



УДК 547.952:547.963.3:591.481.1

БЕЛКИ И РНК В НЕЙРОНАХ И ГЛИОЦИТАХ ДОРЗАЛЬНОГО ЯДРА ШВА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ ПРИ СНЕ И ДЛИТЕЛЬНОМ ЕГО ЛИШЕНИИ В ЦИЛИНДРИЧЕСКОМ ТРЕТБАНЕ

КРИВЕНКО Н. Е., МАЛИКОВ У. М., ПАНОВ А. Н.

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

Функционирование нейрона при различных состояниях, в частности при сне и его депривации [1, 2], неразрывно связано с изменением в нем интенсивности синтеза белков, что отражается и в количественных сдвигах их содержания. При этом в зависимости от метаболизма белков меняется также количество РНК [3, 4].

При изучении нейрохимических коррелятов сна было установлено [2, 5], что 20-минутный сон приводил к накоплению в головном мозгу крыс РНК в перинейрональных глиоцитах супраоптического и красного ядер, а также синего пятна; содержание РНК повышалось и в цитоплазме нейронов красного ядра. При этом суммарное содержание белков, значительно (приблизительно на 30% от величины при бодрствовании) увеличиваясь наряду с количеством РНК в глиоцитах супраоптического ядра, несколько снижалось (приблизительно на 15%) в цитоплазме нейронов синего пятна и красного ядра.

К числу ядер, участвующих в организации процесса сна, принадлежит дорзальное ядро шва (ДЯШ). Ранее было показано [6], что нарушения процесса сна оказывают существенное влияние на белковый и нуклеиновый метаболизм в клетках ДЯШ. Так, при полном лишении сна и вращении в цилиндрическом третбане в течение 24 и 48 ч выявилось резкое увеличение количества белков и РНК в первый период депривации, сменявшееся затем таким же выраженным его снижением, особенно белков. Целью нашей работы было сравнение сдвигов содержания белков и РНК в клетках ДЯШ при сне с результатами влияния еще более продолжительного лишения сна—96-часового. Следует заметить, что дальнейшее увеличение продолжительности депривации сна при вращении в третбане могло привести к гибели части животных [7].

Опыты проводили на крысах-самцах линии *Wistar* массой около 200 г. Одну группу животных исследовали при естественном сне, а дру-

гую после 96-часового вращения в третбане. Одновременно с подопытными декапитуировали контрольных, находившихся в бодрствующем состоянии. При изучении сна крыс декапитуировали после непрерывного сна продолжительностью 20—25 мин. В опытах в третбане животных помещали попарно в отсеки цилиндра с диаметром 50 см; скорость вращения была 2, 3 об./мин [7]. В отсеках были подвешены поилки и насыпан сухой корм. Каждые 12 ч крыс извлекали из третбана на 30 мин и давали им мягкий корм и воду. После декапитации мозг быстро извлекали, удаляли большие полушария и мозжечок, а стволовую часть фиксировали в реактиве Бродского (10%-ный формалин—96%-ный этанол—ледяная уксусная кислота; 3:1:0,3); обезжизняли и парафинировали пробы обычным гистологическим методом; готовили срезы толщиной 7 мкм. Срезы помещали на стекло, депарафинировали и окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами на нуклеиновые кислоты по Einarson в модификации Bergbe и соавт. [8] и амидо-черным 10 Б на общие белки [9]. Измерения оптической плотности окрашенных клеток проводили на микрофотометре МУФ-5 при 595 нм для нуклеиновых кислот и при 620 нм для белков. Размер зонда позволял измерять интенсивность окраски в отдельных участках цитоплазмы нейронов: глиоциты же полностью попадали в площадь зонда. Таким образом, в нейронах определяли цитоплазматические РНК и белки, а в глиоцитах—ядерные и цитоплазматические белки (суммарно) и общее количество РНК и ДНК. Так как количество ДНК в определенных клетках практически постоянно у животных одного вида и не зависит от функционального состояния клетки [3], все изменения в глиоцитах можно отнести к РНК. Оптическая плотность окрашенных клеток пропорциональна концентрации исследуемых веществ. Определив соответствующие линейные размеры и вычислив величины объема цитоплазмы нейронов или всего тела глиоцитов, умножением величины концентрации (оптической плотности) на объем устанавливали содержание РНК и белков в одной клетке [10].

В табл. 1 приведены данные по объемам глиоцитов и цитоплазмы нейронов ДЯШ крысы, оптической плотности клеток и содержанию в них РНК и белков в результате 20—25-минутного сна. Обращает на себя внимание одинаковая направленность в сторону снижения всех показателей. Различия объемов цитоплазмы нейронов и концентрации РНК в нейронах и глиоцитах между опытом и контролем были не достоверны ($p > 0,05$). Однако в результате одинаковой направленности сдвигов снижение содержания и РНК и белков на 1 клетку оказалось значительным по величине (особенно белков в глиоцитах—на 23%). Такие данные являются, вероятно, следствием общего снижения функциональной активности нейронов этого центрального серотонинергического ядра в период сна [11, 12]. В общем эти сдвиги в клетках ДЯШ при сне отличаются от описанных в случае других исследованных ядер (см. выше).

В качестве одного из подходов к изучению нейробиохимических при-

чин необходимости регулярных периодов сна у высших позвоночных, а также явлений, имеющих место при определенных экстремальных условиях, служат исследования результатов тех или других видов искусственной бессонницы, которую, в известной мере, можно рассматривать как состояние затянувшегося активного бодрствования [2]. Методом возможно полного лишения сна различной продолжительности и является вращение в третбане. Этот метод имеет ряд недостатков, одним из которых является действие такого фактора, как вынужденная, почти непрерывная многочасовая (в течение 4 суток в наших опытах) двигательная активность, которая, собственно, и препятствует погружению животного в сон. Возможно некоторое влияние и вестибулярного раздражения от постоянного вращения, хотя и медленного. Тем не менее, то, что депривация сна в третбане в наших условиях не истощала нейроны, связанные с осуществлением акта движения, подтверждается результатами исследований Маликова [13], в которых не было выявлено изменений белкового и нуклеинового метаболизма в нейронах поясничного утолщения спинного мозга крыс, лишаемых сна во вращающемся третбане.

Таблица 1

Объемы перинейрональных глиоцитов и цитоплазмы нейронов дорзального ядра шва мозга крысы, оптическая плотность клеток и содержание в них нуклеиновых кислот и белков при естественном сне продолжительностью 20—25 мин

Тип клеток	Группа	Объемы клеток (мкм ³)	РНК		Белки	
			Оптическая плотность ($\times 100$)	Содержание (усл. ед.)	Оптическая плотность ($\times 100$)	Содержание (усл. ед.)
Нейроны	Контроль	725 $\pm$ 34	33,0 $\pm$ 0,9	239 $\pm$ 13	59,0 $\pm$ 1,1	428 $\pm$ 22
	Опыт	652 $\pm$ 35	31,0 $\pm$ 0,9	202 $\pm$ 12	53,0 $\pm$ 1,3	346 $\pm$ 20
	Разница, в %	-10	-6	<0,02 -15	<0,001 -10	<0,01 -19
Глиоциты	Контроль	39,0 $\pm$ 1,2	22,0 $\pm$ 0,8	8,6 $\pm$ 0,4	56,0 $\pm$ 1,4	22,0 $\pm$ 1,0
	Опыт	35,0 $\pm$ 1,1	21,0 $\pm$ 0,8	7,4 $\pm$ 0,4	47,0 $\pm$ 0,8	17,0 $\pm$ 0,6
	Разница, в %	p<0,02 -10	-5	<0,05 -14	<0,001 -16	<0,001 -23

Как следует из данных, приведенных в табл. 2, 96-часовое лишение крыс сна сопровождалось уменьшением объема цитоплазмы нейронов ДЯШ (на 12%), тогда как объем глиоцитов не отличался от величины при бодрствовании. Концентрация РНК была на уровне, характерном для бодрствования, как в цитоплазме нейронов, так и в глиоцитах, а концентрация белков немного, но достоверно уменьшалась в глиоцитах (на 10%). В цитоплазме нейронов содержание (на 1 клетку) как РНК, так и белков, снижалось; в глиоцитах же достоверных различий с контролем обнаружено не было.

Таким образом, в нейронах ДЯШ как при сне, так и при продолжительном его лишении, содержание таких важнейших компонентов клетки, как РНК и белки, изменялось примерно одинаково не только

по направленности, но и по величине. Другими словами, противоположные по поведенческим критериям состояния характеризовались одним и тем же метаболическим результатом. Однако рассмотрение нейрональных взаимоотношений свидетельствует о том, что такое сходство вызывалось, вероятно, различными причинами и являлось следствием разных процессов. Если при сне направленность изменений в нейронах и глиоцитах ДЯШ была одинаковой и отражала общее градуальное

Таблица 2

Объемы глиоцитов и цитоплазмы нейронов дорзального ядра шва мозга крысы, оптическая плотность клеток и содержание в них нуклеиновых кислот и белков после полного лишения сна в цилиндрическом третбане в течение 96 ч

Тип клеток	Группа	Объемы клеток (мм ³)	РНК		Белки	
			Оптическая плотность (×100)	Содержание (усл. ед.)	Оптическая плотность (×100)	Содержание (усл. ед.)
Нейроны	Контроль	559±29	40,0±1,1	224±13	90,0±1,5	503±27
	Опыт	492±27	37,0±1,3	182±12	84,0±1,3	413±24
	р	<0,01	—	<0,02	—	<0,02
	Разница, в %	-12	-7	-19	-7	-18
Глиоциты	Контроль	46,0±1,2	31,0±1,1	14,0±0,6	91,0±1,6	42,0±1,3
	Опыт	48,0±1,5	31,0±1,1	15,0±0,5	82,0±1,5	39,0±1,5
	р	—	—	—	<0,001	—
	Разница, в %	+4	0	+7	-10	-7

снижение активности этого ядра, то при лишении сна (путем вращения в третбане), когда становились невозможными периодические «отключения» нейронов ДЯШ, трофическая деятельность перинейрональной глии была особенно важна для поддержания работоспособности нейронов; содержание РНК и белков в ней и не отличалось от уровня при активном бодрствовании, что может свидетельствовать о высокой метаболической активности нейроглии в этот период [3, 10, 14].

THE PROTEIN AND RNA CONTENT IN NEURONS AND GLIOCYTES OF THE RAT NUCLEUS RAPHE DORSALIS DURING THE SLEEP AND AFTER PROLONGED SLEEP DEPRIVATION IN A CYLINDRIC TRETBAHN

KRIVENKO N. E., MALIKOV U. M., PANOV A. N.

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

The content of total proteins and RNA in the rat brain nucleus raphe dorsalis neuron cytoplasm and perineuronal gliocytes during the sleep and immediately after 96-h. sleep deprivation in a rotating cylindric tretbahn has been studied by the cytospectrophotometric method. It was revealed that the sleep during 20—25 min led to some decrease

of the protein and RNA content in cells under study.—The RNA and protein content in the neuron cytoplasm after sleep deprivation was also reduced, whereas their content in the gliocytes was the same as during wakefulness.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Oswald J.* New Scientist, v. 46, p. 170—172, 1970.
2. Демин Н. Н., Козан А. Б., Моисеева Н. Н. Нейрофизиология и нейрохимия сна. Л., Наука, 1978.
3. Бродский В. Я. Трофика клетки, М., Наука, 1966.
4. *Giuditta A.*—In: Biochemical correlates of brain structure and function (ed. A.N. Davison), L.—N. Y.—San Francisco, Academic Press, p. 293—337, 1977.
5. Демин Н. Н., Маликов У. М., Рубинская Н. А. Физиол. журн. СССР, т. 66, с. 1626—1631, 1980.
6. Маликов У. М., Панов А. Н. Физиол. журн. СССР, т. 67, с. 1506—1510, 1981.
7. Покровский А. А., Малахов Н. Е., Кишманова О. Д. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 63, № 6, с. 123—125, 1967.
8. *Berube G. R., Powers M. M., Kerkay J., Clark G.* Stain Technol., v. 41, p. 73—81, 1966.
9. *Geyer G.* Acta histochem., B. 10, S. 286—292, 1960.
10. Певанскр Л. З. Функциональная биохимия нейроглии, Л., Наука, 1972.
11. *McGinty D. J., Harper R. M.* Brain Res., v. 101, p. 569—575, 1976.
12. *Puizillout J. J., Gaudin-Chazal G., Daszuta A., Seiffitz N., Ternoux J. P.* J. Physiol. (Paris), v. 75, p. 531—537, 1979.
13. Маликов У. М. Цитология, т. 22, с. 666—669, 1980.
14. Гейнисман Ю. Я. Структурные и метаболические проявления функции нейрона. М., Наука, 1974.

Поступила 14. III 1987