

Г. И. РОСКИН и М. Е. СТРУВЕ

ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ СУКЦИНОДЕГИДРАЗЫ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

(Представлено академиком А. И. Опариным 1 X 1949)

В гистофизиологии пока еще практически используется очень ограниченное число гистохимических реакций на ферменты (оксидазы, пероксидазы; в последнее время фосфатазы). В то же время гистофизиологическое изучение ферментов крайне важно для характеристики различных типов клеток и тканей и для учета происходящих в них физиологических и патологических сдвигов.

В нашей лаборатории была разработана гистохимическая методика выявления двух ферментов: сукцинодегидразы и оксидоредуказы.

Фермент сукцинодегидраза широко распространен в растительных и животных клетках и в клетках микроорганизмов. Этот фермент вместе с цитохромом и цитохромоксидазой образует энзиматическую систему. Сукцинодегидраза участвует в дыхании большинства растительных и животных клеток. Этот фермент является звеном в цепи тех сложных реакций, которые происходят при окислении жиров, углеводов и белков.

Роль сукцинодегидразы заключается в том, что она окисляет янтарную кислоту в фумаровую. По Тумбергу реакция дегидрирования янтарной кислоты в известной мере обратима и, если вести этот процесс в присутствии метиленовой синьки, то наступает в каждом случае равновесие: янтарная кислота + метиленовая синька \rightleftharpoons фумаровая кислота + лейкобаз метиленовой синьки.

По литературным данным сукцинодегидраза трудно отделима от ткани. Это позволяет гистохимически изучать распределение и сравнительную активность сукцинодегидразы в клетках различных органов и тканей. Так как сукцинодегидраза тесно связана с клетками, то восстановление метиленовой синьки будет происходить интенсивнее в тех клетках, где этот фермент активнее.

В нашей лаборатории была разработана методика гистохимического определения сукцинодегидразы в различных тканях. Для этого изготовляют срезы, предварительно нефиксированные, на замораживающем микротоме. Затем срезы тщательно промывают дистиллированной водой для удаления растворимых веществ, могущих влиять на восстановление метиленовой синьки. После этого срезы окрашивают в смеси, состоящей из 2 см³ 0,05% метиленовой синьки, к которым добавляют 2 см³ 10% янтарнокислого натрия и доливают фосфатную буферную смесь по Серенсену с рН 7,6—8,0 до 10 см³. Количество янтарнокислого натрия может несколько варьировать. В случае более высокой концентрации янтарнокислого натрия реакция обесцвечивания метиленовой синьки идет быстрее. Окраска срезов в смеси длится 10—15 мин., затем срезы переносят на предметное стекло с 1—2 каплями вышеназванной

смеси и покрывают покровным стеклом так, чтобы не оставалось пузырька воздуха.

Края покровного стекла тщательно заливают парафином для достижения анаэробных условий. Таким образом создается анаэробная микрскомера, в которой происходит процесс перехода метиленовой синьки в лейкооснование, связанный с окислением янтарной кислоты. Отмечая скорость обесцвечивания метиленовой синьки в различных клетках и тканях, можно устанавливать, в каких элементах тканей сукцинодегидраза действует активней. Еще раньше в нашей лаборатории было установлено, что предварительное нагревание ткани в термостате при 60—80° в течение 5—15 мин. полностью уничтожает способность клеток давать вышеописанную реакцию. Цианистый калий, в концентрациях 0,01 и 0,001%, также полностью инактивирует сукцинодегидразу. Изменение pH влияет на скорость обесцвечивания метиленовой синьки кусочками ткани. Было установлено, что оптимальное pH равно 7,6—8,0. Далее было показано, что концентрация янтарнокислого

Таблица 1

	Кролик		Мышь	
	начало обесцвечивания	конец обесцвечивания	начало обесцвечивания	конец обесцвечивания
Сердце:				
миокард	3—5 м.	15—20 м.	5 м.	15—20 м.
кровеносные сосуды сердца	1 ч.	2 ч.	40 м.— 1 ч.	1 ч. 30 м.— 2 ч.
Почка:				
корковое вещество	5—10 м.	20 м.	5—10 м.	20—30 м.
мальпигиевы клубочки	30—45 м.	1 ч. 30 м.— 2 ч.	30 м.	1 ч.— 1 ч. 30 м.
мозговые лучи	1 ч.	2—3 ч.	45 м.— 1 ч.	2 ч.
мозговое вещество	3 ч.	12 ч.	2—3 ч.	6—8—12 ч.
Печень	30 м.	3 ч.	25—30 м.	2,5—3 ч.
Поперечно - полосатая мускулатура	30 м.	1 ч 30 м.	15—20 м.	1 ч. 30 м.— 1 ч. 45 м.
Гладкая мускулатура желудка:				
ядра	50 м.	1 ч. 40 м.	50 м.	2 ч.
плазма	30 м.	—	—	—
Легкое:				
альвеолы	2—3 ч.	12—24 ч.	2—3 ч.	12—24 ч.
бронхиолы	4—8 ч.	12—24 ч.	4 ч.	12—24 ч.
кровеносные сосуды легкого	1 ч.	2 ч.	1 ч.	2 ч.
Селезенка	1 ч.— 1 ч. 30 м.	4—5 ч.	1—2 ч.	4—5 ч.
Надпочечник:				
мозговое вещество	1 ч.	4—5 ч.	—	—
корковое вещество	30 м.	2—3 ч.	—	—
Кора головного мозга:				
нервные клетки	20 м.	1 ч. 30 м.— 2 ч.	20 м.	1 ч.— 1 ч. 30 м.
нейроглия	5—10 м.	20—30 м.	10 м.	20—30 м.
Тонкая кишка:				
эпителий ворсинок	1 ч.	3 ч.	30—40 м.	2,5—3 ч.
крипты	2 ч.	24 ч., иногда не обесцвечивается	1 ч.	24 ч., иногда не обесцвечивается

натрия влияет на скорость реакции: чем меньше концентрация этой соли, тем процесс идет медленнее.

Объектами нашего изучения были различные ткани кролика и белой мыши. Результаты реакции на сукцинодегидразу в тканях кролика и белой мыши приведены в табл. 1. Рассмотрение табл. 1 показывает, что активность в различных тканях сукцинодегидразы проявляется различно. В большинстве тканей нельзя отметить разницы между реакцией в ядре и цитоплазме, однако в гладкой мускульной ткани желудка можно отметить разницу между ядром и плазмой.

В некоторых тканях реакция протекает равномерно в различных участках, в других тканях эта реакция идет неравномерно, т. е. отдельные участки обесцвечиваются быстрее других; к таким тканям относятся, например: 1) печень, где отдельные доли обесцвечиваются быстрее, другие медленнее; 2) волокна поперечно-полосатой мускулатуры.

Весьма интересные результаты дает реакция на сукцинодегидразу в клетках крови; в табл. 2 приведены результаты наблюдений над клетками крови человека. Можно видеть, что ядра различных зернистых лейкоцитов дают разную реакцию на сукцинодегидразу, плазма и зернистости нейтрофилов и эозинофилов остаются бесцветными, в то время как зерна базофилов окрашиваются в синий цвет.

Таблица 2

	Начало обесцвечивания	Конец обесцвечивания	Примечания
Нейтрофилы: ядра	1 ч.—1 ч. 30 м	3—4 ч.	Ядра нейтрофилов к концу обесцвечивания сильно разбухают
плазма и зернистости	бесцветны	бесцветны	
Эозинофилы: ядра	1 ч.	3—4 ч.	Ядра обесцвечиваются неполностью, остается голубая окраска
плазма и зернистости	плазма бесцветна	плазма бесцветна	Зернистость окрашивается в желтоватый цвет
Базофилы: ядра	1 ч.	3 ч.	
плазма и зернистости	зернистость синяя плазма бесцветна	зернистость синяя плазма бесцветна	Плазма бесцветная до и после реакции
Лимфоциты малые, средние, большие: ядра	1 ч.	через 5—6 час. ядра почти бесцветны; на другой день они остаются светлоголубыми	Ядрышки остаются голубыми. Плазма окрашивается в голубой цвет и на другой день она остается окрашенной
Моноциты: ядра	1 ч.	5—6 ч.	Плазма окрашивается в голубой цвет и на другой день она остается окрашенной

Лимфоциты малые, средние и большие по реакции ядра и протоплазмы существенно отличаются от зернистых лейкоцитов. Реакция моноцитов приближается по своему характеру к реакции лимфоцитов и отличается от реакции, которую дают зернистые лейкоциты.

Приведенные данные показывают, что реакция на сукцинодегидразу может представить интерес при изучении физиологических и патологических изменений в различных тканях. Нам кажется, что особое значение эта реакция может иметь при анализе состояния различных кровяных элементов как в норме, так и при различных патологических состояниях.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
1 X 1949