

А. А. КРИЧЕВСКАЯ, Л. В. МОГИЛЬНИЦКАЯ, Л. З. ПЕВЗNER

**СОДЕРЖАНИЕ ЯДЕРНЫХ ГИСТОНОВ В НЕЙРОНАХ
И НЕЙРОГЛИИ НЕКОТОРЫХ УЧАСТКОВ ГИПОТАЛАМУСА
ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ОХЛАЖДЕНИИ ЖИВОТНЫХ**

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 8 IX 1975)

Центральное место в поддержании температурного гомеостаза у гомойотермных животных принадлежит гипоталамусу, который координирует многочисленные регуляторные процессы, обеспечивающие сохранение температуры тела на постоянном уровне (¹⁻⁵). При этом, как показано в работе (⁶), изменения функциональной активности гипоталамических структур в процессе адаптации к холоду сопровождаются перестройкой метаболизма макромолекул (в частности РНК) в нейронах и клетках нейроглии гипоталамуса.

В клеточных ядрах молекулы РНК присутствуют преимущественно в форме комплексов с ядерными белками, главным образом гистонами и другими основными белками (⁷). Поэтому наше внимание привлекли ядерные гистоны — важнейшие макромолекулы, которым приписывают не только роль структурных компонентов клеточных ядер, но и участие в регуляции активности генома (^{7, 8}).

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах весом 110–130 г., которых помещали в холодную камеру (температура 2–4°). В первые дни пребывания на холоду животные были малоподвижны, теряли в весе. Через две недели их поведение постепенно нормализовалось, они начинали набирать вес. Ректальная температура этих крыс в течение всего эксперимента оставалась неизменной. Контролем служили животные того же пола, возраста и веса, содержащиеся в стандартных условиях вивария при 19–21°.

Через 1, 3 и 15 суток после помещения крыс в холодную камеру подопытных (и одновременно контрольных) животных забивали быстрым обезглавливанием без наркоза, извлекали головной мозг, иссекали гипоталамический отдел мозга и фиксировали его в охлажденной смеси Бродского (формалин — этанол — уксусная кислота, 9:3:1) с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 7–10 мкм окрашивали на гистоны прочным зеленым FCF (рН 8,2) методом Олферта и Гешвинда (⁹) с рядом модификаций Блоха и Годмана (¹⁰) и Я. Г. Эренпрейса (¹¹).

Для определения количества гистонов в расчете на одну клетку применяли метод двухволновой цитоспектрофотометрии; общие принципы и конкретные детали измерений описаны в монографиях (^{12, 13}). Все определения проводили при 595 и 650 нм на цифropечатающем двухволновом цитоспектрофотометре МЦФУ-1 конструкции Ленинградского оптико-механического объединения им. В. И. Ленина*. Каждую среднюю арифметическую содержания гистонов (в условных единицах) рассчитывали по данным цитоспектрофотометрии 160–270 клеток (нейронов и столько же клеток перинейрональной нейроглии) от 5–7 животных. Весь полученный цифровой материал обрабатывали статистически по Стьюденту.

* Авторы пользуются возможностью выразить свою признательность И. Л. Зарубиной и Г. И. Масловой за ценные советы и помощь при работе на цитоспектрофотометре МЦФУ-1.

Результаты определений показали, что в медиальной преоптической области (м.п.о.) гипоталамуса, с которой в наибольшей степени связывают участие гипоталамуса в механизмах терморегуляции (¹⁻³, ¹⁴), количество гистонов в нейронах отчетливо увеличивалось после суточного пребывания крыс на холоду и уменьшалось (ниже уровня контроля) после 3 суток. Через 15 суток содержание гистонов возвращалось к контрольному уровню (рис. 1А). В глиальных клетках, окружающих нейроны м.п.о., количество гистонов через сутки оставалось практически неизменным, а через 3 суток снижалось, как и в нейронах, и также возвращалось к величине,

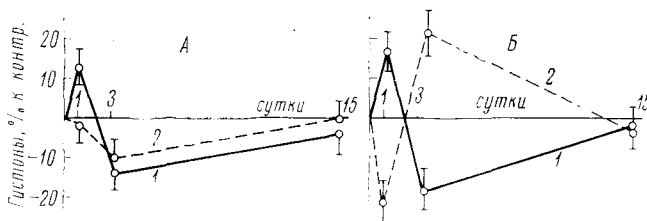


Рис. 1. Изменения содержания гистонов в ядрах нейронов (1) и их глиальных клеток-сателлитов (2) медиальной преоптической области (А) и супраоптического ядра (Б) гипоталамуса крыс при различной длительности пребывания животных на холоду (2-4°). Вертикальные линии — величина средней квадратичной ошибки

соответствующей контролю, к 15 суткам пребывания животных на холоду (рис. 1А).

В супраоптическом ядре, играющем важную роль в деятельности гипоталамуса и всей гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, содержание гистонов в нейронах изменялось практически так же, как в нейронах м.п.о., т. е. увеличивалось через сутки, уменьшалось через 3 суток и нормализовалось через 15 суток (рис. 1Б). Количество же гистонов в глиальных клетках-сателлитах, окружающих нейроны этого ядра, претерпевало изменения, зеркально противоположные изменениям в нейронах: через сутки снижалось, через 3 суток повышалось и через 15 суток возвращалось к норме (рис. 1Б).

Проведенное функционально-биохимическое сопоставление двух гипоталамических систем нейрон — нейроглия показывает, что на начальных этапах холодого воздействия изменения количества гистонов в м.п.о. — участка гипоталамуса, наиболее ответственным за температурный гомеостазис, — локализуются только в нейронах. Лишь позже (после 3 суток пребывания животных на холоду) сдвиги в содержании гистонов захватывали всю систему нейрон — нейроглия. Исходя из собственных и литературных данных по функциональной биохимии нейронов и их глиальных клеток-сателлитов (¹³), можно предположить, что первые 24 часа охлаждения вызывают умеренную активацию термочувствительных нейронов м.п.о., тогда как на третьи сутки перестройка деятельности этих нейронов настолько интенсивна, что сопровождается метаболическим ответом не только в самих нейронах, но и в соответствующих клетках перинейрональной нейроглии.

В супраоптическом нейросекреторном ядре гипоталамуса и на первые, и на третьи сутки охлаждения животных отмечены противоположные изменения в нейроглии по сравнению с нейронами (рис. 1Б). Можно думать, что, в то время как метаболический ответ в системе нейрон — нейроглия м.п.о. более специфически связан с непосредственным эффектом охлаждения, динамика изменений в структурах супраоптического ядра гипоталамуса опосредована участием этого ядра в неспецифической стресс-реакции, несомненно сопровождающей феномен охлаждения. Интересно, что картина изменений уровня ядерных гистонов в нейронах обоих участ-

ков гипоталамуса практически идентична, региональные же отличия проявлялись в различном ответе глияльных клеток.

Примененная в работе гистохимическая реакция на гистоны считается достаточно специфичной (⁹, ¹⁰). Однако не до конца ясно, какие конкретные радикалы в молекуле гистонов она окрашивает (¹¹). Поэтому не исключено, что выявленные изменения отражают не только сдвиги количества ядерных гистонов, но и частично изменения вторичной и третичной структур этих макромолекул.

Умеренное холодовое воздействие (пребывание при температурах среды выше 0°) при достаточной его длительности (до 2 недель) стимулирует развитие холодовой адаптации (¹). В связи с этим обращает на себя внимание, что все отмеченные нами изменения гистонов разыгрываются лишь в более ранние сроки охлаждения; к 15 суткам пребывания животных на холоду уровень ядерных гистонов в обеих гипоталамических системах нейрон — нейроглия нормализуется. Это подтверждает закономерность, выявленную при изучении эффекта более глубокого охлаждения крыс (⁶): биохимическая перестройка клеток гипоталамуса сопровождает процесс начальных адаптивных изменений в организме и прекращается к моменту завершения адаптации.

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

Поступило
8 IX 1975

Ростовский государственный университет

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Д. Слоним, Физиология, терморегуляция и термическая адаптация у сельскохозяйственных животных, М.—Л., «Наука», 1966. ² N. Mrosovsky, Hibernation and Hypothalamus, N. Y., 1971. ³ Essays on Temperature Regulation (Ed. by J. Bligh and R. E. Moore), Amsterdam — London, 1972. ⁴ H. Hensel, Physiol. Rev., v. 53, 4, 498 (1973). ⁵ М. Г. Амирагова, ДАН, т. 204, № 2, 493 (1972). ⁶ Р. Е. Филиппенко, Л. З. Певзнер, А. Д. Слоним, ДАН, т. 223, № 1, 252 (1975). ⁷ И. П. Ашмарин, Молекулярная биология, Л., «Медицина», 1974. ⁸ Л. В. Гофштейн, Усп. биол. хим., т. 12, 72 (1971). ⁹ M. Alfert, I. I. Geschwind, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 39, 10, 991 (1935). ¹⁰ D. P. Bloch, G. C. Godman, J. Biophys. Biochem. Cytol., v. 1, 1, 17 (1953). ¹¹ Я. Г. Эрнпрейс, Арх. анат., гистол. и эмбриол., т. 49, 12, 3 (1965). ¹² В. Я. Бродский, Трофика клетки, М., «Наука», 1966. ¹³ Л. З. Певзнер, Функциональная биохимия нейроглии, Л., «Наука», 1972. ¹⁴ А. М. Усачева, Физиол. журн. СССР, т. 58, 5, 737 (1972).