

Ю. Г. ЮРОВИЦКИЙ, Л. С. МИЛЬМАН

ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ГЛИКОГЕНА И ГЕКСОЗОМОНОФΟΣΦΑΤОВ ПРИ СОЗРЕВАНИИ ООЦИТОВ ВЬЮНА

(Представлено академиком Е. М. Кренсом 21 VI 1971)

Ооциты в конце периода большого роста, овулировавшие яйца и начавшие дробиться зародыши вьюна *Misgurnus fossilis*, обладают практически одинаковым энзиматическим профилем гликолитического пути, глюконеогенеза и гексозомонофосфатного шунта (¹, ²). Однако между регуляцией углеводного обмена ооцита и зародыша имеется существенная разница. В ооцитах основным субстратом углеводного обмена служит глюкоза, и образование гексозомонофосфатов (ГМФ) осуществляется гексокиназой. В зародыше функционирует классический гликогенолиз; свободная глюкоза и гексокиназа в зародыше отсутствуют (³). Резко различается и соотношение адениловых нуклеотидов. В ооцитах отношение АТФ/АДФ + АМФ составляет 4:1, в зародышах — 2:1. Для ооцита необычно соотношение уровня гексозофосфатов. Так, отношение ГМФ/фруктозо-1,6-дифосфат (Ф16ДФ) для ооцита в процессе вителлогенеза близко к единице, а в самом начале зародышевого развития достигает 7. Соотношение фруктозо-6-фосфат (Ф6Ф)/Ф16ДФ в ооцитах составляет 0,2, тогда как в большинстве тканей, в том числе и в зародышах вьюна, это отношение всегда превышает 2 (⁴⁻⁶). Исключение составляют лишь тромбоциты с их высоким окислительным обменом (⁷) и некоторые ткани при высокой скорости глюконеогенеза в экспериментальных условиях (⁸, ⁹). Таким образом, изменения соотношения адениловых нуклеотидов и гексозофосфатов позволяют думать, что гликолитическая цепь ооцита, «настроенная» преимущественно на глюконеогенез, с началом эмбрионального развития перестраивается на гликолиз. Поскольку упомянутые изменения в углеводном обмене отмечались нами в ооцитах конца периода большого роста, с одной стороны, и в зрелых яйцах — с другой, то были все основания считать, что перестройка углеводного обмена происходит в процессе созревания ооцита. Этому вопросу посвящена настоящая статья.

Созревание ооцитов, овуляции и икротетание у рыб, в том числе и у вьюна, стимулируются лютеинизирующим гормоном гипофиза, действие которого на яичники костистых рыб происходит так же, как у всех других позвоночных (¹⁰). Для млекопитающих в недавнее время показана большая роль 3,5-циклической АМФ в этих процессах (¹¹). Аналогом лютеинизирующего гормона может служить хлориальный гонадотропин, стимулирующий созревание ооцитов и овуляцию у самок вьюна (¹⁰). При введении самкам вьюна препарата хориогонины («Рихтер») созревание и овуляция происходят при 17—19° в течение 34—36 час. Отбор проб ооцитов на протяжении этого времени позволяет проследить изменения в углеводном обмене ооцитов, которые приводят к «переключению» с глюконеогенеза на гликолиз.

Исследование активности ферментов, принимающих участие в синтезе и утилизации гликогена и ГМФ, за период после введения самкам вьюна

200 ед. препарата хориогонин и до момента созревания и овуляции показало следующее (табл. 1).

Гексокиназа, которая превращает глюкозу, поступающую в яичник из крови самки, уже через 16—18 час. уменьшается в четыре раза. В дальнейшем можно обнаружить лишь следы активности гексокиназы. В зрелом неоплодотворенном яйце гексокиназа не обнаруживается вовсе. За первые 16—18 час. после введения гормона прекращается или резко снижается

Таблица 1

Изменение активности ферментов (в Е/10⁴ ооцитов) обмена глюкозы и гликогена в ооцитах выюна после введения самкам гонадотропного гормона

Фермент	Время после введения гормона самкам (в час.)					Зрелое яйцо
	0	16—18	24—25	29—30	31—36	
Гексокиназа	4,2±0,3	1,0±0,1	Следы	Следы	Следы	Нет
Гликогенсинтетаза	5,6±0,6	3,2±0,46	3,0±0,4	2,6±0,4	2,6±0,5	2,5±0,5
Фосфорилаза	0,6±0,01	1,6±0,23	—	5,2±0,4	6,0±0,4	6,0±0,4
Фосфорилаза в присутствии АМР	1,0±0,01	2,2±0,25	—	8,2±0,4	10,0±0,5	10,0±0,5

поступление глюкозы в ооцит. За это время содержание глюкозы снижается на 40%, а к 29—30 час. в ооците сохраняется лишь 20% от первоначального содержания глюкозы (табл. 2). В овулировавшем яйце свободной глюкозы нет, что соответствует и нашим более ранним наблюдениям (2).

Гликогенсинтетаза через 16—18 час. после введения гормона уменьшается на 40%, к 29—30 час. после введения гормона активность гликогенсинтетазы уменьшается вдвое против начальной и сохраняется на этом

Таблица 2

Изменение уровня глюкозы, некоторых метаболитов гликолиза и адениловых нуклеотидов в ооцитах выюна после введения самкам гонадотропного гормона (нмол/100 ооцитов)

Соединение	Время после введения гормона самкам (в час.)					Зрелое яйцо
	0	16—18	24—25	29—30	31—36	
Глюкоза	18,2±3,6	12,0±1,9	10,0±1,5	4,5±0,3	Следы	Нет
ГМФ	2,4±0,2	3,7±0,2	6,4±0,4	8,3±0,42	10,0±0,6	12,3±1
Ф16ДФ	2,9±0,4	3,0±0,4	2,5±0,3	1,9±0,5	2,1±0,3	2,0±0,3
ФЕП	3,0±0,3	4,0±0,3	4,1±0,3	5,0±0,4	5,1±0,4	5,0±0,4
АТФ	70,0±1,5	78,0±2,6	80,0±3,2	85,0±3,7	100,0±4,0	100±4,0
АДФ	10,0±0,3	12,0±0,3	14,0±0,4	16,0±0,7	18,0±0,5	20±0,5
АМФ	7,0±0,2	12,3±0,3	14,0±0,3	19,0±0,6	25,5±0,8	30±0,6

уровне вплоть до овуляции. Интересно, что в процессе раннего эмбриогенеза активность гликогенсинтетазы снижается еще в два раза по сравнению с ее уровнем в зрелом неоплодотворенном яйце. Следовательно, в отличие от гексокиназы, которая претерпевает полную деградацию при созревании, снижение активности гликогенсинтетазы происходит постепенно в процессе созревания и продолжается дальше, как показано нами, в период раннего эмбрионального развития.

В противоположность снижению активности гликогенсинтетазы фосфорилаза к 16—18 час. увеличивается вдвое, затем происходит дальнейший рост активности фосфорилазы и в зрелом неоплодотворенном яйце она в 10 раз превосходит активность в ооците. Увеличение активности фосфорилазы не связано с активацией латентной формы этого фермента

(табл. 1). Следовательно, гормональное воздействие приводит к цепи изменений, результатом которых является значительное уменьшение синтеза гликогена и резкое увеличение его расхода. Одновременно с исключением глюкозы как источника углеводного обмена гликоген становится этим единственным источником. Важно отметить, что основные изменения активности ферментов обмена гликогена и глюкозы наблюдаются через 29—30 час. после введения гормона, т. е. по завершении процесса преобразования ядра ооцита (¹²). Непосредственно же перед овуляцией, когда ооцит находится на стадии метафазы первого мейотического деления, уровень активности исследованных ферментов практически мало отличается от уровня этих ферментов в зрелом неоплодотворенном яйце.

В соответствии с увеличением активности фосфорифразы гликогена находится и значительное возрастание внутриклеточного содержания ГМФ (табл. 2). Уровень Ф16ДФ меняется незначительно, наблюдается некоторая тенденция к снижению его к концу периода созревания. Соотношение же между ГМФ / Ф16ДФ неуклонно меняется в пользу ГМФ. Процесс увеличения доли ГМФ коррелирует с постепенным уменьшением отношения АТФ / АДФ + АМФ. Обратное явление — изменение соотношения ГМФ / Ф16ДФ в пользу Ф16ДФ наблюдали (⁹) при длительной перфузии печени крысы жирными кислотами, приводящей к усилению гликонеогенеза. При введении в печень антиинсулиновой сыворотки и глюкагона, повышающих скорость гликолиза, увеличивалось отношение ГМФ / Ф16ДФ и одновременно уменьшалось отношение АТФ / АДФ (⁹).

Уровень фосфоенолпирувата (ФЕП) в процессе созревания ооцита выюна возрастает на 30—40%: причины этого роста не вполне ясны. Вместе с тем повышение уровня ФЕП может объяснить понижение внутриклеточного содержания Ф16ДФ. Как показано нами, ФЕП является ингибитором фосфофруктокиназы, образующей Ф16ДФ (¹³).

Таким образом, резкое изменение гормонального контроля, вызывающее процесс созревания и овуляции, сопровождается таким изменением ферментов, источников и метаболитов углеводного обмена, которое приводит к переключению гликонеогенеза в ооцитах на гликолиз в яйцах и зародышах выюна. Имеется также ряд данных о том, что «переломные» события в индивидуальном развитии животных сопровождаются изменениями обмена, связанными с появлением новых метаболических путей или изменениями в соотношении скоростей альтернативных путей обмена, использующих одни и те же ферменты и метаболиты.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
8 VI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Ю. Г. Юровицкий, Л. С. Мильман, Журн. общ. биол., **30**, 335 (1969).
- ² Ю. Г. Юровицкий, Л. С. Мильман, Биохимия, **36**, № 6 (1971). ³ Ю. Г. Юровицкий, Л. С. Мильман, ДАН, **163**, 781 (1965). ⁴ R. Wu, Biochem. Biophys. Res. Commun., **18**, 1 (1965). ⁵ B. Hess, In: Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle, Berlin, 1963, S. 63. ⁶ J. R. Williamson, J. Biol. Chem., **240**, 2308 (1965). ⁷ Th. C. Detwiler, Biochim. et biophys. acta, **177**, 161 (1969). ⁸ M. S. Weidemann, D. A. Hems, H. A. Krebs, Nephron, **6**, 282 (1969). ⁹ J. R. Williamson, Adv. Enzyme Regul., **5**, 229 (1967). ¹⁰ Г. Я. Киршенблатт, Вопр. ихтиологии, **1**, 261 (1961). ¹¹ P. Rondell, Federat. Proc., **29**, 1875 (1970). ¹² В. Н. Беляева, Н. Б. Черфас, Вопр. ихтиологии, **5**, 196 (1965). ¹³ Л. С. Мильман, Ю. Г. Юровицкий, ДАН, **185**, 462 (1969).