

УДК 547.963.3

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН Армянской ССР А. А. Галоян,  
 Р. А. Захарян, Л. А. Карапетян, Э. Б. Манукян

**Действие дексаметазона (16- $\alpha$ -метил-9- $\alpha$ -фторпреднизолон)  
 на нуклеотидный состав хромосомно-ядрышковой РНК мозга**

(Представлено 25/V 1972)

За последние годы появилось несколько работ по изучению влияния кортикостероидов на развитие центральной нервной системы в периоде раннего постнатального роста (<sup>1,2</sup>). Было показано, что при гиперкортицизме наблюдается необратимое уменьшение объема мозга, числа нервных и глиальных клеток. Эти данные свидетельствуют о катаболическом эффекте повышенных концентраций кортикостероидов на обменные процессы мозга. Согласно Мак-Эвен и др. (<sup>3</sup>) кортикостероиды после внутрибрюшинного введения обнаруживаются в ЦНС в значительных концентрациях уже через 30 минут, избирательно связываясь и относительно долго задерживаясь в лимбической структуре мозга: авторы полагают, что *septum pellucidum* и *hypocampus* могут участвовать в торможении кортикостероидом продукции АКТГ. Относительно высокий уровень избирательного накопления кортикостероидов отмечен также для гипоталамуса и коры мозга.

Повышение в крови глутамата (в результате индукции кортикостероидом тирозин-кетоглютарат-аминотрансферазы печени), который в высоких концентрациях способен вызывать дегенеративные изменения в нервной ткани (<sup>4</sup>), не является основным в механизме гипоталамической гуморальной регуляции-ингибирования аденокортикотропной функции аденогипофиза.

Данное исследование посвящено изучению изменений в нуклеотидном составе РНК хромосомно-ядрышкового аппарата целого мозга под влиянием дексаметазона-аналога преднизолона.

Для опыта использовались крысы весом 100—120 г обоих полов. Суспензия дексаметазона, приготовленная на 0,9% NaCl; Tween—80, 0,4%; 0,5% карбоксиметилцеллюлозе и 0,5 % бензил спиртолу вводилась крысам внутрибрюшинно из расчета: 25 мкг на 100 г веса животного (<sup>5</sup>). Крыс декапитировали спустя четыре часа после введения дексаметазона. Фракции РНК из мозга крыс получали фенольным

методом термического фракционирования по Г. П. Георгиеву и В. Л. Мантьевой (6). По литературным данным эта методика широко применялась для выделения различных фракций РНК в основном из печени. Мозг извлекали при 4—6°C, гомогенизировали на холоду в гомогенизаторе Уоринга в десятикратном объеме 0,14 М раствора NaCl. К гомогенату добавляли равный объем охлажденного, водонасыщенного фенола рН 5,9. Смесь встряхивали 15 минут и центрифугировали при 6000 об./мин. в течение 10 мин. Получали три слоя, водную фазу декантировали и использовали для получения РНК цитоплазмы + ядерного сока. Промежуточный слой (интерфаза—неочищенные фенольные ядра), образующийся на границе водной и фенольной фаз, был использован для получения тотальной хромосомно-ядрышковой РНК путем термической экстракции фенолом при 75°C. В другой серии опытов для получения обогащенных фракций РНК фенольные ядра экстрагировали при 40 и 55°C. К фенольным ядрам добавляли 3—4 объема смеси 0,14 М NaCl+фенол рН 5,9 и взбалтывали на водяной базе при 40°C в течение 20 минут. Смесь охлаждали до +6°C и центрифугировали при 6000 об./мин. Водную фазу декантировали и использовали для получения РНК, содержащей в основном р-РНК и некоторое количество ДНК-подобной РНК. К оставшейся интерфазе с фенолом добавляли равный объем 0,14 М NaCl. Смесь встряхивали на водяной бане, нагретой до 55°, 15 минут, центрифугировали при 6000 об./мин. 20 минут, декантировали водную фазу, которую использовали для получения фракции обогащенной ДНК-подобной РНК. После повторной депротенинизации фенолом с 0,5% SDS к полученным трем надосадочным фракциям добавляли 2,5 объема холодного этанола, 0,1 объем 20% ацетата калия и оставляли на ночь при 4°C с целью осаждения РНК. Отсутствие ДНК во фракциях рибонуклеиновых кислот констатировалось по реакции Динше (7). Для определения нуклеотидного состава РНК гидролизовали в 1 N HCl в течение 1 часа при 100°C. Идентификацию оснований проводили методом хроматографии на бумаге в системе: метанол—HCl—вода (7:2:1). Нуклеотиды и основания определяли регистрирующим спектрофотометром SP—800 (Unicam).

По нуклеотидному составу тотальная РНК хромосомно-ядрышкового аппарата мозга intactных крыс (табл. 1) резко отличается от суммарной цитоплазматической РНК и РНК ядерного сока, значительную часть этой фракции составляет РНК рибосомального типа.

Коэффициент специфичности Г+Ц/А+У суммарной цитоплазматической РНК и РНК ядерного сока равен 1,47 и 0,95 для тотальной РНК хромосомно-ядрышкового аппарата. Хромосомно-ядрышковая РНК мозга отличается более высоким содержанием аденина и урацила, что связано с гетерогенностью данной РНК и присутствием в ее составе ДНК-подобной РНК с коэффициентом специфичности К=0,71. Расчет-

ная величина содержания ДНК-подобной РНК в тотальной РНК хромосомно-ядрышкового аппарата мозговой ткани составляет около 50%.

Таблица 1

Нуклеотидный состав РНК цитоплазмы+ядерного сока—I; и тотальной хромосомно-ядрышковой РНК мозга—II (мол.%)

Экстракции	Г	А	Ц	У	ГЦ	АГ	ГУ	Г	А
					АУ	ЦУ	АЦ	Ц	У
I—4—6°	29,68	20,60	30,07	19,65	1,47	1,02	0,97	0,98	1,04
II—75°	23,89	26,55	24,78	24,78	0,95	1,21	0,95	0,96	1,07

ДНК-подобный нуклеотидный состав РНК является одним из критериев, позволяющих отнести данный тип РНК к информационной, значительная часть которой в мозговой ткани (около 75%) имеет константу седиментации ниже чем 12S<sup>(8)</sup>, по данным других авторов <16S<sup>(9,10)</sup>. Ранее мы выделили из ядерной РНК нейрогипофиза, близкую по составу к ДНК-подобной, РНК, которая имеет согласно профилю элюции на колонке МАК, константу седиментации 10S—14S<sup>(11)</sup>.

Надо полагать, что информационные РНК с подобным S могут кодировать белки с молекулярным весом порядка 30000—40000, возможно, выполняющие в мозговой ткани весьма специфические функции.

Приведенный экспериментальный материал по термическому фракционированию хромосомно-ядрышковой РНК мозга интактных крыс (табл. 2) показывает, что при 40° экстрагируется значительная часть РНК рибосомального типа. Расчетная величина содержания ДНК-подобной РНК в данной фракции составляет 30 к 70% РНК рибосомального типа.

Таблица 2

Нуклеотидный состав фракций РНК мозга (мол.%)

Экстракции	Г	А	Ц	У	ГЦ	АГ	ГУ	Г	А
					АУ	ЦУ	АЦ	Ц	У
4—6°	29,68	20,60	30,07	19,65	1,47	1,01	0,97	0,98	1,04
40°	28,10	22,20	26,76	22,69	1,22	1,01	1,04	1,06	0,97
55°	23,90	24,35	22,95	28,60	0,88	0,93	1,10	1,03	0,85

При 55° в основном экстрагируется ДНК-подобная РНК, содержание которой в данной фракции составляет 70% к 30% р-РНК. Особенностью данной фракции является высокое содержание урацила.

Опыты показали, что нуклеотидный состав всех изученных фракций хромосомно-ядрышковой РНК мозга (табл. 3) изменяется под влиянием дексаметазона.

Для РНК (40°) коэффициент специфичности ГЦ/АУ повышается до 1,46 вместо 1,22 в контроле; для РНК (55°) отношение ГЦ/АУ равно 1,21 против 0,88 в контроле. Полученные сдвиги в нуклеотидном



Հետազոտությունները պարզեցին, որ ջերմային մշակմամբ սնջատված (40°, 50°, 75°) ուրոնուկլեաթթուների և այդ թվում ինֆորմացիոն ուրոնուկլեաթթուների նուկլիոտիդային կազմը խիստ կերպով փոփոխվում է դեքսամեթազոնի ազդեցության ներքո: Այդ մասին են վկայում ԳՑ/ԱՌԻ հարաբերության փոփոխումը 0,88-կոնտրոլում, 1,22-փորձում:

Այս վկայում է այն մասին, որ դեքսամեթազոնի ազդեցության ներքո ուղեղի բջիջների կորիզներում ԴՆԹ-նման ԹՆԹ-ի քանակը խիստ պակասում է:

Այս տվյալները վկայում են այն մասին, որ դեքսամեթազոնը հավանորեն գործում է գենոմային մակարդակի վրա, որը միաժամանակ վկայում է CRF գործունի բիոսինթեզի ուղիների մասին:

#### ЛИТЕРАТУРА — ԻՐ ԱՎ ԱՆ ՈՒԹՅՈՒՆ

- <sup>1</sup> E. Howard, Exp. Neurol. 22, 191 (1968). <sup>2</sup> M. H. Makman, A. White, Neurochemistry, 12, 181 (1965). <sup>3</sup> B. S. Mc Ewen, I. M. Weiss, L. S. Schwartz, Nature, 220, 911, (1968). <sup>4</sup> S. Zamenhof, E. Marthens, L. Margolis, Science 1, 160, 322(1968). <sup>5</sup> F. Fraschini, G. Mongili, M. Motta and L. Martini, Endocrinology, 75, 765(1964). <sup>6</sup> Г. П. Георгиев, В. Л. Матеева, Биохимия, 57, 5, 949(1962). <sup>7</sup> Z. Dische, K. Schwartz, Microchim. Acta, 2, 13 (1957). <sup>8</sup> M. H. Samli, S. Roberts, Neurochemistry, 16, 12, 1565(1969). <sup>9</sup> E. Egyhazi, H. Hyden, Life Sci (Oxford), 5, 1215(1966). <sup>10</sup> C. Vesco, A. Giuditta, Biochim. Biophys. Acta 142, 385(1967). <sup>11</sup> А. А. Галоян, Р. А. Захарян, Ж. Г. Абеян, Вопросы биохимии мозга, IV, 157(1968). <sup>12</sup> W. K. Brukhorst, Endocrinology, 82, 2, 277(1968).