы, введение анализируемого йодосодержащего органоминерального соединения приводило к активации всех трех исследованных дегидрогеназ энергетического обмена. Активность их у животных, получавших препарат «йод-пектин», превосходила показатели контроля: активность глутамат- и малатдегидрогеназы соответственно на – 16,2 % и 33,3 %, сукцинатдегидрогеназы – более чем в 2 раза (все различия с контролем статистически достоверны). Эти сдвиги были однонаправлены изменениям активности ферментов, наблюдавшимся в печени крыс животных, которые после моделирования гипотиреоза находились на стандартной диете, но более выраженными. Наблюдаемая активация исследованных ферментов является свидетельством интенсификации как основного – НАД-зависимого, так и альтернативного сукцинатного пути окисления. Это позволяет предположить более быструю ликвидацию вызванного гипотиреозом дефицита макроэргических соединений и восстановление функций гепатоцитов, в первую очередь энергозависимых синтетических процессов у животных, получавших препарат «йод-пектин».

При обсуждении механизмов изменений активности ферментов в условиях гипотиреоза и при его коррекции йодосодержащими соединениями на первый план выступает анаболический эффект тиреоидных гормонов – контроль ими белоксинтезирующего аппарата клетки. Необходимо также учесть и аллостерический контроль – влияние на активность дегидрогеназ энергетического обмена соотношений НАД⁺/НАДН, АДФ/АТФ. В связи с этим в последующем представляет интерес определение уровня окисленной и восстановленной форм пиридиновых нуклеотидов, а также концентрации адениловых нуклеотидов в условиях мерказолилового гипотиреоза и при его коррекции препаратом «йод-пектин».

Выводы. Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о корригирующем влиянии препарата «йод-пектин» на активность ферментов энергетического обмена – сукцинат-, малат- и глутаматдегидрогеназ печени крыс с мерказолиловым гипотиреозом, что является доказательством тиреотропной активности исследуемого йодосодержащего органоминерального комплекса.

Литература

1. Терпугова О.В. Эндокринологические аспекты проблемы пищевых дисэлементозов и других пищевых дисбалансов: Учебное пособие / О.В. Терпугова. – Ярославль: Александр Рутман, 2001. – С.37-38.
2. Halberg E. From an autopsy or biopsy to the physiologist's chronopsy (from the 3rd Italian postgraduate chronobiology course) / E. Halberg, F. Halberg, F. Caradente // – Chronobiologia.- 1981. – Vol.8, №1., – P. 145-164.
3. Йоддефицитные заболевания в России / Г.А. Герасимов, В.В. Фадеев, Н.Ю. Свириденко и др. – М.: Адамант, 2002. – С. 53-61.
4. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред М.И. Прохоровой – Л: ЛГУ, 1982. – С. 29-36, 210-212.
5. Ochoa S. In: Methods in enzymology / S. Ochoa – 1955. - Vol.1. – P. 739.
6. Клюева Н.Н. Влияние стероидных гормонов на активность глутаматдегидрогеназы печени крыс / Н.Н. Клюева // Вопросы медицинской химии. - 1978. – №1 – С. 49-50.
7. Туракулов Я.Х. Обмен йода и тиреоидные гормоны в норме и патологии / Я.Х. Туракулов // Проблемы эндокринологии. – 1986. - №12 – С. 81.
8. Верещагина Г.В. Взаимодействие трийодтиронина с ядерно-рецепторным комплексом клетки – ключевое звено физиологического контроля жизнедеятельности организма / Г.В. Верещагина, А.А. Трапкова, А.П. Кашулина // Успехи современной биологии – 1991. – Т.111, Вып.1. – С. 64.
9. Глушакова Н.Е. Активность дегидрогеназ цикла трикарбоновых кислот и содержание адениловых нуклеотидов в головном мозге и печени при экспериментальном гипотиреозе / Н.Е. Глушакова, Е.М. Мисюк, Г.Л. Таранович // Проблемы эндокринологии.– 1976.– Т.22, № 1. – С. 50-53.
10. Нарушение окислительного метаболизма при экспериментальном гипотиреозе у кроликов / Н.А. Антелава, Т.В. Саникидзе и др. // Медицинские новости Грузии. – 2001.– № 4 – С. 7-9.
11. Soboll S., Mitochondrial metabolism in different thyroid status / S. Soboll, C. Horst, H. Hummerich // Biochem. J. – 1992. – Vol. 281, №1. – P. 33-34.
12. Новикова Н.М. Влияние тироксина совместного введения его с ингибиторами белкового синтеза на активность СДГ в печени крыс разного возраста / Н.М.Новикова, В.А. Филатова // Актуальные проблемы возрастной физиологии, биохимии и биофизики: Сб. науч. Трудов – Киев, 1979. – С. 108 -112.
13. Kasutoshi H. Role of amino acid catabolising enzymes in urea synthesis of rats treated with the thyroid hormones / H. Kasutoshi, Y. Akira // Biosci., Biotechnol. and Biochem. – 1993. – Vol.57, №10. – P. 1722-1725.

14. Верещагина Г.В. Некоторые механизмы действия тиреоидных гормонов / Г.В. Верещагина, А.А. Трапкова // Успехи современной биологии. -1984. – Вып.3. – С. 468-478.
15. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко, Т.А. Цыбина и др. // Вестник Российской АМН. -2007. – №2. – С. 3-10.
16. Кондрашова М.Н. Реципрокная регуляция дыхания и структурного состояния митохондрий гормонально-субстратной системой / М.Н. Кондрашова // Митохондрии, клетки и активные формы кислорода. – Пушино, 2000. – С. 71-74.

ТРАНСПОРТНЫЕ И СЕЛЕКТИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОЛИМЕРНЫХ МЕМБРАН, ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ КАТИОНАМИ МЕДИ

Славова В.О., докторант
Технический университет София-Колледж Сливен, г. Сливен, Р. Болгария
Петров С.П., д-р, доцент
Университет «Проф. д-р «Асен Златаров», г. Бургас, Р. Болгария
Баева М.Р., д-р, доцент
Университет пищевых технологий, г. Пловдив, Р. Болгария

В работе представлено исследование изменений транспортных и селективных характеристик ультрафильтрационных полимерных мембран, химически модифицированных катионами меди. Для предварительной активации полимерной поверхности использованы щелочные и солянокислые растворы $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

The present study showed the change of the transport and of the selective properties of the ultrafiltration polymer membranes, which were chemically modified with copper cations. Alkali and salt acid solutions $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ were used for the polymer's surface activation.

Ключевые слова: мембраны, ультрафильтрация, катионы меди.

Постановка проблемы в общем виде и ее связь с важными научными или практическими задачами. Транспортные и селективные характеристики мембран определяются не только их структурой, но и характеристиками полимера, из которого они произведены. Целью модификации является введение достаточного количества катионов меди, с использованием их комплексообразующих свойств, и проследивание за изменениями основных характеристик мембран, поверхности которых предварительно активированы щелочными и солянокислыми растворами $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Под химической модификацией понимается образование слоя металла в результате химической реакции, протекающей в металлизующей поверхности. Химическая модификация в растворе является самым доступным и удобным методом металлизации полимеров. Данным методом металлические покрытия получают путем редукции ионов металла в водном растворе с применением растворенного редуктора. Метод химической модификации, по сравнению с некоторыми другими методами, обладает рядом преимуществ, а именно: доступность используемых реактивов, несложная аппаратура, возможность получения покрытий любой требуемой толщиной, равномерность толщины покрытия по всей поверхности металлизуемого образца, несмотря на его форму, очень хорошая адгезия между покрытием и подложкой [1].

Формулирование целей статьи. Мембраны, применяемые в целях наших исследований, получены в лабораторных условиях фазоинверсионным методом. Данный метод известен как метод Loeb [2]. В качестве растворителя волокон ПАН используется ДМФ [3]. Полимерная мембрана имеет состав: ПАН-14.25 mass %, ПММК-2.25 mass %, LiNO_3 -0.1 mass %.

Изложение основного материала исследования с полным обоснованием полученных научных результатов. Первоначально была произведена активизация полимерной поверхности мембраны растворами с составом:

- 1.) 50 g/l $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 90 g/l $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 75 g/l NaOH [4]
- 2.) 50 g/l $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 g/l HCl . [4]

Мембраны погружались в эти растворы и выдерживались от 2 до 3 часов, после чего промывались дистиллированной водой с целью удаления несвязанных ионов.