

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СДВИГИ БЕЛКОВ И РНК В КЛЕТКАХ ЯДЕР СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА В ДИНАМИКЕ ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ СУСЛИКОВ

ДЕМИН Н. Н., \*ШОРТАНОВА Т. Х., \*ГОЛОВИНА Т. Н.

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

\*Кабардино-Балкарский государственный университет, Нальчик

Зимняя спячка у сусликов сопровождается значительными количественными сдвигами, причем разными, белков и РНК в клетках супраоптического ядра гипоталамуса и дорзального ядра шва головного мозга. Эти сдвиги неодинаковы в нейронах и в их глиальных клетках-сателлитах. Различия между метаболизмом исследованных структур особенно значительны в период подготовки к пробуждению. Тенденция к близким по направлению сдвигам отмечена и у животных, находившихся в течение холодного сезона в теплом помещении и не впадавших поэтому в спячку.

Состояние такого глубокого и длительного естественного гипобиоза у некоторых млекопитающих, как зимняя спячка, привлекает внимание не только с общебиологической точки зрения, но вызывает все больший интерес и в практическом отношении, прежде всего в клиническом. В настоящее время изучены уже многие важные физиологические и эндокринологические процессы, протекающие в организме в динамике зимней спячки (ее начале, поддержании и выходе из нее) [1]. Эти процессы во многом принципиально отличаются от имеющих место при принудительной, искусственно вызываемой гипотермии. Состояния гипобиоза и искусственной гипотермии различаются между собой прежде всего тем, что при зимней спячке сохраняется активная терморегуляция, но только на сниженном уровне, а также тем, что искусственная гипотермия представляет собой навязываемое организму выраженное стрессовое состояние с повышенной вначале теплопродукцией, противопоставляемой внешнему охлаждению, тогда как при зимней спячке торможение метаболизма и термогенеза является естественным, генетически обусловленным внутренним процессом, которому лишь содействует низкая температура окружающей среды [1, 2].

Несомненно, что особое внимание привлекает участие в организации зимней спячки различных центров головного мозга. В то же время фундаментальные биохимические процессы в них при этом состоянии известны еще очень мало.

В функционально-нейрохимических процессах ведущая роль принадлежит белково-нуклеиновому метаболизму, поэтому понятно, что А. В. Палладин, впервые в нейрохимии в 50-х годах обратившийся к изучению зимней спячки, начал со своими сотрудниками эту работу с изучения превращений белков и нуклеиновых кислот в гомогенатах нервной ткани [3]. При этом, учитывая чрезвычайно высокую морфологическую, физиологическую и биохимическую гетерогенность НС, особенно головного мозга, необходимо проводить исследования не гомогенатов, а на уровне отдельных клеток, отдельных систем нейрон—глиальные клетки-сателлиты.

Такое количественное определение общего содержания белков и нуклеиновых кислот оказалось возможным выполнять цитоспектрофотометрическим методом на срезах фиксированных и заключенных в парафин проб ткани, в частности окрашенных для выявления нуклеиновых кислот галлоцианин-хромовыми квасцами (определение при длине волны 546 нм), а в случае белков, окрашенных амидо-черным 10 Б (определение при длине волны 620 нм) [4, 5]. Результаты определений величин оптической плотности при этом соответствуют величинам концентрации исследуемых объектов. Получив также и данные о величинах объема тела цельной клетки или в случае нейронов цитоплазмы и ядра в отдельности, можно вычислять также и величины содержания определяемых веществ на 1 клетку. Так как количество ДНК в отдельных клетках постоянно, то все количественные изменения нуклеиновых кислот при сдвигах функционального состояния клеток можно относить лишь за счет сдвигов количества одних РНК.

Впервые таким тонким цитохимическим методом при зимней спячке (на примере краснощеких сусликов) были определены концентрация и содержание на 1 клетку нуклеиновых кислот (сдвиги количества РНК) в отдельных клетках ряда структур ЦНС—передних рогов спинного мозга, гиппокампа и супраоптического ядра гипоталамуса [6].

Затем объектом уже наших подобных цитохимических исследований при зимней спячке послужили цитоплазма нейронов и их цельные ганглийные клетки-сателлиты супраоптического ядра и дорзального ядра шва. Мы изучали не только количественные сдвиги РНК, но и суммарных белков. Выбор дорзального ядра шва был связан с тем, что его функциональная активность осуществляется посредством серотонина, который играет особую роль в механизмах зимней спячки [7—9]. При этом казалось желательным для сопоставления именно у тех же подопытных животных провести такие же исследования клеток нейросекреторного супраоптического ядра, белково-нуклеиновый метаболизм в котором значительно активируется при действии стрессорных факторов, практически мало проявляющемся при спячке с ее выраженной сенсорной деафферентацией.

Работа была проведена на малых кавказских сусликах (*Citellus rugtaeus* Pall.), отловленных в августе в районе Чегемского ущелья Кабардино-Балкарской АССР на высоте 500—600 м над уровнем моря. При исследованиях в динамике зимней спячки—в глубоком ее периоде (в декабре) и в период подготовки к пробуждению (в марте), для контроля часть животных одновременно с сусликами, находившимися в спячке в холодном помещении, содержали в виварии при 21°. Эти контрольные животные в спячку не впадали и оставались вполне активными: Таких животных также исследовали в декабре и в марте одновременно со спавшими. Ректальная температура у сусликов, впавших в спячку в естественные сроки в холодном помещении в середине октября, при содержании их при 4—10° как в декабре, так и в марте, составляла 4—6°. У животных же, остававшихся в те же сроки активными, ректальная

температура была 36—37°, как и в августе. Общими контрольными данными служили результаты исследований, проведенных в августе вскоре после отлова сусликов.

Следует заметить, что генетическая обусловленность нейрохимических сдвигов в холодном сезоне проявлялась также и у контрольных сусликов, не находившихся в спячке в декабре—марте [10—12]. В таблице представлены результаты определений количества белков и РНК в клетках супраоптического ядра и дорзального ядра шва, произведенных у этой группы животных. Можно видеть, что полученные данные, представленные в процентах от величин, установленных в августе, отклонялись от последних. Эти изменения были разными в исследованных ядрах, а в общем по направлению близкими к обнаруженным у животных, которые находились в это время в спячке (см. ниже). Особенно это касается сдвигов количества белков как в нейронах, так и в глиоцитах: в клетках супраоптического ядра и у неспавших сусликов имело место снижение количества белков, а в клетках дорзального ядра шва их количество поднималось. Затем, если в глиоцитах супраоптического ядра количество

Таблица

Изменения количества белков и РНК в клетках супраоптического ядра и дорзального ядра головного мозга сусликов, не впадавших в зимнюю спячку в декабре—марте [10—12] (в % от данных, полученных в августе)

Время исследования	Белки		РНК	
	Концентрация	Содержание на 1 клетку	Концентрация	Содержание на 1 клетку
<i>Цитоплазма нейронов</i>				
<i>Супраоптическое ядро</i>				
Декабрь	—8	—15	н/д	н/д
Март	—8	н/д	н/д	н/д
<i>Дорзальное ядро шва</i>				
Декабрь	н/д	н/д	—10	н/д
Март	8	14	10	25
<i>Глиоциты</i>				
<i>Супраоптическое ядро</i>				
Декабрь	—16	—17	н/д	н/д
Март	—17	—24	н/д	н/д
<i>Дорзальное ядро шва</i>				
Декабрь	—14	н/д	—12	н/д
Март	н/д	16	н/д	19

Примечание. н/д—разница статистически недостоверна.

РНК как в декабре, так и в марте не отличалось от августовских данных, то в глиоцитах дорзального ядра шва оно увеличивалось.

Средние данные содержания на 1 клетку и концентрации белков и РНК в цитоплазме нейронов супраоптического ядра и в их глиальных клетках-спутниках в динамике развития зимней спячки у сусликов [10] в процентах от соответствующих контрольных величин (в декабре и в марте) приведены на рис. 1.

Эти данные показывают, что в период глубокой спячки (в декабре) имело место значительное падение абсолютного содержания белков в цитоплазме нейронов по сравнению с декабрьским же контролем; концентрация белков снижалась меньше (из-за одновременного сокращения

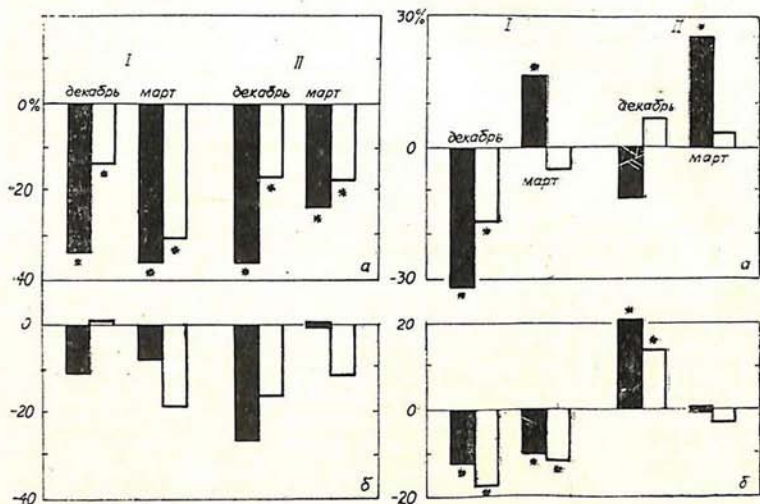


Рис. 1. Изменения содержания на 1 клетку и концентрации белков (I) и РНК (II) в цитоплазме нейронов (а) и в их глиальных клетках-спутниках (б) супраоптического ядра гипоталамуса головного мозга сусликов при зимней спячке в декабре и в марте (по [10]). ■ — содержание на 1 клетку, □ — концентрация. По оси ординат — отклонение от контрольных данных в %. \*отклонение статистически достоверно

Рис. 2. Изменения содержания на 1 клетку и концентрации белков (I) и РНК (II) в цитоплазме нейронов (а) и в их глиальных клетках-спутниках (б) дорзального ядра шва головного мозга сусликов при зимней спячке в декабре и в марте (по [11]). Обозначения те же, что и на рис. 1

объема цитоплазмы). Отмеченное же при этом уменьшение абсолютного содержания белков в глиоцитах было значительно слабее, чем в нейронах. Концентрация белков в глиоцитах в декабре не отличалась от контроля.

В период, предшествующий выходу из спячки (в марте), содержание

белков на 1 клетку в нейронах продолжало оставаться на том же низком уровне, что и в декабре, причем на фоне существенного дополнительного падения их концентрации. Приблизительно такую же (но на более высоком уровне) картину наблюдали и в глиоцитах.

В случае РНК в декабре в нейронах были установлены количественные изменения, практически полностью аналогичные описанным в случае белков; в марте же происходило уже некоторое повышение содержания РНК на 1 клетку, а их концентрация не падала дополнительно вместе с концентрацией белков, оставаясь на уровне декабрьских величин. В глиоцитах в декабре снижалось не только абсолютное содержание РНК (приблизительно на столько же, на сколько и в нейронах), но снижалась и их концентрация. В марте же при относительной стабильности сниженной величины концентрации РНК абсолютное их содержание, поднявшись, достигало контроля; увеличивалась немного и величина концентрации РНК.

Итак, в период глубокой зимней спячки в супраоптическом ядре резкое падение абсолютного содержания как белков, так и РНК в нейронах четко коррелировало с такими же изменениями количественных характеристик РНК также и в глиоцитах, но на фоне близких к контролю количественных величин белков в глиоцитах. Такие отношения в системе нейрон—нейроглия могут указывать на угнетение белково-нуклеинового метаболизма в нейронах, несмотря на поддержание достаточно высокой концентрации белков в глиальных клетках-сателлитах. В марте же при все еще сниженном абсолютном содержании белков в нейронах и уменьшенной их концентрации в глиоцитах уже происходило накопление РНК как в нейронах, так (особенно) и в глиоцитах. Это может служить некоторым показателем подготовки к нормализации белково-нуклеинового метаболизма в супраоптическом ядре для выполнения его высокой нейросекреторной активности в условиях действия ряда стрессорных факторов вслед за выходом животных из зимней спячки.

Часть группы спавших сусликов в декабре была выведена из спячки путем переноса их в теплое помещение. Через 2,5 ч в результате самогревания они достигали активного нормотермического состояния с ректальной температурой 36—37°. Такое пробуждение как в нейронах, так и в глиоцитах супраоптического ядра сопровождалось фактической нормализацией и количества в них белков, достигавшего уровня августовских данных; количественные же характеристики РНК, поднимаясь, достигали лишь уровня декабрьского контроля, который был ниже августовского. Это может указывать на вероятность усиления белкового метаболизма при пробуждении в нейронах за счет глиоцитов.

Средние данные содержания на 1 клетку и концентрации белков и РНК в цитоплазме нейронов дорзального ядра шва и в их глиальных клетках-сателлитах в динамике развития зимней спячки у сусликов [11] в процентах от соответствующих контрольных величин (в декабре и в марте) приведены на рис. 2.

Эти данные показывают, что в период глубокой спячки (в декабре)

по сравнению с величинами у животных, неспавших в это время, имело место весьма значительное снижение содержания белков в расчете на цитоплазму одного нейрона при несколько меньшем снижении и концентрации белков. Что касается глиоцитов, то абсолютное содержание в них белков в этот период также снижалось, но существенно слабее, чем в цитоплазме нейронов, причем концентрация белков уменьшалась практически так же, как и абсолютное содержание. Количественные величины РНК в цитоплазме нейронов в данное время оказались такими же, как и в контроле, тогда как в глиоцитах при этом было обнаружено весьма значительное накопление РНК, превышавшее контрольные данные; повышалась и их концентрация.

В поздний же период спячки при подготовке организма животных к выходу из нее (в марте) была выявлена в дорзальном ядре шва иная картина. Этот период характеризовался резким накоплением как белков, так и РНК в цитоплазме нейронов, выше их содержания в контроле. В глиоцитах количество белков оставалось в марте на таком же немного пониженном уровне, что и в декабре; количество РНК в этих клетках к марту значительно снижалось, достигая контрольного уровня.

Можно предполагать, что такие данные, видимо, указывают на то, что в период глубокой спячки в системе нейрон—нейроглия дорзального ядра шва, так же как и в супраоптическом ядре, происходило торможение белково-нуклеинового метаболизма, но при своеобразном накоплении РНК в глиоцитах. В общем, о таком торможении свидетельствует снижение содержания на 1 клетку и концентрации белков в цитоплазме нейронов лишь при очень небольшом уменьшении количественных показателей белков в глиоцитах на фоне неизменности количества РНК в нейронах и отмеченного возрастания его в глиоцитах выше контроля. Накануне же выхода из спячки, в противоположность явлениям, которые наблюдали в супраоптическом ядре, видны значительные признаки активирования белково-нуклеинового метаболизма в системе нейрон—нейроглия дорзального ядра шва: существенное накопление белков, и особенно РНК, в нейронах, но на фоне уже недостоверно сниженного количества белков в глиоцитах с уменьшением в них количества РНК до контрольного уровня. Возможно допущение, что возрастание количества РНК в нейронах в марте обеспечивается переходом в них запасов РНК из глиоцитов, образовавшихся в них во время глубокой спячки со сниженными процессами биосинтеза белков в этом периоде.

Итак, зимняя спячка у сусликов, несмотря на резко сниженную температуру тела, сопровождается значительными количественными сдвигами белков и метаболически тесно связанных с ними РНК в динамике этого состояния как в клетках нейросекреторного, участвующего в осуществлении стрессовых процессов супраоптического ядра, так и дорзального ядра шва, имеющего прямое отношение к организации зимней спячки. В разные периоды такие сдвиги неодинаковы в этих структурах как в случае белков, так и РНК, как в нейронах, так и в их глиальных клетках-сателлитах, особенно в период подготовки к пробуждению.

# QUANTITATIVE PROTEIN AND RNA CHANGES IN BRAIN STEM NUCLEI CELLS IN DYNAMICS OF GROUND SQUIRREL HIBERNATION

DOEMIN N. D., \*SHORTANOVA T. KH., \*GOLOVINA T. N.

I. P. Pavlov Institute of Physiology, USSR Academy of Sciences, Leningrad; \*Kabardino-Balkarsk State University, Nalch k.

It has been shown the hibernation in ground squirrels is accompanied by considerable quantitative not identical changes of protein and RNA in nn. supraopticus et raphé dorsalis. These changes were not equal as well in neurons and in their glial cells-satellites. The differences between metabolism in structures studied was revealed to be particularly significant at the period of preparation to the termination of hibernation. A tendency to the shifts in similar directions was noted as well in animals kept during the cold season in a warm housing and, therefore, did not hibernate.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Калабухов Н. И.* Спячка млекопитающих, М., Наука, 1985.
2. *Тимофеев Н. Н.* Искусственный гипобиоз, М., Медицина, 1983.
3. *Палладин А. В.*—В кн.: Избранные труды, с. 374—384, Киев, Наукова Думка, 1975.
4. *Певзнер А. Э.* Функциональная биохимия нейроглии, Л., Наука, 1972.
5. *Демин Н. Н., Козан А. Б., Моисеева Н. И.* Нейрофизиология и нейрохимия с.б. Л., Наука, 1978.
6. *Семешина Т. М., Певзнер А. Э.* Цитология, т. 17, с. 354—358, 1975.
7. *Попова Н. К.*—В кн.: Механизмы земной спячки млекопитающих, Владивосток, ДВНЦ АН СССР, с. 91—97, 1977.
8. *Попова Н. К., Науменко Е. В., Колпаков В. Г.* Серотонин и поведение, Новосибирск, Наука, 1978.
9. *Кудрявцева Н. Н.*—В кн.: Механизмы зимней спячки млекопитающих, Владивосток, ДВНЦ АН СССР, с. 118—124, 1977.
10. *Демин Н. Н., Головина Т. Н., Шортанова Т. Х., Рубинская Н. А.* Нейрохимия, т. 5, с. 149—159, 1986.
11. *Головина Т. Н., Маликов У. М., Шортанова Т. Х., Демин Н. Н.* Физиол. журн. СССР, т. 71, с. 945—951, 1985.
12. *Головина Т. Н., Маликов У. М., Рубинская Н. А.* Нейрохимия, т. 4, с. 185—189, 1985.

Поступила 9. IX 1986