

Н. В. ПИВЕНЬ, Л. З. ПЕВЗNER

**ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА НА СОДЕРЖАНИЕ РНК  
В МОТОНЕЙРОНАХ СПИННОГО МОЗГА И ИХ ГЛИАЛЬНЫХ  
КЛЕТКАХ-САТЕЛЛИТАХ**

*(Представлено академиком В. Н. Черниговским 21 XII 1971)*

Острое охлаждение гомойотермных животных является удобным стрессорным воздействием, широко применяемым в эксперименте для изучения механизмов клеточной адаптации. Как показано в работе <sup>(1)</sup>, такое охлаждение сопровождается выраженным разобщением окислительного фосфорилирования, в результате чего резко снижается аккумуляция энергии тканевого дыхания в форме АТФ. Отсюда вполне естественно ослабление процессов биосинтеза, требующих расходования запасов АТФ. Возможно, это является одной из причин снижения содержания РНК в нейронах коры головного мозга у крыс, подвергнутых острому охлаждению <sup>(2)</sup>.

Однако одни и те же неблагоприятные условия функционирования могут по-разному влиять на метаболизм нейронов, отличающихся по филогенетическим, функциональным, медиаторным свойствам. В частности, мотонейроны спинного мозга, по сравнению с нейронами коры больших полушарий,— это более древние филогенетически клеточные структуры, конечные элементы эфферентного звена. Они отличаются, например, большей устойчивостью к гипоксии, чем корковые нейроны <sup>(3)</sup>. Не исключено, что и в условиях охлаждения изменения уровня РНК в спинальных нейронах могут отличаться от изменений в нейронах коры головного мозга.

Поэтому нам представлялось интересным сопоставить влияние острого охлаждения и последующей репарации (саморазогревания) на количество РНК в мотонейронах спинного мозга, а также на уровень РНК в глиальных клетках-сателлитах, окружающих эти нейроны. Как литературные данные <sup>(4-6)</sup>, так и результаты собственных исследований <sup>(7-9)</sup> убеждают в том, что метаболизм нейроглии, наряду со сходными чертами, по сравнению с метаболизмом нейронов, характеризуется рядом отличий.

Опыты были поставлены на взрослых крысах-самцах весом 200—250 г, которых помещали в узкие индивидуальные клетки-пеналы и в этих клетках выдерживали при температуре окружающей среды 0—1° в течение 55—65 мин. К этому моменту ректальная температура животных снижалась до 24°. Затем крыс помещали в просторные индивидуальные клетки при комнатной температуре (22°). В процессе саморазогревания ректальная температура животных повышалась через 35—40 мин. до 30°, через 1,5 часа до 35°, через 6 час. несколько снижалась (до 34°), что, по всей видимости, было связано с тем, что к этому времени крысы, как правило, впадали в глубокий сон. Через 16 час. после прекращения охлаждения ректальная температура была стойко нормальной.

Крыс забивали по окончании охлаждения, а также после 35—40 мин., 1,5 часа, 6 и 16 час. саморазогревания. Контролем служили животные того же пола и веса, содержавшиеся в течение всего эксперимента при комнатной температуре.

Животных забивали быстрым обезглавливанием без наркоза, спинной

мозг в области поясничного утолщения фиксировали по В. Я. Бродскому<sup>(10, 11)</sup> смесью формалина, этанола и уксусной кислоты и заливали в парафин. Срезы толщиной 10 м окрашивали галлопикрохромовыми красками по Эйнарсону в прописи Пирса и фотографировали при 560 м на двухлучевом цитоспектрофотометре МУФ-6 с последующей денситометрией негативов по методике В. Я. Бродского<sup>(12)</sup> на микрофотометре МФ-4. Детали фотографирования, денситометрии и расчетов описаны ранее<sup>(13)</sup>.

Таблица 1

Концентрация нуклеиновых кислот, клеточный объем и общее количество нуклеиновых кислот (в расчете на одну клетку) в мотонейронах передних рогов спинного мозга крыс и клетках перинейрональной глии при охлаждении и саморазогревании

| Вид эксперимента (группа крыс) | Концентрация нуклеиновых кислот (в единицах оптической плотности) | Объем цитоплазмы, $\mu^3$          | Нуклеиновые кислоты (в условных единицах) | Отличие от контроля       |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------|
| Контроль                       | $0,28 \pm 0,01$<br>$0,31 \pm 0,01$                                | $8426 \pm 455$<br>$103 \pm 2^*$    | $4199 \pm 243$<br>$32,9 \pm 1,2$          | —                         |
| Охлаждение                     | $0,62 \pm 0,01$<br>$0,44 \pm 0,01$                                | $7183 \pm 518$<br>$92 \pm 3^*$     | $4459 \pm 313$<br>$39,7 \pm 1,5$          | $P > 0,4$<br>$P < 0,001$  |
| Саморазогревание в течение:    |                                                                   |                                    |                                           |                           |
| 35—40 мин.                     | $0,61 \pm 0,01$<br>$0,41 \pm 0,01$                                | $7690 \pm 438$<br>$110 \pm 5^*$    | $4871 \pm 301$<br>$43,7 \pm 2,1$          | $P > 0,05$<br>$P < 0,001$ |
| 1,5 час.                       | $0,70 \pm 0,01$<br>$0,38 \pm 0,01$                                | $6850 \pm 347$<br>$113 \pm 4^*$    | $4890 \pm 278$<br>$41,9 \pm 1,2$          | $P > 0,05$<br>$P < 0,001$ |
| 6—5 час.                       | $0,58 \pm 0,01$<br>$0,39 \pm 0,01$                                | $8623 \pm 415$<br>$80 \pm 3^*$     | $4916 \pm 238$<br>$34,1 \pm 1,1$          | $P < 0,05$<br>$P > 0,2$   |
| 16 час.                        | $0,68 \pm 0,01$<br>$0,42 \pm 0,01$                                | $10\,648 \pm 539$<br>$101 \pm 3^*$ | $7362 \pm 376$<br>$41,7 \pm 1,2$          | $P < 0,01$<br>$P < 0,01$  |

Примечание. Числа над чертой — данные для мотонейронов, под чертой — для нейроглии.

\* Объем ядра,  $\mu^3$ .

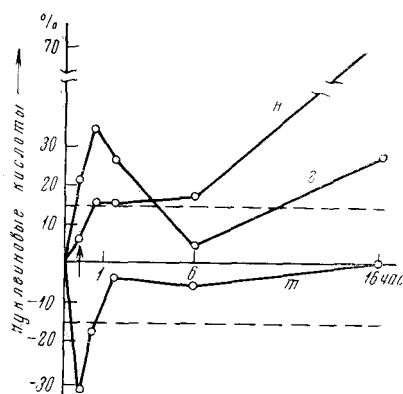
В каждой группе забивали 5—7 крыс, от каждого животного фотометрировали 25—30 клеток. Количество РНК (в условных единицах) в расчете на одну клетку находили как произведение оптической плотности (в единицах экстинкции) на объем цитоплазмы нейронов или соответственно тела (практически — ядра) глиальных клеток (в  $\mu^3$ ). Объем рассчитывали по формуле эллипсоида вращения, измеряя большой и малый диаметры клеток на негативах с помощью специальной шкалы, смонтированной в микрофотометр. Все математические расчеты, а также статистическую обработку полученных результатов по Стьюденту — Фишеру производили на цифровой электронно-вычислительной машине «Минск-22».

Полученные результаты (табл. 1) указывают на то, что острое охлаждение и последующее саморазогревание приводят к определенным сдвигам как оптической плотности (отражающей изменения концентрации РНК), так и объема клеток передних рогов спинного мозга. Эти изменения не всегда параллельны, в результате чего абсолютное количество РНК в расчете на одну клетку может в ряде случаев оставаться неизменным.

Как видно из рис. 1, количество цитоплазматической РНК в мотонейронах передних рогов статистически достоверно повышалось лишь к 6 час. после прекращения охлаждения. Более ранний период саморазогревания, а также самоохлаждение практически не влияли на уровень РНК

в мотонейронах. Иная картина выявлена в клетках нейроглии. Небольшое, но статистически достоверное повышение количества нуклеиновых кислот в глиальных клетках-сателлитах, окружающих мотонейроны, найдено при охлаждении животных; еще более резкое повышение происходило на начальных этапах саморазогревания. В то же время через 6 час. после прекращения охлаждения, т. е. именно в тот период, когда в нейронах накапливалась РНК, в клетках нейроглии отмечено снижение содержания РНК до нормального уровня (рис. 1). В дальнейшем же наступало

Рис. 1. Изменения содержания нуклеиновых кислот в мотонейронах спинного мозга и их глиальных клетках-сателлитах у крыс при охлаждении и последующем саморазогревании. Слева от стрелки — длительность охлаждения, справа от стрелки — длительность саморазогревания. *н* — нейроны, *г* — глиальные клетки, *т* — температура тела. Пунктирные линии — зона доверительного интервала ( $\pm 2\sigma_x$ )



тотальное накопление нуклеиновых кислот (практически РНК) во всей системе нейрон — нейроглия передних рогов спинного мозга.

Интерпретация полученных цитоспектрофотометрических данных затрудняется тем, что выявленные сдвиги количества РНК отражают сложное взаимодействие по крайней мере трех факторов: синтеза, распада и пространственного перемещения молекул РНК в клетках. Распространенная в литературе точка зрения (<sup>4, 5, 7, 9, 13-15</sup>), подтверждаемая и рядом наших предыдущих данных, подчеркивает связь повышения содержания РНК в нервных клетках с их возбуждением. При этом адекватное возбуждение, несколько усиливая деструкцию молекул РНК и белка в нейронах, в еще большей степени приводит к активации биосинтеза этих макромолекул, в результате чего их общее количество в нейронах увеличивается (<sup>14</sup>). Возможно, именно такой компенсаторный характер носит повышение содержания РНК в нейронах коры больших полушарий у крыс при саморазогревании, поскольку этому повышению предшествовало выраженное снижение количества РНК (<sup>2</sup>). В настоящей же работе накопление РНК происходило только в период разогревания по окончании охлаждения, при отсутствии какого-либо снижения уровня РНК в мотонейронах.

Возникает вопрос: не может ли в таких случаях накопление РНК в нейронах явиться результатом не усиленного синтеза, а ослабленного распада? Действительно, в тот период, когда у крыс отмечено повышение количества РНК в мотонейронах, животные находились в состоянии глубокого сна. Вероятно, в этот момент трата макромолекул в таких эффекторных нейронах, как мотонейроны спинного мозга, могла уменьшаться, что и приводило к накоплению нейрональной РНК. Сходное явление описано Л. З. Певзнером (<sup>16</sup>) в опытах с гипокинезией, которой подвергали крыс в течение 3 недель: к концу этого срока было отмечено повышение содержания РНК в мотонейронах поясничного отдела спинного мозга, т. е. отдела, связанного преимущественно с иннервацией нижних конечностей. В то же время не было выявлено изменений количества РНК в мотонейронах шейного отдела иннервирующей дыхательную мускулатуру, которая, естественно, в меньшей степени испытывала состояние гиподисфункции по сравнению с мускулатурой нижних конечностей.

стей. Вопрос о чередовании гиперфункции и гипофункции нейронов и адекватной перестройке клеточного метаболизма в нервной системе почти не исследован и заслуживает детального анализа с привлечением всего современного арсенала количественной цитохимии.

Авторы пользуются возможностью выразить самую искреннюю признательность Р. А. Прочуханову за ценные методические советы и практическую помощь при работе на цитоспектрофотометре МУФ-6.

Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Академии наук СССР  
Новосибирск

Поступило  
15 XII 1971

Институт цитологии и генетики  
Академии наук СССР  
Ленинград

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. П. Скулачев, Соотношение окисления и фосфорилирования в дыхательной цепи, М., 1966. <sup>2</sup> Н. В. Пивень, Физиол. журн. СССР, 58, № 4, 493 (1972). <sup>3</sup> E. J. Van Lier, J. C. Stickney, Hypoxia, Chicago, 1963. <sup>4</sup> H. Hydén, Rec. Adv. Biol. Psychiatr., 6, 31 (1964); Neuron, Amsterdam, 1967. <sup>5</sup> S. P. R. Rose, Handb. of Neurochemistry, 2, N. Y., 1969, p. 183. <sup>6</sup> Yu. Ya. Geinisman, Brain Res., 28, № 2, 251 (1971). <sup>7</sup> Л. З. Певзнер, ДАН, 156, № 5, 1213 (1964); I. Z. Pevzner, J. Neurochem., 12, № 12, 993 (1965); V Всесоюз. конфер. по нейрохимии, Тбилиси, 1970, стр. 129; I. Z. Pevzner, J. Neurochem., 18, № 6, 895 (1971). <sup>8</sup> Л. З. Певзнер, С. Х. Хайдарлиу, Цитология, 9, № 7, 840 (1967). <sup>9</sup> В. А. Брумберг, Л. З. Певзнер, Цитология, 10, № 11, 1452 (1968); Цитология, 13, № 2, 129 (1971). <sup>10</sup> В. Я. Бродский, Цитология, 2, № 5, 605 (1960). <sup>11</sup> Л. С. Агроскин, В. Я. Бродский и др., Цитология, 2, № 3, 337 (1960). <sup>12</sup> В. Я. Бродский, ДАН, 102, № 2, 357 (1955); Усп. соврем. биол., 42, № 1, 87 (1956). <sup>13</sup> Л. З. Певзнер, Укр. биохим. журн., 35, № 3, 448 (1963); Механизмы деятельности центрального нейрона, М.—Л., 1966, стр. 7; Усп. совр. биол., 68, № 3, 363 (1969). <sup>14</sup> В. Я. Бродский, Трофика клеток, М., 1966; V Всесоюз. конфер. по нейрохимии, Тбилиси, 1970, стр. 114. <sup>15</sup> Дж. Гэйто, Молекулярная психобиология, М., 1969. <sup>16</sup> Л. З. Певзнер, Проблемы дефицита возбуждения. Матер. Всесоюз. симпозиума, Петрозаводск, 1971, стр. 125.