

УДК 616.153.1:577.347—074:543.545

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ, ИЗОФЕРМЕНТНЫЙ СПЕКТР
И КОФЕРМЕНТНОЕ СРОДСТВО ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ
В ОРГАНАХ НЕКОТОРЫХ ПТИЦ

Г. Г. БАТИКЯН, А. А. СИМОНЯН

Исследовались изменение активности, изоферментный спектр и коферментная гетерогенность лактатдегидрогеназы в тканях различных птиц (голуби, ласточки, попугаи и цесарки). Обнаружено определенное сродство лактатдегидрогеназы к различным коферментам (НАД, НАДН, дезамино-НАД и дезамино-НАДН). Отдельные органы подопытных птиц отличаются как активностью, так и набором изоферментов лактатдегидрогеназы.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, лактат, пируват, коферменты.

При исследовании обмена веществ в эволюционном аспекте значительное внимание уделяется сравнительному изучению ферментов, изменение активности и содержания которых в отдельных органах является отражением их молекулярной дифференцировки. В этом аспекте весьма важное значение придается изоферментам. В настоящее время лактатдегидрогеназа (ЛДГ) является одним из ферментов, изоферментный спектр которых хорошо изучен. Этот фермент существует в нескольких молекулярных формах. Изоферменты его состоят из двух полипептидных субъединиц Н и М, синтез которых контролируется двумя различными генами [5-7]. Комбинация субъединиц в тетрамеры образует пять изоферментов ЛДГ. Ранее мы исследовали активность, изоферментный спектр и коферментное сродство ЛДГ при эмбриональном и онтогенетическом развитии кур, гусей и уток. Было показано, что в различных тканях этих птиц ЛДГ отличается как активностью, набором изоферментов, так и гетерогенностью к различным коферментам. В развитие этих исследований в аналогичном аспекте изучались отдельные ткани голубей, ласточек, попугаев и цесарок, относящихся к различным отрядам и семействам класса птиц и различающихся между собой как генотипическими, так и фенотипическими особенностями.

Материал и методика. Опыты ставили на супернатанте мозга, печени, почек, сердца, легких, скелетной мышцы указанных птиц. После деляпитации извлекали необходимую ткань и переносили в стакан с охлажденным раствором 0,25 М сахарозы, измельчали и гомогенизировали тефлоновым гомогенизатором. Для получения супернатанта гомогенат тканей центрифугировали при 70000 g на рефрижераторной центрифуге VAC-601. Разделение изоферментов проводили методом диск-электрофореза на акриламидном геле. на приборе фирмы «Реанал» (модель 69). Способы приготовления

полнакриламидного геля, электродного буфера и реакционных смесей приведены в наших предыдущих работах [2].

В отдельных опытах использовали дезамино-НАД (Д-НАД) и дезамино-НАДН (Д-НАДН) в эквимольном относительно НАД и НАДН количестве. Инкубирование смеси проводили при 37° в течение часа. Измерения осуществляли на спекорде типа *Uv vis* (ГДР) при длине волны 560 мкм [4]. Активность фермента рассчитывали в единицах Вроблевского на мг белка [8], белок определяли по Лоури и согр. [6].

Результаты и обсуждение. Результаты наших исследований показали, что дегидрирование лактата и образование пирувата у всех подопытных видов птиц интенсивнее протекает в ткани сердца (табл. 1). Интенсивность этой реакции относительно высокая также и в мозге, печени, почках. Каталитическая активность фермента низка в супернатанте легких.

Обратная реакция, т. е. образование лактата из пирувата, как видно из той же таблицы, также интенсивнее протекает в сердце, при этом активность фермента наивысшая в сердце голубей, затем ласточек, цесарок и, наконец, попугаев. Образование лактата из пирувата у всех изученных видов птиц интенсивно протекает также в печени и почках. Низкий уровень реакции отмечается в легких.

Результаты опытов, приведенные в табл. 1, показывают, что при добавлении Д-НАД процесс дегидрирования лактата во всех изученных органах птиц намного уступает реакции в присутствии НАД. Однако в тех же условиях опыта действие Д-НАДН оказалось намного эффективнее в процессе неогенеза лактата из пирувата по сравнению с НАДН. Аналогичные результаты нами получены также в опытах с тканями уток и гусей [1].

Имеющиеся литературные данные об активности и изменении изоферментного спектра ЛДГ в тканях различных животных противоречивы. В отдельных органах одного и того же вида рядом авторов обнаружены различные изоферменты ЛДГ. Отсутствуют четкие данные о наборе изоферментов в отдельных органах различных видов диких птиц. Результаты наших исследований показали неодинаковое содержание набора изоферментов ЛДГ в тканях исследованных птиц (табл. 2). Так, например, в отдельных органах (мозг, печень, почки, легкие и мышцы) голубей ЛДГ фигурирует в виде изоферментов ЛДГ₃ и ЛДГ₄, а в сердце обнаруживается только ЛДГ₁ и ЛДГ₂. Аналогичное распределение изоферментов ЛДГ обнаруживается в тканях ласточек. В тканях попугаев и цесарок оно несколько иное. В мозге, печени и легких попугаев обнаруживаются четыре изофермента ЛДГ—ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃ и ЛДГ₄, в скелетных мышцах—ЛДГ₁, ЛДГ₂ и ЛДГ₃, а в сердце—ЛДГ₁ и ЛДГ₂.

Интересна картина распределения изоферментов в тканях цесарок. В почках и легких этих птиц изоферменты представлены в двух формах—ЛДГ₃ и ЛДГ₄, в процентном отношении преобладает форма ЛДГ₃ как НАД-, так и Д-НАД-зависимого фермента. В мозге и печени фигурируют три, а в ткани сердца и скелетной мышце четыре изофермента.

Таблица 1

Общая активность (мкмоль пиридиннуклеотида/мг белка мин) и коферментная специфичность лактатдегидрогеназы в различных тканях ласточек, голубей, попугаев и цесарок

Ткань	Ласточки				Голуби				Попугаи				Цесарки			
	НАД	НАДН	Д-НАД	Д-НАДН	НАД	НАДН	Д-НАД	Д-НАДН	НАД	НАДН	Д-НАД	Д-НАДН	НАД	НАДН	Д-НАД	Д-НАДН
Мозг	0,1	4,0	0,1	6,1	0,6	4,8	0,4	7,6	0,5	4,3	0,4	6,9	0,4	3,9	0,2	5,8
Печень	0,5	25,9	0,3	31,4	0,7	21,5	0,6	24,2	0,4	5,4	0,3	7,0	0,5	10,2	0,2	15,1
Почки	0,4	11,5	0,3	12,8	0,8	11,0	0,6	16,8	—	—	—	—	0,4	6,2	0,2	11,7
Сердце	1,5	21,1	1,2	34,0	1,7	45,8	1,5	92,5	1,1	10,4	0,9	30,2	0,7	17,3	0,4	22,2
Легкие	0,07	1,1	0,02	1,5	0,1	1,3	0,1	1,6	0,2	0,3	0,1	1,2	0,1	1,4	0,08	2,2
Скелетная мышца	0,1	7,1	0,07	8,3	0,7	7,4	0,4	10,7	0,9	10,1	0,6	12,6	0,4	4,0	0,3	6,4

Содержание изоферментов ЛДГ в органах ласточек, голубей, попугаев и цесарок, % к общему содержанию фермента

Ткань	Изоферменты	Ласточки		Голуби		Попугаи		Цесарки	
		НАД	Д-НАД	НАД	Д-НАД	НАД	Д-НАД	НАД	Д-НАД
Мозг	ЛДГ ₁	—	—	—	—	31,6	22,7	—	—
	ЛДГ ₂	—	—	—	—	45,3	31,8	—	—
	ЛДГ ₃	64,4	86,7	74,2	56,4	13,9	37,4	76,2	79,3
	ЛДГ ₄	35,5	13,3	25,7	43,5	9,0	7,9	13,8	8,6
	ЛДГ ₅	—	—	—	—	—	—	9,9	12,0
Печень	ЛДГ ₁	—	—	—	—	21,4	30,3	—	—
	ЛДГ ₂	—	—	—	—	32,1	39,8	—	—
	ЛДГ ₃	85,7	86,2	61,3	59,5	30,5	20,7	63,0	70,7
	ЛДГ ₄	14,2	13,8	38,6	40,4	15,7	9,0	31,2	21,1
	ЛДГ ₅	—	—	—	—	—	—	5,7	8,0
Почки	ЛДГ ₃	71,8	73,6	71,2	69,2	—	—	70,4	85,7
	ЛДГ ₄	28,1	26,3	28,7	30,7	—	—	29,5	14,3
Сердце	ЛДГ ₁	13,0	6,3	31,0	34,7	41,4	68,9	18,9	14,1
	ЛДГ ₂	86,9	93,6	68,9	65,2	58,5	31,0	51,7	63,4
	ЛДГ ₃	—	—	—	—	—	—	20,7	15,3
	ЛДГ ₄	—	—	—	—	—	—	8,6	7,1
Легкие	ЛДГ ₁	—	—	—	—	19,8	10,8	—	—
	ЛДГ ₂	—	—	—	—	26,1	51,5	—	—
	ЛДГ ₃	72,5	74,3	55,4	54,5	29,9	22,1	70,9	74,2
	ЛДГ ₄	27,4	25,6	44,5	45,5	24,1	15,5	29,0	25,7
Скелетная мышца	ЛДГ ₁	—	—	—	—	24,9	44,6	—	—
	ЛДГ ₂	—	—	—	—	31,2	39,1	65,1	66,4
	ЛДГ ₃	81,6	82,3	75,1	58,7	43,7	16,1	19,2	13,2
	ЛДГ ₄	18,3	17,6	24,8	41,3	—	—	7,8	7,6
	ЛДГ ₅	—	—	—	—	—	—	7,7	12,7

Сопоставляя полученные нами данные, можно заключить, что у представителей различных отрядов и семейств класса птиц ЛДГ гетерогенна как своей активностью, так и набором соответствующих изоферментов. По сравнению с другими изученными птицами активность НАД-зависимой ЛДГ сравнительно высокая в отдельных тканях голубей. Определенная закономерность в активности НАДН-зависимой ЛДГ в тканях различных птиц не обнаруживается и она варьирует. Активность как НАД, так и НАДН-зависимых ЛДГ в печени и сердце намного выше по сравнению с другими органами. Каталитическое действие фермента сравнительно низкое в легких. В изученных тканях (кроме сердца) голубей и ласточек ЛДГ фигурирует в виде ЛДГ₃ и ЛДГ₄, а в сердце—ЛДГ₁ ЛДГ₂; во многих тканях попугаев и цесарок обнаруживаются четыре формы ЛДГ.

В наших опытах наблюдалось неодинаковое сродство ЛДГ к различным коферментам. По сравнению с НАД, дезамино-НАД оказался менее эффективным при гидрировании молочной кислоты и образовании пирувата. Однако дезамино-НАДН намного эффективнее влияет на обратную реакцию, т. е. на образование лактата из пирувата. Аналогичные результаты о специфичности действия отдельных коферментов ЛДГ получены и другими авторами в тканях млекопитающих животных [3].

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 12.II 1981 г.

ԼԱԿՏԱՏԻԶԻԴՐՈԳԵՆԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ,
ԻԶՈՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ՍՊԵԿՏՐԸ ԵՎ ԿՈՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ
ԽՆԱՄԱԿՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ԹՌԶՈՒՆՆԵՐԻ ՕՐԳԱՆՆԵՐՈՒՄ

Գ. Հ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, Ա. Ա. ՄԻՄՈՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է լակտատդեհիդրոգենազայի (ԼԴՀ) ակտիվությունը, կոֆերմենտային խնամակցությունը և իզոֆերմենտային կազմը աղալինների, ծիծեռնակների, թռվեղների և խայտաճավերի տարբեր օրգաններում (ուղեղ, լյարդ, երիկամներ, սիրտ, թոքեր, կմախքային մկաններ): Ցույց է տրվել, որ մյուս թռչունների համեմատությամբ ֆերմենտի ակտիվությունը ամենաբարձրն է աղալինների տարբեր հյուսվածքներում: Բոլոր թռչունների մոտ ֆերմենտի բարձր ակտիվությամբ աչքի են ընկնում լյարդի և սրտի հյուսվածքները: Դիտվել է ֆերմենտի ակտիվության տարբեր խնամակցություն դեպի առանձին կոֆերմենտները: ՆԱԴ-ի համեմատությամբ դեղամինո-ՆԱԴ-ը քիչ արդյունավետ է կաթնաթթվի դեհիդրոգենացման և պիրուվատի առաջացման պրոցեսում: Սակայն ՆԱԴԻ-ի համեմատությամբ դեղամինո-ՆԱԴԻ-ը ավելի ակտիվորեն է մասնակցում պիրոսաղողաթթվից կաթնաթթվի առաջացման ռեակցիայում:

THE CHANGES OF THE ACTIVITY, THE ISOENZYME SPECTRUM
AND THE CO-ENZYMIC AFFINITY OF THE
LACTATEDEHYDROGENASE IN THE ORGANS OF PIGEONS,
SWALLOWS, PARROTS AND GUINEA-FOWLS

G. H. BATIKIAN, A. A. SIMONIAN

The changes of the activity, the isoenzyme spectrum and the co-enzymic heterogeneity of the lactatedehydrogenase (LDH-) have been studied in tissues of different birds (pigeons, swallows, parrots, guinea-fowls). The affinity of the LDH has been detected towards different co-enzymes (NAD, NADH, D-NAD, and D-NADH). Different organs of the examined birds (brain, liver, kidneys, lungs, skeletal muscle) are distinguished by activity and set of the LDH isoenzymes.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Батикян Г. Г. Биолог. ж. Армении, 34, 4, 1981.
2. Батикян Г. Г., Симонян А. А. Биолог. ж. Армении, 33, 6, 626, 1980.
3. Мовсесян Н. О., Мовсесян С. Г., Биолог. ж. Армении, 29, 12, 8, 1976.
4. Мовсесян Н. О., Хумарян М. А., Мовсесян С. Г. Лаб. дело, 7, 445, 1976.
5. Cahn R. D., Kaplan N. O., Louine L., Zwillling E. Science, 136, 962, 1962.
6. Loury O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 19, 265, 1951.
7. Markert C. L.: In Cytodifferentiation and Macromolecular Synthesis. Acad. Press., New-York—London, 65. 1963.
8. Wroblewski F., La Dus J. S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 90, 210, 1955.