

РОЛЕ ЭСТРАДИОЛА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ И ИЗОФЕРМЕНТНОГО СОСТАВА ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТЕЧЕНИЕ ОНТОГЕНЕЗА КУР

Э. А. АРУТЮНЯН, Г. Г. БАТИКЯН, А. А. СИМОНЯН

Институт биохимии АН Армении, Ереван

Показано, что введение эстрадиола вызывает стимуляцию обеих реакций обмена лактата с заметным преваляированием процессов его синтеза в цитоплазме всех изученных тканей независимо от возрастной группы. После введения гормона отмечено появление новой илформы ЛДГ, характеризующейся более высоким содержанием субъединиц, адаптированных к анаэробному обмену. Предварительное введение актинимидина Д или пуromицина снимает эффект гормона на активность и изоферментный состав ЛДГ на всех стадиях онтогенетического развития.

Ուսումնասիրվել է էստրադիոլի ազդեցությունը լակտատաօդեհիչողակնագայի (ԼԴԸ) ակտիվության և իզոֆերմենտային կազմի վրա 5 օրական սաղմերի, 5 օրական նոսրի և նաև ևս չափերի ուղեղի, սրտի և լյարդի ցիտոպլազմայում և միտոքոնդրիումներում: Յուրջ է տրվել, որ նորմոնի ներարկման ճնտեանցով կախնաթթվի փոխանակության երկու ոնակցիաներն էլ ակտիվանում են, սակայն ավելի շատ գերակշռում են սինթեզի պրոցեսները: Այդ պրոցեսը նախկապես արտահայտված է ցիտոպլազմայում: էստրադիոլի ներարկման զեպրում նասակային բոլոր խմբերում երևան է պայես ԼԴԸ-ի նոր իզոն, որը ընտրվում է նրանով, որ պարունակում է ալբոնային փոխանակությանը նարմարված շատ ենթամիավորներ: Ակտոմիդին Դ-ի կամ պուրոմիդինի ներարկումը օնտոգենեզի բոլոր փուլերում չհոքրացնում է նորմոնի ազդեցությունը:

The lactate dehydrogenase (LDH) activity and isoenzyme composition were studied in mitochondria and cytoplasm of hens brain, heart and liver after estradiol injections on embryonal, early postembryonal and adult stages of development.

It was shown that estradiol increased predominantly the rate of lactate synthesis throughout ontogenesis especially in tissues cytoplasm. Hormone administration caused changes in LDH isoenzyme composition: in all stages of development increased the level of M-subunits of LDH. Actinomycin D or puromycin injected before estradiol administration abolished its effect on activity and isoenzyme composition of LDH during hens tissues maturation.

Лактатдегидрогеназа—изоферменты—онтогенез

Ранее нами было установлено, что под влиянием тироксина происходят существенные сдвиги в активности и изоферментном составе ЛДГ в различных тканях кур в ходе онтогенетического развития [1, 2]. Эти исследования выдвинули закономерный вопрос о том, являются ли функциональные и структурные изменения ЛДГ тканей кур специфическими, имеющими место только при воздействии тироксина, или они отражают универсальную реакцию этого фермента на изменение уровня любого гормона в организме кур.

При ознакомлении с литературой наше внимание привлекли сведения об эстрадиоле. Введение радиоактивного эстрадиола вызывает его

Сокращения: ЛДГ—лактатдегидрогеназа

накопление в ряде тканей, но при этом в некоторых из них, в частности, в мозге, этот процесс наблюдается и после снижения уровня гормона в крови [6]. В тканях, характеризующихся высоким уровнем захвата эстрадиола, обнаружено наличие специфических участков связывания гормона [9]. Введение эстрадиола повышает в различных отделах мозга активность ряда ферментов, в том числе и ЛДГ [5]. Показано активирующее влияние эстрадиола на ЛДГ в передней доле гипофиза [7]; в этой же ткани изучены динамика активности и изоферментного спектра ЛДГ в зависимости от пола и возраста крыс [8]. Имеются данные о влиянии эстрадиола на активность ЛДГ в печени крыс [3].

В свете изложенного нами проведено изучение влияния эстрадиола на активность и изоферментный состав ЛДГ в тканях кур на различных стадиях онтогенетического развития.

Материал и методика. Опыты проводили на цитоплазматической и митохондриальной фракциях мозга, сердца и печени 20-дневных эмбрионов (стадия вылупления), 5-дневных цыплят (равный постэмбриональный период) и зрелых кур. Эстрадиол вводили эмбрионам в пугу яйца по 0,05 мкг/г массы однократно за 3 дня до забоя, цыплятам и курам внутривентриально по 1,0 и 10,0 мкг/г массы соответственно в течение 7 дней.

Активность ЛДГ определяли в реакциях окисления и неогенеза лактата на спектрофотометре марки «Spectrd UV-V» и выражали в микролях НАД (НАДН)/мг белка/мин [2].

Для разделения изоферментов ЛДГ использовали метод диск-электрофореза в полиакриламидном геле по Орстейну и Дэвису с модификации Лица; сканирование окрашенных формазановых колец геля проводили на приставке к спектроду при длине волны 560 нм. Активность изоферментных фракций рассчитывали в единицах Вроблевского (мг белка/мин) и обозначали как условную удельную активность [1]. В отдельной серии опытов изучали влияние актиномицина Д и пуromицина на активность и изоферментный состав ЛДГ; ингибиторы белкового синтеза вводили по 50 мкг/100 г массы за 30 мин до введения эстрадиола.

Результаты и обсуждение. Данные о влиянии эстрадиола на активность ЛДГ в реакциях окисления и синтеза лактата показывают, что гормон вызывает стимуляцию обеих реакций во всех тканях кур, особенно в мозговой. Из полученных результатов видно, что на каждой стадии развития ускорен активирования реакции синтеза лактата, особенно в цитоплазме, выше, чем в реакции его окисления. Максимальный эффект активирования синтеза лактата: в сердце—на эмбриональной стадии развития (в цитоплазме 107%, в митохондриях—88%), в печени—у зрелых птиц (105 и 95%), в мозге—как в эмбриональной (141 и 91%), так и зрелой ткани (132 и 99%). Высокий уровень стимуляции окисления лактата наблюдается в цитоплазме эмбрионального (91%) и митохондриях зрелого мозга (82%), зрелой печени (74%) и сердца эмбриона (78%).

Поскольку гормональная регуляция ферментов осуществляется путем влияния на соотношение их множественных молекулярных форм, был исследован изоферментный состав ЛДГ после введения эстрадиола. Установлено, что в тканях кур, содержащих в норме одну изоформу ЛДГ (в мозге и печени—ЛДГ₁, в сердце—ЛДГ₂), при введении эстрадиола появляется одна новая изоформа (табл. 1—3). В субфракциях мозга и печени на всех стадиях онтогенеза появляется изоформа ЛДГ₃, сердца—ЛДГ₄. При этом в цитоплазме мозга и печени превалирует ин-

Таблица 1. Изоферментный состав ЛДГ в ткани мозга кур после нагрузки эстрадиолом и влияние ингибиторов биосинтеза белков

Стадии развития	Изоферменты	Цитоплазма					Митохондрии				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
20-дневные эмбрионы	ЛДГ ₁	0.80±0.10	0.44±0.01	19.3	0.44±0.01	0.10±0.01	0.50±0.04	0.51±0.04	4.6	0.39±0.01	0.07±0.01
	ЛДГ ₂		1.84±0.15	80.7				0.28±0.02	5.4		
5-дневные цыплята	ЛДГ ₁	0.35±0.01	0.16±0.01	13.2	0.23±0.02	0.21±0.02	0.35±0.01	1.00±0.12	82.6	0.20±0.02	0.10±0.01
	ЛДГ ₂		1.05±0.14	86.8				0.21±0.02	17.4		
Куры (6)	ЛДГ ₁	0.70±0.04	0.25±0.01	26.6	0.29±0.03	0.07±0.01	0.61±0.10	0.50±0.10	78.3	0.28±0.03	0.24±0.03
	ЛДГ ₂		0.69±0.04	73.4				0.25±0.02	21.7		

1—контроль, 2—эстрадиол, 3—распределение изоферментов в %, 4—актиномицин+эстрадиол, 5—пуromинин+эстрадиол.

Таблица 2. Изоферментный состав ЛДГ в ткани сердца кур после нагрузки эстрадиолом и влияние ингибиторов биосинтеза белков

Стадии развития	Изоферменты	Цитоплазма					Митохондрии				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
20-дневные эмбрионы	ЛДГ ₁	0.40±0.01	0.61±0.02	58.7	0.32±0.02	0.15±0.01	0.50±0.01	0.53±0.01	63.9	0.26±0.03	0.15±0.01
	ЛДГ ₂		0.43±0.02	41.3				0.3±0.02	36.1		
5-дневные цыплята	ЛДГ ₁	0.30±0.01	0.56±0.02	82.9	0.17±0.01	0.06±0.01	0.35±0.01	0.4±0.02	76.3	0.12±0.01	0.06±0.01
	ЛДГ ₂		0.12±0.01	17.1				0.14±0.01	23.7		
Куры	ЛДГ ₁	1.08±0.12	0.59±0.1	76.2	0.31±0.04	0.16±0.01	0.40±0.01	0.97±0.1	70.3	0.29±0.03	0.19±0.02
	ЛДГ ₂		0.31±0.02	23.8				0.41±0.02	29.7		

Т а б л и ц а 3. Изоферментный состав ЛДГ в ткани печени кур после нагрузки эстрадиолом и влияние ингибиторов биосинтеза белков

Стадия развития	Изофермент	Цитоплазма					Митохондрии				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
20-дневные эмбрионы	ЛДГ ₁	0.62±0.02	0.18±0.01	17.8	0.20±0.01	0.07±0.01	0.78±0.03	0.81±0.05	85.3	0.19±0.02	0.05±0.01
	ЛДГ ₂		0.83±0.05	82.2				0.14±0.01	14.7		
5-дневные цыплята	ЛДГ ₁	0.34±0.01	0.31±0.01	34.1	0.15±0.01	0.11±0.01	0.23±0.01	0.37±0.02	69.8	0.13±0.01	0.06±0.01
	ЛДГ ₂		0.60±0.03	65.9				0.16±0.01	30.2		
Куры	ЛДГ ₁	0.60±0.02	0.31±0.02	39.8	0.26±0.03	0.15±0.01	0.72±0.03	1.07±0.12	79.0	0.24±0.03	0.05±0.01
	ЛДГ ₂		0.73±0.04	70.2				0.28±0.02	21.0		

дуцированная изоформа ЛДГ₃, на долю которой приходится 70—80% тотальной активности, а в их митохондриях—исходная изоформа ЛДГ₁. В цитоплазме и митохондриях сердца на всех стадиях развития большая часть активности связана с исходной изоформой ЛДГ₁.

Предварительное введение ингибиторов белкового синтеза до нагрузки эстрадиолом снимает эффект гормона, проявляющийся в повышении активности и усложнении изоферментного состава ЛДГ. Несколько подавляющий эффект оказывает как актиномицин Д, так и пуромицин, т.е. очевидно, что эстрадиол влияет на стадии трансляции и транскрипции белков; последняя, судя по величине условной активности, блокируется гораздо сильнее.

Из полученного материала видно, что эстрадиол вызывает активирование метаболизма лактата с более выраженным эффектом в отношении его синтеза, особенно в цитоплазме изученных тканей; изоферментный состав ЛДГ под его воздействием усложняется во всех тканях по ходу развития однонаправленно, за счет появления изоформы с более высоким содержанием субъединиц, адаптированных к анаэробному обмену. Из этого следует, что эстрадиол вызывает сдвиги, направленные на превалирование анаэробных путей метаболизма, причем их онтогенетическая динамика имеет четко выраженную тканевую специфичность. Вместе с тем благодаря избирательному распределению изоформ ЛДГ в митохондриях тканей сохраняются условия для поддержания достаточно высокого уровня окисления лактата.

Сравнительная оценка влияния эстрадиола и тироксина на ЛДГ тканей кур показывает, что общим в их действиях являются стимуляция активности ЛДГ и усложнение ее изоферментного спектра с наиболее выраженным эффектом в ткани мозга. Отличие действия тироксина состоит в преимущественном усилении окислительных процессов в митохондриях эмбриональных тканей и гликолитических — в цитоплазме зрелых тканей, что обеспечивается за счет появления до 3 новых изоформ ЛДГ со специфическим их распределением на соответствующих стадиях онтогенеза. Из этого сопоставления явствует, что тироксин проявляет функциональную специализацию к тонкому регулированию энергетического обмена организма соответственно стадиям развития, в то время как эстрадиол имеет более ограниченный спектр действия, обусловленный односторонним направлением интенсификации обменных реакций с выраженной тканевой зависимостью.

Литературные данные свидетельствуют, что изоферментный состав ЛДГ в различных тканях крыс под воздействием эстрадиола претерпевает изменения, сходные с обнаруженными нами в тканях кур. Так, после введения эстрадиола незрелым самкам крыс было обнаружено усиление синтеза М-субъединиц ЛДГ, которое снимается после введения актиномицина Д [4]. Показано, что эстрадиол вызывает изоферментную перестройку ЛДГ, приводящую к снижению соотношения П/М субъединиц в передней доле гипофиза. При этом установлено, что синтез энзимного белка *de novo* и регуляция субмолекулярной организации фермента индуцируются гормоном [7, 8].

Таким образом, и в филогенетическом аспекте влияние эстрадиола выражается в индукции синтеза М-субъединиц, обеспечивающих анаэробный метаболизм. Надо полагать, что этот фактор имеет особо важное значение для тканей, преимущественно работающих в анаэробных условиях. В тканях же, использующих в основном окислительные пути для снабжения энергией, влияние этого гормона, по-видимому, может приобретать особое значение в условиях кислородной недостаточности, в частности, при ограниченном доступе кислорода к тканям эмбриона.

Касаясь особенностей гормонального контроля ЛДГ в онтогенезе кур в свете материала, полученного в экспериментах с эстрадиолом и тироксином, следует особо выделить выраженное активирование реакции обмена лактата в эмбриональной и зрелой ткани мозга. Эти данные могут рассматриваться как важное свидетельство функционирования компенсаторных механизмов, обеспечивающих адаптацию метаболизма мозга птиц к колебаниям уровня гормонов в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Л. А., Батикян Г. Г., Симонян А. А. Журн. эвол. биох. физиол., 25, 10, 1989.
2. Батикян Г. Г., Арутюнян Л. А., Симонян А. А. Укр. биохим. журн., 61, 51, 1989.
3. Dahm C. H., Jellinek J. M., Minigawa J., Pan P. S. Biol. of Reproduction, 17, 734, 1978.
4. Friedlander T. L., Kaplan N. O. J. Biol. Chem., 239, 131, 1964.
5. Ellis V. N., Kizilevskaia R. L., McEwen B. S. J. Neurochem., 23, 925, 1970.
6. Ивлев В. С., Плав Д. В. Brain Res., 21, 1, 1971.
7. Nagy I., Hirka G., Kurec M., Anda E., Baranyai P. Endokrinologie, 78, 1, 1978.
8. Nagy I., Hirka G., Kurec M., Anda E., Baranyai P. Endokrinologie 73, 13, 1978.
9. Zizwill R. E., McEwen B. S. J. Neurochem., 17, 849, 1970.

Поступило 8.II 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 12, (43), 1990

УДК 635.64:575.113.7

ОБ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ НЕКРОТИЧЕСКИХ И ФЕНОТИПИЧЕСКИ НОРМАЛЬНЫХ РАСТЕНИЙ ГИБРИДОВ *Lycopersicon esculentum* MILL \times *L. hirsutum* HUMB. ET BONPL.

А. М. АГАДЖАНИЯ

Армянский научно-исследовательский институт земледелия, г. Эчмиадзин

Показано, что некротические растения сублетальных гибридов *L. esculentum* \times *L. hirsutum* в селекционном отношении имеют известные преимущества перед фенотипически нормальными особями тех же комбинаций. В беккроссных семьях культурного томата с гибридными растениями подавляется генетическая рекомбинация по признакам величины и окраски плодов. Созревание плодов у беккроссов часто протекает очень медленно.

L. esculentum և *L. hirsutum* ֆ իսպանական և արաբական տեղաբերքները մեր ստորին աշխարհի հիբրիդների նկատմամբ բնականորեն առավել արժան և զարմանալի է. ունեն զգալի առավելագույն քանակությամբ զարմանների ծորակ սնունդների նկատմամբ: