

РОЛЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В АДАПТАЦИЯХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ КАРЕЛИИ

А. Р. УНЖАКОВ, В. А. ИЛЮХА, Н. В. МАЦУК, В. В. БЕЛКИН

Институт биологии Карельского научного центра РАН

В экстрактах тканей сердца, почек, скелетных мышц, печени, легких, селезенки у американской норки (*Mustela vison* L.), песца (*Alopex lagopus*), лисицы (*Vulpes vulpes* L.), лесной куницы (*Martes martes* L.), лося (*Alces alces* L.), европейского бобра (*Castor fiber* L.), канадского бобра (*Castor Canadensis* Kuhl), зайца-беляка (*Lepus timidus* L.), рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) в пластинках агарового геля методом электрофореза выявлены видовые особенности в органном распределении изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ; НФ 1.1.1.27). При сохранении общей закономерности распределения изоферментов ЛДГ в различных органах обнаружены видовые различия. Изоэнзимный спектр печени зайца-беляка отличается от изоспектра грызунов значительным содержанием гибридных фракций. В изоферментном спектре тканей почек, легких, селезенки и печени у лося выявлено высокое содержание ЛДГ-1, что свидетельствует о смещении равновесия гликолитических процессов у жвачных животных в сторону образования пирувата – основного субстрата для глюконеогенеза. Европейский и канадский бобры, близкие в систематическом отношении виды, имели выраженные различия на уровне изоэнзимного спектра ЛДГ легких и почек.

A. R. UNZHAKOV, V. A. ILUKHA, N. V. MATSUK, V.V. BELKIN. THE ROLE OF ISOENZYMES OF LACTATE DEHYDROGENASE IN MAMMALS ADAPTATION IN KARELIA

Specificity of organ distribution of isoenzymes of lactate dehydrogenase (LDH; EC 1.1.1.27) was studied by electrophoretic method in agar plates. Extracts of tissues of heart, kidney, skeletal muscle, liver, spleen, lungs of American mink (*Mustela vison* L.), Arctic fox (*Alopex lagopus*), silver fox (*Vulpes vulpes* L.), pine marten (*Martes martes* L.), moose (*Alces alces* L.), European beaver (*Castor fiber* L.), Canadian beaver (*Castor Canadensis* Kuhl), mountain hare (*Lepus timidus* L.) and bank vole (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) were examined. In the presence of common pattern of LDH isoenzymes distribution in different organs the specific differences were revealed though. The spectrum of isoenzymes in liver tissue of mountain hare differs from the one in rodents by considerable content of LDH hybrid fractions. Isoenzyme spectrum in the tissues of kidney, lungs, spleen and liver in moose has high content of LDH-1, which testifies to the disbalance of glycolytic processes in ruminants towards formation of piruvate, which is the basic substratum for gluconeogenesis. European and Canadian beavers being systematically closed species, have specific differences in LDH isoenzyme spectrum, which are the most pronounced in lungs and kidney.

Введение

Проблема взаимоотношения организма животных и его окружающей среды нашла отражение в работах отечественных исследователей — Е. М. Крепса, Л. А. Орбели, Н. И. Калабухова, П. А. Коржуева, А. Д. Слонима и мн. других. В своих трудах эти исследователи подчеркивали важность познания биохимических и физиологических особенностей организма млекопитаю-

щих в его сложных взаимоотношениях с внешней средой.

Известно, что одним из самых древних в эволюционном отношении биохимическим процессом получения энергии является гликолиз. Он достаточно хорошо изучен, но есть вопросы, которые до сих пор остаются мало исследованными, особенно, это касается роли данного процесса в адаптациях различных видов животных.

Использование для приспособления к условиям среды различных наборов изоферментов является одной из стратегий биохимической адаптации (Хочачка, Сомеро, 1988). Множественные молекулярные формы ферментов, участвующие в процессах приспособления организма, обеспечивают специфический обмен для каждого типа тканей (Райдер, Тейлор, 1983). Установление органной специфичности набора изоферментов, в частности изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ), позволяет выявить присущий тканям метаболический профиль, а также определить направленность реакций гликолиза (Кожевникова, 1987; Глазко, 1988). Хорошо известно, что уровень энергетического обмена зависит от экологических особенностей вида (Соколов, 2003). Изоферменты ЛДГ, поддерживая определенный для цитоплазмы клеток уровень восстановительных эквивалентов, сопряжены с процессами углеводного и энергетического обмена в клетках и в общем играют важную роль в адаптивных реакциях целого организма (Ленинджер, 1985).

Учитывая то, что исследуемые нами животные — представители различных экологических групп, постоянно испытывающие воздействие специфических экологических факторов, представляет интерес сравнительно-видовое изучение изоферментных спектров ЛДГ у данных видов.

Материалы и методы исследования

Объектами изучения являлись пушные звери клеточного содержания: американская норка (*Mustela vison* L.) — 6 экз., песец (*Alopex lagopus*) — 17, лисица (*Vulpes vulpes* L.) — 10 экз., а также млекопитающие, добытые в природе: куница лесная (*Martes martes* L.) — 2 экз., лось (*Alces alces* L.) — 9, европейский бобр (*Castor fiber* L.) — 9, канадский бобр (*Castor Canadensis* Kuhl) — 3, заяц-беляк (*Lepus timidus* L.) — 3, рыжая полевка (*Clethrionomys glareolus* Schreb.) — 3 экз. Норки, песцы и лисы были выращены в зверохозяйстве ЗАО «Пряжинское». Органы остальных видов млекопитающих, добытых в природе на территории Карелии, были любезно предоставлены сотрудниками лаборатории зоологии Института биологии КарНЦ РАН.

Образцы тканей сердца, почек, легких, селезенки, печени и скелетной мышцы исследуемых животных до проведения биохимического анализа хранили в низкотемпературной камере ($t^{\circ} = -25^{\circ}\text{C}$). Для исследования изоферментного спектра ЛДГ гомогенаты тканей готовили на

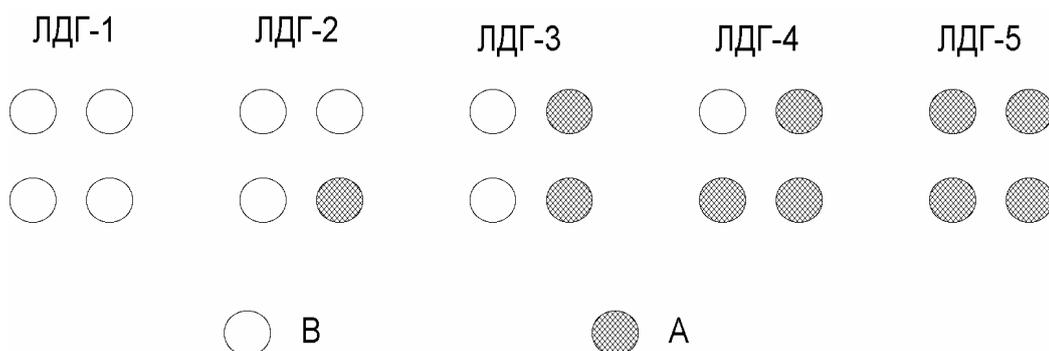
0,05 М фосфатном буфере ($\text{pH}=7,0$). После центрифугирования при 6000g в течение 15 мин. в супернатантах проводили разделение изоферментов ЛДГ методом горизонтального энзимэлектрофореза на пластинках агарового геля с последующим окрашиванием и сканированием фореграмм (Кожевникова и др., 2000). Содержание каждого изофермента выражали в процентах от общей ферментативной активности.

Результаты были обработаны общепринятыми методами вариационной статистики (Ивантер, Коросов, 2003). Оценку достоверности различий проводили с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни с использованием компьютерной программы Statgrafics 2.0 for Windows.

Результаты и обсуждение

У большинства млекопитающих и птиц ЛДГ в органах представлена пятью изоформами (Райдер, Тейлор, 1983). Каждый изофермент ЛДГ (рис.) представляет собой тетрамер и образуется при различных сочетаниях четырех субъединиц двух типов — мышечного (muscle) — М (или А) и сердечного (heart) — Н (или В), синтез которых контролируется двумя неаллельными аутосомными генами — LDH-A и LDH-B (Уилкинсон, 1968; Корочкин и др., 1977; Глазко, 1988). Эволюционное значение появления генных локусов LDH-A или LDH-B, которые произошли в прошлом в порядке дубликации единого предка LDh (Корочкин и др., 1977) заключалось в необходимости приспособления животных к среде обитания.

Лактатдегидрогеназа катализирует реакцию взаимопревращения лактата и пирувата, сопровождаемую изменением $\text{НАД}\cdot\text{Н}$ и НАД^+ . Показано, что изоформа ЛДГ-5 (A_4) характеризуется низким сродством к пирувату, т.е. действует наиболее эффективно при концентрации пирувата 10^{-3}M . В то же время ЛДГ-1 (B_4) обладает высоким сродством к пирувату и лучше функционирует при его концентрации $2\cdot 10^{-4}\text{M}$. Если пируват занимает ключевое положение в углеводном обмене, то роль лактата не столь велика и он служит лишь временным акцептором электронов или окислителем в условиях недостаточного снабжения тканей кислородом. Отсюда, важная функция ЛДГ — это не восстановление пирувата или окисление лактата, а регуляторное соотношение количества НАД^+ и $\text{НАД}\cdot\text{Н}$, поскольку именно оно влияет на скорость многих каталитических реакций. Из этого следует, что присутствие ЛДГ-5 наиболее желательно в тех тканях, которые испытывают дефицит кислорода (т.е. функционирует в анаэробных условиях).



Тетрамерная структура изоферментов ЛДГ млекопитающих

В отсутствие кислорода НАД·Н не может быть вновь окислен до НАД⁺ и, следовательно, гликолиз должен бы остановиться. Наличие же ЛДГ-5, характеризующееся низким сродством к пирувату, делает возможным окисление НАД·Н до НАД⁺ вследствие превращения пирувата в лактат, т.е. энергия выделяется в анаэробных условиях до тех пор, пока концентрация лактата не будет критической. В аэробных тканях, где нет дефицита O₂, желательное присутствие ЛДГ-1, для которой характерно высокое сродство к субстрату.

Напряжение O₂ в тканях и наличие субстратов окисления являются одним из решающих факторов в регуляции активности того или иного типа субъединиц, а два крайних («чистых») изофермента ЛДГ-1 и ЛДГ-5 несут на себе основную регуляторную нагрузку в процессе метаболической перестройки (Everse, Kaplan, 1973). В тех тканях, в которых периодически создаются как аэробные, так и анаэробные условия, совместное присутствие обоих изоферментов А и В-типа является наиболее выгодным (Оно, 1973).

В результате изучения было установлено, что лактатдегидрогеназа присутствует во всех исследованных органах в пяти молекулярных формах: от быстрой анодной фракции — ЛДГ-1 до медленной катодной — ЛДГ-5. У большинства изученных видов млекопитающих можно выделить три группы тканей, характеризующихся определенным набором изоферментов. Первая группа объединяет ткани сердца и почек, в которых преобладают анодные фракции, отражающие аэробный тип метаболизма. Анализ полученных данных показал, что суммарное содержание анодных форм в сердце млекопитающих составляет более двух третей от общего содержания ЛДГ (табл. 1.). Суммарное количе-

ство ЛДГ-1 и ЛДГ-2 варьировало от 68,8% у норки до 92,4 у лося. Доля катодных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5 была незначительной — от 0% у рыжей полевки до 5,5 у песка. В количественном отношении все пять фракций ЛДГ сердца укладываются в ряд в порядке убыви активности: ЛДГ-1 > ЛДГ-2 > ЛДГ-3 > ЛДГ-4 > ЛДГ-5. Исключением являются изоферментные спектры ЛДГ сердца у куницы лесной и норки американской. У этих видов доля ЛДГ-2 больше, чем ЛДГ-1.

Источником работы почек, осуществляющих выделительную функцию, служит гликолиз, энергия которого реализуется в процессах клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции и затрат на образование концентрированной мочи (Наточин, 1982). Имеются данные о способности почек к аэробному гликолизу (Райдер, Тейлор, 1983), что подтверждается относительно высоким суммарным содержанием анодных изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-2 у большинства исследованных зверей (табл. 2). Активность электрофоретических фракций, так же как и в сердце, убывала в ряду ЛДГ-1 > ЛДГ-2 > ЛДГ-3 > ЛДГ-4 > ЛДГ-5.

Вместе с тем у некоторых из изучаемых млекопитающих обнаружены видовые особенности. Так, в тканях почек лося суммарное содержание ЛДГ-1 и ЛДГ-2 по сравнению с другими видами было самым высоким, составляя 92,5%, ЛДГ-4 — самым низким (0,5% от общей активности), фракция ЛДГ-5 практически отсутствовала (соотношение субъединиц В:А равнялось 90:10). Это свидетельствует о значительном преобладании аэробных процессов у этих представителей парнокопытных, что, возможно, связано с особенностью питания и обмена веществ у исключительно растительноядного лося (Кочанов и др., 1981; Вебер и др., 1992).

Таблица 1. Изоферментные спектры ЛДГ сердца у млекопитающих

Виды	Фракции, %					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBBA)	ЛДГ-3 (BBAА)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	33,3±0,5	35,5±0,4	28,2±0,4	2,6±0,5	0,5±0,2	74,6	25,4
Песец	54,2±0,5	36,1±0,7	4,2±0,5	3,0±0,4	2,5±0,4	84,1	15,9
Лисица	36,6±1,6	37,2±1,8	20,6±1,2	3,8±0,7	1,8±0,3	75,8	24,2
Европейский бобр	48,7±4,8	34,8±1,9	13,7±4,0	2,4±1,3	0,4±0,3	82,3	17,8
Канадский бобр	59,5±13,0	24,2±2,0	13,2±11,6	3,1±3,1	0	85,0	15,0
Заяц-беляк	43,8±8,1	38,1±1,4	16,9±7,3	1,2±0,8	0	81,1	18,9
Лесная куница	37,7±7,9	42,4±3,9	16,7±11,8	3,2±0,2	0	78,7	21,4
Лось	60,0±7,4	32,4±5,4	6,4±3,0	1,2±0,2	0	87,8	12,2
Рыжая полевка	50,1±0,8	38,2±1,8	11,7±1,8	0	0	84,6	15,4

Таблица 2. Изоферментные спектры ЛДГ почек у млекопитающих

Виды	Фракции					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBBA)	ЛДГ-3 (BBAА)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	37, ±1,2	33,1±0,9	23,9±1,1	5,7±0,5	0,3±0,2	75,2	24,8
Песец	31,5±0,8	16,4±0,5	9,3±0,3	9,5±0,5	33,3±0,8	50,8	49,2
Лисица	25,5±1,5	17,4±1,2	16,1±1,4	17,0±1,1	24,0±1,2	50,9	49,1
Европейский бобр	55,2±3,5	29,7±2,1	12,7±1,8	1,9±0,6	0,5±0,3	84,3	15,7
Канадский бобр	32,7±1,0	23,0±2,3	30,4 ±2,8	13,1±3,0	0,8±0,4	68,4	31,6
Заяц-беляк	47,9±3,3	25,8±2,7	19,8±2,9	5,8±1,6	0,7±0,7	78,6	21,4
Лесная куница	38,0±2,1	32,1±2,9	21,7±0,5	4,9±2,1	3,3±3,3	74,2	25,9
Лось	67,9±2,6	24,6±1,6	7,0±1,2	0,5±0,3	0	90,0	10,0
Рыжая полевка	32,5±5,5	29,5±0,9	18,2±3,8	13,7±4,7	6,1±2,1	67,2	32,9

Интересно отметить, что в почках песцов и лисиц, по существу, содержание В- и А- субъединиц было почти равным. Их соотношение составляло 51:49, т.е. аэробный гликолиз в почках уравновешивался анаэробным. Последнее является видовой особенностью работы почек у песцов и лисиц как у представителей отряда Собачьих (Наточин, 1982; Давыдов, 1982; Шмидт-Ниельсон, 1972). Известно, что у песцов, как и у других собачьих, в почках наблюдается усиленный синтез ЛДГ-5. Его содержание составляет, по данным J. Everse, O. N. Kaplan (1975), 30,7±1,9% от общей активности, что обеспечивает достаточно высокое содержание А-субъединиц фермента.

У канадского бобра в изоферментном спектре почек при общем доминировании анодных фракций ЛДГ-1 и ЛДГ-2 (55,6%) значительная доля приходится на гибридную форму ЛДГ-3 (30,6%). В количественном отношении изоферментный спектр ЛДГ выглядит следующим обра-

зом: ЛДГ-1 > ЛДГ-3 > ЛДГ-2 > ЛДГ-4 > ЛДГ-5. При сравнительном анализе изоферментных спектров ЛДГ двух видов бобров обнаружено, что в изоэнзимном спектре почек у европейского бобра по сравнению с канадским выявляется более высокое относительное содержание аэробной фракции ЛДГ-1.

В легких (табл. 3.) у исследованных животных преобладали гибридные фракции ЛДГ. Так, суммарное содержание ЛДГ-2, ЛДГ-3 и ЛДГ-4 варьировало от 47% у полевки до 84,2% у канадского бобра. Значительная доля в изоферментном спектре полевки приходилась на катодную фракцию ЛДГ-5, содержание которой составляло соответственно 46,2 и 31,6%.

У лося максимальное содержание приходилось на анодную фракцию ЛДГ-1, которая составляла 45,4%. В порядке убывания относительного содержания фракции ЛДГ располагаются следующим образом: ЛДГ-1 > ЛДГ-2 > ЛДГ-3 > ЛДГ-4 > ЛДГ-5.

Таблица 3. Изоферментные спектры ЛДГ легких у млекопитающих

Виды	Фракции					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBVA)	ЛДГ-3 (BBAА)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	3,1±0,5	6,8±1,1	29,7±2,5	33,7±3,1	26,7±2,2	31,5	68,5
Песец	9,9±0,8	23,4±0,8	27,3±0,8	12,4±1,3	27,0±1,4	44,2	55,8
Европейский бобр	26,0±4,4	30,8±1,9	27,8±2,7	12,1±2,8	3,3±1,2	66,0	34,0
Канадский бобр	15,0±3,7	30,1±3,3	36,4±3,5	17,8±4,6	0,7±0,7	60,2	39,8
Заяц-беляк	29,3±17,5	31,4±0,9	21,3±10,8	4,5±3,2	13,5±2,7	64,6	35,4
Лесная куница	16,9±3,1	34,9±0,6	29,6±2,9	17,6±0,8	1,0±0,1	62,3	37,7
Лось	45,4±5,4	32,1±1,4	17,8±3,7	2,6±1,0	2,0±1,7	79,1	20,9
Рыжая полевка	21,5±3,3	17,4±0,6	15,0±2,4	14,5±3,2	31,6±3,0	45,7	54,3

При сравнительном анализе изоферментных спектров ЛДГ двух видов бобров обнаружено, что спектре тканей легких у европейского вида по сравнению с канадским проявляется более высокий уровень аэробного изофермента ЛДГ-1. При этом относительное содержание аэробного изоэнзима составило у европейского бобра $26,0 \pm 4,4\%$, а у канадского — $15,0 \pm 3,7\%$. У полевки и лося отмечено примерно равное содержание гибридных фракций лактатдегидрогеназы (ЛДГ-2, ЛДГ-3 и ЛДГ-4) и остальных изоферментов (ЛДГ-1 и ЛДГ-5).

В селезенке (табл. 4) практически у всех видов млекопитающих наблюдали доминирование гибридных фракций ЛДГ. Суммарное содержание ЛДГ-2, ЛДГ-3 и ЛДГ-4 варьировало от 53,9% у куницы до 86,4 у европейского бобра.

Количественное преобладание ЛДГ-5 (60,6%) отмечено в изоферментном спектре рыжей полевки, анодные фракции (ЛДГ-1 и ЛДГ-2) не выявлены. В целом на долю катодных фракций (ЛДГ-4 и ЛДГ-5) в изоферментном спектре этого вида приходилось 93,74%. Высокое содержание анодных фракций ЛДГ-1 и ЛДГ-2 отмечено у лося, количество которых составляло в сумме 38,7 и 35,2% соответственно, наряду с относительно высоким содержанием гибридной фракции ЛДГ-3 (23,4%). Доля катодных форм лактатдегидрогеназы была незначительной. Несмотря на большое количество анодных фракций, относительное содержание гибридных форм ЛДГ все же доминировало и составляло 63,9%.

Также значительное содержание анодной фракции ЛДГ-1 выявлено у зайца-беляка (22,3%), причем наличие пятой катодной фракции ЛДГ не было обнаружено.

Таким образом, легкие и селезенка составляют группу тканей с доминированием гибридных фракций ЛДГ. В изоферментном спектре селезенки содержание гибридных фракций превышало 53%. У лося в изоферментном профиле

ЛДГ при общем доминировании гибридных фракций наблюдалось значительное количество первой анодной фракции (примерно треть от общего содержания фермента) и ничтожно малое количество пятой катодной фракции (менее 1%). Похожая картина наблюдалась в тканях легких, где преобладало содержание гибридных фракций. Несколько иное распределение изоферментов было в легких у лося, у которого отмечено высокое процентное содержание анодных фракций ЛДГ.

Наиболее выраженная видовая специфика распределения изоферментов ЛДГ отмечена в печени (табл. 5.). Для этого органа характерна высокая степень анаэробного гликолиза. Подтверждением этого является высокое относительное содержание катодных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5 в изоферментном профиле ЛДГ, которое превышало 60% у большинства исследуемых видов. Суммарное количество этих фракций варьировало от 62,9% у бобра канадского до 88,9 у полевки рыжей. Особенно высокое содержание ЛДГ-5 отмечено у песца и полевки, количество которой составляло 68,7 и 65,6% соответственно.

Весьма специфичными оказались изоферментные спектры ЛДГ печени лесной куницы, зайца-беляка и особенно лося. Содержание ЛДГ-4 и ЛДГ-5 у последнего не превышало 10%. При этом отмечено доминирование анодных фракций над катодными почти в 8 раз. Значительное количество анодных фракций у жвачных животных свидетельствует о смещении равновесия гликолитических процессов в сторону образования пирувата — основного субстрата для глюконеогенеза.

У лесной куницы в изоферментном спектре наблюдали высокое содержание анодной фракции ЛДГ-1 (42,5%), а количество катодных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5 составило только 40,3%.

Таблица 4. Изоферментные спектры ЛДГ селезенки у млекопитающих

Виды	Фракции					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBVA)	ЛДГ-3 (BBAА)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	3,2±0,4	19,0±1,2	38,0±1,4	25,8±1,5	14,0±1,7	42,9	57,1
Песец	7,7±0,8	29,1±0,5	34,4±0,9	9,9±0,4	18,9±0,8	49,2	50,8
Европейский бобр	6,9±1,0	26,0±1,4	38,9±1,6	21,5±1,3	6,7±1,8	51,2	48,8
Канадский бобр	4,8±0,5	21,6±2,6	45,6±4,6	19,1±4,4	8,9±2,7	48,6	51,4
Заяц-беляк	22,3±6,0	36,6±4,8	30,8±5,0	10,3±3,9	0,0±0,0	67,7	32,3
Лесная куница	12,5±2,8	17,1±4,1	17,7±2,5	19,2±5,9	33,5±1,5	39,0	61,0
Лось	35,2±3,1	38,7±1,6	23,6±3,5	1,8±1,2	0,7±0,4	76,5	23,5
Рыжая полевка	0	0	6,2±3,0	33,2±1,8	60,6±1,6	11,4	88,6

Таблица 5. Изоферментные спектры ЛДГ печени у млекопитающих

Виды	Фракции					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBVA)	ЛДГ-3 (BBAА)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	2,0±0,5	10,8±4,1	22,8±1,2	32,7±6,3	31,7±10,2	29,7	70,3
Песец	5,4±0,5	4,6±0,3	8,8±0,6	12,5±1,0	68,7±1,1	16,4	83,6
Лисица	21,2±1,4	13,6±1,1	16,2±1,6	19,6±1,3	27,4±0,9	44,4	53,6
Европейский бобр	3,1±1,0	14,1±2,7	19,8±2,7	30,6±7,5	32,4±8,1	31,2	68,8
Канадский бобр	1,8±0,9	11,6±6,7	23,6±1,7	33,1±10,3	29,9±15,8	30,6	69,4
Заяц-беляк	12,0±2,0	28,9±0,5	39,7±6,6	16,4±5,0	3,0±3,0	57,6	42,4
Лесная куница	42,5±15,8	13,9±5,9	3,2±1,9	19,0±1,5	21,4±21,4	59,3	40,7
Лось	34,1±8,5	30,6±2,9	27,0±4,8	6,2±2,7	2,1±1,4	72,1	27,9
Рыжая полевка	0	2,1±0,8	9,0±5,7	23,3±20,1	65,6±26,6	11,9	88,1

У зайца-беляка в изоферментном спектре печени доминировали гибридные фракции ЛДГ, суммарное содержание их 85,1%. На долю анодной фракции ЛДГ-1 приходилось 12,0%, а содержание ЛДГ-5 находилось в минимальном количестве. Аналогичные результаты получены Д. Плагеманном с соавт. (1960) при исследовании изоферментных спектров печени кролика. У этих близкородственных видов гибридные фракции в печени составляли более 80%.

Ткани скелетных мышц позвоночных принято относить к анаэробным тканям, хотя известно, что они содержат два типа волокон, обладающих гликолитическим и окислительным обменом (Усатенко и др., 1974). В скелетной мышце (табл. 6.) у большинства исследованных животных доминировало содержание катодных фракций ЛДГ-4 и ЛДГ-5, суммарное количество которых варьировало от 52,1% у лося до 72,1% у норки. Значительное содержание ЛДГ-5 отмечено у зайца-беляка (50,6%), норки американской (50,1) и песца (51,4%).

В изоферментном спектре канадского бобра и лесной куницы доминировало содержание гибридных фракций ЛДГ-2, ЛДГ-3 и ЛДГ-4. Суммарное количество гибридных форм составляло 61,7% у бобра канадского и 63 у куницы лесной.

При сравнительном анализе изоферментных спектров ЛДГ органов исследованных млекопитающих обнаружены следующие особенности: у представителей отряда Хищные (*Carnivora*) — американской норки, песца и лесной куницы максимальные межвидовые различия были отмечены в печени, почках и селезенке. В изоферментном спектре печени наблюдалось доминирование ЛДГ-4 и ЛДГ-5 у американской норки и песца, а у куницы отмечено высокое содержание анодной фракции ЛДГ-1, при этом катодных фракций содержалось в меньшем количестве. Значительное содержание ЛДГ-5 по сравнению с другими хищными млекопитающими отмечено в данном органе у песца (около 70%).

Таблица 6. Изоферментные спектры ЛДГ скелетной мышцы у млекопитающих

Виды	Фракции					%	
	ЛДГ-1 (BBBB)	ЛДГ-2 (BBBA)	ЛДГ-3 (BAAA)	ЛДГ-4 (BAAA)	ЛДГ-5 (AAAA)	В	А
Американская норка	0	3,9±1,0	24,0±1,5	22,0±1,9	50,1±2,2	20,4	79,6
Песец	8,7±1,6	17,7±1,3	12,7±1,2	9,5±1,0	51,4±2,6	30,7	69,3
Европейский бобр	6,5±1,8	18,8±2,0	22,0±0,9	15,4±1,5	37,3±3,1	35,5	64,6
Канадский бобр	6,8±4,6	20,9±2,0	26,8±2,9	14,1±2,1	31,4±4,4	39,4	60,6
Заяц-беляк	12,6±2,2	10,7±3,2	8,8±1,5	17,3±3,9	50,6±4,1	29,4	70,7
Лесная куница	13,5±0,5	28,6±1,6	19,7±0,1	14,5±0,1	23,7±2,3	48,4	51,6
Лось	12,5±4,7	15,0±2,3	20,4±1,9	15,4±3,3	36,7±6,3	37,8	62,2

Из представителей отряда Грызуны (*Rodentia*) изучены виды, которые ведут полуводный образ жизни (европейский и канадский бобры) и сухопутные млекопитающие (рыжая полевка). Доминирование катодных фракций отмечено в печени у всех видов грызунов, суммарное содержание которых практически достигало 90%. Известно, что ткани почек имеют высокую способность к аэробному гликолизу, что подтверждают данные о преобладании в изоферментном спектре ЛДГ у грызунов анодных форм фермента. В изоферментном спектре селезенки отмечено преобладание гибридных фракций ЛДГ у европейского и канадского бобров. У последнего вида также наблюдалось значительное содержание ЛДГ-5 (примерно треть от общего содержания ЛДГ). Доминирование катодной пятой фракции ЛДГ обнаружено в изоферментном спектре селезенки у рыжей полевки, причем анодных фракций не найдено.

Раньше зайцев относили к отряду Грызуны, но особенности строения, эмбрионального развития, биологии и происхождения позволили выделить их в самостоятельный отряд — *Lagomorpha*. Наши исследования показали, что в изоферментных спектрах грызунов и зайца-беляка также имеются отличия. В изоферментном спектре печени у этого вида доминировали гибридные фракции (85%). К. С. Даниелян и С. Г. Мовсесян (1975) при изучении изоферментных спектров в тканях кролика также обнаружили доминирование гибридных фракций (81,5%) в печени. Китайские исследователи, изучая изоферментные спектры ЛДГ в тканях зайца, получили подобные результаты. Суммарное содержание гибридных форм в печени зайца-беляка составило 74,9% (Zeng Kew et al., 1989). Изоферментный спектр почек и селезенки у зайца-беляка похож на изоферментные спектры грызунов. Количество анодных фракций в почках и гибридных в селезенке преобладало. Наличие ЛДГ-5 в изоферментном спектре

селезенки не было обнаружено. По сравнению с грызунами у представителя отряда Зайцеобразных наблюдалось самое высокое содержание в данном органе анодной фракции ЛДГ-1 (22,3%).

При сравнении изоферментных спектров близкородственных видов — европейского и канадского бобров, наблюдалась в основном общая закономерность распределения изоферментов ЛДГ в органах: в сердце и почках преобладали анодные, в печени и скелетной мышце — катодные, а в легких и селезенке — гибридные фракции ЛДГ. Были отмечены различия в изоферментных спектрах ЛДГ почек и легких. В почках наблюдалось более высокое содержание ЛДГ-1 и ЛДГ-3 у европейского бобра (55,2% — ЛДГ-1 и 26,0 — ЛДГ-3) по сравнению с канадским бобром (32,7% — ЛДГ-1 и 15,0% — ЛДГ-3). В легких, наоборот, содержание этих фракций доминировало у канадского бобра (30,6% — ЛДГ-1 и 36,3% — ЛДГ-3) по сравнению с европейским бобром (12,7% — ЛДГ-1 и 27,9 — ЛДГ-3).

Известно, что тип обмена тканей формируется в соответствии со спецификой условий внешней среды (Галанцев, 1977). Большое значение в формировании изоферментного спектра ЛДГ имеет наличие кислорода. Анализ изоферментных профилей ЛДГ у млекопитающих, ведущих исключительно наземный образ жизни, таких как заяц-беляк, лось, куница лесная, песец и полевка рыжая, и полуводных млекопитающих, таких как бобр европейский, канадский и американская норка, показал, что условия обитания нашли отражение в специфических чертах изоферментного спектра ЛДГ. Преобладание катодных фракций в изоферментных профилях ЛДГ в ряде органов и тканей млекопитающих, ведущих полуводный образ жизни, свидетельствует о сдвиге метаболизма в сторону анаэробного гликолиза. Особенно хорошо этот сдвиг демонстрируется при расчете величины соотношения активности ЛДГ-5:ЛДГ-1,

т.е. коэффициента анаэробнозиса. В хорошо аэрируемых тканях сердца, где содержание ЛДГ-5 незначительно, различия в данном коэффициенте малоуловимы, но в тканях с анаэробным типом энергопродукции, например в печени, коэффициент анаэробнозиса у полуводных животных выше, чем у млекопитающих, ведущих наземный образ жизни. Значение данного коэффициента у европейского бобра составляет 10,4, у канадского — 16,8, у норки американской — 15,9. В то же время у сухопутных видов величина данного показателя незначительна: 0,3 — у зайца-беляка, 0,5 — у куницы лесной и 0,1 — у лося.

Полуводные животные обладают рядом других приспособлений к специфическим условиям среды. Под водой они переходят на анаэробный тип обмена, так как потребление организмом кислорода уменьшается на 20–25% (Галанцев, 1977). У этих млекопитающих наблюдается устойчивость к высоким концентрациям лактата (Хочачка, Сомеро, 1988). Все эти факторы способствуют тому, что у видов, ведущих полуводный образ жизни, в изоферментном спектре ЛДГ формируются специфические черты, связанные с особенностями существования (Кожевникова, 1987).

Таким образом, в результате исследования было установлено, что изоферментные спектры ЛДГ экстрактов тканей различных органов млекопитающих имеют сходства и отличия. Выявлено, что изученным видам животных — норке американской, песцу, лисице, бобрам европейскому, канадскому, зайцу-беляку, лесной кунице, лосю и полевке рыжей — свойственно органоспецифичное распределение фракций ЛДГ.

Отличия в изоферментных спектрах ЛДГ обуславливаются прежде всего спецификой образа жизни млекопитающих. Так, у лося — животного с четырехкамерным желудком, питающегося растительной пищей (Кочанов и др., 1981), в изоферментном спектре печени отмечено высокое содержание ЛДГ-1. Значительное количество аэробных фракций способствовало интенсификации процесса глюконеогенеза, который обеспечивает организм животного глюкозой.

Среди хищных млекопитающих на фоне общего сходства изоферментных спектров имеются различия в печени и селезенке у лесной куницы, а также в почках у песца и лисицы.

Изоферментные спектры зайца-беляка — представителя отряда Зайцеобразные, и речных бобров, и рыжей полевки — представителей отряда Грызуны отличаются прежде всего тем, что в печени у зайца наблюдается максимальное содержание гибридных фракций ЛДГ.

У представителей семейства *Castoridae* — у европейского и канадского бобров — выявлены

общие для млекопитающих закономерности распределения изоферментов ЛДГ. Однако у обоих видов бобров в тканях легких обнаружено относительно более высокое содержание аэробных форм ЛДГ, что свидетельствует о смещении равновесия гликолитических процессов у этих грызунов в сторону аэробного метаболизма. Кроме того, в тканях почек и легких именно у европейского бобра наблюдалось преобладание аэробного изофермента ЛДГ-1. Ранее нами показано (Кожевникова и др., 2000), что в неблагоприятных условиях, например, зимой при понижении температуры окружающей среды, в ряде органов клеточных норок и песцов происходит усиление аэробных путей метаболизма, что можно рассматривать как своеобразную адаптацию энергетического обмена. В конечном счете именно к энергетическому обмену сводится все разнообразие приспособлений организма к условиям обитания (Калабухов, 1946).

Данные, полученные в результате исследования изоферментных спектров ЛДГ в органах млекопитающих, позволяют расширить представления в области биохимических особенностей животных, обитающих в различных условиях окружающей среды.

Работа выполнена в рамках гранта Президента РФ НШ-4310.2006.04 и программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

Литература

- Берестов В. А., Кожевникова Л. К. 1981. Ферменты крови пушных зверей. Л.: Наука. 184 с.
- Вебер А. Э., Симаков А. Ф., Чувьюрова Н. И. и др. 1992. Физиология питания и обмен веществ лося. Сыктывкар: Коми научный центр УрО РАН. 128 с.
- Галанцев В. П. 1977. Эволюция адаптации ныряющих животных. Л.: Наука. 191 с.
- Глазко В. И. 1988. Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных // Итоги науки и техники. Сер. общ. генетики. М.: ВИНТИ. Т. 10. С. 1-212.
- Давыдов А. Ф. 1982. Гомойотермные организмы boreальной климатической зоны // Экологическая физиология животных. (В сер.: Руководство по физиологии). Л.: Наука, С. 110-130.
- Даниелян К. С., Мовсесян С. Г. 1975. Распределение изоферментов лактатдегидрогеназы в тканях кролика. Ереван. (Деп. № 1396-75).
- Ивантер Э. В., Коросов А. А. 2003. Введение в количественную биологию. Петрозаводск. 304 с.
- Калабухов Н. И. 1946. Сохранение энергетического баланса как основа процесса адаптации // Журн. общ. биол. Т. 7. № 6. С. 417-434.
- Кожевникова Л. К. 1987. Изоферментный спектр лактатдегидрогеназы органов пушных зверей как отражение метаболического профиля тканей // Ме-

- тодические подходы к изучению физиологии пушных зверей. Петрозаводск: КарНЦ РАН. С. 36-50.
- Кожевникова Л. К., Тютюнник Н. Н., Унжаков А. Р., Мелдо Х. И.* 2000. Изоферменты лактатдегидрогеназы при сезонных адаптациях хищных пушных зверей // Журн. эвол. биохимии и физиологии. Т. 36. С. 24-29.
- Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др.* 1977. Генетика изоферментов. М.: Наука. 275 с.
- Кочанов Н.Е., Иванова Г.М., Вебер А.Е., Симаков А.Ф.* 1981. Обмен веществ у диких жвачных (северные олени и лоси). Л.: Наука. 252 с.
- Ленинджер А.* 1985. Основы биохимии: В 3-х т. Т. 2. М.: Мир. 368 с.
- Наточин Ю. В.* 1984. Проблемы эволюционной физиологии водно-солевого обмена. Л.: Наука. 40 с.
- Оно С.* 1973. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М.: Мир. 227 с.
- Райдер К., Тейлор К.* 1983. Изоферменты. М.: Мир. 197 с.
- Сегаль А. Н.* 1975. Очерки экологии и физиологии американской норки. Новосибирск. 260 с.
- Слоним А. Д.* 1979. Учение о физиологических адаптациях // Экологическая физиология животных. Л. Ч. 1. С. 79-173.
- Соколов В. Е.* 2003. Избранные труды. Т. 2. М.: Наука. 366 с.
- Усатенко М.С., Тесленко Л.В., Цапко Л.И.* 1974. Регуляторная роль изоферментов ЛДГ митохондрий скелетных мышц и печени // Митохондрии. М. С. 98-103.
- Уилкинсон Д.* 1968. Изоферменты. М.: Мир. 220 с.
- Хочачка П., Сомеро Дж.* 1988. Биохимическая адаптация. М: Мир. 568 с.
- Шмидт-Ниельсен К.* 1982. Физиология животных. Приспособления и среда. Кн. 1. М.: Мир. 416 с.
- Everse J. Kaplan O. N.* 1973. Lactate dehydrogenase: structure and functions // Adv. Enzymol. V. 37. P. 61-133.
- Plagemann D., Gregory K., Wroblewski F.* 1960. The electrophoretically distinct forms of mammalian lactate dehydrogenases // J. Biol. Chem. V. 235. P. 2282-2287.
- Zeng Kew en, Chen Feng ying, Yang Ming fei et al.* 1989. Gel electrophoresis analysis of lactate dehydrogenase isozymes (LDH) in the tissues of snow hare // J. Northeast Forestry University. № 2. P. 20-26.