

Лактатдегидрогеназная активность и ее изоферментный спектр в поджелудочной железе человека в пренатальный период

В биологии развития для установления связей морфологических и биохимических изменений необходимо изучение ферментативной активности, а также изоферментных спектров, отражающих особенности обмена веществ на различных этапах эмбрионального развития. В этом плане большой интерес представляет изучение в развивающихся тканях лактатдегидрогеназы (ЛДГ — L лактат: НАД — оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27) — одного из ключевых ферментов гликолитического обмена. В литературе имеются сведения по изучению ЛДГ и ее изоферментов в пренатальный период развития человека и животных [1, 2, 5, 7, 16]. При этом, как правило, изучали ткани с явным преобладанием изоферментов ЛДГ М- или Н-типа [1, 8, 17].

Изучение ЛДГ-активности и ее изоферментов во внутриутробный период развития поджелудочной железы человека представляет интерес с нескольких точек зрения. Во-первых, поджелудочная железа является органом, развивающимся из двух зачатков — мезенхимального и энтодермального, роль которых во время развития органа меняется. Во-вторых, в пренатальный период развития железы происходит становление ее двух отделов — экзо- и эндокринного, имеющих общность происхождения из энтодермального зачатка, но различающихся по срокам дифференцировки принадлежащих им клеток [11, 13, 15].

Методика

Исследования проведены на 27 эмбрионах и плодах человека, распределенных на следующие возрастные группы: 5—6, 7—8, 9, 10, 12—13 нед развития. Достоверность изменений определяли по сроку 5—6 нед. Ткань поджелудочной железы гомогенизировали в растворе фосфатного буфера (0,067 моль/л), 1 %-ный гомогенат центрифугировали 10 мин при 1 000 g. В надосадочной жидкости определяли ЛДГ-активность по убыли НАДН₂ во время превращения пирувата в лактат при длине волны 340 мкм [14] и выражали в микромолях НАДН₂, окисленного за 1 мин на 1 мг влажной ткани. Изоферменты ЛДГ разделяли электрофорезом в 7 %-м растворе полиакриламидного геля, их локализацию выявляли с помощью феназинметасульфаттетразолиевой реакции [6]. Энзимогаммы денситометрировали и долю каждого изофермента выражали в процентах по отношению к сумме всех изоферментов. Достоверность различий определяли по критерию t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

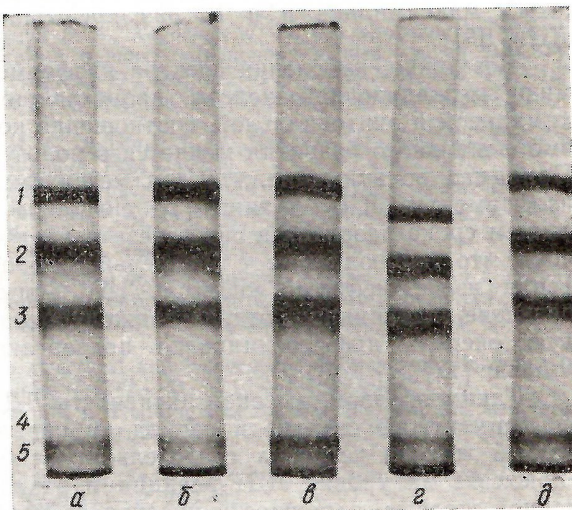
Уже в ранние сроки (5—6 нед) пренатального развития ЛДГ-активность поджелудочной железы человека довольно высокая (164 мкмоль·мин⁻¹·мг⁻¹), что может указывать на важность процессов гликолиза на уровне ЛДГ-реакции в метаболизме поджелудочной железы уже в начальный период ее онтогенеза. Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе сведениями о наличии ЛДГ-активности еще в ооцитах и яйцеклетках [5, 16]. С увеличением срока внутриутробного развития ЛДГ-активность возрастала, при этом в 7—8 и 12—13 нед обнаруживались пики ее активности (таблица). Возможно, повышение ЛДГ-активности в 7—8-недельный период развития обусловлено вступлением клеток поджелудочной железы в фазу активной дифференцировки, процессы которой требуют повышенного энергообеспечения. Наблюдаемое повышение ЛДГ-активности в 12—13-не-

дельный период развития совпадает по времени с окончательным переходом развивающегося организма к плацентарному типу кровообращения. Такая взаимосвязанная во времени интеграция регулирующих усиление гликолитических процессов, с определенными морфологическими сдвигами, характерна для критических периодов развития организма [4].

Изоферментный спектр ЛДГ поджелудочной железы 5—13-недельного срока внутриутробного развития характеризовался наличием четырех изоферментов: ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₅. Наиболее высокой активностью обладали изоферменты ЛДГ₂ и ЛДГ₃, наименьшей — изофермент ЛДГ₅. Особенностью изоферментного спектра ЛДГ в эти сроки развития поджелудочной железы является то, что в нем нет изофер-

Распределение изоферментов ЛДГ (1—5) в поджелудочной железе человека в различные сроки внутриутробного развития:

а—5—6 нед; б—7—8 нед; в—9 нед; г—10 нед; д—12—13 нед.



мента ЛДГ₄ (рисунок), что характерно и для состояния поджелудочной железы взрослого человека [9]. Вместе с тем в поджелудочной железе некоторых животных, в частности крыс, этот изофермент имеется, что свидетельствует о видовой специфичности изоферментного спектра ЛДГ поджелудочной железы.

С увеличением срока внутриутробного развития, начиная с 9-недельного возраста, происходит снижение относительной активности изоферментов ЛДГ₁ и ЛДГ₅ и увеличение таковой ЛДГ₃. Относительная активность изофермента ЛДГ₂ остается неизменной и достаточно высокой во все сроки развития. В результате перераспределения изоферментов ЛДГ, происходящего в период развития поджелудочной железы, в изоферментном спектре ЛДГ наблюдается относительное преобла-

Лактатдегидрогеназная активность (мкмоль НАДН₂/мин на 1 мг влажной ткани) и ее изоферментный спектр (%) поджелудочной железы человека в различные сроки внутриутробного развития ($M \pm m$)

Сроки развития поджелудочной железы	Лактатдегидрогеназная активность	Изоферменты лактатдегидрогеназы				
		ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅
5—6 нед	164±15 (4)	25,26±0,70 (10)	37,71±1,20	26,57±1,39	—	10,46±0,55
7—8 нед	223±14*	24,63±1,30 (3)	38,52±6,50	26,28±6,70	—	10,57±1,50
9 нед	193±14 (4)	21,53±1,89** (6)	39,64±3,37	31,12±4,19	—	7,71±0,72*
10 нед	193±9 (3)	17,48±2,04* (3)	39,77±4,40	37,56±4,56*	—	5,19±1,81*
12—13 нед	258±26* (5)	19,85±1,26* (5)	33,91±1,08	36,73±1,89*	—	4,51±0,24*

* Значения, достоверно отличающиеся от исходных при $P < 0,05$; ** значения, обнаруживающие тенденцию к изменению; в скобках указано число наблюдений.

дание Н-субъединиц ЛДГ. Обращает на себя внимание параллельное снижение относительной активности двух изоферментов с противоположными свойствами — ЛДГ₁ и ЛДГ₅, что, возможно, связано в этом случае с синхронностью генного контроля синтеза этих изоферментов [3].

Возрастающая роль изофермента ЛДГ₃ и уменьшение активности изофермента ЛДГ₅ приближает распределение изоферментов ЛДГ с увеличением срока внутриутробного развития к таковому в дефинитивной поджелудочной железе, в которой активность изофермента ЛДГ₃ максимальна и в 10 раз превышает активность изофермента ЛДГ₅ [9].

Возможно, изменения спектра изоферментов ЛДГ отражают динамику поджелудочной железы, происходящей из двух тканей — мезенхимальной и эпителиальной, соотношение которых с увеличением срока эмбрионального развития меняется в пользу эпителиальной ткани [10]. Принимая во внимание, что для мезенхимы характерно преобладание изоферментов ЛДГ М-типа [3], снижение активности ЛДГ₅ с увеличением срока развития в онтогенезе является закономерным. Не исключено, что наблюдаемые с 9-недельного срока развития железы изменения изоферментного спектра ЛДГ могут отражать прежде всего развитие эндокринного отдела поджелудочной железы, поскольку в первую очередь дифференцировке подвергаются клетки именно этого отдела [12].

Таким образом, высокая активность ЛДГ, существенные изменения изоферментного спектра в период эмбрионального развития поджелудочной железы человека свидетельствуют о напряженности процессов гликолиза на уровне ЛДГ-реакции в развивающейся ткани поджелудочной железы, о важности участия ее изоферментов в дифференциации клеток, переходе от эмбрионального к плодному периоду развития, в становлении функции данного органа. Относительное преобладание изоферментов, содержащих в основном Н-субъединицу, по мере увеличения срока развития железы указывает на преимущественное участие аэробного гликолиза в энергообеспечении дифференцировки клеточных популяций и других процессов развивающейся поджелудочной железы. Характерный спектр изоферментов ЛДГ поджелудочной железы указывает на тканевую и видовую специфичности их распределения.

Полученные результаты подтверждают мысль о том, что лактатдегидрогеназа и ее изоферменты являются одной из важных регуляторных систем, обеспечивающих особенности метаболизма поджелудочной железы в эмбриональный период развития.

LACTATE DEHYDROGENASE ACTIVITY AND ITS ISOENZYMIC SPECTRUM IN THE HUMAN PANCREAS IN THE PRENATAL PERIOD

L. M. Davidenko, I. V. Zaichenko, V. Ya. Kononenko, L. I. Popova

Lactate dehydrogenase (LDG) activity and the character of its isoenzyme distribution in pancreas of the human embryos and feti of the 5th-13th-week development were studied. It is shown that LDG-activity was rather high already in early periods of the embryonic development, peaks of the enzymic activity were observed after 7-8 and 12-13 weeks. The isoenzymic LDG spectrum was characterized by the presence of four isoenzymes: LDG₁, LDG₂, LDG₃, LDG₅. Isoenzyme LDG₄ was absent in the human pancreas in all the studied periods of embryonic development. The data obtained evidence for intensity of the glycolysis processes at LDG-reaction level in the prenatal ontogenesis period and they reflect most probably the processes of development and differentiation of cellular populations in the given organ.

Institute of Endocrinology and Metabolism, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev