

УДК 577.1

Р. А. ЗАХАРЯН, Дж. В. ГАРИБЯН, Ю. А. АНТОНЯН, В. Т. ГАЛФЛЯН,
А. А. ГАЛОЯН

ОБ УВЕЛИЧЕНИИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ДНК КЛЕТОК МОЗГОВОЙ ТКАНИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА

Изучены количественные сдвиги цитоплазматической внемитохондриальной ДНК клеток мозговой ткани под влиянием дексаметазона.

В этих условиях количество цитоплазматической ДНК у 20-дневных крыс удваивается. Эти данные следует считать, по-видимому, первым указанием на возможность выхода ДНК-фрагментов в цитоплазму клеток мозговой ткани при определенном функциональном состоянии, в частности при гиперкортицизме.

Впервые из постмитохондриальной рибосомальной фракции нейро-гипофиза [1], а затем и из других отделов мозга нами была выделена и описана цитоплазматическая ДНК [2]. Впоследствии Белл [4], Шнайдер [18], Банд [5] сообщили о компоненте ДНК, ассоциированной с микросомами клеток эмбриональной мышечной ткани, печени крыс и взрослых мышей.

Изученная цитоплазматическая ДНК оказалась двухцепочечной, по нуклеотидному составу идентичной ядерной; однако радиоактивную метку (^{32}P) и (^3H) тимидин) она включает значительно интенсивнее, чем ядерная ДНК и характеризуется значительно меньшим молекулярным весом. Цитоплазматическая ДНК, выделенная из клеток HeLa, оказалась кольцевой с молекулярным весом 800 000 [19].

Мюллер и др. [17] высказали предположение, что цитоплазматическая ДНК может быть артефактом клеточной гомогенизации. Однако исследования, проведенные методом автордиографии, показали, что она появляется в цитоплазме при определенных состояниях клетки. ДНК обнаруживается в цитоплазме клеток эмбриональной ткани печени в количестве не более 2% от общей НК цитоплазмы. Ее количество резко увеличивается до 20% от общей ДНК при культивировании эмбриональных печеночных клеток в культуре ткани [20]. Недавно японские авторы [11] привели данные относительно появления гранул, содержащих ДНК в цитоплазме клеток многих тканей, в частности в центральной нервной системе куриного эмбриона, подвергнутого действию радиации. Параллельно с появлением этих гранул ДНК в цитоплазме внутри ядра повышается содержание свободной ДНК, экстрагируемой 0,14 М NaCl; инкубация этих ядер в присутствии АТФ при 37° приводит к переходу ДНК из ядер в инкубационную среду, что свидетельствует об активности процесса транспорта ее в цитоплазму. Чарч и Консигли [7] выделили цитоплазматическую ДНК из клеток опухолевой ткани ги-

пофиза. Данные этих авторов убеждают в том, что появление ДНК-фрагментов в цитоплазме является следствием нормального обновления ДНК.

Таким образом, появление ДНК в цитоплазме коррелирует с определенным состоянием клетки и специфически измененной структурой генома.

Настоящее исследование посвящено изучению количественных сдвигов цитоплазматической ДНК клеток мозговой ткани под влиянием дексаметазона.

Материал и методика. Опыты ставились на крысах месячного возраста. Суспензия дексаметазона, приготовленная на 0,9% NaCl, содержащем Твин-80 (4%), карбоксиметилцеллюлозу (0,5%), бензилалкоголь (0,5%), вводилась крысам внутривенно из расчета 25 мкг на 100 г веса животного [10]. Крыс декапитировали спустя 4 часа после введения дексаметазона. Цитоплазматическую ДНК выделяли по ранее описанному методу [2]. Количественное определение концентрации ДНК проводили дифениламином в модификации Бартонна [6].

Результаты и обсуждение. Приведенные в таблице данные показывают, что после однократного введения дексаметазона количество цитоплазматической ДНК клеток мозговой ткани крыс в значительной степени увеличивается.

Т а б л и ц а
Количество цитоплазматической ДНК мозга в норме и после воздействия дексаметазоном на 1,0 г сырого веса ткани мозга у 20—30-дневных крыс

№ опыта	Норма		Опыт
1	115 мкг	через 4 час после введения дексаметазона	217 мкг
2	100 мкг		190 мкг
3	120 мкг		250 мкг

В норме ее количество в мозге составляет у 30-дневных крыс около 100 мкг на 1,0 г сырого веса ткани мозга. В условиях гиперкортицизма этот показатель у 30-дневных крыс через 4 часа после введения дексаметазона удваивается.

Эти данные следует считать, по-видимому, первым указанием на возможность выхода ДНК-фрагментов в цитоплазму клеток мозговой ткани при определенном функциональном состоянии, в частности при гиперкортицизме.

В процессе репликации ДНК образуются относительно короткие полинуклеотидные цепи порядка 4—10S, которые затем сшиваются между собой с помощью фермента ДНК-лигазы. Блокада этого фермента дексаметазоном может ингибировать синтез полноценной ДНК и вызвать накопление с выходом в цитоплазму сравнительно коротких отрезков ее. Мы допускаем также, что в результате активации специфических

ДНК-аз кортикостероидом [3, 8] возможна ограниченная селективная деструкция ядерной ДНК с образованием и выходом в цитоплазму ее фрагментов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что, по-видимому, кортикостероиды репрессируют генетический аппарат нервных клеток.

Результаты этих исследований отчасти проливают свет на механизм блокады образования и выделения АКТГ и рилизинг-фактора мозга на уровне транскрипции.

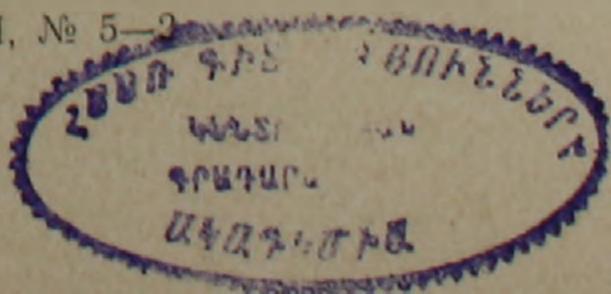
Гипоталамическая регуляция адренокортикотропной функции аденогипофиза является ведущим звеном в механизме общего адаптационного синдрома при различных стрессорных воздействиях. Она включает образование гипоталамического рилизинг-фактора, который стимулирует синтез и выход АКТГ в кровь, и регуляцию, по принципу обратной связи уровня гипоталамо-гипофизарных гормонов, поступившими в кровь кортикостероидами.

Молекулярная природа ингибирования кортикостероидами образования АКТГ на сегодня неясна. Полагают, что этот процесс осуществляется на уровне синтеза кортикотропин освобождающих факторов гипоталамуса.

Изучение изменений в функционировании генома нервных клеток отдельных участков мозга, в частности гипоталамуса, и мозга в целом при гиперфункции коркового слоя надпочечников представляет значительный интерес в свете новых данных об избирательности и специфичности гормональных воздействий на генетический аппарат клетки.

Рядом авторов изучалось влияние кортикостероидов на развитие центральной нервной системы (ЦНС) в период раннего постнатального роста [12, 16]. Макман и Уайт приводят данные относительно уменьшения ДНК мозговой ткани под влиянием кортикостерона [16]. В результате хронического воздействия на мозг кортикостероиды подавляют в значительной степени синтез ДНК, РНК и вызывают необратимую редукцию величины мозга и числа нервных клеток [12]. Файгельсон и др. [9] указывают на возможность прямого действия кортизола на механизм репликации и транскрипции через связывание кортизола с определенными участками ДНК; специфичность, избирательность подобного прямого влияния остается, однако, неясной. Кидсон [13—15] предложил функциональную модель в регуляции кортикостероидами механизма транскрипции и трансляции в лимфондной ткани. Согласно этой модели, репрессия кортизоном синтеза информационной РНК реализуется через специфический комплекс кортизола с репрессорным белком, синтез которого, как предполагают, активируется в первые несколько минут геномной реакции на введение гормона.

Наши исследования (в печати) показали, что уровень— 5CH_3 —цитозина в ДНК головного мозга собак после введения дексаметазона изменяется в сторону увеличения; в используемых концентрациях дексаметазон вызывает тотальное снижение количества ДНК-подобной РНК в хромосомно-ядрышковой РНК.



Механизм глюкокортикоидной блокады синтеза ДНК и транскрипции РНК является, по всей вероятности, существенным моментом в реализации действия кортикостероидов на генетический аппарат мозговой ткани, в реализации ингибирующего действия глюкокортикоидов на образование и выделение АКГГ и рилизинг-фактора мозга.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 16.XI 1972 г.

Ը. Ա. ԶԱԽԱՐՅԱՆ, Զ. Վ. ԳԱՐԻԲՅԱՆ, Յ. Ա. ԱՆՏՈՆՅԱՆ, Վ. Թ. ԳՈՒՅԱՅԱՆ, Ա. Ա. ԳՈՒՈՅԱՆ

ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ ՆԵՐՎԱՅԻՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՅԻՏՈՊԼԱԶՄԱՏԻԿ
ԴՆԹ-Ի ՔԱՆԱԿԻ ԱՃԸ ԳԵՔՍԱՄԵՏԱԶՈՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՄԲ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հորվածում բերվում են տվյալներ կենտրոնական ներվային սիստեմի բջիջների ցիտոպլազմայում ցիտոպլազմատիկ ԴՆԹ-ի առաջացման վերաբերյալ, որի բանակր աճում է հիպերկորտիցիզմի պայմաններում դեքսամետազոնի ազդեցությամբ: Ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ ցիտոպլազմայում ԴՆԹ-ի գոյացումը դուրսկցվում է բջիջի որոշակի դրությամբ և դենոմի ստրուկտուրային սպեցիֆիկ փոփոխությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А., Захарян Р. А., Абелян Ж. Г. Вопросы биохимии мозга. Ереван, 4, 157, 1968.
2. Галоян А. А., Захарян Р. А., Гарибян Д. В. Биологический журнал Армении, 23, 9, 14, 1970.
3. Abellan E., Roht J. S. Biochem. Biophys. Res. Commun., 28, 2, 244, 1967.
4. Bell E. Nature, 224, 326, 1969.
5. Bound H. E., Cooper J. A., Courington D. P., Wood J. S. Science, 165, 705, 1969.
6. Burton K. Biochem. J., 62, 315, 1956.
7. Church R. L., Conslgtl R. A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 42, 1, 31, 1971.
8. Duve C., Wattiaux R. Ann. Rev. Physiol., 28, 435, 1966.
9. Feigelson M., Feigelson P. Adv. Euz. Reg., 3, 11, 1965.
10. Frascini F., Mouglll G., Wotta M., Martini L. Endocrinology, 75, 765, 1961.
11. Htroyuki J. Annot. Zool. Japan 42, 3, 142, 1969.
12. Howard E. Exp. Neurol., 22, 191, 1968.
13. Kidson C. Kirby K. S. Nature, 203, 599, 1964.
14. Kidson C. Biochem. Biophys. Res. Commun., 21, 283, 1965.
15. Kidson C. Nature, 213, 779, 1967.
16. Makman M. H., White A. Neurochemistry, 12, 181, 1965.
17. Müller W. E. G., Lahn R. K., Beyer R. Nature, 227, 1211, 1970.
18. Schnelder W. C., Kuff E. L. J. Biol. Chem., 244, 4843, 1969.
19. Vinograd S. Biol. An. Report California Inst. of Technol., 116, 1968.
20. Williamson R. J. Mol. Biol., 51, 157, 1970.