

УДК 612.826.4.015.348—06:612.592.1

ЯДЕРНЫЕ БЕЛКИ НЕЙРОНОВ И ГЛИОЦИТОВ В ДВИГАТЕЛЬНОЙ ЗОНЕ КОРЫ МОЗГА КРЫС ПРИ АККЛИМАЦИИ К ХОЛОДУ

КРИЧЕВСКАЯ А. А., ШУГАЛЕЙ В. С., КЛЕНИКОВА В. А.,
ЛОМАКИНА Л. В., ЛОСЕВА С. П.

Методом двухволновой цитоспектрофотометрии определяли содержание основных и кислых белков в ядрах нейронов и глиальных клеток-сателлитов V слоя двигательной зоны коры мозга крыс на 1, 3, 7, 15, 30 и 45 суток акклимации животных к холоду (температура 2—4°). Охлаждение приводило к снижению количества ядерных основных белков в нейронах на 1, 3, 15 суток, в глиоцитах—на 1, 3, 30 и 45 суток холодового воздействия. У адаптированных к холоду животных (30 и 45 суток) уровень ядерных основных белков в нейронах возвращался к контролю, а в глиальных клетках продолжал оставаться пониженным. В ранние сроки действия холода (1—3 суток) и у адаптированных животных (30 и 45 суток) содержание кислых белков в ядрах нейронов оставалось на уровне контроля, а на 7 и 15 суток пребывания животных при низкой температуре уровень ядерных кислых белков был ниже контрольного. Количество кислых белков в перинейрональных глиоцитах оставалось без изменений в течение всего процесса акклимации крыс к холоду. Наиболее лабильной фракцией ядерных белков в двигательной зоне коры мозга крыс в условиях холодовой акклимации оказалась фракция основных белков.

Хроническое действие умеренно низкой температуры среды на организм теплокровных животных приводит к холодовой акклимации. Этот процесс на молекулярном уровне включает сложную перестройку метаболизма, в которой активно участвует ЦНС. При действии низкой температуры (2—4°) уже в первые дни у крыс в гипоталамической области обнаруживаются существенные изменения в содержании ядерных белков в нейронах и глиоцитах. Эти изменения носят специфический характер в клетках функционально различных структур гипоталамуса—супраоптического ядра и медиальной преоптической области [1, 2]. Очевидно, это связано с той ролью, которую играет гипоталамус в процессе терморегуляции [3].

Однако, если фенотипические адаптации, каковой является и холодовая акклимация, непосредственно связаны с формированием долговременной памяти [4], то в процесс адаптивной перестройки вовлекаются другие отделы и структуры ЦНС. При холодовой акклимации важная роль принадлежит двигательной зоне коры головного мозга, поскольку двигательная активность животных непосредственно связана с процессом терморегуляции [5].

В работе определяли содержание основных и кислых белков в ядрах нейронов и глиальных клеток в двигательной зоне коры мозга крыс в процессе их акклимации к холоду.

Материалы и методы

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах массой 150—180 г, которых в течение 45 суток содержали в холодовой камере при температуре 2—4°. Животные получали стандартный полноценный рацион питания. Ректальная температура крыс в течение всего эксперимента оставалась неизменной. В первые дни пребывания на холоду животные были мало подвижны, теряли в массе. Через две недели их поведение постепенно нормализовалось, они начинали набирать массу. Контролем служили животные того же пола, возраста и массы, содержавшиеся в условиях вивария при температуре 20—22°.

Через 1, 3, 7, 15, 30 и 45 суток после помещения крыс в холодовую камеру подопытных и одновременно контрольных животных забивали быстрым обезглавливанием без наркоза, иссекали двигательную зону коры больших полушарий, фиксировали в охлажденной смеси Карнуа, обезжировали и заливали в парафин по общепринятой схеме [6]. В срезах толщиной 5—8 мкм исследовали клетки V слоя двигательной зоны коры. Основные (катионные) белки выявляли альциановым синим после предварительной инкубации с гепарином [7], а кислые (анионные) белки—прочным зеленым при pH 2,6 [8, 9]. Количество белка в расчете на одно ядро нейрона или глиоцита в V слое двигательной коры определяли двухволновым методом видимой цитофотометрии на цифровом микроцитометре МЦФУ-1 [10]. Среднюю величину содержания белка рассчитывали по данным фотометрии (150—160 клеток от 5 животных). Результаты выражали в единицах оптической плотности на одно ядро клетки, умноженных на 100.

Результаты и обсуждение

В нейронах V слоя двигательной зоны коры содержится $99,5 \pm 2,2$ ед. кислых белков. В глиальных клетках белков, окрашивающихся этим же красителем, $-75,7 \pm 2,3$ ед. Содержание кислых белков в нейронах снижалось на 15—18% соответственно на 7 и 15 сутки пребывания животных при низкой температуре. В ранние сроки действия холода (1—3 суток) и у адаптированных к холоду животных (30 и 45 суток) содержание кислых белков в нейронах оставалось на уровне контроля. Содержание кислых белков в перинейрональных глиоцитах V слоя двигательной зоны коры больших полушарий не изменялось во все сроки акклимации (таблица, рис. 1).

Большие изменения были обнаружены во фракции основных белков (таблица). В нейронах двигательной коры на 1, 3 и 15 сутки количество основных белков было сниженным на 25, 18 и 27% и возвращалось к контролю на 30 и 45 сутки акклимации (рис. 2).

В клетках перинейрональной глии содержание основных белков в начальные сроки холодового воздействия (1 и 3 сутки) также было сниженным на 20,6 и 19,6%, на 7 и 15 сутки уровень этих белков в глиоцитах несколько возрастал, но по-прежнему оставался ниже контроля на 9,5 и 11% соответственно. На 30 и 45 сутки акклимации количество основных белков было на 17 и 19,6% ниже, чем у контрольных животных (рис. 2).

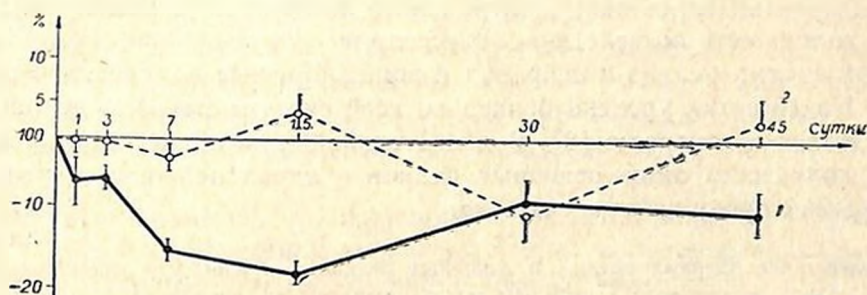


Рис. 1. Изменение содержания кислых белков в ядрах нейронов (1) и перинейрональной глии (2) V слоя двигательной зоны коры больших полушарий мозга крыс в ходе акклимации к холоду. Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс—сроки акклимации животных в сутках; по оси ординат—изменение содержания белка в процентах к контролю.

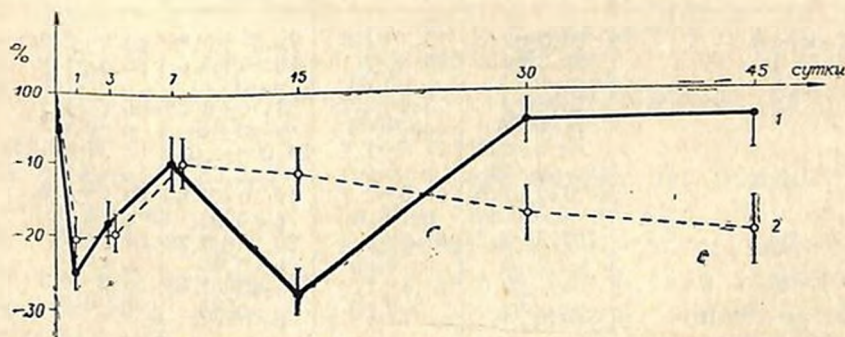


Рис. 2. Изменение содержания ядерных основных белков в нейронах (1) и глиоцитах (2) V слоя двигательной коры мозга крыс при акклимации к холоду

Из полученных результатов видно, что наиболее лабильной фракцией ядерных белков в условиях холодовой акклимации в двигательной зоне коры больших полушарий крыс были основные белки.

Сопоставление динамики исследованных ядерных белков показало, что наиболее существенным отличием белков гипоталамической и двигательной зон были более глубокие изменения в гипоталамусе, затрагивавшие кислые и основные белки ядер нейронов и глиальных клеток. Так, например, уровень основных белков в нейронах в супраоптическом ядре (СОЯ) и медиальной преоптической области (МПО) гипоталамуса на 1 сутки повышается, а на 3—снижается. В глиоцитах

СОЯ изменения количества этих белков зеркально противоположны изменениям в нейронах. В глиоцитах МПО снижение количества белка происходило лишь на 3 сутки пребывания крыс на холоду. На 15 сутки акклимации уровень белков во всей системе нейрон—нейроглия обеих гипоталамических структур возвращался к контролю [1]. Содержание ядерных кислых белков в нейронах и глиоцитах СОЯ превышало уровень контроля в первую неделю действия холода на крыс, на 15 сутки—становилось ниже контрольного значения. В МПО на 1—3 сутки холодого воздействия наблюдали уменьшение количества ядерных кислых белков в нейронах и волнообразные изменения в глиоцитах. На 15 сутки уровень белков во всей системе нейрон—нейроглия возвращался к контролю [2]. В двигательной зоне происходило уменьшение количества лишь основных белков в ядрах нейронов и глиоцитах в ранние сроки действия холода.

Таблица

Содержание ядерных кислых и основных белков в нейронах и глиоцитах V слоя двигательной зоны коры мозга крыс при акклимации к холоду (единицы оптической плотности $\times 100$). ($M \pm m$)

Продолжительность акклимации (в сутках)	Кислые белки		Основные белки	
	нейрон	глиоцит	нейрон	глиоцит
Контроль	99,5 $\pm$ 2,2	75,7 $\pm$ 2,3	26,30 $\pm$ 0,88	69,9 $\pm$ 2,9
1	93,3 $\pm$ 2,3 $p > 0,05$	75,8 $\pm$ 2,1 $p > 0,05$	18,80 $\pm$ 0,68 $p < 0,001$	55,5 $\pm$ 1,9 $p < 0,001$
3	94,8 $\pm$ 2,5 $p > 0,05$	75,4 $\pm$ 2,7 $p > 0,05$	21,50 $\pm$ 0,98 $p < 0,001$	56,2 $\pm$ 1,1 $p < 0,001$
7	84,2 $\pm$ 2,3 $p < 0,001$	77,5 $\pm$ 1,7 $p > 0,05$	24,00 $\pm$ 1,63 $p > 0,05$	63,20 $\pm$ 2,98 $p > 0,05$
15	81,5 $\pm$ 1,8 $p < 0,001$	78,3 $\pm$ 2,7 $p > 0,05$	19,10 $\pm$ 0,89 $p < 0,001$	62,1 $\pm$ 3,6 $p > 0,05$
30	107,9 $\pm$ 2,2 $p > 0,05$	68,7 $\pm$ 1,4 $p > 0,05$	25,20 $\pm$ 0,79 $p > 0,05$	57,9 $\pm$ 2,9 $p < 0,01$
45	108,8 $\pm$ 2,0 $p > 0,05$	78,5 $\pm$ 1,7 $p > 0,05$	25,40 $\pm$ 0,85 $p > 0,05$	56,2 $\pm$ 4,2 $p < 0,01$

Насколько полученные данные согласуются с направленностью и сбалансированностью основных, характерных для ЦНС, процессов возбуждения и торможения? Существует представление, что перевозбуждение или неадекватное возбуждение сопровождаются на клеточном уровне снижением содержания основных макромолекул—РНК и белков [11]. Действительно, стрессорное действие холода вызывало в двигательной зоне снижение количества основных ядерных белков. На 15 сутки, когда была наиболее выражена фазовость акклимации и шла перестройка метаболизма от стрессорного характера функционирования к адаптивному, при выраженной индивидуальной чувствительности животных к холоду мы наблюдали наибольшие изменения в содержании ядерных белков в нейронах двигательной зоны. Можно полагать, что одним из механизмов, посредством которого мог снижаться уровень белков, была активация протеолитических процессов, имев-

шая место в нервных клетках при действии холода [12, 13] и других экстремальных воздействиях [14, 15].

Известно, что холодовая адаптация не происходит по типу полной компенсации метаболизма [16]. Было установлено, что у животных, адаптированных к холоду, в тканях оказывалось повышенным содержание мочевины, наблюдалась значительная активация аргиназы в печени и снижение ее активности в ткани мозга [17]. У них отмечены глубокие изменения липидного и энергетического обменов, процессов нейроэндокринной регуляции [18]. Отсутствие нормализации уровня основных ядерных белков в глиальных клетках двигательной зоны коры мозга адаптированных к холоду крыс подтверждает вывод, что полной компенсации метаболизма при холодовой адаптации не происходит.

Нам представляется, что изменения количества ядерных основных белков в нейронах и клетках нейроглии в ходе холодовой акклимации является косвенным подтверждением генорегуляторного характера развития адаптации в структурах ЦНС.

NUCLEAR PROTEINS OF NEURONS AND GLIOCYTES FROM RAT BRAIN CORTEX MOTOR ZONE IN THE COURSE OF COLD ACCLIMATION

KRICHEVSKAYA A. A., SHUGALEY V. S., KLENIKOVA V. A.,
LOMAKINA L. V., LOSEVA S. P.

State University, Rostov-on-Don, Pavlov's Institute of Physiology, USSR
Academy of Sciences, Leningrad

The content of nuclear acid and basic proteins has been determined in neurons and glial satellite cells from the 5th layer of brain cortex motor zone by means of a double-wave visible cytospectrophotometric method in rats exposed to cold (2—4°) for 1, 3, 7, 15, 30 and 45 days. A decrease in both neuronal and glial basic proteins content has been detected in the first 1—15 days and was followed by a reincrease in the neuronal basic protein amounts up to the initial value in adapted animals (30 and 45 days). The neuronal acid proteins content has not altered at the beginning of treatment (1—3 days) and in adapted animals (30 and 45 days) but was diminished from 7th to 15th days of acclimation to cold. However, the glial acid proteins content has not changed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кричевская А. А., Могильницкая Л. В., Певзнер Л. З. ДАН СССР, 228, 982—984, 1976.
2. Могильницкая Л. В., Певзнер Л. З. Бюл. exper. биол. и мед., 86, 8, 187—190, 1978.
3. Wang L. C. H., Hanson I. W. (ed.) Strategies in cold. Natural Torpidity and thermogenesis. A. P., 1978.
4. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов, Л., Наука, с. 76—80, 1981.

5. *Smellie R. M. S., Pennock I. F. (ed.) Biochemical Adaptation to Environmental change (Biochem. Soc. Symp.), London, Biochemical Society, 9, 240, 1976.*
6. *Ромейс Б. Микроскопическая техника, М., ИЛ, 1954.*
7. *Labelle J.-L., Normad B. Acta histochemistry, 41, 338—348, 1971.*
8. *Deich A. D., Terner G. V. J. of Histochemistry and cytochemistry, 13, 15—16, 1965.*
9. *Brumberg V. A., Pevzner L. Z. Microscopica acta, 80, 323—330, 1978.*
10. *Зарубина И. Л., Давыдова М. Н., Кулаков А. А., Куранов А. И., Макаров Ю. К., Мамаева А. И., Маслова Г. И., Попов В. А., Певзнер Л. З. Цитология, 12, 1439—1443, 1975.*
11. *Певзнер Л. З. Функциональная биохимия нейроглии, Л., Наука, с. 152—153, 1972.*
12. *Могильницкая Л. В., Шугалей В. С. Физиол. ж. СССР, 64, 7, 1035—1038, 1978.*
13. *Ломакина Л. В., Шугалей В. С. Физиол. ж. СССР, 66, 400—405, 1980.*
14. *Лукаш А. И., Чихачев А. С., Карташова Л. Д. Укр. биохим. ж., 47, 728—733, 1975.*
15. *Покровский А. А., Тутельян В. А. Лизосомы, М., Наука, с. 183—184, 1976.*
16. *Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации, Новосибирск, Наука, с. 10—82, 1980.*
17. *Шугалей В. С., Козина Л. С. Физиол. ж. СССР, 63, 1199—1202, 1977.*
18. *Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт (под ред. В. П. Казначеева), Л., Медицина, с. 199, 1980.*

Кафедра биохимии и НИИ биологии РГУ,
Институт физиологии им. И. П. Павлова
АН СССР, Ленинград

Поступила 26.11 1982