М. А. РОСТОМЯН, Р. А. ЗАХАРЯН, Л. А. КАРАПЕТЯН, С. С. АБРАМЯН,
А. А. ГАЛОЯН

РЕАКЦИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ГИПОФИЗА КРЫС НА ВВЕДЕНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА

Изучалось количество РНК и ДНК гипофиза крыс. Показано, что через четыре часа после однократного введения дексаметазона количество РНК повышается на 15%, а ДНК не претерпевает практически изменений. Введение препарата на протяжении 7 дней вызывает снижение количества обеих нуклеиновых кислот в среднем на 15—20%. После однократной инъекции дексаметазона обнаружено резкое увеличение числа митозов в аденогипофизе.

Антимитотический эффект глюкокортикоидов на клетки развивающегося мозга установлен целым рядом исследований [7, 8, 10, 11]. Обнаружено, что глюкокортикоиды в период между 2 и 8 днями постнатальной жизни резко ингибируют митозы в мозге, мозжечке, подавляя синтез ДНК, РНК и белка. Ингибирование глюкокортикоидами синтеза РНК и белка продемонстрировано также на изолированном, интактном нейроне из мозга новорожденного [11].

Несомненный интерес представляет изучение воздействия (являющегося в определенной степени избирательным для разных участков мозга) глюкокортикоидов на функции макромолекул клеток зрелого мозга. Исследования подобного рода весьма немногочисленны. В ряде работ мы установили, что под действием дексаметазона коэффициент специфичности ГЦ/АУ во фракциях РНК хромосомно-ядрышкового аппарата клеток мозга повышается в сторону преобладания РНК рибосомального типа, и этот процесс сопровождается увеличением метилирования ДНК в разных участках мозговой ткани. Имеются данные о том, что кортикостероиды могут оказывать влияние и на уровне гипофиза.

Материал и методика. Исследовали количество ДНК и РНК гипофиза зрелых крыс весом 100—130 г через 4 часа после внутрибрюшинного однократного и 3—7-дневного введения дексаметазона из расчета 40 мкг на 100 г веса животного. Содержание ДНК и РНК определяли методом Шмидта и Тангаузера [13] в модификации Георгиева с соотр. [1]. Содержание РНК определяли спектрофотометрически и по Мейбаум [3]. ДНК—спектрофотометрически и реакцией Дише [9].

Одновременно было проведено морфологическое и гистохимическое исследование гипофиза белых крыс, подвергнутых действию дексаметазона. Гипофизы крыс были фиксированы в нейтральной смеси Шабдаша и после обезвоживания залиты в парафин, а затем разложены на срезы толщиной 6 мк. Использовалась гистохимическая реакция на ДНК по Фельгену, а также окраска гематоксилин-эозином для общецитологических исследований. Митозы подсчитывались под микроскопом при увеличении объектива 40X и окуляра 10. Для каждого гипофиза было просмотрено 100 полей зрения.

При подсчете учитывались все фазы митоза. Однако не исключена возможность, что при этом была упущена часть делящихся клеток, находящихся на стадии ранней профазы. Это примечание в равной степени касается как контрольного так и экспериментального материала.

Результаты и обсуждение. Результаты биохимических исследований показали наличие определенных сдвигов в содержании РНК и ДНК в гипофизе и аденогипофизе крыс после однократного и многократного введения дексаметазона. Эти данные представлены в табл. 1.

Таблица 1
Количество РНК и ДНК гипофиза и аденогипофиза в мг/г свежей ткани в норме и под влиянием дексаметазона

Объект исследования	Норма		Через 4 часа после однократного введения дексаметазона		Через 7 дней после введения дексаметазона	
	РНК	ДНК	РНК	ДНК	РНК	ДНК
Целый гипофиз	4,2±0,13	6,1±0,11	4,9±0,13	5,6±0,10	3,5±0,09	4,8±0,11
Аденогипофиз	7,3±0,03	11,0±0,06	8,5±0,10	10,1±0,30	6,2±0,30	8,1±0,2

Полученные данные свидетельствуют о том, что в гипофизе и особенно в аденогипофизе ДНК и РНК содержатся в несколько раз больше, чем в других отделах мозга. При этом у интактных крыс отношение РНК/ДНК для аденогипофиза и гипофиза равно приблизительно 0,7. Из той же таблицы явствует, что при однократном введении дексаметазона наблюдается тенденция к небольшому увеличению количества РНК—на 15%; количество ДНК при этом практически не претерпевает изменений. В хроническом опыте количество РНК и ДНК статистически достоверно снижается как в аденогипофизе (на 15 и 27%), так и в гипофизе (на 16 и 20% соответственно).

Морфологические и гистохимические исследования показали, что под действием введенного дексаметазона во всех отделах гипофиза можно видеть более густую, чем в норме, сеть сосудов, заполненных эритроцитами. В нейрогипофизе четко выражено кровонаполнение преимущественно капиллярной системы, а в аденогипофизе—более крупных сосудов. Этот процесс четко выражен как в острых, так и хронических экспериментах. Можно считать, что это либо следствие замедления кровотока, либо специфически действующего на гипофиз сосудорасширяющего воздействия дексаметазона. Последнее допущение кажется более вероятным.

При просмотре экспериментального материала создается впечатление, что введение дексаметазона вызывает некоторую деструкцию ядер, особенно выражен этот процесс в области аденогипофиза. Наряду с этим в аденогипофизе отмечается резкое увеличение числа митозов, особенно через 4 часа после однократного введения дексаметазона. Если в норме на 100 полей зрения в среднем приходится 7 митозов, то через 4 часа их

число возрастает до 16. При введении дексаметазона в течение 3-х дней подобной картины уже не наблюдается, число встречающихся митозов примерно такое же, как в норме и даже несколько ниже (6 против 7).

Индуктирование гидрскортизоном пролиферации показано [12] на примере внадпочечных хромофинных клеток брюшных параганглиев.

В промежуточной доле как в норме, так и после воздействия митозы были отмечены только в единичных случаях, в нейрогипофизе они никогда не обнаруживались.

При окраске по Фельгену в ядрах клеток обнаруживается ДНК содержащий материал, ядрышки обычно не видны. В тех случаях, когда они содержат у своей периферии ДНК содержащий ободок или так называемый «ядрышково-гибридный хроматин» [5], представленный в виде колпачков или шапочек и состоящий из комплекса ДНК и РНК, ядрышки четко выявляются в препаратах, окрашенных на ДНК по Фельгену.

Наблюдения показали, что под влиянием дексаметазона происходят определенные сдвиги в области ядрышка. Так, через 4 часа после однократного введения препарата отмечается увеличение относительного количества ядрышек, контурированных Фельген-положительным материалом. Их количество достигает 67 вместо 40% в норме, а при многократном воздействии снижается до 26%. Результаты проведенных подсчетов суммированы в табл. 2.

Таблица 2

Количественное соотношение ядрышек, неконтурированных и контурированных Фельген-положительным материалом в различных отделах гипофиза нормальных и подвергнутых действию дексаметазона крыс

Условия	Области гипофиза					
	Передняя доля		Промежуточная доля		Нейрогипофиз	
	без контура	с контуром	без контура	с контуром	без контура	с контуром
Норма	60	40	95	5	97	3
Через 4 часа после введения дексаметазона	33	67	97	3	98	2
Многократное введение дексаметазона	74	26	85	15	97	3

Как видно из приведенной таблицы, существенные изменения отмечаются в передней доле гипофиза.

В целом полученные нами данные по морфо-гистохимическому и биохимическому исследованию гипофиза крыс, получавших однократно и хронически дексаметазон, хорошо коррелируют и свидетельствуют об определенном влиянии дексаметазона на интенсивность синтеза ДНК и РНК в гипофизарной ткани. Дексаметазон в хроническом опыте подавляет митозы в гипофизе и аденогипофизе, одновременно отмечается уменьшение количества РНК и ДНК на 15 и 25% соответственно. Эти данные совпадают с общепринятым представлением об ингибирующем

влиянии глюкокортикоидов на синтез ДНК. Согласно имеющимся данным, глюкокортикоиды угнетают митоз в регенерирующей печени, ингибируя синтез ДНК в фазе S и препятствуя переходу клетки из G-периода интерфазы в S период [4].

Морфологическое и гистохимическое исследования гипофиза при хроническом воздействии дексаметазоном выявило выброс в цитоплазму целых фрагментов ядрышкового нуклеопротенда. Ранее нами было описано увеличение цитоплазматической ДНК клеток мозговой ткани при воздействии дексаметазоном [12]. Подобное явление, описанное Шабашом в условиях «фармакологического подстегивания» [6], по-видимому, предшествует истощению клетки. Структурно-функциональное состояние ядрышка тесно связано с функциональным состоянием клетки, с механизмами регуляции информационной связи ядра и цитоплазмы, и описанные биохимические и морфо-гистохимические изменения свидетельствуют о катаболическом эффекте хронического воздействия дексаметазоном. Вместе с тем однократное введение его вызывает увеличение количества РНК как в аденогипофизе, так и в гипофизе в среднем на 15%, количество ДНК заметно не меняется. Цитологическое исследование выявило увеличение числа митозов более чем в два раза и увеличение относительного количества ядрышек, контурированных Фельген-положительным материалом (на 27%).

Полученные данные свидетельствуют о том, что однократно введенный дексаметазон стимулирует митотическую активность в аденогипофизе. Это явление описывается впервые и, по-видимому, заслуживает внимания. Дексаметазон также влияет на интенсивность синтеза ядрышковой РНК, что коррелирует с ранее полученными данными о повышении под воздействием глюкокортикоида в составе фракции РНК хромосомно-ядрышкового аппарата клеток мозга популяции рибосомально-го типа.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 13 VI 1974 г.

Գ. Ա. ՌՈՍՏՈՄՅԱՆ, Ռ. Ա. ԶԱԲԱՐՅԱՆ, Լ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ս. Ս. ԱՐՐԱԶԱՄՅԱՆ,
Ա. Ա. ԳԱԼՈՅԱՆ

ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՀԻՊՈՖԻԶԻ ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՌԵԱԿՑԻԱՆ ԴԵԿՍԱՄԵՏԱԶՈՆԻ ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Ուսումնասիրվել է ՌՆԹ-ի և ԴՆԹ-ի քանակները առնետների հիպոֆիզում: Ասպացուցվել է, որ դեկսամետազոնի մեկ անգամյա ներարկումից 4 ժամ հետո, ՌՆԹ-ի քանակը ավելանում է 15% -ով, այն դեպքում, երբ ԴՆԹ փոփոխության չի ենթարկվում:

7 օրվա ընթացքում պրեսպարատի ներարկումը 2 նուկլեինաթթուների մոտ էլ առաջ է բերում քանակների ցածրացում՝ միջին չափով 15—20%:

Դեկսամետազոնի մեկ անգամյա սրսկումից հետո հայտնաբերվել է ադենոհիպոֆիզում միտոզների թվի կտրուկ աճ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Георгиев Г. П. Химия и биохимия нуклеиновых кислот. М., 1968.
2. Захарян Р. А., Гарибян Дж. В., Антонян Ю. А., Галфаян В. Т., Галоян А. А. Биологический журнал Армении, 26, 15, 1973.
3. Мейбаум В. В. Биохимия, 10, 353, 1945.
4. Орлова Л. В. Пробл. эндокринолог., 19, 1, 1973.
5. Шабадаш А. Л., Зеликина Т. И., Аграчева Н. Д. Бюлл. Моск. сб-ва испыт. природы Отд. биолог. наук, 69, 148, 1964.
6. Шабадаш А. Л. Тр. IV Всесоюзн. конф. по биохимии нервной системы. Тарту, 1969.
7. Balars R., Cotterell M. Nature, 234, 348, 1972.
8. Cotterell M., Balars R., Jonson A. J. Neurochem. 19, 2131, 1972.
9. Dische Z., Schwartz K. Microchim. Acta, 2, 13, 1969.
10. Howard E. J. Neurochem., 12, 181, 1965.
11. Kori, Hemminki J. Neurochem. 20, 373, 1973.
12. Lempinen M. Acta Physiol. Scan. Sypl. 62, 231, 1964.
13. Schmidt G., Thannhauser S. J. J. Biol. Chem., 161, 83, 1945.