

обнаружилась четкая связь темпов их развития с биомассой корма, вплоть до очень высоких ее значений. Не вызывает, однако, сомнений, что для решения вопроса о степени влияния трофических условий естественных водоемов на продолжительность постэмбрионального развития водных животных, необходимы специально поставленные опыты в условиях свободного выбора животными соответствующего вида корма. Исходя из общеэкологических представлений можно полагать, что в природе пищевые условия в меньшей степени влияют на скорость развития планктонных раков, чем в эксперименте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Węglińska T.—*Ecolog. Polska*, 1971, t. 19, № 30, s. 427.
2. Крючкова Н. М.—*Гидробиологический журнал*, 1973, т. 9, № 2, с. 69.
3. Крючкова Н. М., Рыбак В. Х.—*Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геол., геогр.*, 1975, № 1, с. 42.
4. Corner E. D. S., Cowey C. B.—*Biol. Rev.*, 1968, v. 43, p. 393.

Поступила в редакцию
01.12.78.

Проблемная НИИ экспериментальной
биологии

УДК 577.15

Н. М. ОРЕЛ, А. Т. ПИКУЛЕВ

АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ КРЫС ПРИ ДОБАВЛЕНИИ КАТЕХОЛАМИНОВ И АДРЕНОБЛОКАТОРОВ IN VITRO

Введение катехоламинов *in vivo* оказывает существенное влияние на общую активность лактатдегидрогеназы (КФ, 1.1.1.27, ЛДГ) и ее изоферментов, которое в какой-то степени опосредуется через адренорецепторы [1, 2]. Однако имеются указания [3] на то, что адреналин и норадреналин способны связывать сульфгидрильные группы, входящие в активный центр ферментов, приводя к снижению активности последних. Подобные сведения для ЛДГ отсутствуют, в то же время известно, что в формировании активного центра ЛДГ принимают участие *SH*-группы [4]. В связи с этим нами проведены исследования активности изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга и сердечной мышцы крыс при добавлении катехоламинов и адренолитиков *in vitro*.

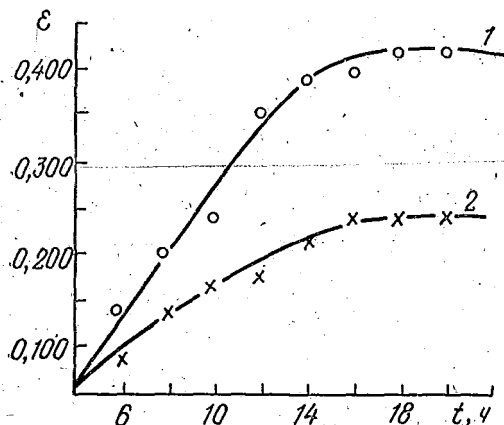
Исследования проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 130—180 г. Адреналин (α и β -адреномиметик) α -адреномиметик норадреналин, β -адренолитик обзидан (пропранолол, анаприлин, 1-изопропил-амино-3-нафтил-оксипропанол гидрохлорид; Изис-Хеми, ГДР) и α -адренолитик фентоламин (регитин, 2 [N-пара-толил N-(метаоксифенил - аминотетан)] - имидозалилгидрохлорид) раздельно добавляли к элюатам изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга и сердечной мышцы крыс в концентрациях от $1 \cdot 10^{-9}$ М до $1 \cdot 10^{-3}$ М в пробу и преинкубировали 10 мин. Для предотвращения окисления исследуемых веществ все операции проводили при температуре $+5^\circ\text{C}$. Изоферменты выделяли из 10%-ных гомогенатов головного мозга и сердечной мышцы (сахароза 0,32 М, трис-НСl буфер 0,02 М, рН 7,4) методом диск-электрофореза в полиакрил-

Способы элюирования изоферментов ЛДГ головного мозга (18 ч)*

Исследуемые растворы	ЛДГ-1	ЛДГ-5
H ₂ O	0,193	0,020
Фосфатный буфер рН 7,4	0,312	0,110
Трис буфер рН 7,4	0,300	0,116
0,9%-ный NaCl	0,460	0,212

* Активность представлена в экстинциях

амидном геле. Опыты показали, что разделение, позволяющее точно определить активность выделенных изоферментов, происходит при использовании концентрирующего крупнопористого геля, 7%-ного мелкопористого геля, 0,04 М трис-глицинового электродного буфера pH 8,3. Время электрофореза 2,5 ч; напряжение электрического поля 350 В; внесение образца в 40%-ной сахарозе (по 0,2 мл) в конечном разведении для гомогената мозга 1:200, сердца — 1:400. После проведения электрофореза гели извлекали и контрольные электрофореграммы (по одной для изоферментов мозга и сердца при каждой постановке опыта) окрашивали.



Зависимость полноты выделения изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга крыс от времени элюирования из полиакриламидного геля:
1 — ЛДГ-1; 2 — ЛДГ-5

Для проявления применяли метод [5] в следующей модификации раствора проявителя: 0,5 МL-лактат Li вместо 1 М и 30 мг НАД⁺ вместо 90 мг. Приведенные концентрации субстрата и кофермента позволяют четко определить зоны локализации изоферментов. Далее из неокрашенных колонок геля, совмещенных с окрашенным контролем, вырезали участки, соответствующие локализации ЛДГ-1 и ЛДГ-5. Вырезанные диски геля измельчали и элюировали изоферменты в 1 мл 0,9%-ного раствора NaCl (см. таблицу), в течение 18 ч при 5°C (см. рисунок).

Активность ЛДГ-1 и ЛДГ-5 определяли методом [6]. Пред-

варительно на основе кинетического метода были подобраны оптимальные условия протекания реакций. Концентрация L-лактата Li в инкубационной смеси для изоферментов мозга 4 мкМ, для изоферментов сердечной мышцы 8 мкМ, концентрация НАД⁺ — 1,2 мкМ, время инкубации 10 мин. Белок в элюатах определяли методом Лоури. Активность изоферментов выражали в мкМ пировиноградной кислоты на 1 г белка за 1 мин при 30°C. У интактных животных удельная активность ЛДГ-1 и ЛДГ-5 в головном мозге составляет 1850 ± 65 и 522 ± 17 , а в сердечной мышце — 2267 ± 90 и 547 ± 14 .

Адреналин, норадреналин, обзидан и фентоламин, добавляемые к элюатам изоферментов ЛДГ-1 и ЛДГ-5 головного мозга и сердечной мышцы в конечных концентрациях от $1 \cdot 10^{-9}$ до $1 \cdot 10^{-3}$ М в пробу, не влияют на активность изоферментов ЛДГ и непосредственно не взаимодействуют с их активным центром. Вероятно, наблюдаемый эффект связан с влиянием адренергических веществ через адренорецепторы или с воздействием их на ферменты, лимитирующие гликолиз [7].

ЛИТЕРАТУРА

- Орел Н. М. — В сб.: 4-й съезд Белорусского физиол. об-ва им. И. П. Павлова. Тез. докл., ч. 1—2. — Минск, 1974, с. 175.
- Орел Н. М., Грушник В. В. — В сб.: Вопросы эндокринологии. Тез. докл. 6-й конф. эндокринологов. — Минск, 1973, с. 94.
- Rusanov E., Balevska P. — Изв. Ин-та биохимии АН СССР, 1968, т. 11, вып. 1.
- Мальцев Н. И., Щорс Е. И. — Биохимия, 1970, т. 35, вып. 1, с. 27.
- Маркелов И. М. — Лаб. дело, 1966, № 12, с. 707.
- Ševela M., Tovarek J. — Časop. lékařu. česk., 1959, t. 98, v. 26, s. 844.
- Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. — М., 1966.