НЕЙРОХИМИЯ

т. 6, № 4, 1987

УДК 612.821.7+612.822.1

СУЛЬФГИДРИЛЬНЫЕ ГРУППЫ В ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ СИНЕГО ПЯТНА, СУПРАОПТИЧЕСКОГО ЯДРА И ДОРЗАЛЬНОГО ЯДРА ШВА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЛИШЕНИИ ПАРАДОКСАЛЬНОЙ ФАЗЫ СНА

КРИВЕНКО Н. Е., КЛЕНИКОВА В. А., ДЕМИН Н. Н.

Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, Ленинград

Ранее было установлено [1], что 24-часовое лишение крыс парадоксальной фазы сна (ПФС) приводит к повышению содержания «свободных» SH-групп в белках нерастворимой (мембранной) фракции гомогената стволовой части головного мозга; в белках растворимой фракции оно не изменялось, так же как и содержание низкомолекулярных SH-компонентов. При этом оказалось [2], что сдвиги содержания SH-групп в структурных белках были связаны лишь с синаптосомной и ядерной субфракциями. Такие изменения в структурных (мембранных) белках были расценены как показатель их сдвигов в сторону денатурации. При микрохимическом исследовании гомогенатов толстых срезов тех участков ствола мозга крыс, в которые входили имеющие отношение к процессам сна ядра шва (nn. raphe dorsalis et pontis), синее пятно и супраоптическое ядро, было показано [3], что лишение ПФС вызывало достоверное повышение содержания SH-групп лишь в дорзальном ядре шва.

В связи со всем сказанным для большего уточнения локализации денатурационных изменений в белках ствола мозга при лишении ПФС казалось желательным провести определения содержания SH-групп именно в отдельных клетках исследуемых ядер.

Крыс-самцов линии *Wistar* массой 180—210 г подвергали 24-часовому лишению ПФС путем помещения их на площадки размером 45×45 мм, расположенные на уровне 2 мм над водой [4, 5]. Контролем служили бодрствовавшие животные, находившиеся в условиях свободного поведения. У одной серии подопытных и контрольных крыс (по 4—5 в каждой группе) определяли содержание SH-групп в телах отдельных перинейрональных глиоцитов и в цитоплазме и клеточных ядрах отдельных нейронов. Эти определения производили на срезах, фиксированных по Бродскому [6], обезвоженных по общепринятой ги-

стологической схеме и залитых в парафин соответствующих проб ткани. Для выявления SH-групп использовали окислительно-восстановительную реакцию с 2,2′-диокси-6,6′-динафтилдисульфидом (ДДД) с последующим окрашиванием бис-диазотированным *о*-дианизидином [7] в применении для нервной ткани. Величину оптической плотности объектов на окрашенных препаратах измеряли на микроцитофотометре МЦФ-VI при длинах волн 550 и 600 нм. С помощью таблиц Mendelsohn [8] находили средние величины оптической плотности, которые пропорциональны концентрации SH-групп в объекте (в усл. ед.). В нейронах исследовали отдельные участки цитоплазмы, а оптическую плотность в глиоцитах определяли в этих клетках целиком. После нахождения величин объема объектов, умножая эту величину на величину их оптической плотности, находили содержание SH-групп на 1 клетку [6]. На срезах, полученных от одной крысы, фотометрировали 10—15 клеток.

Результаты, полученные при определениях объема цитоплазмы нейронов синего пятна, дорзального ядра шва и супраоптического ядра и количественные характеристики белковых SH-групп в ней после 24-часового лишения крыс ПФС, представлены в табл. 1. Они показывают, что единственным достоверным сдвигом, установленным в этих условиях, явилось небольшое снижение концентрации SH-групп в цитоплазме нейронов супраоптического ядра, что было обусловлено повышением ее объема при неизменном содержании SH-групп.

В белках митохондрий суммарного гомогената ствола мозга лишение ПФС не вызывало изменений количества SH-групп [2], так же как и в растворимых белках такого гомогената [1]. Поэтому и результаты настоящей работы можно рассматривать как подтверждение этих прежних данных—24-часовое лишение ПФС не сопровождается денатурационными сдвигами в цитоплазматических белках также в отдельных нейронах синего пятна, дорзального ядра шва и супраоптического ядра.

В табл. 2 представлены данные о содержании на 1 клетку SH-групп в ядрах нейронов и в цельных телах глиоцитов тех же исследованных нами структур ствола головного мозга крыс после 24-часового лишения их ПФС. Следует подчеркнуть, что, как показывают эти данные, лишение ПФС достоверно не влияло на содержание белковых SH-групп в глиоцитах ни одного из трех исследованных образований. В то же время при стабильности содержания SH-групп в ядрах нейронов синего пятна и супраоптического ядра оказалось, что лишение ПФС вызывало значительное повышение содержания SH-групп в белках ядер нейронов дорзального ядра шва.

Как было упомянуто выше, в результате лишения ПФС было неоднократно констатировано [1, 2, 9] существенное увеличение концентрации белковых SH-групп во фракции нерастворимых белков суммарных гомогенатов ствола головного мозга. В то же время и в отдельных клетках синего пятна, дорзального ядра шва и супраоптического ядра в настоящей работе (причем лишь в ядрах нейронов), и в гомогенатах

Таблица 1

Объем цитоплазмы нейронов синего пятна, дорзального ядра шва и супраоптического ядра головного мозга крыс, концентрация и содержание (на 1 клетку) в ней SH-групп после 24-часового лишения парадоксальной фазы сна (объем, в мкм³; концентрация, в усл. ед. оптической плотности; содержание, в усл. ед. оптической плотности · ед. объема · 100)

Группа животных	Синее пятно			Дорзальное ядро шва			Супраоптическое ядро		
	объем	концентрация	содержание	объем	концентрация	содержание	объем	концентрация	содержание
Контроль	551±45	47±1,5	259±23	686±31	99±1,9	679±34	1450±41	58±0,7	841±27
Опыт	539±25	48±1,5	259±15	610±24	111±2,1	677±30	1594±59	53±1,0	845±36
Разница, в %	−2	+2	+0	−11	+12	−2	+10*	−9*	+1

Примечание. * Здесь и в табл. 2 разница достоверна.

Таблица 2

Содержание (на 1 клетку) SH-групп в ядрах нейронов и в телах нейроглиальных глиоцитов синего пятна, дорзального ядра шва и супраоптического ядра головного мозга крыс после 24-часового лишения парадоксальной фазы сна (в усл. ед.)

Группа животных	Синее пятно		Дорзальное ядро шва		Супраоптическое ядро	
	ядро нейрона	глиоцит	ядро нейрона	глиоцит	ядро нейрона	глиоцит
Контроль	39±1,5	51±1,5	75±1,7	153±3,5	76±1,1	119±1,3
Опыт	42±1,3	51±1,5	98±2,0	162±2,6	72±1,0	119±1,3
Разница, в %	+8	±0	+31*	+6	−5	+0

этих ядер [3] после лишения ПФС повышение содержания белковых SH-групп выявлялось только в ткани дорзального ядра шва. Видимо, остается в силе допущение [10, 11], что основной причиной накопления белковых SH-групп в стволовых структурах головного мозга при лишении ПФС служат денатурационные процессы именно в синаптических мембранах нейронов. При этом надо заметить, что изменения именно в этих структурах были недоступными для выявления тем методом, который был использован нами в данной работе. Этот весьма важный вопрос подлежит специальному изучению. Довольно высокое же повышение содержания (около 25%) белковых SH-групп в «ядерной» фракции суммарных гомогенатов ствола мозга при лишении ПФС [2], возможно, объясняется наличием в этой фракции, кроме ядер, также и обрывков других структур с измененным содержанием белковых SH-групп.

SULFHYDRYL GROUPS IN SINGLE CELLS OF LOCUS COERULEUS, NN. SUPRAOPTICUS ET RAPHE DORSALIS OF REM-SLEEP DEPRIVED RATS

KRIVENKO N. E., KLENIKOVA V. A., DOEMIN N. N.

I. P. Pavlov Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad

It has been demonstrated that in 24 REM-sleep deprived rats free SH-group content (per cell) changes in the cytoplasm of *locus coeruleus, nn. supraopticus* et *raphe dorsalis* neurons. It was not changed in the perineuronal gliocytes, in the cell nuclei of the *n. supraopticus* and *locus coeruleus* neurons, while in the *n. raphe dorsalis* neuronal nuclei it increased by 31 per cent.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Рашевская Д. А.* Докл. АН СССР, т. 230, с. 989—991, 1976.
2. *Демин Н. Н., Рашевская Д. А.* Физиол. журн. СССР, т. 65, с. 23—28, 1979.
3. *Маликов У. М., Шелепина Е. П.* Нейрохимия, т. 3, с. 168—171, 1984.
4. *Pujol J.—F., Mouret J., Jouvet M., Glowinski J.* Science, v. 159, p. 112—114, 1968.
5. *Демин Н. Н.*—В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем (под ред. В. Н. Чиквандзе), т. 3, с. 155—160, Тбилиси, Мецниереба, 1979.
6. *Бродский В. Я.* Трофика клетки, М., Наука, 1966.
7. *Barrnett R. J., Seligman A. M.* Science, v. 116, p. 323—327, 1952.
8. *Агроскин Л. С., Папаян Г. В.* Цитофотометрия, Л., Наука, 1977.
9. *Демин Н. Н., Шелепина Е. П., Неробкова Л. Н., Крапивин С. В., Воронина Т. А.* Физиол. журн. СССР, т. 72, с. 723—728, 1986.
10. *Демин Н. Н.*—В кн.: Цитохимические корреляты торможения нейронов (под ред. Л. З. Певзнера), с. 18—39, Л., Наука, 1978.
11. *Демин Н. Н.* Нейрохимия, т. 1, с. 20—27, 1982.

Поступила 28. IV 1987