

**К.б.н. Хлус К.Н.**

*Буковинский государственный медицинский университет, Украина*

## **ПАРАМЕТРЫ ОКСАЛАТЗАВИСИМОГО УГНЕТЕНИЯ IN VITRO АКТИВНОСТИ МЫШЕЧНОЙ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СВЯЗИ С ЕЁ ИЗОФЕРМЕНТНЫМ СПЕКТРОМ**

Регуляция внутриклеточного метаболизма посредством изменения как общей активности того или иного фермента, так и его изоферментов, рассматривается в качестве одного из важнейших механизмов адаптации конкретного организма к разнообразным изменениям окружающей среды. В связи с этим особый интерес представляет исследование механизма регуляции активности лактатдегидрогеназы (L-лактат: NAD<sup>+</sup> оксидоредуктаза, ЛДГ, КФ 1.1.1.27), поскольку перераспределение изоферментов ЛДГ в значительной степени отражает специфику энергетического обмена клетки, а его нарушение может привести к тяжёлым последствиям как на клеточном, так и на организменном уровне.

Одним из негативных эффекторов – регуляторов активности ЛДГ – является щавелевая кислота, широко распространённая в природе и являющаяся одним из конечных метаболитов в животных организмах. Характерной особенностью оксалатов является чрезвычайное разнообразие механизмов неблагоприятного воздействия на организм. Щавелевая кислота и её водорастворимые соли изменяют кислотно-основное равновесие в организме, снижают биодоступность биологически важных металлов, нарушают пищеварительную, кардиоваскулярную и нейрональную функции, локомоцию и координацию движений, вызывают развитие генетически обусловленных оксалозов (респираторный оксалоз, гипероксалатурический хронический обструктивный бронхит), при которых нарушается синтез ферментов, катализирующих реакции преобразования важнейших эндогенных

предшественников оксалатов [3]. В связи с этим оксалаты можно рассматривать как один из опаснейших естественных факторов экологической агрессии, а исследования в этой области – актуальными и перспективными.

Цель данного исследования - установление зависимости между оксалат-индуцированными изменениями активности ЛДГ скелетных мышц белых крыс и её изоферментным составом. Предмет исследования: безъядерные гомогенаты мышц задних конечностей белых крыс возрастом 6-12 мес. (n=8). Объект исследования: связь между степенью ингибирующего влияния *in vitro* щавелевой кислоты (в конечной концентрации 0,5 мМ) на активность ЛДГ и её изоферментным спектром. Активность ЛДГ определяли кинетическим методом по уменьшению содержания NADH в реакции его взаимодействия с пировиноградной кислотой [1]. Раствор щавелевой кислоты вносили в систему за 5 мин до инициации реакции раствором NADH.

Изоферментный спектр ЛДГ определяли с помощью диск-электрофореза в ПААГ [2]. Концентрацию белка определяли по методу Лоури [4]. Результаты исследования представлены в таблице. Щавелевая кислота оказывает существенное угнетающее действие на ЛДГ (8,5-52,5 %). Соотношение активностей отдельных изоферментов выявило преобладание анаэробных фракций – ЛДГ<sub>4</sub> и ЛДГ<sub>5</sub> (соответственно, 27,46 и 34,28 %, суммарно 61,74 %).

Наименее выраженным угнетение ЛДГ-реакции оказалось в пробах с наибольшим содержанием М-субъединиц ЛДГ. Как известно, анаэробные фракции ЛДГ, преобладающие в мышечной ткани, относятся к М-типу фермента (М<sub>4</sub> – ЛДГ<sub>5</sub>, НМ<sub>3</sub> – ЛДГ<sub>4</sub>). Можно предположить, что М-субъединицы ЛДГ, в отличие от Н-субъединиц, обладают меньшей чувствительностью к действию оксалат-аниона, что подтвердил последующий корреляционный анализ. Таким образом, щавелевая кислота в концентрации 0,5 мМ умеренно (в среднем на 26,84 %) угнетает *in vitro* обратную ЛДГ-реакцию в ткани мышц задних конечностей белых крыс возрастом 6-12 месяцев, преимущественно, в результате избирательного ингибирования активности изоферментов Н-типа - ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>.

Таблица.

№ варианты	Угнетение ЛДГ-реакции, %	Активность изоферментов ЛДГ и содержание субъединиц, %						
		ЛДГ <sub>1</sub>	ЛДГ <sub>2</sub>	ЛДГ <sub>3</sub>	ЛДГ <sub>4</sub>	ЛДГ <sub>5</sub>	Н-субъединицы	М-субъединицы
1	52.4	18.0	26.8	19.9	15.7	19.6	51.975	48.025
2	43.3	14.3	21.1	16.8	18.2	29.6	43.075	56.925
3	9.8	5.6	10.1	10.7	34.6	39.0	27.175	72.825
4	8.5	4.4	8.6	8.0	37.5	41.5	24.225	75.775
5	19.8	6.1	11.9	12.0	30.3	39.7	28.60	71.40
6	23.0	8.5	13.4	13.1	29.2	35.8	30.40	67.60
7	31.4	10.2	15.8	13.7	26.1	34.2	35.425	64.575
8	26.5	9.5	14.6	13.0	28.1	34.8	33.975	66.025
x±S <sub>x</sub>	-	9,58±	15,29±	13,40±	27,46±	34,28±	34,61±	65,39±
		0,618	0,805	0,487	0,997	0,937	1,190	1,215

## Литература:

1. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
2. Назыров А.Т., Алманиязова К.К. К методике оценки результатов диск-электрофореза в полиакриламидном геле // Лаб. дело. – 1976. – № 12. – С. 250-251.
3. Поспехова Г.П., Антонов В.Г., Разоренова Т.С., Вахарловский В.Г. Клинический полиморфизм при респираторном оксалоze // Терапевт. архив. – 2001. – № 3. – С. 55-57.
4. Lowry O., Rosebrough W., Farr A., Randall R. Protein measurement with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265-275.

## Анкета участника конференции

Ф.И.О. Хлус Константин НиколаевичНазвание доклада ПАРАМЕТРЫ ОКСАЛАТЗАВИСИМОГО УГНЕТЕНИЯ IN VITRO

АКТИВНОСТИ МЫШЕЧНОЙ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СВЯЗИ С ЕЁ  
ИЗОФЕРМЕНТНЫМ СПЕКТРОМ

Секция/подсекция Биологические науки/9. Биохимия

Место работы Буковинский государственный медицинский университет, Украина

Контактный телефон домашний – (037-22) 4-58-82; служебный – (037-2) 3-52-53

Почтовый адрес 58032, м. Чернівці, вул. Південно-Кільцева, буд. 29, кв. 166

E-mail khlus\_k@rambler.ru

Дата платежа и номер платежного документа \_\_\_\_\_

Сумма платежа 45 грн.