

МАТЕМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАБОРОВ ИЗОФЕРМЕНТОВ  
 ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЯХ КРЫС

К. С. ДАНИЕЛЯН, Ж. И. АКОПЯН

Установлено соответствие наборов изоферментов лактатдегидрогеназы (ИФ ЛДГ) в тканях крыс закону биномиального распределения. Представлена теоретическая таблица с пропорциями Н:М, генерирующими наборы, близкие к полученным экспериментально; в ряде случаев числа раскладывались на 2 биномиальных набора с дополнительным указанием процентного состава гетерогенной клеточной популяции. Полученные результаты согласуются с представленными ранее расчетами относительно ИФ ЛДГ в тканях кроликов, а также с современными гистохимическими исследованиями и указывают на отсутствие существенного посттрансляционного контроля на уровнях агрегации мономеров Н и М в тетрамеры и деградации ИФ, избирательного к отдельным изоферментам ЛДГ.

В литературе нет единого мнения о доли вклада регуляторных процессов на уровнях транскрипции, трансляции, образования третичной и четвертичной структур и деградации в формировании стационарных наборов изоферментов лактатдегидрогеназы в тканях млекопитающих. Анализ степени близости экспериментальных данных по наборам ИФ ЛДГ закону биномиального распределения, описывающего процесс случайной независимой ассоциации мономеров ЛДГ в тетрамеры, может помочь выяснению роли посттрансляционного контроля в образовании тканеспецифических спектров ЛДГ [16, 19].

В настоящей работе проведен подобный математический анализ распределений ИФ ЛДГ в тканях крыс. Ранее нами были представлены аналогичные расчеты для имеющихся в литературе данных о наборах ИФ ЛДГ в тканях млекопитающих [5] и для собственного экспериментального материала по тканям кроликов [1].

*Материал и методика.* Опыты проводили на взрослых крысах-самцах весом 170—210 г. Гомогенаты тканей центрифугировали при 60 тыс. g. В надосадочной фракции разделяли и определяли ИФ ЛДГ методом диск-электрофореза на полиакриламидном геле [9]. Гели сканировали с помощью специальной приставки, приспособленной к прибору Spесoгd uv vis [3].

Отношение Н:М рассчитывали на основе сравнения экспериментальных данных по наборам ИФ ЛДГ в тканях с числами, теоретически ожидаемыми в соответствии с известной в теории вероятностей формулой Бернулли  $p_n(m) = C_p^m p^m q^{n-m}$  (в рассматриваемом случае  $p = 4$ ,  $q = 1 - p$ ). Экспериментально полученные числа в ряде случаев были разложены на 2 биномиальных набора в соответствии с формулой

$$P_{(m)} = z C_n^m p_1^m (1 - p_1)^{n-m} + (1 - z) \cdot C_n^m p_2^m (1 - p_2)^{n-m}$$

Коэффициент корреляции рассчитывали по известной в вариационной статистике формуле:

$$r = \frac{\sum xy - n\bar{x}\bar{y}}{\sqrt{(\sum x^2 - n\bar{x}^2)(\sum y^2 - n\bar{y}^2)}}$$

*Результаты и обсуждение.* На рис. 1, 2 представлены электрофореграммы ИФ ЛДГ в исследованных тканях крыс. В табл. 1 приведены соответствующие им числа, характеризующие распределения изоферментов.

Электрофореграммы наборов ИФ ЛДГ из тканей крыс.

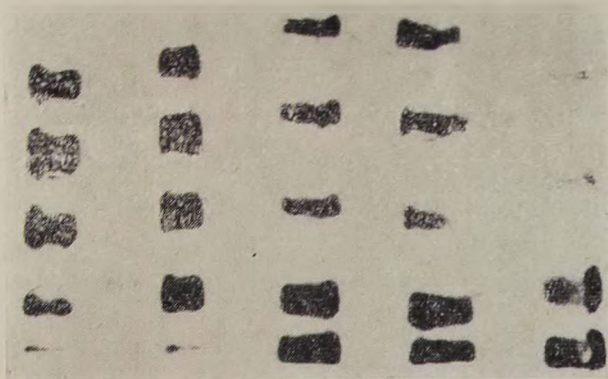


Рис. 1. ИФ ЛДГ из сердечной, камбаловидной, икроножной, пяточной и большой поясничной мышц.

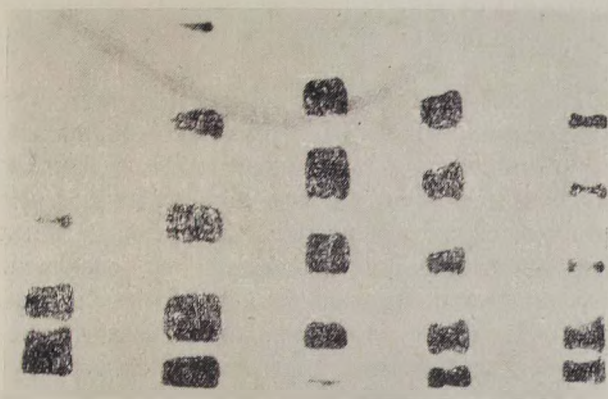


Рис. 2. ИФ ЛДГ из печени, селезенки, коржового (представлены 2 набора), мозгового и сосочкового слоев почек.

тов, а в табл. 2 — пропорции Н:М, генерирующие в соответствии с вышеуказанными формулами наборы ИФ, близкие к установленным. При значительном приближении экспериментальных данных к теоретическим ткань представлена как гомогенная популяция клеток с определенным соотношением Н:М, в остальных же случаях полученные числа раскладывались на 2 биномальных набора и ткань представлена в ви-

Распределение изоферментов лактатдегидрогеназы в % (M±m)  
в тканях крыс (n—число опытов)

Ткань (n)	ИФ ЛДГ				
	ЛДГ <sub>1</sub>	ЛДГ <sub>2</sub>	ЛДГ <sub>3</sub>	ЛДГ <sub>4</sub>	ЛДГ <sub>5</sub>
Сердечная мышца (7)	23,58±0,94	29,33±0,89	24,20±0,71	17,36±0,72	5,53±0,42
Камбаловидная мышца (6)	22,23±1,16	27,66±1,26	24,11±0,43	21,24±1,58	1,76±0,72
Икроножная мышца (9)	14,89±1,34	19,50±1,40	16,52±1,29	24,82±1,58	24,27±1,34
Пяточная мышца (7)	13,79±1,96	18,41±1,31	19,63±0,75	27,14±1,18	21,03±2,36
Большая поясничная мышца (6)	7,51±0,37	12,13±1,22	17,72±1,22	33,11±1,30	29,53±1,70
Печень (7)	0	0	9,35±1,11	33,02±1,36	57,62±1,74
Селезенка (9)	3,63±0,67	11,10±0,94	25,21±0,95	36,91±1,68	23,15±1,81
Корковый слой почек (6)	25,81±1,71	26,40±2,37	21,82±0,65	17,95±2,25	8,02±1,59
Мозговой слой почек (6)	23,09±1,27	23,22±0,98	18,80±0,93	22,41±0,74	12,48±1,56
Сосочки почек (4)	17,16±2,68	19,98±2,95	13,74±0,57	27,55±2,45	21,57±3,23

де совокупности 2 видов популяций клеток с указанием процентного состава популяций и специфичной для каждой популяции пропорции Н:М. Коэффициенты корреляции, характеризующие степень приближения экспериментальных данных к теоретически ожидаемым, для всех опытов довольно близки к 1:  $0,908 \leq r \leq 1$ , для большинства случаев  $0,998 \leq r \leq 1$ .

Полученные результаты полностью коррелируют с данными аналогичного анализа наборов ИФ ЛДГ в тканях кроликов, проведенного ранее [1], с той лишь разницей, что спектры ИФ в тканях крыс характеризуются меньшими значениями пропорции Н:М (см. рис. 1-4) и отсутствием закономерности в отклонениях экспериментальных данных от теоретических. Приблизительное соответствие спектров ИФ ЛДГ в тканях закону биномиального распределения ныне констатируется в целом ряде работ [2, 4, 17]. Естественно, однако, что наборы в большинстве тканей обнаруживают недостаточную близость к теоретически рассчитанным числам вследствие известной по анатомо-морфологическим данным гетерогенности исследуемого материала относительно ИФ ЛДГ. Проведенные нами расчеты позволяют в первом приближении представить процентный состав гетерогенных клеточных популяций с соответствующими пропорциями Н:М. Подобная интерпретация согласуется с результатами ряда гистохимических исследований, установивших гетерогенность клеток миокарда [7, 21] и скелетных мышц [6, 8, 10, 18] относительно лактатдегидрогеназы. Особенный интерес представляет работа Дукса с соавт. [10], в которой количественно установлена законо-



Таблица 2

Соотношение содержания субъединиц Н и М лактатдегидрогеназы (Н:М) в тканях крыс (числа, представленные рядом с Н:М, отражают состав популяции в процентах)

Ткань	№ опыта									Величина коэффициента корреляции	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Сердечная мышца	53,70 (4,5:1) 46,30 (1:1,5)	63,74 (3:1) 36,26 (1:1,5)	65,27 (4,5:1) 34,73 (1:1,5)	69,01 (3:1) 30,91 (1:2)	55,86 (3,5:1) 44,14 (1:1,5)	63,27 (3,5:1) 36,73 (1:2)	52,20 (4,5:1) 47,80 (1:1,5)				$0,989 \leq r \leq 1$ $0,989 \leq r \leq 1$
Камбаловидная мышца	81,35 (2,5:1) 18,65 (1:2,5)	81,93 (2,5:1) 18,07 (1:3)	54,47 (3,5:1) 45,53 (1:1,5)	79,59 (4:1) 20,41 (1:2,5)	41,38 (5:1) 58,62 (1:1,5)	2,5:1					$0,908 \leq r \leq 1$
Икроножная мышца	38,58 (3:1) 61,42 (1:3,5)	41,52 (3,5:1) 58,49 (1:4)	62,06 (3,5:1) 37,94 (1:5)	37,16 (3,5:1) 62,84 (1:3,5)	38,14 (3,5:1) 61,86 (1:4)	33,31 (4:1) 66,69 (1:4)	45,67 (4:1) 54,33 (1:4)	40,40 (4,5:1) 59,60 (1:4)	23,44 (3,5:1) 75,56 (1:3,5)		$0,994 \leq r \leq 1$
Пяточная мышца	32,04 (4:1) 67,96 (1:2,5)	39,69 (4:1) 60,31 (1:3)	43,28 (4,5:1) 56,72 (1:2,5)	31,29 (3:1) 68,71 (1:4)	30,32 (2,5:1) 69,98 (1:4)	48,02 (2:1) 51,98 (1:4)	47,61 (4:1) 52,39 (1:2,5)				$0,987 \leq r \leq 1$
Большая квадратично-поясничная мышца	26,77 (2,5:1) 73,23 (1:4)	32,39 (2,5:1) 67,61 (1:3,5)	28,52 (2:1) 71,48 (1:4,5)	29,16 (2:1) 70,84 (1:3)	12,45 (8:1) 87,55 (1:3,5)	24,25 (3:1) 75,75 (1:3,5)					$0,982 \leq r \leq 1$ $0,991 \leq r \leq 1$
Печень	1:8,5	1:5	1:7,5	1:7	1:7	1:6,5	1:5,5				
Селезенка	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2	1:3	31,69 (1,5:1) 68,31 (1:3,5)	23,20 (2:1) 76,80 (1:2,5)	31,91 (2:1) 68,09 (1:3)		$0,994 \leq r \leq 1$
Корковый слой почек	44,90 (5,5:1) 55,10 (1:2)	62,73 (4:1) 37,27 (1:2)	48,23 (4:1) 51,77 (1:2,5)	48,98 (4,5:1) 51,02 (1:2)	69,11 (4,5:1) 30,89 (1:1,5)	73,00 (4,5:1) 27,00 (1:1,5)					$0,989 \leq r \leq 1$
Мозговой слой почек	49,13 (5,5:1) 50,87 (1:2,5)	53,10 (4,5:1) 46,90 (1,3)	45,74 (4:1) 54,26 (1:3)	45,08 (4:1) 54,92 (1:2,5)	54,23 (4,5:1) 45,77 (1:1,5)	52,12 (4:1) 47,88 (1:3)					$0,992 \leq r \leq 1$

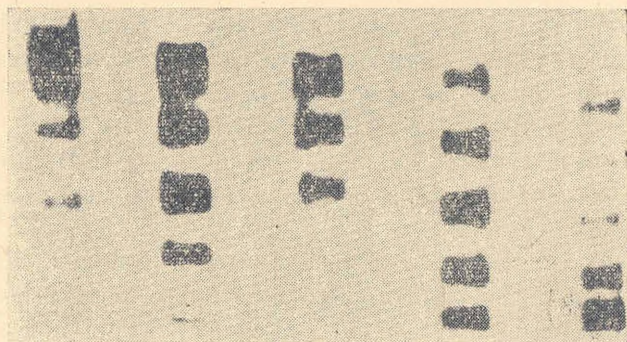


Рис. 3. ИФ ЛДГ из сердечной, камбаловидной (представлены 2 набора), икроножной и большой поясничной мышцы.

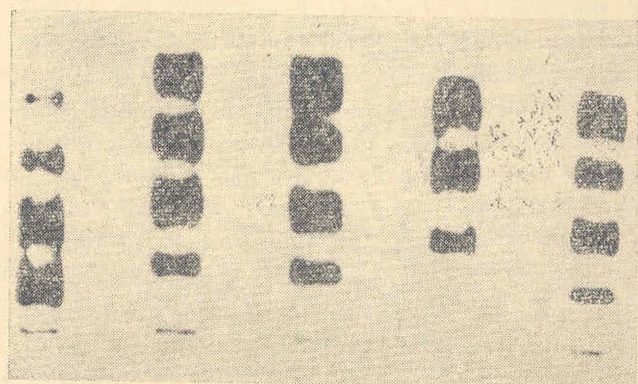


Рис. 4. ИФ ЛДГ из печени, селезенки, коркового (2 набора) и мозгового слоев почек.

мерная зависимость содержания Н и М мономеров от соотношения белых и красных волокон в ряде скелетных мышц крыс. Эти результаты коррелируют с отмеченным у обоих исследованных нами видов четким переходом от преобладания содержания красных волокон с высоким значением пропорции Н:М в сердечной и красной скелетной мышце через промежуточные наборы в смешанных мышцах к преобладанию белых волокон с пропорцией Н:М < 1 в белой мышце. Числа же, характеризующие содержание красных и белых волокон в камбаловидной мышце крыс (к сожалению, единственная совпадающая ткань в сопоставляемых работах),—80,24% красных волокон и 19,74% белых волокон—довольно близки к нашим данным по камбаловидной мышце как у крыс, так и в ряде опытов у кроликов [1].

Известно, что почки—гетерогенный орган, состоящий из трех слоев с разными биохимическими и физиологическими характеристиками. Следовательно, мы исследовали наборы ИФ ЛДГ в отдельных слоях почек, которые, однако, в свою очередь обнаружили гетерогенность по ИФ ЛДГ. Несоответствие спектров ИФ ЛДГ в почках биномиальному



распределению в силу их гетерогенности отмечено также Надал — Гинардом [17] у мышей.

Можно допустить, что ткани, однотипные по нашим данным относительно ИФ ЛДГ, будучи гетерогенными по другим параметрам содержат тем не менее популяции клеток с близкими наборами ИФ ЛДГ. Не исключено, однако, что в некоторых редких случаях смесь 2, 3 или более биномов, соответствующих далеким пропорциям Н:М, может результироваться в существенно отличное биномиальное распределение, имитируя однотипность ткани.

Установленная высокая степень близости наборов ИФ формуле Бернулли указывает на то, что, по-видимому, параметры посттрансляционного контроля на уровнях агрегации субъединиц в тетрамеры и деградации ИФ значительной избирательности к отдельным изоферментам не проявляют. Этот вывод полностью противоречит фигурирующей в литературе так называемой «новой теории контроля концентраций белков», которая постулирует наличие существенного, избирательного к ИФ посттрансляционного контроля в тканях млекопитающих, определяющего тканеспецифические наборы ИФ ЛДГ [11, 12]. В связи с этим нами [1] были проанализированы те экспериментальные данные, на основе которых строилась гипотеза. Результаты обнаружили большую близость этих чисел к нашим теоретическим выкладкам, что привело нас к заключению о необоснованности рассматриваемой гипотезы. Наличие противоречий в «новой теории» отмечены также Лебгерцем [14] и Надал-Гинардом [17]. В работе последнего представлены значения констант синтеза и деградации в некоторых тканях мышей и сделан вывод об идентичности констант деградации отдельных ИФ ЛДГ в пределах гомогенных популяций клеток, что противоречит отправным пунктам «новой теории», но согласуется с нашими результатами.

Необходимо учесть, однако, что хотя соответствие наборов ИФ ЛДГ закону биномиального распределения отрицает избирательность механизмов посттрансляционного контроля к ИФ ЛДГ, при этом не исключается возможность избирательности к самим субъединицам Н и М. Это допущение согласуется с мнением Гласса и Доэля [13] о том, что в клетке существует динамическое равновесие мономеров  $\rightleftharpoons$  тетрамеры ЛДГ, причем скорость ассоциации — диссоциации субъединиц много выше скорости их деградации. Но относительно наличия в клетках подобного динамического равновесия в настоящее время нет единого мнения. Противоречивы также данные о возможной роли метаболитов и коферментов в регуляторных процессах на уровне формирования третичной структуры мономеров ЛДГ [15, 20, 22].

Таким образом, хотя соответствие наборов ИФ ЛДГ в тканях млекопитающих закону биномиального распределения ныне можно считать установленным, однозначно объяснить этот факт пока не в состоянии ни одна из альтернативных гипотез.

Կ. Ս. ԳԱՆԵԼԻԱՆ, Ժ. Ի. ՀԱԿՈՔԻԱՆ

Ուսումնասիրությունների միջոցով հաստատված է առնետների հյուսվածքներում լակտատդեհիդրոգենազի իզոֆերմենտների հավաքների համապատասխանությունը բինոմական բաշխմանը: Ներկայացվում է տեսական աղյուսակ, որը պարունակում է փորձական թվերին մոտեցող հավաքներ առաջացնող H:M հարաբերությունները: Մի շարք դեպքերում թվերը բաշխվել են 2 բինոմական հավաքների, միաժամանակ նշելով տարակազմ բջջային պոպուլյացիայի տոկոսային բաղադրությունը: Ստացված տվյալները համապատասխանում են ժամանակակից հյուսվածքաբիմիական ուսումնասիրությունների արդյունքներին և առանձին իզոֆերմենտների նկատմամբ ցուցադրում են ընտրական հետտրանսլյացիոն հսկողության բացակայություն:

## MATHEMATICAL ANALYSIS OF THE LDN ISOZYME PATTERNS IN RAT TISSUES

K. S. DANIELIAN, Zh. I. AKOPIAN

The correspondence of LDN (lactatedehydrogenase) isozyme pattern in rat tissues to the binomial distribution has been established. A theoretical table of H:M proportions, generating close to experimental patterns is given. Numbers in some cases have been decomposed to two binomial distributions with additional indication of per cent composition of heterogenous cellular population.

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Даниелян К. С., Мовсесян С. Г. Биолог. ж. Армении, 28, 5, 98, 1975.
2. Коломбет Л. В. Онтогенез, 8, 269, 1977.
3. Мовсесян Н. О., Хумарян М. А., Мовсесян С. Г. Лабораторное дело, 7, 445, 1976.
4. Неркарян А. В., Застухова Ж. С. Молодой научный работник. ЕГУ, 22, 2, 139, 1975.
5. Паросян Г. А., Даниелян К. С., Б е б.: Вopr. молек.-клеточной биологии, Ереван, 143, 1974.
6. Резвяков Н. И. Арх. Анестезиол., гистол. и эмбриол., 66, 89, 1974.
7. Basile C., Tota B. Boll. Soc. ital. cardiol., 16, 788, 1972.
8. Diegenbach P. G., Krayenhof R. Acta histochem., 59, 21, 1977.
9. Lutz A. A., Lubrano T. Anal. Biochem., 20, 246, 1967.
10. Dux L., Mazarean H., Guba F. Kiserletes Orvostudomány, 29, 472, 1977.
11. Frutz P. J., White E. L., Vesell E. S., Pruitt K. M. Nature New Biol., 230, 19, 1971.
12. Frutz P. J., White, Pruitt K. M., Vesell E. S. Biochemistry, 12, 4034, 1973.
13. Gloss R. D., Dryle D. J. Biol. Chem., 274, 5234, 1972.
14. Leberherz H. G. Experientia, 30, 655, 1974.
15. Lindy S. J. Biol. Chem., 249, 4961, 1974.
16. Markert C. L. Science, 140, 1329, 1963.

17. *Nadal-Ginard B.* J. Biol. Chem., 253, 170, 1978.
18. *Nolte J., Pette D.* J. Histochem. and Cytochem., 20, 577, 1972.
19. *Palmer H. S. J.* Theoret. Biol., 27, 453, 1970.
20. *Rainer R., Rainer J.* Eur. J. Biochem., 63, 409, 1976.
21. *Sito H.* Japan Circulat. J. Engl. Ed., 33, 701, 1969.
22. *Tenenbaum-Bayer H., Levitzki A.* Biochim. biophys. acta, 445, 261, 1976.