

Н. Г. АЛЕКСИДЗЕ, К. ХАГЛИД

**ИЗОЭНЗИМЫ ЛАКТИКОДЕГИДРОГЕНАЗЫ НЕЙРОНА
И НЕЙРОГЛИИ ЛАТЕРАЛЬНОГО ВЕСТИБУЛЯРНОГО ЯДРА
СТВОЛА МОЗГА КРОЛИКА**

(Представлено академиком С. Е. Севериным 9 VI 1969)

Как известно, изоэнзимы отличаются своей молекулярной формой, кинетическими показателями и функциональной активностью. Распределение изоэнзимов связано с направлением метаболических процессов в клетке.

Наиболее изученными с этой стороны являются изоэнзимы лактикодегидрогеназы (ИЛД). Было выделено пять ИЛД (1) и установлено их количественное распределение в разных органах и тканях в зависимости от возраста (2, 3), от функционального состояния животных (4) и др. Есть данные об активности ИЛД в культурах тканей (5). Но до сегодняшнего дня мы не располагаем сведениями об активности ИЛД в нервных клетках.

Т а б л и ц а 1

Влияние метиленовой синьки (МС) и тиогликолята натрия (ТГ) на процентное распределение ИЛД в нейроне и в нейроглии латерального вестибулярного ядра кролика (среднее из 14 опытов)

ИЛД	Нейрон + + МС + ТГ	Нейроглия + + МС + ТГ	Нейрон + ТГ	Нейроглия + + ТГ	Нейрон	Нейроглия
1	70,9±1,3	79,4±4,1	60,1±0,9	74,5±1,0	59,1±1,0	76,0±1,2
2	23,6±1,9	17,2±2,6	32,3±0,5	21,4±0,7	33,4±0,3	20,0±1,0
3	3,9±0,9	2,9±2,2	7,8±1,1	4,1±1,9	7,5±1,6	3,9±1,8

Методом комбинирования микроэлектрофореза белков (6) и гистохимическим выявлением активности ИЛД (7) нами было изучено распределение последних в нервных клетках, а именно в изолированных нейронах и в нейроглии.

Опыты ставили с гомогенатами головного мозга и нервных клеток ядра Дейтерса. Гомогенизацию проводили при 4° в растворе следующего состава: 0,25 М сахараза; 0,5% тритон Х = 100, 0,001 М хлористый магний; 0,001 М фосфат калия (рН 6,5). Гомогенат центрифугировали при 5000 g 15 мин. Содержание белка определяли по Лоури (8). Нервные клетки выделяли по методу Хидена и Пигона в холодной комнате (9), в ряде опытов без предварительной окраски срезов метиленовой синькой. На одно определение использовали 6 нейронов и равные по объему глиальные клетки.

Электрофорез белков проводили в 7,5% полиакриламидном геле (взятом в капиллярах на 5 μл длиной 32 мм, с внутренним диаметром 440 μ) по методу Хидена и Ланге (6). Электродный буфер Девиса (10) был слегка модифицирован (рН 8,7). После электрофореза ферментативную активность ИЛД изучали гистохимически (7).

Гель фотографировали и денситометрирование снимков проводили при помощи микроденситометра (Джойс — Лёбль).

В первой серии опытов в гомогенате головного мозга нам удалось обнаружить пять ИЛД при количестве белка в геле $1,6 \times 10^{-9}$ г. По данным Хидена и Пигона (⁹), количество белка в клетке Дейтерса достигает $1,6 \times 10^{-6}$ г. Нужно иметь в виду, что до сих пор неизвестна доля растворимых белков в общем количестве белков нейрона. Расчеты показывают, что один нейрон должен быть достаточным для выявления активности ИЛД.

В наших опытах это предположение оправдалось: нам удалось обнаружить ИЛД в одном изолированном нейроне. Формазановая окраска раз-

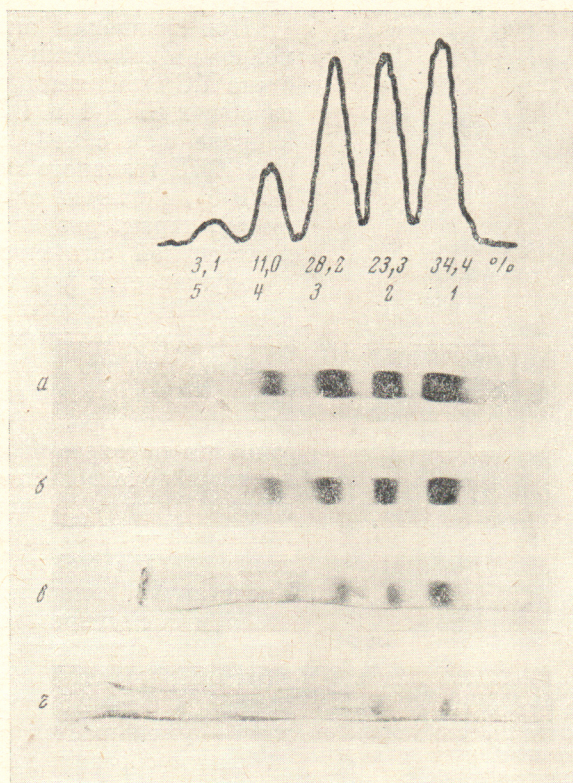


Рис. 1. Микроэлектрофоретическое разделение ИЛД гомогената головного мозга кроликов. Концентрация белка в расчете на гель: *a* — $8,0 \times 10^{-7}$, *b* — $1,8 \times 10^{-7}$, *c* — $1,6 \times 10^{-8}$, *d* — $1,6 \times 10^{-9}$ г

вивалась при этом медленно, поэтому время инкубации пришлось продлить до 60 мин. В опытах с большим количеством нейронов (6 нейронов в каждом определении) время инкубации сокращалось до 25 мин. Нами было выяснено, что в опытах с метиленовой синькой (МС) ферментативную активность сохраняли ИЛД-1 и ИЛД-2 как нейрона, так и нейроглии.

По данным Фритца и Джакобсона (¹¹), сульфгидрильные группы ИЛД защищены НАД. В процессе гомогенизации ИЛД-1 и ИЛД-2 почти полностью сохраняют связанный НАД, а ИЛД-4 и ИЛД-5 легко теряют его. В результате окисления сульфгидрильных групп (¹²) происходит их полная инактивация. МС окисляет сульфгидрильные группы белков, поэтому в присутствии красителя их содержание в гомогенате головного мозга уменьшается (¹³). В наших опытах с целью элиминирования действия МС в гомогенат добавлялся тиогликолят натрия (ТГ). При совместном при-

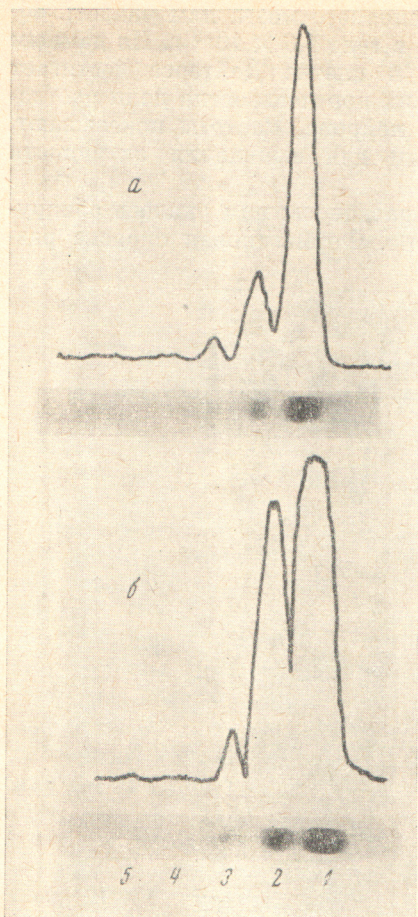


Рис. 2. Микроэлектрофоретическое разделение ИЛД нейроглии (а) и нейрона (б) латерального вестибулярного ядра кролика. Нервные клетки выделены в отсутствие МС

рен анаэробный метаболизм. Исходя из наших данных, сдвиги в распределении аэробных и анаэробных ИЛД в нейроне и в нейроглии следует рассматривать как отражение сродства нервных клеток к кислороду.

Авторы считают своим долгом выразить благодарность Х. Хидену за помощь при постановке опытов.

Тбилисский государственный университет

Институт нейробиологии
Гетеборгского университета
Швеция

Поступило

3 VI 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Дж. Уилкинсон, *Изоферменты*, 1968. ² С. L. Markert, H. Ursprung, *Development Biology*, 5, 363 (1962). ³ W. Gerhardt, J. Clausen, H. Anderson, *Acta neurol. scand.*, 39, 31 (1963). ⁴ J. M. Allen, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 94, 937 (1961). ⁵ E. S. Vesell et al., *J. Exp. Med.*, 116, 797 (1962). ⁶ H. Hyden, P. Lange, *J. Chromatography*, 35, 336 (1968). ⁷ R. L. Hunter, C. L. Markert, *Science*, 125, 1294 (1957). ⁸ O. H. Lowry et al., *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951). ⁹ H. Hyden, A. Pigon, *J. Neurochem.*, 6, 57 (1960). ¹⁰ B. J. Davis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964). ¹¹ P. J. Fritz, K. B. Jacobson, *Science*, 140, 64 (1963). ¹² H. A. Zondag, *Science*, 142, 965 (1963). ¹³ Н. Г. Алексидзе, *Сообщ. АН ГрузССР*, 44, 107 (1966). ¹⁴ A. Hamberger, H. Hyden, *J. Cell Biol.*, 16, 521 (1963).

менении МС и ТГ нам удалось выявить все 5 ИЛД как нейрона, так и нейроглии. Вместе с тем в присутствии ТГ МС все же вносит определенные изменения в активность ИЛД. Из табл. 1 видно, что в опытах, где МС отсутствовала, ферментативная активность ИЛД-3 вдвое больше, чем в опытах с МС, а ИЛД-2 — на 5–10%.

При сравнении активности ИЛД нейрона и нейроглии (рис. 2) в отсутствие МС выясняется, что активность аэробных ИЛД-1 и ИЛД-2 больше в нейроне, чем в нейроглии. Анаэробные ИЛД головного мозга (ИЛД-2 и ИЛД-5), в отличие от мышечной ткани (²), характеризуются низкой ферментативной активностью, при этом обнаруживается характерная тенденция повышенной активности анаэробных ИЛД в глиальных клетках.

Известно, что нейрон и нейроглия различаются чувствительностью к недостатку кислорода (¹⁴). В условиях гипоксии цитохромоксидазная активность нейрона повышается на 300%, а интенсивность в нем анаэробного гликолиза — на 57%, в нейроглии же этих сдвигов не наблюдается (¹⁴). Представляет интерес также тот факт, что при стимулировании вестибулярного ядра активность цитохромоксидазы в нервных клетках Дейтерса возрастает в 1,5–2,5 раза, а в нейроглии — уменьшается (⁹).

Таким образом, для нейроглии, в отличие от нейронов, более характерен анаэробный метаболизм.