

Б. ТИПЛЭДИ *, Т. С. ГЛУЩЕНКО, Л. З. ПЕВЗНЕР

**ВЛИЯНИЕ ВЫНУЖДЕННОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
НА СОДЕРЖАНИЕ РНК В НЕЙРОНАХ И КЛЕТКАХ НЕЙРОГЛИИ
ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА**

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 21 VIII 1973)

Изменения внешней среды или поведения животного сопровождаются и изменениями обмена веществ в нервной системе. В частности, обучение, стресс, сенсорное раздражение, двигательная активность влияют на биосинтез и содержание РНК и белков в нейронах (см. (1-3)). Так, предыдущая работа (4) свидетельствовала о том, что при вынужденной двигательной активности (бег в колесе со скоростью 2,4 м/мин) включение *in vivo* лизина-4,5-Н³ в общий белок коры головного мозга крыс снижалось на 15–20%. Это снижение наблюдалось при длительности двигательной активности от 30 мин. до 3 час. Такие изменения метаболизма белков часто связаны с изменениями обмена РНК в нервной системе. Например, наблюдали (3) увеличение включения метки как в РНК, так и в белок крыши переднего мозга крысят при импринтинге. Показаны (5) коррелирующие между собой сдвиги содержания РНК и белка в клетках передних рогов спинного мозга и спинальных ганглиев крыс при коразоловых судорогах. Трудность оценки литературных данных о влиянии двигательной активности на обмен РНК и белка в нервной системе состоит в том, что определения проведены не только разными методами, но и в разных отделах двигательного анализатора. Так, например, исследовали нейроны спинного мозга мышей (6); отмечено увеличение содержания РНК в результате 3 и 4 час. плавания животных; при измерении различными способами включения метионина-S³⁵ *in vivo* в белки (7) как изолированных спинальных мотонейронов, так и целого спинного мозга выявили снижение обновления этих белков после 1,5 час. плавания крыс. Исследование же двигательных нейронов коры головного мозга проведено не было. Нами изучено обновление белков коры мозга при беге животного в колесе (4), но не подвергнут анализу спинной мозг в аналогичных условиях эксперимента.

Из данных литературы вытекают два вопроса. Во-первых, аналогичны ли сдвиги метаболизма РНК в нервной системе при беге животных в колесе тем изменениям, которые происходят при плавании. Во-вторых, отличается ли картина изменений содержания РНК в корковых и в спинальных отделах двигательного анализатора. Поэтому нам представлялось интересным сравнить влияние бега в колесе на содержание РНК в мотонейронах передних рогов спинного мозга и в крупных нейронах слоя V двигательной зоны коры головного мозга. Были исследованы также глиальные клетки, окружающие оба вида нейронов, поскольку ранее были продемонстрированы различия в изменениях количества РНК в мотонейронах спинного мозга и в перинейрональной нейроглии при плавании (2, 6).

Крыс-самцов линии Вистар весом в среднем 160 г подвергали вынужденной двигательной активности (бег в колесе при тех же условиях, что и

* Б. Типлэди работал в Институте физиологии им. И. П. Павлова по программе научного обмена между Королевским обществом Великобритании и Академией наук СССР.

в предыдущей работе (⁴) в течение 1 часа. Контрольные животные находились то же время в индивидуальных камерах в состоянии покоя. По окончании бега крыс обеих групп быстро обезглавливали, головной мозг и поясничное утолщение спинного мозга извлекали. Из головного мозга иссекали участок, содержащий двигательную зону коры (область 4 по схеме (⁸)). Оба кусочка ткани фиксировали в охлажденной жидкости Бродского (формалин — этанол — уксусная кислота, 3 : 1 : 0,3) с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 7 μ окрашивали на нуклеиновые кислоты галлоцианином — хромовыми квасцами по Эйнарсону (⁹). Оптическую плотность цитоплазмы и нуклеоплазмы нейронов, а также ядра клеток перинейрональной глии определяли на микроспектрофотометре МУФ-5 при 585 $\mu\text{м}$; методика цитофотометрических определений и расчетов детально описана ранее (², ⁵). С помощью окуляр-микрометра измеряли линейные размеры фотометрируемых клеток. По линейным размерам рассчитывали объемы ядра нейронов и глиальных клеток (по формуле эллипсоида вращения) и объемы тел нейронов (по формуле трехосного эллипсоида); объем цитоплазмы находили как разность между объемом всей нервной клетки и объемом ядра. О количестве нуклеиновых кислот в расчете на одну клетку судили по произведению оптической плотности (в логарифмических единицах экстинкции) на объем соответствующей структуры (в единицах шкалы окуляр-микрометра). Все расчеты, а также статистическую обработку полученного материала по Стьюденту производили на цифровой электронно-вычислительной машине Минск-22.

Как видно из табл. 1, содержание РНК как в ядре, так и в цитоплазме нейронов двигательной зоны коры несколько увеличилось под влиянием бега животных в колесе. В глиальных клетках V слоя коры это увеличение значительно меньше и статистически не достоверно. В передних рогах спинного мозга (табл. 1) картина в целом оказалась сходной: изменение (увеличение) содержания РНК в пейронах на фоне значительно более слабых сдвигов в перинейрональной глии. Однако в силу большого индивидуального разброса данных увеличение количества РНК в пейронах спинного мозга несколько не достигало статистически достоверного различия. Примененный краситель выявлял в клетках оба типа нуклеиновых кислот: РНК+ДНК. Однако за столь короткий срок эксперимента (1 час) все отмеченные изменения количества нуклеиновых кислот могли быть обусловлены только сдвигами содержания РНК.

При сравнении полученных в настоящей работе данных с результатами предыдущих исследований обращает на себя внимание корреляция между накоплением РНК в нейронах коры головного мозга в результате 60-минутного бега крыс и найденным ранее (¹⁰) повышением включения метки в белки коры головного мозга *in vitro* под влиянием аналогичных условий вынужденной двигательной активности животных. Такая корреляция позволяет предполагать, что способность биосинтетических систем в нервных клетках двигательного анализатора к продукции белка под влиянием двигательной нагрузки повышается, несмотря на отмеченное ранее (⁴) снижение включения метки в белки коры мозга *in vivo*. В настоящей работе повышение содержания РНК в двигательных нейронах выявлено с помощью цитоспектрофотометрии в видимой области спектра. В исследовании В. А. Брумберг (⁶) аналогичное накопление РНК в мотонейронах показано с помощью двухволновой ультрафиолетовой цитоспектрофотометрии. Снижение включения метки в белки *in vivo* при двигательной активности животных было получено нами (⁴) в опытах с введением H^3 -лизина и при введении S^{35} -метионина (⁷). Таким образом, несмотря на некоторые отличия конкретных условий проведенных определений (вид предшественника, примененный изотоп, способ цитоспектрофотометрии и т. п.), результаты сопоставления как биохимическими, так и цитохимическими методами свидетельствуют о сходстве метаболического ответа при беге животных в колесе и при плавании. По-видимому, механизм функционально обусловленной

перестройки метаболизма в двигательных нейронах при обоих видах двигательной нагрузки весьма сходен.

Сопоставление изменений в головном и спинном мозге при беге животных не может быть проведено с полной уверенностью, так как изменения, отмеченные в спинном мозге (табл. 1), оказались статистически недостоверными. Однако общая картина изменений в головном и спинном мозге в целом однотипна: сдвиги в нейронах направлены в сторону увеличения количества РНК и выражены в значительно большей степени, чем в глиальных клетках-сателлитах, окружающих эти нейроны. Таким образом, метаболический ответ двигательного анализатора можно считать качественно

Таблица 1

Содержание РНК в клетках V слоя двигательной зоны коры головного мозга и в клетках передних рогов спинного мозга при вынужденной двигательной активности

Исследуемая структура	Оптическая плотность, ед. экстинкции	Объем, усл. ед.	Количество РНК в расчете на одну клетку, усл. ед.
Цитоплазма нейронов			
контроль	0,366±0,014 0,434±0,170 0,370±0,016	219±12 2644±173 243±9,1	77,2±3,9 1183±56 88,8±2,5
опыт	0,415±0,130 1,01	2347±153 1,11	1366±87 1,15 *
опыт/контроль	0,96	1,12	1,15
Ядро нейронов			
контроль	0,234±0,017 0,335±0,022 0,238±0,016	154±12 363±13 172±7,7	29,4±2,1 121±6,7 36,2±1,1
опыт	0,355±0,014 1,02	380±12 1,12	138±8,0 1,23 *
опыт/контроль	1,06	1,05	1,14
Ядро глиальных клеток			
контроль	0,401±0,018 0,361±0,022 0,414±0,018	16,6±0,68 45,6±2,0 17,1±0,88	6,66±0,36 16,0±1,1 7,38±0,76
опыт	0,348±0,047 1,03	42,3±0,75 1,03	14,8±0,73 1,11 *
опыт/контроль	0,96	0,93	0,92

П р и м е ч а н и е. Цифры над чертой — данные для клеток двигательной зоны коры, цифры под чертой — для клеток передних рогов спинного мозга.

* Статистически достоверное ($P < 0,05$) отличие опыта от контроля.

сходным как в корковом, так и в спинальном его отделах. В количественном отношении нейроны коры головного мозга реагировали лучше, чем мотонейроны передних рогов спинного мозга. Отмеченное в настоящей работе, а также в исследовании (6) повышение содержания РНК в двигательных нейронах под влиянием двигательной нагрузки противоречит, на первый взгляд, гистологическим данным (11) о картине хроматолиза в спинальных мотонейронах и цитоспектрофотометрическим данным (12) о снижении количества РНК в этих нейронах при плавании. Однако это снижение отражает, по всей видимости, конечные стадии двигательного возбуждения, когда структуры двигательного анализатора находятся уже в состоянии утомления, истощения. Действительно, в экспериментах Ю. Я. Гейнисмана крысы заставляли плавать с прикрепленным к хвосту грузом, вес которого составлял 1/11 веса тела животных. Обращает на себя внимание тот факт, что все выявленные изменения количества РНК локализовались только в нейронах. В глиальных же клетках, окружающих эти нейроны, уровень РНК практически оставался неизменным. Такая стабильность содержания глиальной РНК, по сравнению с нейрональной, выявлена не только при беге (6),

но и при других видах стресса: гипоксии, введении антиметаболитов и т. п. (2). Это подтверждает, по-видимому, положение (2, 5, 6) об определенной автономности метаболической перестройки нейронов (без вовлечения изменений в метаболизме нейроглии) на начальных этапах активации специфической деятельности нервной системы.

Авторы выражают искреннюю признательность В. А. Брумберг за помощь в проведении цитоспектрофотометрических определений РНК.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
16 VIII 1973

Открытый университет
Блэтчли, Англия

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. В. Палладин, Я. В. Белик, И. М. Полякова, Белки головного мозга и их обмен, Киев, 1972. ² Л. В. Певзнер, Функциональная биохимия нейроглии, Л., 1972. ³ S. P. R. Rose, In: Short-term Changes in Neural Activity and Behaviour, Cambridge, 1970, p. 517. ⁴ B. Tiplady, Brain Res., **43**, 215 (1972). ⁵ L. Z. Pevzner, E.-D. Saudargene, Acta histochem., **39**, 101 (1971). ⁶ В. А. Брумберг, ДАН, **182**, 228 (1968). ⁷ B. Jakoubek, E. Gutmann, In: Macromolecules and the Function of the Neuron, Amsterdam, 1968, p. 286. ⁸ М. Гуревич, Г. Быховская, Я. Урановский, Сборн. тр. Инст. высш. нерв. деят., М., 1920, стр. 4. ⁹ Э. Пирс, Гистохимия, М., 1962. ¹⁰ B. Tiplady, A. K. Sinha, S. P. R. Rose, Biochem. Soc. Trans., **1**, 184 (1973). ¹¹ J. Konecki, Folia histochem. cytochem., **5**, 79 (1967). ¹² Yu. Ya. Geinisman, Brain Res., **44**, 221 (1972).