

УДК 612.8.015+612.535

ФИЗИОЛОГИЯ

Р. Е. ФИЛИПЧЕНКО, Л. З. ПЕВЗNER, А. Д. СЛОНИМ

СОДЕРЖАНИЕ РНК В НЕЙРОНАХ И ГЛИИ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР ПОСЛЕ ПРЕРЫВИСТОГО ОХЛАЖДЕНИЯ

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 20 III 1975)

Эволюционное развитие механизмов гомеостаза у высших животных привело к широкому распространению гомеостатических реакций в деятельности всех вегетативных систем организма. Отработанность и эффективность этих реакций находят свое отражение в том, что факторы внешней среды, представляющие собой, по существу, угрозу гомеостазису (охлаждение, гипоксия и т. п.), вызывают стойкие и намного более длительные, чем само внешнее воздействие, изменения активности вегетативных систем (¹⁻³). Есть основание думать, что закрепление этих следов кратковременного воздействия аналогично процессу консолидации памяти. В пользу такого предположения говорят, например, данные о формировании следов после кратковременных воздействий гипоксии или охлаждения (²⁻³). Изменения тканевого дыхания скелетных мышц и их электрической активности наступали не сразу после кратковременного или повторного воздействия этих факторов, а формировались на 5-й или даже 10-й день. Отмеченные при этом следовые реакции по своей направленности были сходны с теми, которые наблюдались при длительной адаптации организма животных к холоду или гипоксии.

Логично полагать, что процесс формирования такого стойкого следа, который можно условно назвать вегетативной памятью, локализуется в нервной системе. Важно попытаться выяснить, является ли этот процесс генерализованным или он локализован в определенных клеточных ядрах головного мозга. Предшествующий опыт функционально-цитохимического анализа клеток нервной ткани показал, что уровень суммарной (практически — рибосомальной) РНК в системе нейрон — нейроглия является в известной мере показателем степени активации этой системы (⁴).

Ранее было установлено (¹), что кратковременное прерывистое охлаждение крыс вызывает ряд стойких адаптивных физиологических сдвигов, развивающихся в течение нескольких суток после прекращения охлаждения и сохраняющихся не менее 3—4 недель. Учитывая роль гипоталамуса в реакции гомеотермных животных на охлаждение (⁵⁻⁷), мы поставили задачу проанализировать изменения количества РНК в нейронах и глиии гипоталамических ядер крыс после прерывистого охлаждения.

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах (линии «Вистар» — серия I и беспородных — серия II) весом 180—220 г, которых подвергали прерывистому охлаждению по следующей схеме: охлаждали в индивидуальных клетках в течение 2 мин. при температуре среды -20° , затем на 5 мин. переносили в среду с температурой 25° и такое чередование повторяли 15 раз. В целом опыт продолжался немногим более 1,5 час., общая длительность охлаждения составляла 30 мин. Ректальная температура животных при таком охлаждении не снижалась. Контролем служили крысы, которых также помещали в индивидуальные клетки и подвергали всем тем же манипуляциям, что и животных опытной группы, но температура внешней среды во всех случаях оставалась 25° .

Таблица 1

Концентрация и общее количество нуклеиновых кислот и объем клеток гипоталамуса крыс после кратковременного прерывистого охлаждения

Отдел гипоталамуса	Вид клеток	Концентрация нуклеиновых кислот (в логарифмических единицах экстинкции)		Объем цитоплазмы нейронов или тел (ядер) глиальных клеток, мкм ³		Количество нуклеиновых кислот (в расчете на одну клетку), отн. ед.	
		контроль	охлаждение	контроль	охлаждение	контроль	охлаждение

Через 2 дня после охлаждения

Медиальная преоптическая зона	Нейроны	0,40±0,01	0,40±0,01	217±22	318±21*	84,8±6,2	132,9±10,3*
	Глия	0,22±0,003	0,19±0,003*	112±8	134±11	31,5±2,3	40,9±2,0*
Мамиллярные тела	Нейроны	0,37±0,01	0,40±0,01*	238±18	226±14	86,6±5,9	87,6±6,1
	Глия	0,22±0,002	0,20±0,002*	114±7	95±5*	30,4±2,0	24,0±1,9*
Супраоптическое ядро	Нейроны	0,39±0,02	0,42±0,01	1169±68	1204±107	522,9±37,3	476,9±33,9
	Глия	0,27±0,01	0,27±0,01	95±8	104±10	33,7±2,7	34,1±3,2

Через 5 дней после охлаждения

Медиальная преоптическая зона	Нейроны	0,40±0,01	0,43±0,01*	422±26	437±24	197,9±19,4	201,7±14,4
	Глия	0,33±0,02	0,22±0,01*	106±10	131±12	30,9±3,1	34,4±2,7
Мамиллярные тела	Нейроны	0,33±0,01	0,51±0,01*	818±45	955±54*	275,1±21,6	454,8±40,5*
	Глия	0,23±0,01	0,29±0,01*	93±9	108±9	27,5±3,3	35,0±2,3

* Статистически достоверные ($P < 0,05$) отклонения от контроля.

По прекращении охлаждения всех животных помещали в стандартные условия содержания в виварии и через 2 и 5 суток (серии I и II соответственно) забивали быстрым обезглавливанием без наркоза; для каждого срока брали свою контрольную группу крыс. Гипоталамическую зону головного мозга фиксировали формалином — этанолом — уксусной кислотой по Бродскому⁽⁸⁾, обезжизняли и заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали на нуклеиновые кислоты галлоцианином — хромовыми квасцами по Эйпарсону в модификации Берьюба и сотр.⁽⁹⁾ Цитоплазмы нейронов и все тело (практически — ядро) прилежащих к ним клеток олигодендроглии фотографировали при 580 нм на микроскопе МУФ-6 с последующей денситометрией негативов на регистрирующем микрофотометре МФ-4⁽⁸⁾. В качестве эталона в каждом кадре был впечатан 8-ступенчатый ослабитель. Найденную величину оптической плотности, рассматриваемую как меру концентрации нуклеиновых кислот, умножали на объем цитоплазмы нейронов или соответственно тела глиальной клетки; объем рассчитывали по формуле эллипсоида вращения, исходя из измеренных на фотонегативе линейных размеров клеток. Детали фотографической цитоспектрофотометрии и соответствующих расчетов количества нуклеиновых кислот в одной клетке описаны в монографиях^(8, 4).

Каждая серия включала 6 крыс, измеряли по 20—25 нейронов и столько же клеток нейроглии от каждого животного. Статистическую обработку полученных данных производили по Стьюденту.

Как видно из табл. 1, через 2 и 5 дней после прекращения охлаждения отмечен ряд изменений концентрации нуклеиновых кислот в исследуемых клетках. Хотя примененный метод окрашивания срезов выявляет сумму нуклеиновых кислот (РНК+ДНК), у взрослых животных, в силу стабильности уровня ядерной ДНК в нервных и глиальных клетках⁽⁸⁾, функционально обусловленные изменения могли отражать только сдвиги концентрации РНК. В ряде случаев объемы цитоплазмы нейронов или тел глиальных клеток также несколько изменялись (табл. 1) после охлаждения животных. В большинстве клеток сдвиги концентрации и объемов были однонаправленными, что проявлялось в отчетливых изменениях общего количества РНК в расчете на одну клетку: если же снижение концентрации РНК сочеталось

с увеличением объема, то в результате общее содержание РНК могло оставаться неизменным (табл. 1).

Через 2 дня после прекращения охлаждения содержание РНК в расчете на одну клетку значительно увеличивалось во всей системе нейрон — нейроглия медиальной преоптической зоны гипоталамуса (рис. 1), что может указывать, по опыту наших предыдущих цитофотометрических исследований (⁴), на активацию нейронов этой зоны. Через 5 дней, когда следовые явления перенесенного охлаждения были зафиксированы уже в эффекторных органах, например в скелетных мышцах (¹⁻³), количество РНК в системе нейрон — нейроглия этой зоны гипоталамуса нормализовалось (небольшое увеличение содержания РНК в глии, показанное на рис. 1, не превышало индивидуальных колебаний и было статистически недостоверным). Такую динамику содержания РНК можно рассматривать как подтверждение

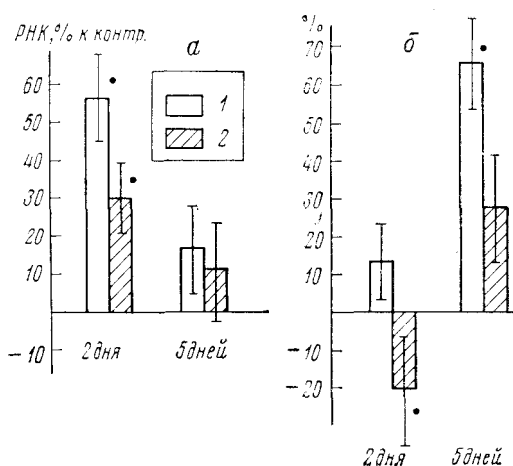


Рис. 1. Изменения количества РНК в нейронах и их глиальных клетках-сателлитах медиальной преоптической зоны (а) и мамиллярных тел (б) гипоталамуса крыс через 2 и 5 дней после кратковременного прерывистого охлаждения. 1 — нейроны (цитоплазма), 2 — клетки перинейрональной олигодендроглии. Отмечены отклонения, статистически достоверно ($P < 0,05$) отличающиеся от контроля

глии выявлено небольшое, но статистически достоверное (на уровне $P < 0,05$) снижение количества РНК; в настоящее время объяснить это уменьшение содержания глиальной РНК мы не можем.

То, что накопление РНК в системе нейрон — нейроглия преоптической зоны через 2 дня после охлаждения отражает специфический процесс, а не является результатом неспецифической стрессорной реакции, подтверждается, как нам кажется, отсутствием каких-либо изменений содержания РНК в нейронах и глии нейросекреторного супраоптического ядра гипоталамуса (табл. 1), тесно связанного с реакцией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы на стресс.

Если принять точку зрения о том, что, с одной стороны, стойкий ответ вегетативных систем на угрозу гомеостазису основан на предварительной фиксации вегетативной памяти в соответствующих структурах нервной системы, а с другой — что процесс консолидации памяти, как было указано выше, сопровождается изменениями обмена нейрональной (и глиальной) РНК лишь на начальных этапах этого процесса, то можно, в порядке предположения, поставить вопрос о пространственно-временной неоднородности консолидации памяти. Можно думать, в частности, что в гипоталамусе — отделе мозга, в наибольшей степени ответственном за гомеостатические ре-

наших представлений о вегетативной памяти, поскольку еще со времени экспериментов Хидена и Эдхаззи (¹⁰), более чем 10-летней давности, четко выявлялись изменения обмена РНК в нервных структурах в процессе консолидации памяти, тогда как завершение этой консолидации сопровождалось нормализацией обмена мозговой РНК.

В нейронах мамиллярных тел выраженное накопление цитоплазматической РНК происходило лишь через 5 дней после прекращения охлаждения (рис. 1); на рис. 1 видно некоторое повышение уровня РНК и в глиальных клетках, однако ввиду больших индивидуальных колебаний оно оказалось статистически недостоверным. Через 2 дня после опыта содержание РНК в этих нейронах еще не отличалось от контроля (рис. 1), в окружающих же нейроны клетках нейро-

акции вегетативных систем, — вегетативная память несовременно фиксируется в различных клеточных структурах. Так, в конкретных условиях нашего эксперимента с охлаждением фиксация следа памяти вначале происходит, вероятно, в медиальной преоптической зоне гипоталамуса, а позже начинается в миелилярных телах. Возможно, с такой миграцией процесса локальной активации систем нейрон — нейроглия связан механизм не только запоминания, но и забывания. Это предположение, естественно, носит пока сугубо предварительный характер и требует экспериментальной проверки.

Институт клинической и экспериментальной медицины
Сибирского филиала Академии медицинских наук СССР
Новосибирск

Поступило
12 III 1975

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

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Д. Слоним, Е. И. Швецова, Физiol. журн. СССР, т. 59, 8, 1262 (1973). ² А. Д. Слоним, Т. А. Багдасарова и др., В сб.: Вопр. терморегуляции в норме и патологии, Л., 1974, стр. 130. ³ А. Д. Слоним, Т. А. Багдасарова и др., В сб.: Память и след. процессы, Пушкино, 1974, стр. 42. ⁴ Л. З. Певзнер, Функциональная биохимия нейроглия, Л., «Наука», 1972. ⁵ N. Mrosovsky, Hibernation and Hypothalamus, N. Y., 1971. ⁶ Essays on Temperature Regulation, J. Bligh, R. E. Moore (Ed.), Amsterdam — London, 1972. ⁷ H. Hensel, Physiol. Rev., v. 53, 4, 948 (1973). ⁸ В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., «Наука», 1966. ⁹ G. Berube, M. Powers et al., Stain Technol., v. 41, 1, 73 (1966). ¹⁰ H. Hydén, E. Egyházi, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 49, 5, 618 (1963).