

УДК 577

Фоменко О.З., Абдулахатова К.А., Ушакова Г.А.

**ЛЕКТИН – СВЯЗЫВАЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ БЕЛКОВ
МОЗГА ПРИ ДЕФИЦИТЕ МЕТИОНИНА И ХОЛИНА**Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара,
г. Днепропетровск, e-mail: olfom@ua.fm**Ключевые слова:** лектины, метионин, холин, головной мозг

Лектины – углеводсвязывающие белки растительного или животного происхождения. Лектины обнаружены на всех уровнях развития живых организмов – от вирусов до человека и выполняют определенные функции на каждой ступени эволюционного развития.

Лектины взаимодействуют как со свободными моносахаридами и олигосахаридами, так и с остатками углеводов в составе гликопротеидов, полисахаридов и гликолипидов. Лектины животного происхождения идентифицированы и выделены почти из всех органов и тканей позвоночных, в частности из тканей почек, сердца, печени, легких, мышц, головного и спинного мозга. Особый интерес представляют лектины нервной ткани – нейролектины, которые принимают участие в обеспечении пластичности головного мозга и передаче метаболических сигналов [1].

Холин – витаминоподобное вещество, принадлежащее к семейству витаминов В-комплекса. Холин – одно из веществ, которые способны проникать через гематоэнцефалический барьер, и в норме защищает мозг от колебаний в рационе питания, поступая прямо в клетки головного мозга.

Нарушение энергетических и метаболических процессов в клетках головного мозга сопровождается такими симптомами, как умственная усталость, ухудшение памяти, подавленность или депрессия, нарушение сна. Все это может быть проявлениями дефицита холина в организме. Холин выполняет еще одну важную функцию в клетках мозга, он является предшественником нейротрансмиттера ацетилхолина, который образовывается в холинэргичных волокнах ЦНС [6].

Метионин – также одно из важнейших пищевых соединений, которые не синтезируются в организме. Он принадлежит к группе незаменимых аминокислот. Метионин играет важную роль в синтезе адреналина, креатинина и других биологически активных соединений. Он также необходим для синтеза многих белков, нуклеиновых кислот

и коллагена. Достаточное количество метионина ускоряет регенеративные процессы, активизирует действие гормонов, витаминов и ферментов. Метионин и холин принимают участие в процессах метилирования, имеют липотропное влияние, нормализуют синтез фосфолипидов [3].

Целью нашей работы было изучить влияние метионин-холин дефицитной диеты на лектин-связывающую активность белков мозга крыс.

Материалы и методы

Экспериментальная модель основывалась на метионин-холин дефицитной диете, производимой MP Bio (Германия). 14 крыс-самцов линии Sprague-Dawley (Mol:SPRD Han; Taconic M&B A/S, Ry, Denmark) были разделены на 2 группы простой рандомизацией: 1 – контрольная группа с общепринятой стандартной диетой; 2 – крысы, получавшие МХДД 30 г/день в течение 16 недель.

Крыс декапитировали под анестезией изофураном. Мозг быстро извлекали и делили наполовину саггитально. Одна часть мозга фиксировалась в растворе Буэна для иммуногистохимического исследования. Вторая часть мозга делилась на заднюю часть полушарий, которая включала таламус, гипоталамус, гиппокамп, кору, и промежуточный мозг, включая мозжечок. Ткани были отделены и гомогенизированы в 10 частях холодного буфера (25 мМ Трис, 1 мМ ЭДТА, 2 мМ 2-меркаптоэтанол, 0,2 мМ ФМСФ и 0,01% мертиолат, pH 7,4).

В ходе последовательных стадий центрифугирования (при 100,000 g в течение 60 мин) были выделены 2 фракции, одна из которых содержала водорастворимые и цитозольные белки, вторая – филаментные белки. Все процедуры проводились при 4 °С.

Определение лектин-связывающей активности белков мозга проводили конкурентным твердофазным лектин-ферментным методом. Определяли количество связавшегося WGA лектина в нанограммах, приходящегося на миллиграмм общего белка фракции. Гистохимическое окрашивание срезов проводилось лектином WGA, меченым пероксидазой хрена.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют об изменении интенсивности связывания WGA лектина со специфическими рецепторами в мозжечке крысы (рис. 1). На рисунке видно, что наибольшее количество лектина связывается в области внутреннего гранулярного слоя (области расположения астроцитов). В области

внешнего гранулярного и молекулярного слоев наблюдается меньшее количество связанного лектина.

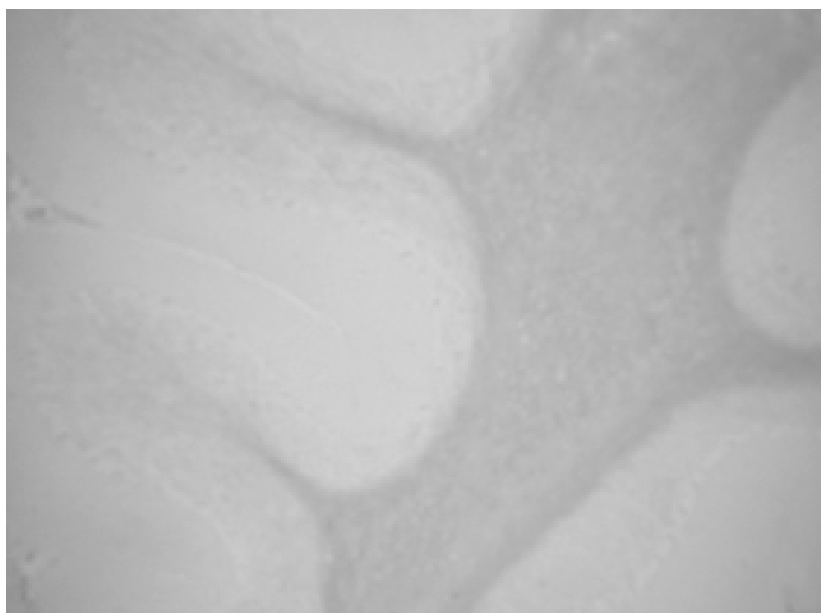


Рис. 1. Интенсивность связывания WGA лектина со специфическими рецепторами в мозжечке крысы (темное окрашивание). Увеличение в 100 раз. ВшГС–внешний гранулярный слой; ВГС–внутренний гранулярный слой; МС–молекулярный слой.

При микроскопии на большем увеличении (рис. 2) наблюдается увеличенное количество лектина, связавшегося с компонентами межклеточного матрикса и в около мембранной области.

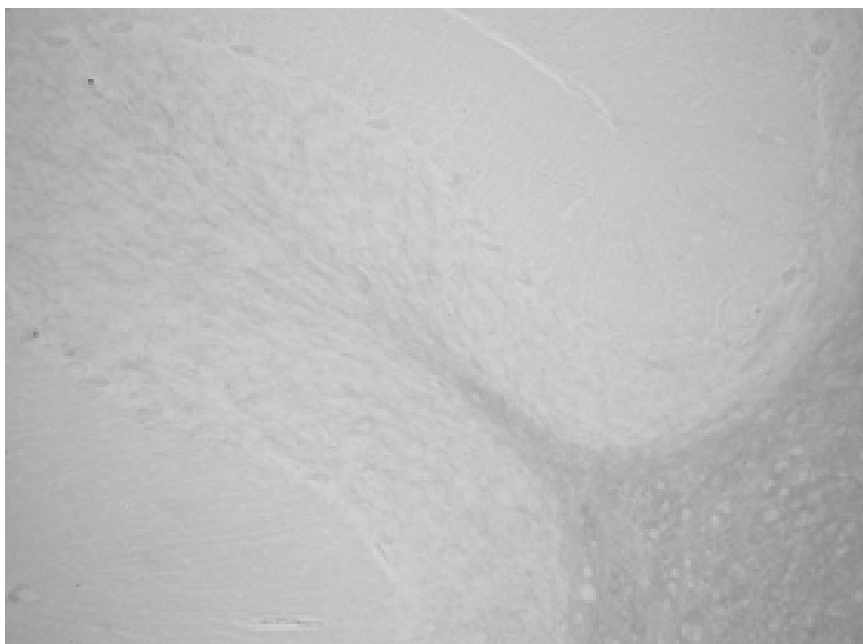


Рис. 2. Интенсивность связывания WGA лектина со специфическими рецепторами в мозжечке крысы. Увеличение в 500 раз. ВГС–внешний гранулярный слой.

В работе [5] авторами также показано значительное связывание WGA лектина с компонентами межклеточного матрикса и нейронных плазматических мембран. Существование таких глиальных центров связывания лектинов играет важную роль в управлении биологической активностью, включая управление нейрональным транспортом и транспортом макромолекул. Ранее установлено, что распределение связавшегося лектина изменяется с возрастом [8], это свидетельствует об интенсивной вариабельности гликопротеинов и гликозаминогликанов во внеклеточном матриксе в процессе онтогенеза.

В поставленном эксперименте было определено, что применение метионин-холин дефицитной диеты (МХДД) влияет на лектин-связывающую активность компонентов мозга крыс. В результате работы показано, что метионин-холин дефицитная диета понижает лектин-связывающую активность компонентов мозжечка и задней части полушарий, как в цитозольной, так и в филаментной фракции мозга крыс (рис. 3). Так, количество связавшегося лектина в цитозольной фракции уменьшилось в мозжечке на 34% (с 12,26 нг/мг до 8,14 нг/мг), а в задней части полушарий – на 26 % (с 8,69 нг/мг до 6,4 нг/мг). Аналогичным образом, в филаментной фракции количество связавшегося лектина уменьшилось на 39% в мозжечке (с 96,35 нг/мг до 56,14 нг/мг) и на 29% в задней части полушарий (с 37,22 нг/мг до 26,72 нг/мг).

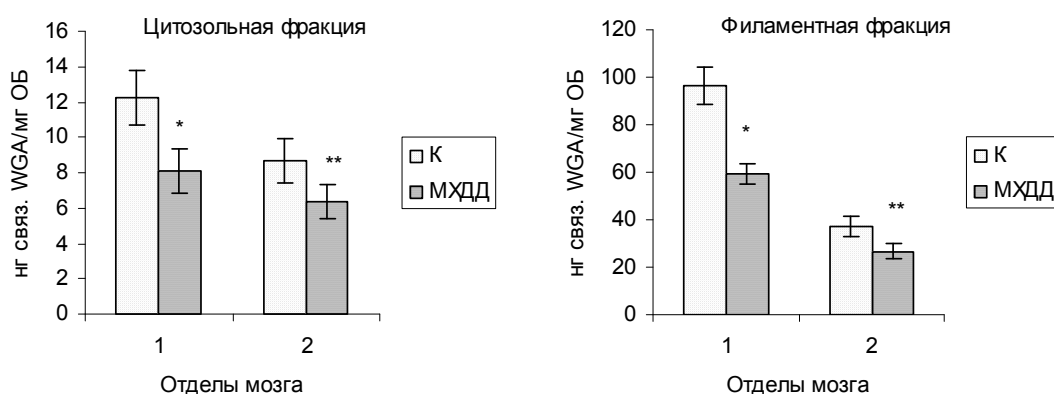


Рис. 3. Лектин-связывающая способность цитозольных и филаментных белков, выделенных из мозга крыс.

1 – мозжечок; 2 – задняя часть полушарий; К – контрольная группа; МХДД – группа животных, которые содержались на метионин-холин дефицитной диете в течение 16 недель, n = 7. * – p < 0,01, ** – p < 0,1.

Наблюдающееся более значительное уменьшение активности в цитоскелетной фракции, чем в цитозольной фракции, можно

объяснить большими изменениями, происходящими с белками цитоскелета под влиянием метионин-холин дефицитной диеты. Такие изменения индуцируют снижение эффективности сигнальных механизмов. В работе [2] авторы показали вариабельность в лектин-связывающей активности между различными отделами мозга в зависимости от степени дифференцирования клеток.

Интересные результаты были получены исследователями [7], которые в своей работе описали типирование опухолей мозга. Как было показано, связывание с WGA лектином более характерно для фибробластных типов опухолей, т.к. WGA лектин связывается с N-ацетилглюкозамином и нейраминовой кислотой. Также установлена вариабельность лектин-связывающей активности в различных субклеточных фракциях головного мозга крыс [4]. Авторы указывают на большее связывание в мембранной и филаментной фракциях по сравнению с цитозольной, что подтверждается в нашей работе.

Значительное уменьшение лектин-связывающей активности белков мозга в условиях метионин-холин дефицитной диеты можно объяснить как количественными изменениями, происходящими в клетках, так и качественными - изменение конформации рецепторов. Произошедшие конформационные изменения могли привести к изменению пространственного положения центров связывания лектина.

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о существенной редукции углевод-связывающей активности цитозольных и цитоскелетных компонентов в мозге крыс в условиях дефицита метионина и холина, что может быть одним из ключевых элементов в механизме развития энцефалопатии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Луцик М. Д., Панасюк Е. Н., Луцик А. Д. Лектины. – Львов: Вища школа, 1981. – 156 с.
2. Cheunsuang O., Stewart A.L., Morris R. Differential uptake of molecules from the circulation and CSF reveals regional and cellular specialization in CNS detection of homeostatic signals // Cell Tissue Res. - 2006. - Vol. 325(2). - P. 397-402.
3. Cloix J.F., Hévor T. Epilepsy, regulation of brain energy metabolism and neurotransmission // Curr Med Chem. – 2009. - Vol. 16(7). – P. 841-853.
4. Sato Y., Kimura M., Endo T. Comparison of lectin-binding patterns between young adults and older rat glycoproteins in the brain // Glycoconj J. – 1998. – Vol. 15(12). - P. 1133-1140.
5. Steindler D.A., Cooper N.G. Wheat germ agglutinin binding sites in the adult mouse cerebellum: light and electron microscopic studies // J. Comp Neurol. - 1986. - Vol. 249(2). - P. 170-185.

6. Stuart, R.O., Bush, K.T. and Nigam, S.K., Changes in global gene expression patterns during development and maturation of the rat kidney // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. - 2001. – Vol.98. - P. 5649–5654.
7. Taraszewska A., Matyja E. Lectin binding pattern in meningiomas of various histological subtypes // Folia Neuropathol. – 2007. - 45(1). – P. 9-18.
8. Viejo Tirado F., Peña Melián A., Puerta Fonollá J. Lectin-binding patterns in the development of the cerebellum // Anat Embryol (Berl). – 1994. – Vol. 189(2). – P. 169-179.

О.З. Фоменко, К.А. Абдулахатова, Г.О. Ушакова
ЛЕКТИН – ЗВ’ЯЗУЮЧА АКТИВНІСТЬ БІЛКІВ МОЗКУ ЗА
УМОВ ДЕФЦИТУ МЕТІОНІНА ТА ХОЛІНА

Ключові слова: лектини, метіонін, холін, головний мозок

За допомогою гістохімічних та біохімічних методів у модельному експерименті показано значне зниження лектин-зв’язуючої активності цитозольних та цитоскелетних/екстрацелюлярних компонентів мозку в умовах метіонін-холін дефіцитної дієти.

O.Z.Fomenko, K.A.Abdulahatova, G.A.Usakova
LECTIN-BINDING ACTIVITY OF BRAIN PROTEINS UNDER
METHIONINE-CHOLINE DEFICIT

Key words: lectin, methionine, choline, brain

The article presents the results of a model experiment on the lectin-binding activity of brain proteins under methionine-choline deficit. Based on hystochemical and biochemical methods, it shows a substantial decrease of lectin-binding activity of cytosolic and cytoskeletal/extracellular components in the rat brain under a methionine-choline deficient diet.