



В.И. Гидранович, Л.Г. Гидранович

## Пути регенерации НАД<sup>+</sup> в ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗАХ

Эндокринная система, наряду с нервной, играет важную роль в интеграции метаболических процессов, определяющих физиологическое состояние животных и человека. Функциональная активность эндокринных желез, биосинтез гормонов, в свою очередь, зависит от интенсивности и направленности метаболизма в этих органах.

Изучение особенностей метаболизма и механизмов его регуляции непосредственно в эндокринных железах обусловлено необходимостью разработки способов целенаправленного воздействия на организм через эндокринную систему и применения гормональных препаратов.

Одно из центральных мест в биоэнергетических и биосинтетических процессах занимает метаболизм углеводов, обеспечивающий энергетические потребности клетки в аэробных и анаэробных условиях. Метаболиты обмена углеводов широко используются в специфических биосинтетических процессах и, в частности, в биосинтезе гормонов.

Большинство тканей животных зависимо от потребления глюкозы, а особенно высока зависимость мозга и эритроцитов. Основным путем метаболизма глюкозы, а также фруктозы и галактозы является гликолиз. Гликолитический путь обнаружен в цитозоле всех клеток, и он уникален в том смысле, что может функционировать как при полном отсутствии кислорода, так и в аэробных условиях [1]. Однако, чтобы окислять глюкозу дальше пируват/лактатной стадии, требуется не только молекулярный кислород, но и митохондриальные ферментные системы, такие, как пируватдегидрогеназный комплекс, цикл трикарбоновых кислот и дыхательная цепь.

Решающее значение гликолиза в метаболизме заключается в его способности поставлять АТФ в отсутствие кислорода путем субстратного фосфорилирования. Благодаря этому скелетные мышцы могут функционировать на достаточно высоком уровне, когда аэробное окисление заторможено. Это дает возможность тканям с высокой гликолитической активностью выживать в условиях кислородной недостаточности.

Белые волокна скелетных мышц, гладкая мускулатура, желудочно-кишечный тракт, сетчатка глаза и кожа в норме обеспечиваются энергией главным образом гликолитическим путем, продуцируя лактат. Эритроциты млекопитающих занимают особое положение, так как около 90% общей необходимой им энергии предоставляет гликолиз.

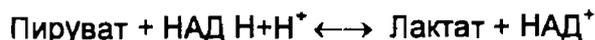
В противоположность другим тканям сердечная мышца приспособлена к аэробному функционированию, имеет сравнительно низкую гликолитическую способность и низкую выживаемость в условиях ишемии. Сердечная мышца, печень и почки используют лактат, окисляя его, и продуцируют лактат только при гипоксических состояниях.

В быстро растущих раковых клетках гликолиз протекает намного интен-

сивнее, чем цикл трикарбоновых кислот. В результате этого продуцируется намного больше пирувата, что превышает возможность его метаболизма аэробным путем. Это, в свою очередь, ведет к чрезмерному образованию лактата и лактацидозу [1].

Гликолиз разделяют на две основные части: подготовительную и гликолитическую оксидоредукцию. Окислительные реакции гликолиза непосредственно сопряжены с образованием высокоэнергетических соединений, способных использовать накопленную энергию для трансфосфорилирования АДФ, а окисленный субстрат глицеральдегид-3-фосфат превращается в конечный продукт (лактат) и выводится из клетки [2,3].

В аэробных условиях образования лактата не происходит, а образовавшийся лактат под действием лактадегидрогеназы и окисленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>) окисляется до пирувата. Лактатдегидрогеназа катализирует обратимую реакцию по уравнению:



Следовательно, лактатдегидрогеназа находится на перекрестке анаэробного и аэробного окисления углеводов (в зависимости от обеспеченности тканей кислородом). В анаэробных условиях этот фермент катализирует заключительный этап гликолиза с образованием лактата. НАДН, образовавшийся в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции при окислении глицеральдегид-3-фосфата, окисляется в лактатдегидрогеназной реакции и, регенерированный НАД<sup>+</sup>, снова может принимать участие в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции.

С целью оценки гликолитической оксидоредукции и путей регенерации НАД<sup>+</sup> мы изучали динамику глицеральдегидфосфатдегидрогеназной и лактатдегидрогеназной реакций. Для более полной характеристики этих процессов рассчитывали коэффициенты соотношений активностей изучаемых ферментов. Объектом исследований были эндокринные железы скота. Об активности глицеральдегидфосфатдегидрогеназы судили по интенсивности восстановления НАД<sup>+</sup>, а лактатдегидрогеназы – по окислению НАД Н.

Результаты исследований динамики ферментов гликолитической оксидоредукции показывают, что наиболее высокая активность глицеральдегидфосфатдегидрогеназы проявляется в коре и мозговом веществе надпочечников (таблица 1).

Таблица 1

**Динамика глицеральдегидфосфатдегидрогеназной (ГАФДГ) и лактатдегидрогеназной (ЛДГ) реакций в эндокринных железах (мкмоль НАД<sup>+</sup>Н(НАД<sup>+</sup>) мг<sup>-1</sup> белка п = 7)**

Железы	Ферменты	Время реакции, мин				
		1	2	4	8	16
Аденогипофиз	ГАФДГ	1,40±0,31	1,89±0,43	2,39±0,37	3,02±0,37	4,20±0,34
	ЛДГ	0,16±0,03	0,47±0,10	0,56±0,11	0,84±0,17	1,06±0,17
Мозговое в-во надпочечников	ГАФДГ	1,76±0,25	2,41±0,35	3,17±0,45	3,98±0,48	4,39±0,47
	ЛДГ	0,18±0,04	0,40±0,11	0,69±0,10	0,99±0,17	1,04±0,19
Кора надпочечников	ГАФДГ	1,79±0,39	2,35±0,36	3,20±0,39	3,91±0,10	4,33±0,12
	ЛДГ	0,25±0,06	0,45±0,09	0,82±0,13	0,99±0,14	1,04±0,12
Щитовидная железа	ГАФДГ	0,90±0,12	1,29±0,16	1,76±0,20	2,21±0,25	2,64±0,27
	ЛДГ	0,40±0,01	0,63±0,03	0,92±0,07	1,06±0,05	1,08±0,12
Поджелудочная железа	ГАФДГ	0,64±0,02	0,86±0,09	1,21±0,08	1,56±0,14	1,86±0,16
	ЛДГ	0,59±0,09	0,84±0,13	1,08±0,07	1,22±0,23	1,22±0,20

Глицеральдегидфосфатдегидрогеназная реакция в этих тканях протекает практически одинаково. Несколько ниже активность этого фермента в аденогипофизе, затем – в щитовидной железе и самая низкая – в поджелудочной железе. Скорость глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции со временем снижается, однако различия между железами сохраняются.

В первые минуты инкубации наблюдаются значительные различия в начальной скорости лактагидрогеназной реакции между отдельными железами. Эти различия к 8-й минуте уменьшаются, а через 16 минут скорость реакции в коре, мозговом веществе надпочечников, аденогипофизе и щитовидной железе становится одинаковой. Самая высокая лактатдегидрогеназная активность проявляется в поджелудочной железе.

Анализ соотношений активностей глицеральдегидфосфатдегидрогеназа/лактатдегидрогеназа свидетельствует, что в аденогипофизе, коре и мозговом веществе надпочечников имеет место значительное преобладание глицеральдегидфосфатдегидрогеназы над лактатдегидрогеназой. В щитовидной железе активность глицеральдегидфосфатдегидрогеназы в 2 раза превышает активность лактатдегидрогеназы. В поджелудочной железе различия в активности этих ферментов незначительные.

При гликолизе система сохраняет свой окислительно-восстановительный баланс до тех пор, пока соотношение активностей глицеральдегидфосфатдегидрогеназа/лактатдегидрогеназа равно 1 [4]. Восстановление  $\text{НАД}^+$  в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции требует, чтобы образованный  $\text{НАДН}$  вновь окислялся со скоростью, равной скорости гликолиза [5].

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в поджелудочной железе  $\text{НАДН}$ , образовавшийся в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции, может полностью обеспечить гликолитическую редукцию пирувата и регенерацию  $\text{НАД}^+$  для глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции при участии лактатдегидрогеназы. В щитовидной железе лактатдегидрогеназная реакция может обеспечивать регенерацию  $\text{НАД}^+$  примерно на 50%.

У молодых животных (18 мес.) окисление  $\text{НАДН}$  лактатдегидрогеназой в поджелудочной железе почти в 2 раза интенсивнее восстановления  $\text{НАД}^+$  глицеральдегидфосфатдегидрогеназой. В щитовидной железе окисление  $\text{НАДН}$  примерно равно восстановлению  $\text{НАД}^+$  [6].

Следовательно, в поджелудочной и щитовидной железах регенерация  $\text{НАД}^+$  обеспечивается преимущественно гликолитическим путем и может быть представлена в виде «малого» цикла регенерации  $\text{НАД}^+$  (рис. 1).

В коре и мозговом слое надпочечников интенсивность восстановления  $\text{НАД}^+$  глицеральдегидфосфатдегидрогеназой при окислении глицеральдегид-3-фосфата значительно превосходит окисление  $\text{НАДН}$  лактатдегидрогеназой при восстановлении пирувата. В этих железах  $\text{НАДН}$  частично может использоваться в биосинтезе гормонов и превращаться в  $\text{НАД}^+$ . Однако в аденогипофизе, коре и хромофинной ткани надпочечников лактатдегидрогеназа может обеспечить незначительную часть регенерации  $\text{НАД}^+$  путем восстановления пирувата с образованием лактата. В этих железах регенерацию  $\text{НАД}^+$  для окисления глицеральдегид-3-фосфата, как и для цикла трикарбоновых кислот, обеспечивает дыхательная цепь, и это можно представить схемой как "большой" цикл регенерации  $\text{НАД}^+$  (рис. 2).

Наше заключение подтверждается данными по изоферментному спектру лактатдегидрогеназы. Так, в изоферментном спектре лактатдегидрогеназы (ЛДГ) мозгового вещества надпочечников 70% приходится на активность  $\text{ЛДГ}_1$  и  $\text{ЛДГ}_2$ , а в суммарной активности лактатдегидрогеназы коры надпочечников

на долю ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub> приходится 85%, и эти изоферменты в большей степени ингибируются пируватом.

Согласно аэробно-анаэробной гипотезе, изоферменты лактатдегидрогеназы с преобладанием Н-субъединиц (ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>) более эффективны в окислении лактата и направляют метаболизм по аэробному пути, а ткани, содержащие преимущественно изоферменты Н-типа, характеризуются аэробным метаболизмом.

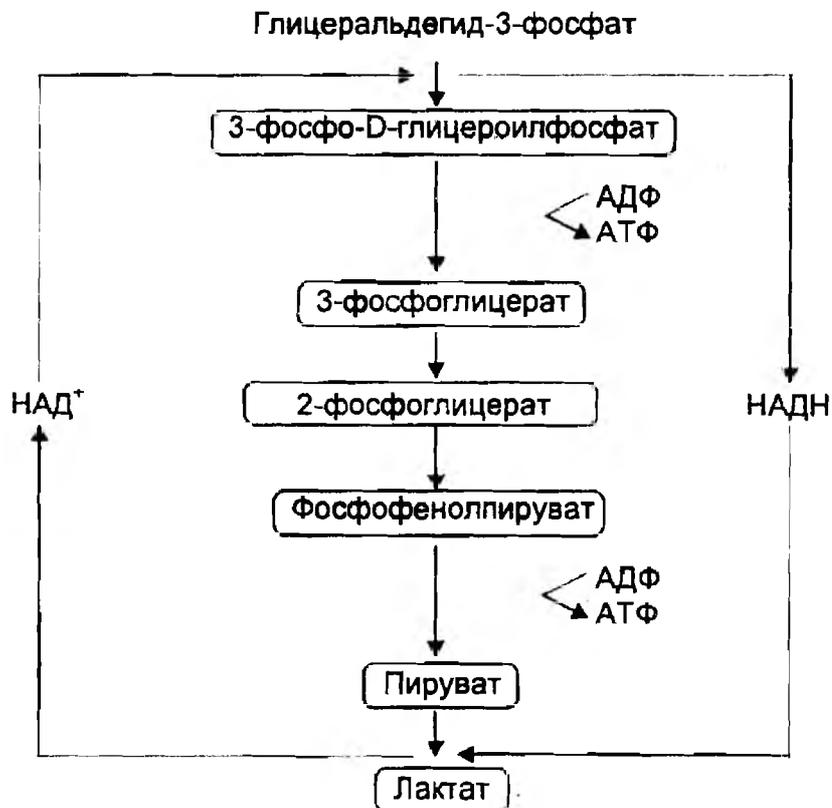


Рис. 1. Схема анаэробной регенерации НАД<sup>+</sup>

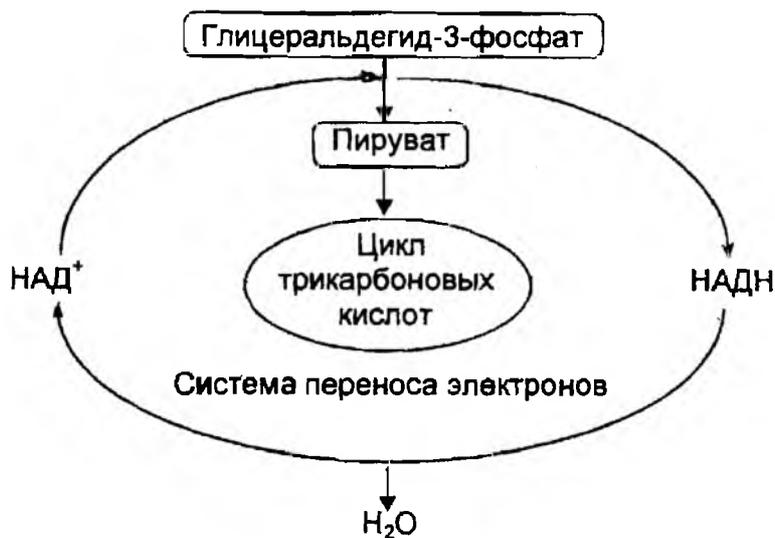


Рис. 2. Схема аэробной регенерации НАД<sup>+</sup>

Следовательно, в поджелудочной и щитовидной железах регенерация  $\text{NAD}^+$  для окисления глицеральдегид-3-фосфата обеспечивается преимущественно анаэробным путем, а в аденогипофизе, мозговом слое и коре надпочечников – аэробными механизмами.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Mayes P.A.* Glycolysis & the Oxidation of Pyruvate. Harper's Biochemistry, 1993. P.172-180.
2. *Скулачев В.П.* Аккумуляция энергии в клетке. М.: Наука, 1969. - 440 с.
3. *Скулачев В.П.* Трансформация энергии в биомембранах. М.: Наука, 1992. -203 с.
4. *Хочачка П., Семеро Дж.* Стратегия биохимической адаптации. М.: Мир, 1977. -398 с.
5. *Ньюсхолм Э., Старт К.* Регуляция метаболизма. М.: Мир, 1977. - 407 с.
6. *Гидранович В.И.* Обмен углеводов в эндокринных железах крупного рогатого скота: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Боровск, 1987. - 45 с.
7. *Sahn R.D., Kaplan N.O., Levine L., Zwilling E.* Nature and development of lactic dehydrogenases // Science. 1962. 136. P. 962-969.

### S U M M A R Y

*This article gives a basic knowledge about the regeneration of  $\text{NAD}^+$  in the endocrine glands. The fact is that regeneration of  $\text{NAD}^+$  in pancreas and thyroid gland is provided mainly by anaerobic pathway and in the pituitary, adrenal cortex and adrenal medulla by aerobic pathway.*