

УДК 612.014

Э. Е. МХЕЯН, К. М. КОЧАРЯН, Г. А. ГЕВОРКЯН

ОБНОВЛЕНИЕ ГИСТОНОВ МОЗГА БЕЛЫХ КРЫС В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОДНОСТОРОННЕГО УДАЛЕНИЯ ВЕРХНЕГО ШЕЙНОГО СИМПАТИЧЕСКОГО УЗЛА

Установлено, что после удаления верхнего шейного симпатического узла наряду с количественными изменениями заметно меняется включение ^{14}C -лизина в ядерные белки мозговых клеток крыс. Объясняется факт угнетения синтеза ДНК и гистонов в ядрах клеток мозга крыс, имеющий место после удаления верхнего шейного симпатического узла.

В настоящее время установлено, что гистоны не только являются в структурном отношении составляющими клеточного ядра, но играют значительную роль в метаболизме клетки [1, 6, 7]. Проблема метаболизма гистонов включает в себя вопросы их биосинтеза и катаболизма. Местом синтеза гистонов является цитоплазма [15]. Внутриклеточная локализация гистонов еще не выяснена, хотя ряд авторов установили протеолитическую активность ядер [12]. Удаление гистонов из хроматина солевой обработкой или кислотной экстракцией сопровождается увеличением матричной активности. Вместе с тем имеются сведения о том, что гистоны могут ограничивать транскрипцию ДНК в клетке путем ингибирования ДНК-зависимого синтеза РНК [2, 8].

Предыдущими исследованиями нами установлено, что количество ДНК в ядрах мозговых клеток понижается симметрично в обеих половинах мозга после одностороннего удаления верхнего шейного симпатического узла [3, 4].

В данном сообщении обсуждаются результаты включения ^{14}C -лизина в гистоны, негистоновые белки и цитоплазматические белки в разные сроки после одностороннего удаления верхнего шейного симпатического узла.

Методика

Опыты ставились на белых крысах обоего пола массой 150—200 г. Крысы содержались на обычном пищевом рационе. Верхний шейный симпатический (ВШС) узел справа удаляли под легким эфирным наркозом. О достоверности удаления узла судили по проявлению энцефальма и су-

жению глазной щели. Через 1,3 и 7 суток крысам внутрибрюшинно вводили ^{14}C (U)-лизин с удельной активностью 210 мК/мМ в количестве 15мкКюри каждой. Через 2 часа после инъекции животных декапитировали. Все манипуляции с тканью проводились на холоду. Для получения ядерной фракции объединялись одинаковые полушария от 8 животных. Ядра выделяли по методу Dingman и Sporn [13]. Гистоны экстрагировали и осаждали по методике, описанной ранее [5]. Величину включения ^{14}C -лизина в тотальные гистоны, негистоновые белки (НГБ), оставшиеся после экстракции гистонов, цитоплазматические белки (ЦПБ), осаждаемые 10% трихлоруксусной кислотой с последующей солибилизацией, считали на жидкостном сцинтилляционном счетчике LS-30 марки «Intertechnik» (Франция) с эффективностью счета 0,95% в канале, предусматривающей счет ^{14}C , с применением внешнего стандарта для выражения полученных данных в распадах/минуту.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного исследования (таблица) показали, что в норме самую высокую активность по ^{14}C -лизу проявляют ЦПБ, самую низкую—гистоны, что характерно для дифференцированных тканей с малым митотическим индексом, как свидетельствуют и данные литературы [9, 11].

Таблица

Удельная радиоактивность ЦПБ, НГБ и гистонов мозга белых крыс в разные сроки после одностороннего удаления ВНС узла (в распад/мин/г белка)

Белки	Контроль		1 сутки		3 сутки		7 суток	
	правая пол.	левая пол.	правая пол.	левая пол.	правая пол.	левая пол.	правая пол.	левая пол.
ЦПБ	1751808± 88632	1445864± 47260	1310872± 66080	1188504± 58320	1268664± 62088	848576± 41576	737752± 8040	723440± 8520
НГБ	962838± 48142	953165± 47187	488860± 25710	504030± 18357	767825± 6340	699060± 9060	399558± 18890	387018± 2458
Гистоны	412915± 34140	376892± 21580	370202± 21508	346942± 23831	504053± 22023	445762± 12378	358553± 26084	307581± 2450

Через 1 сутки после правостороннего удаления ВНС узла отмечается тенденция к снижению удельной радиоактивности общих гистонов, на 3-и сутки, наоборот, имеется статистически достоверное повышение, причем четко проявляется разница в удельной радиоактивности гистонов между правой и левой половинами мозга. На 7-е сутки вновь происходит понижение на 13% в правой и 17% в левой половине. При сопоставлении полученных данных с количественными изменениями общих гистонов, установленными нами в предыдущих исследованиях, выясняется, что параллелизма между изменениями удельной радиоактивности и количественными сдвигами общих гистонов нет. Так, например, через 1 сутки после десимпатизации количество общих гистонов статисти-

чески достоверно повышается на 18% в правой половине мозга крыс и на 7% в левой, в то же время наблюдается тенденция к падению удельной радиоактивности. На 3-и сутки имеет место заметное увеличение общих гистонов на 29% в левой, интактной, половине мозга крыс, между тем как повышение удельной радиоактивности более четко выражено в правой половине. Через 7 дней после десимпатизации на фоне пониженной удельной радиоактивности имеет место повышение количества тотальных гистонов.

Сопоставляя эти данные, можно прийти к заключению, что наблюдаемое повышение количества гистонов после десимпатизации не является результатом стимулирования синтеза. Логично предположить, что симпатическая денервация сильнее затрагивает распад гистонов, чем синтез.

Из литературы известно, что скорость синтеза гистонов часто совпадает во времени со скоростью синтеза ДНК [14]. По данным нашей лаборатории, количество ДНК в ядрах мозговых клеток сразу понижается после десимпатизации и не доходит до исходного уровня в течение трех месяцев, между тем как количество тотальных гистонов увеличивается [4, 5]. После определения удельной радиоактивности гистонов стало ясно, что вышеупомянутый парадокс только кажущийся. Понижение удельной радиоактивности четко говорит об угнетении синтеза гистонов. Известно также, что синтез гистонов в различных фазах клеточного деления имеет различную интенсивность, причем в активно делящихся клетках обменимость гистонов коррелируется с клеточным циклом [16]. В имеющихся публикациях указывается, что митотические циклы клеток непосредственно регулируются вегетативной нервной системой, в частности ее симпатическим отделом [17]. Ряд работ свидетельствует о том, что симпатическая денервация приводит к угнетению митотической активности эпителия роговицы глаза, а также языка [10]. Интересно то, что сдвиги митотического режима более заметно наблюдаются в центральных участках роговицы, т. е. в местах, наиболее удаленных от кровеносных сосудов. Угнетение митотической активности непосредственно свидетельствует о подавлении обмена нуклеиновых кислот и гистонов, что и наблюдается в наших исследованиях, но с определенной оговоркой, так как митотическая активность клеток мозга слишком низкая.

Нами уже сообщалось, что после десимпатизации наблюдается заметное снижение ЦПБ в клетках мозговой ткани крыс [3]. При изучении удельной радиоактивности ЦПБ выяснилось, что с 1-го же дня после десимпатизации происходит прогрессивное уменьшение включения ^{14}C -лизина в ЦПБ, что на 7-е сутки составляет почти 50% от первоначального уровня (таблица). Исходя из этого, можно заключить, что уменьшение ЦПБ является прямым результатом увеличения количества гистонов [5], что, как известно, ограничивает транскрипцию ДНК путем ингибирования ДНК-зависимого синтеза РНК.

В процессе специфической регуляции транскрипции в дифференцированных клетках, как известно, определенную роль играют негистоновые

белки хроматина. Как показывают результаты наших исследований, удельная радиоактивность НГБ через 1 сутки после десимпатизации резко падает и составляет 52%, после некоторого повышения на 3-и сутки имеет место значительное уменьшение удельной радиоактивности на 7-е сутки, причем разницы в отдельных половинах головного мозга почти не наблюдается. Иначе говоря, одностороннее удаление ВШС узла приводит к двустороннему однотипному изменению. Аналогичные явления наблюдали и в отношении других ингредиентов, обсуждение которых не является целью данного сообщения. Интересно отметить, что такое снижение удельной радиоактивности коррелирует с уменьшением общего количества НГБ в ядрах мозговых клеток в те же сроки после удаления ВШС узла [5]. Таким образом, влияние симпатической денервации на обмен негистоновых белков более однозначно, чем на обмен гистонов.

Кафедра общей и клинической химии
Ереванского медицинского института

Поступила 14/III 1980 г.

Է. Ե. ՄԿԵՅԱՆ, Կ. Մ. ԲՈՉԱՐՅԱՆ, Գ. Ա. ԳԵՎՈՐԿՅԱՆ

**ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ՀԻՍՏՈՆՆԵՐԻ ՆՈՐԱՑՈՒՄԸ
ՊԱՐԱՆՈՑԱՅԻՆ ՎԵՐԻՆ ՍԻՄՊԱԹԻԿ ՀԱՆԳՈՒՅՑԻ ՄԻԱԿՈՂՄԱՆԻ
ՀԵՌԱՑՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ ՏԱՐԲԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ**

Հաստատված է, որ վերին սիմպաթիկ հանգույցի (վ. ս. հ.) հեռացումից հետո քանակական փոփոխությունների հետ մեկտեղ նկատելիորեն փոխվում է ^{14}C -լիզինի ներմուծումը առնետների ուղեղի բջիջների կորիզների սպիտակուցների մեջ: ^{14}C -լիզինի ներմուծումը ոչ հիստոնային սպիտանների մեջ փոքրանում է ուղեղի երկու կիսագնդերում դեսիմպաթիզացիայի առաջին իսկ օրից սկսած: Հիստոնային սպիտանների նորացումը փոխվում է ալիքաձև: Նկատելիորեն փոխվում է ^{14}C -լիզինի ներմուծումը ցիտոպլազմատիկ սպիտանների մեջ:

Այս փաստերը հիմք են ծառայում առնետների ուղեղի բջիջների կորիզներում դեզօքսինուկլեինաթթվի (ԴՆԹ) և հիստոնների սինթեզի ընկճումը բացատրելու համար: Վերջինս առկա է վ. ս. հ.-ի հեռացումից հետո:

E. E. MKHEYAN, K. M. KOCHARIAN, G. A. GEVORKIAN

**EXCHANGE OF BRAIN HISTONES OF WHITE RATS IN
DIFFERENT PERIODS AFTER UNILATERAL ABLATION OF
UPPER CERVICAL SYMPATHETIC GANGLION**

It is ascertained that after the ablation of the upper cervical sympathetic ganglion parallel with quantitative changes inclusion of ^{14}C -lysine into the nuclear protein of brain cells of rats noticeably changes. Inclusion of ^{14}C -lysine into non-hystone protein falls from the first day

in both halves of the brain after desympathization. Renewal of hystone protein changes undulatingly. The inclusion of ^{14}C -lysine into cytoplasmic protein noticeably falls.

According to the data obtained the fact of depression of DNA synthesis and hystones in the nucleus cells in the brain of rats, after the ablation of the upper cervical sympathetic ganglion, is explained.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буш Х. Гистоны и перенос генетической информации. М., 1968.
2. Козлов Ю. А., Георгиев Г. П. Молек. биол., 1971, 3, стр. 789.
3. Мхейн Э. Е., Карапетян Т. Д. Вопр. биохим. мозга, 1974, IX, стр. 181.
4. Мхейн Э. Е., Карапетян Т. Д. III Всесоюзный биохим. съезд. Рига, 1974. стр. 38.
5. Мхейн Э. Е., Кочарян К. М. Вопр. биохим. мозга, 1979, XIII, стр. 139.
6. Паносян Г. А. Структура и функции гистонов. Ереван, 1978.
7. Паносян Г. А. Биол. ж. Армении. 1967, 20, стр. 8.
8. Поспелов В. А. Автореф. канд. дисс. Новосибирск, 1972.
9. Самарина О. П. Биохимия, 1961, 26, стр. 61.
10. Уткин Г. А., Косиченко Л. П. Бюллетень эксп. биол. и мед., 1955, 40, 12, стр. 43.
11. Bustos-Valder S. E., Delssereth A. Arch. Biochem. Biophys., 1968, 126, 848.
12. Dounce A. L., Umana R. Biochemistry, 1962, 1, 811.
13. Dingman C., Sporn B. J. Biol. Chem., 1964, 239, 3483.
14. Gallwitz D., Mueller G. C. FEBS Letters, 1970, 6, 83.
15. Oltver D., Chalkley R. Biochemistry, 1974, 13, 25, 5093.
16. Ohba J., Hayashi K., Nakagawa J. Eur. J. Biochem., 1975, 56, 2, 343.
17. Sigelman S., Friedemwald J. S. Arch. Ophthal., 1954, 52, 1, 46.