

УДК 612.8.015

ФИЗИОЛОГИЯ

Л. З. ПЕВЗNER, Л. Л. ЛИТИНСКАЯ, Ю. Р. ХРУСТ

СООТНОШЕНИЕ СУТОЧНЫХ РИТМОВ РНК И БЕЛКОВ В МОТОНЕЙРОНАХ И ИХ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ-САТЕЛЛИТАХ СПИННОГО МОЗГА КРЫС

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 16 XI 1973)

Результаты биохимического исследования головного мозга убеждают в том, что обмен РНК и белков в ткани мозга подвержен суточным колебаниям. Так, концентрация РНК и активность РНК-полимеразы в головном мозгу крыс повышалась с началом темного периода суток, достигая максимума к 24 час. ⁽¹⁾. Интенсивность включения H^3 -лизина *in vivo* в белки головного мозга крыс достигала максимума в дневные (между 12 и 16), а минимума — в ночные (между 24 и 4) часы суток ⁽²⁾. Эти работы проведены на ткани головного мозга, аналогичные данные для спинного мозга отсутствуют. Кроме того, суммарный биохимический анализ не разграничивает два основных вида клеточных структур нервной ткани: нейроны и клетки нейроглии. Между тем, за последние годы накоплен уже достаточно большой опыт раздельного изучения метаболизма нейронов и нейроглии ⁽³⁾ и выявлен целый ряд как общих черт, так и определенных различий в метаболической организации этих видов клеток нервной системы. Наконец, в доступной нам литературе мы не нашли исследований, в которых прослеживали бы одновременно суточный ритм РНК и белков у тех же самых животных.

Это и обусловило задачу настоящей работы. Опыт был проведен на взрослых половозрелых крысах-самцах линии Вистар весом 180–210 г, находившихся в обычных условиях вивария при естественном освещении, в период равенства длительностей дня и ночи. Каждые 4 часа в течение суток группу из 6 животных забивали быстрым обезглавливанием без наркоза, спинной мозг в области поясничного утолщения фиксировали в охлажденной жидкости Бродского ⁽⁴⁾ (формалин — этанол — уксусная кислота в соотношении 9:3:1) с последующим обезвоживанием и заливкой в парафин. Срезы толщиной 7–10 μ окрашивали галлоцанином — хромовыми квасцами ^(5, 6) для выявления нуклеиновых кислот или амидо-черным 10Б ^(7–9) для выявления суммарного белка.

Мотонейроны передних рогов спинного мозга и соответствующие клетки перинейрональной нейроглии цитофотометрировали при 490 м μ на сканирующем интегрирующем микроспектрофотометре СИМ-1 методом электронного диафрагмирования, что позволило определять как площадь исследуемой клетки в срезе, так и количество красителя в расчете на 1 клетку. Принцип сканирующей интегрирующей цитоспектрофотометрии, конструкция микроспектрофотометра СИМ-1 и детали измерений и расчетов описаны нами ранее ^(10–12). В каждой серии фотометрировали по 120 нейронов и 120 глиальных клеток (по 20 клеток соответствующего вида от одного животного). Все расчеты, а также статистическую обработку по Стьюденту — Фишеру производили на ЭЦВМ «Минск-22».

Как видно из рис. 1а, содержание нуклеиновых кислот и белка в мотонейронах передних рогов характеризовалось весьма сходной картиной суточной динамики. В дневные часы количество нуклеиновых кислот и

белка повышалось, в ночные снижалось. При этом амплитуда колебаний для обоих видов макромолекул была в целом одного порядка: отношение максимальной величины к минимальной составляло в среднем 1,5 (рис. 1а). В глиальных клетках-сателлитах, прилежащих к мотонейронам, колебания содержания нуклеиновых кислот практически почти отсутствовали (рис. 1б). Количество белка в этих клетках повышалось в дневные

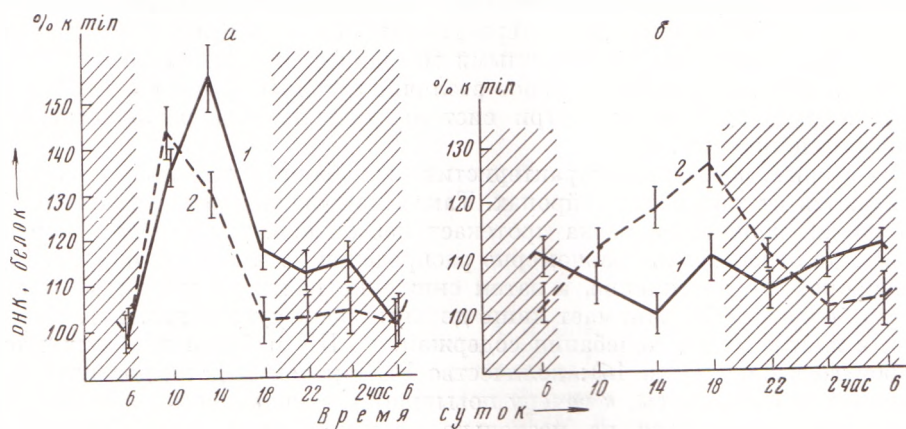


Рис. 1. Изменения количества нуклеиновых кислот и белков в мотонейронах (а) и в глиальных клетках-сателлитах (б) спинного мозга крыс в течение суток. Заштрихована неосвещенная часть суток. 1 — изменения РНК, 2 — изменения белка

часы, достигая максимума к 18 час., и быстро снижалось в ночные часы (рис. 1б).

Ранее неоднократно было показано, что функциональные сдвиги метаболизма РНК и белка в нейронах и глиии сопровождаются и многообразными изменениями геометрических параметров этих клеток (³). В настоящей работе выявлены суточные колебания площади исследуемых нейронов и их глиальных клеток-сателлитов. Как видно из рис. 2, изменения площади обоих типов клеток близки по своему характеру к колебаниям содержания нуклеиновых кислот в нейронах, причем площади самих нейронов изменялись в 1,45 раза (отношение максимума к минимуму), а площади глиальных клеток только в 1,25 раза.

Анализ данных показывает, что суточная динамика нуклеиновых кислот и белка в нейронах и в глиальных клетках-сателлитах имеет ряд существенных отличий. Во-первых, все изменения в глиальных клетках выражены слабее, чем в нейронах. Малые изменения в количестве нуклеиновых кислот в глиии могут быть обусловлены методическими причинами. Примененный нами краситель галлоцианин — хромовые квасцы выявляет в клетках сумму нуклеиновых кислот (ДНК+РНК). Провести с помощью этого красителя, без специальных методов экстракции, количественное определение одной лишь РНК не представляется возможным. Нами была применена такая экстракция (¹³), однако в данной работе мы исходили из того, что функционально обусловленные нуклеиновые изменения нуклеинового обмена в структурах нервной ткани за достаточно короткие интервалы времени в течение эксперимента объясняются лишь сдвигами содержания РНК. Поэтому как в нейронах, так и в нейроглии мы ограничились изме-

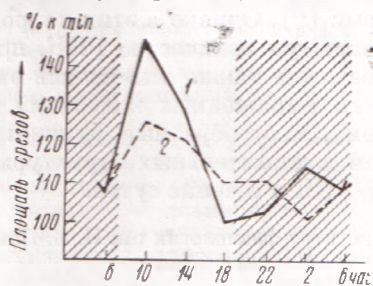


Рис. 2. Изменения площади мотонейронов и их глиальных клеток-сателлитов спинного мозга крыс в течение суток. 1 — мотонейроны, 2 — глиальные клетки

рением суммарного поглощения галлоцианина в расчете на одну клетку (см. (12)). Такой подход в большей мере сказывается на оценке колебаний глиальной, чем нейрональной РНК, поскольку в общей сумме ДНК+РНК доля РНК в глиальной клетке значительно меньше, чем в нейроне. Поэтому слабо выраженное колебание количества нуклеиновых кислот в глии может не отражать истинной динамики количества РНК. Меньшая же амплитуда колебаний глиального белка и площади клеток глии по сравнению с соответствующими характеристиками нейронов (рис. 1, 2) уже не могут быть объяснены аналогичными методическими причинами и отражают, по всей видимости, реальное различие суточных ритмов содержания белка и размеров клеток внутри системы нейрон — нейроглия передних рогов спинного мозга.

Во-вторых, временные характеристики колебаний в глиальных клетках отличаются от таковых в нейронах. Так, в нейроглии смена повышения и понижения количества белка протекает постепенно, так что весь период колебаний относительно равномерно распределен по длине суток (рис. 16). В нейронах же повышение, а затем снижение почти до минимума количества белка и РНК занимает лишь дневные часы суток (рис. 1а). Кроме того, в клетках глии колебания содержания РНК и белка приближаются к противофазным (рис. 16): количество РНК утром падает, достигая минимума в дневные часы, к вечеру повышается и практически весь ночной период суток держится на несколько повышенном уровне. Количество белка, напротив, характеризуется четким максимумом в дневные, а минимумом — в ночные часы. Колебания же содержания РНК и белка в нейронах имеют ярко выраженный синфазный характер: подъем количества этих макромолекул одновременно начинается в утренние, а снижение — в вечерние часы суток (рис. 1а). Наконец, максимум количества белка в глии отмечен на 6—8 час. позже, чем максимум содержания нейронального белка. Это может свидетельствовать о том, что скорость биосинтеза белка в нейронах выше, чем в глиальных клетках-сателлитах; это продемонстрировано рядом авторов.

В мотонейронах спинного мозга крыс суточная динамика РНК характеризовалась отчетливым накоплением РНК в течение дневного периода суток (рис. 1а). То же отмечено нами ранее в клетках Пуркине мозжечка крыс (12). Однако в этих нейронах мозжечка был выявлен и второй, ночной максимум количества РНК, приходившийся на 2 часа. Глиальные клетки мозжечка также отличались от глии передних рогов спинного мозга наличием выраженных колебаний содержания нуклеиновых кислот. По-видимому, многообразные функции мозжечка сопровождаются более частыми, чем в двигательных структурах спинного мозга, изменениями метаболизма РНК в течение суток.

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

Поступило
12 XI 1973

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. H. Merritt, T. S. Sulkowski, J. Neurochem., 17, 1327 (1970). ² K. Richardson, S. P. R. Rose, Nature. New Biol., 233, 182 (1971). ³ Л. З. Певзнер, Функциональная биохимия нейроглии, Л., 1972. ⁴ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., 1966. ⁵ L. Einarson, Acta pathol. scand., 28, 82 (1951). ⁶ Э. Пирс, Гистохимия, М., 1962. ⁷ G. Geyer, Acta histochem., 10, 286 (1960). ⁸ Л. М. Герштейн, А. М. Вавилов, В сборн. Соврем. методы исследования мозга, М., 1969, стр. 100. ⁹ Г. Ш. Воронка, Л. З. Певзнер, Вопр. мед. хим., 18, 418 (1972). ¹⁰ Ю. Р. Хруст, Л. Л. Литинская и др., Цитология, 13, 1525 (1971). ¹¹ Л. Л. Литинская, Ю. Р. Хруст, В сборн. Вероятност. анализ организации физиол. систем. Информ. матер., № 9—10 (56), М., 1972, стр. 80. ¹² Л. З. Певзнер, Л. Л. Литинская, Ю. Р. Хруст, Физиол. журн. СССР, 59, 883 (1973). ¹³ В. А. Брумберг, Л. З. Певзнер, Цитология, 8, 437 (1966).