

М. Г. ГАЛУСТЯН. С. М. АКОПЯН

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФЕНОМЕНА СЕГРЕГАЦИИ ЯДРЫШКА В КЛЕТКАХ ЭУКАРИОТОВ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ DL-ЭТИОНИНА

Исследовалось действие DL-этионина на ультраструктурную организацию ядрышки клеток печени сирийского хомяка. Показано, что в процессе этионинового травления ядрышки подвергаются, по мере увеличения экспозиции, прогрессивному дезагрегированию с конечной фрагментацией и, в большинстве случаев потерей РНП-гранул.

Среди морфо-функциональных нарушений клеточного ядра определено место занимают структурные перестройки ядрышка, вызываемые воздействием различного рода факторов—антибиотиков, канцерогенных веществ, вирусов и т. д.

В настоящей работе сделана попытка расширить имеющиеся сведения [1, 2] о дезагрегирующем действии этионина применительно к эукариотным клеткам.

Материал и методика. Исследования проводились на сирийских хомяках весом 180—200 г. Животные лишались пищи за 12 час. до начала экспериментов. Водный раствор DL-этионина («Serva») вводился интраперитонеально из расчета 1 мг/г живого веса животного. Контрольные животные получали внутрибрюшинно дистиллированную воду в таком же объеме.

Ткань забиралась через 2, 4, 6, 12, 24 час. с левой доли печени, пока животное находилось под эфирным наркозом. Небольшие кусочки ткани (1×1 мм) фиксировались в забуференном (какодилат натрия, рН 7,3—7,4) 2% растворе глутарового альдегида с последующей дофиксацией в 1% растворе осмиевой кислоты. Материал обезвоживался в восходящих концентрациях этанола и заключался в аралдит («Serva») в «Веет» капсулах.

Ультратонкие срезы готовились с помощью стеклянных ножей на ультрамикротоме LKB III, монтировались на заранее напыленные сеточки и контрастировались уранил ацетатом и цитратом свинца [3].

Материал изучался в электронном микроскопе BS-613 (Tesla) при ускоряющем напряжении 80 кв.

Результаты и обсуждение. Контрольные животные. Структура клеточного ядра. Ультраструктура ядра и ядрышка печеночных клеток хомяков в большинстве случаев мало отличалась от субмикроскопической организации их в клетках печени крыс [4, 5].

Изучение ультратонких срезов интерфазных клеток показало, что тонкая структура ядра представлена в основном круглыми или овальными контурами с хорошо выраженной ядерной оболочкой (рис. 1, 2). Конденсированный хроматин, как правило, локализуется по периферии ядра и вокруг или вблизи ядрышка. Нуклеоплазма относительно

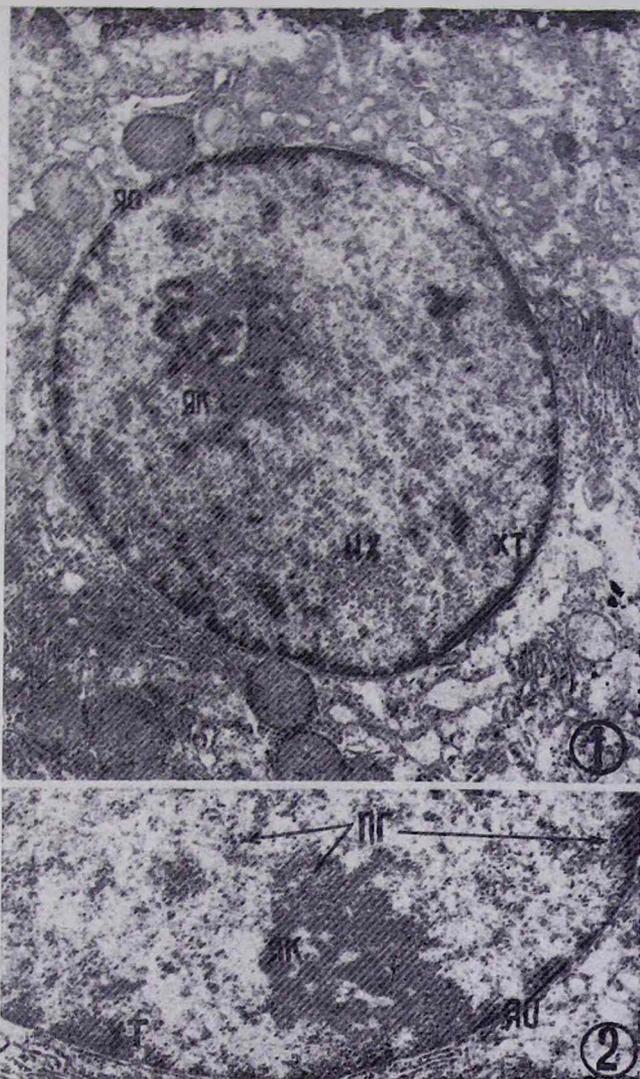


Рис. 1. Ядро клетки печени сирийского хомяка в норме. ХТ—хроматин; ЯК—ядрышко; ИХ—интерхроматиновые гранулы; ПГ—перихроматинные гранулы; ЯО—ядерная оболочка. Ув. 13176X

Рис. 2. Фрагмент ядра другой нормальной клетки. Ув. 20600X.

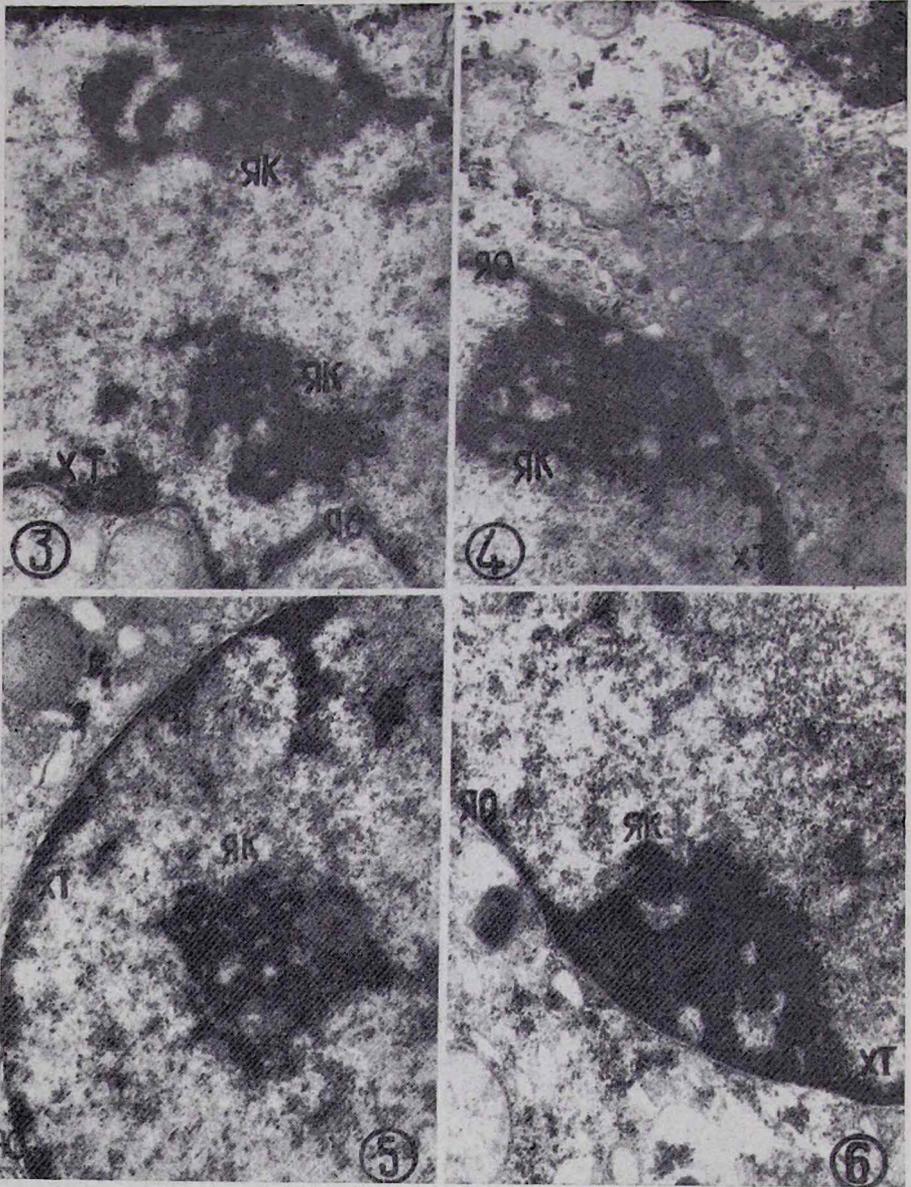


Рис. 3—6. Ядрышки клеток печени после 6-часового воздействия этионин-
ном. Рис. 3—5—ув. 21900X; рис. 6—ув. 31050X.

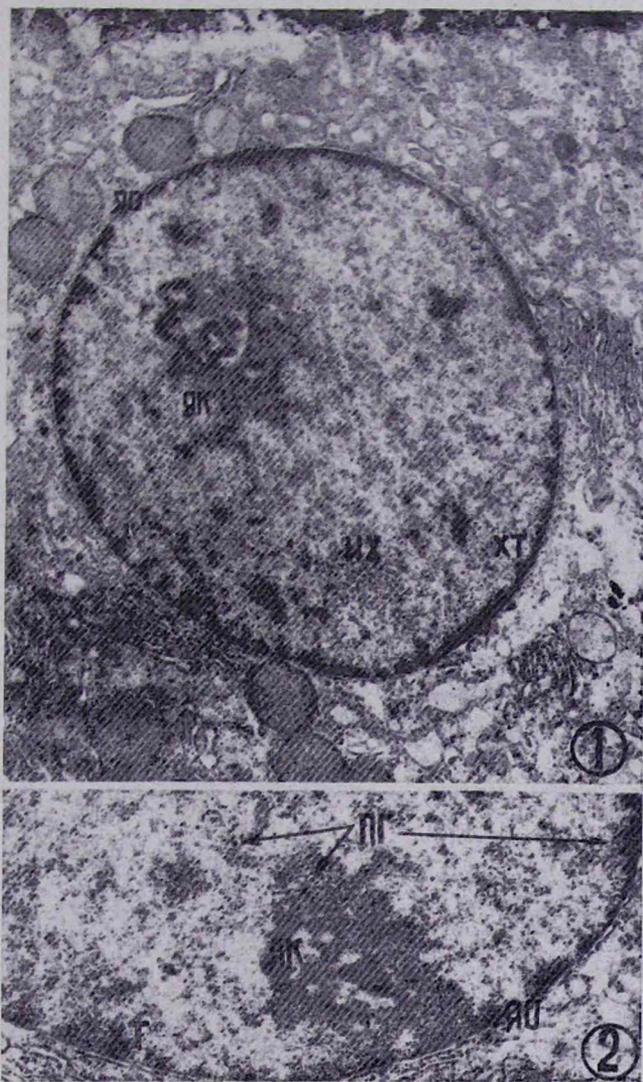


Рис. 1. Ядро клетки печени сирийского хомяка в норме. ХТ—хроматин; ЯК—ядрышко; ИХ—интерхроматиновые гранулы; ПП—перихроматиновые гранулы; ЯО—ядерная оболочка. Ув. 13176X

Рис. 2. Фрагмент ядра другой нормальной клетки. Ув. 20600X.

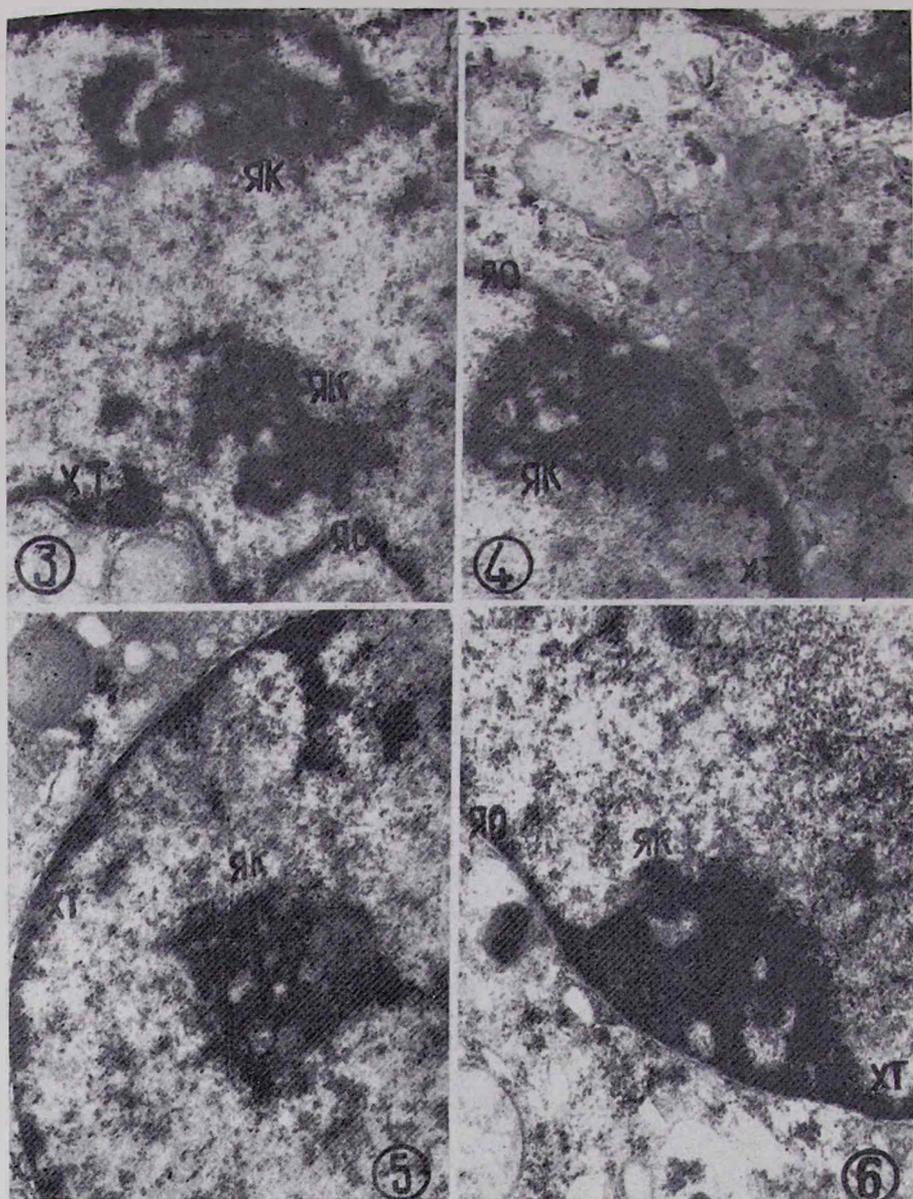


Рис. 3—6. Ядрышки клеток печени после 6-часового воздействия этионина. Рис. 3—5—ув. 21900X; рис. 6—ув. 31050X.

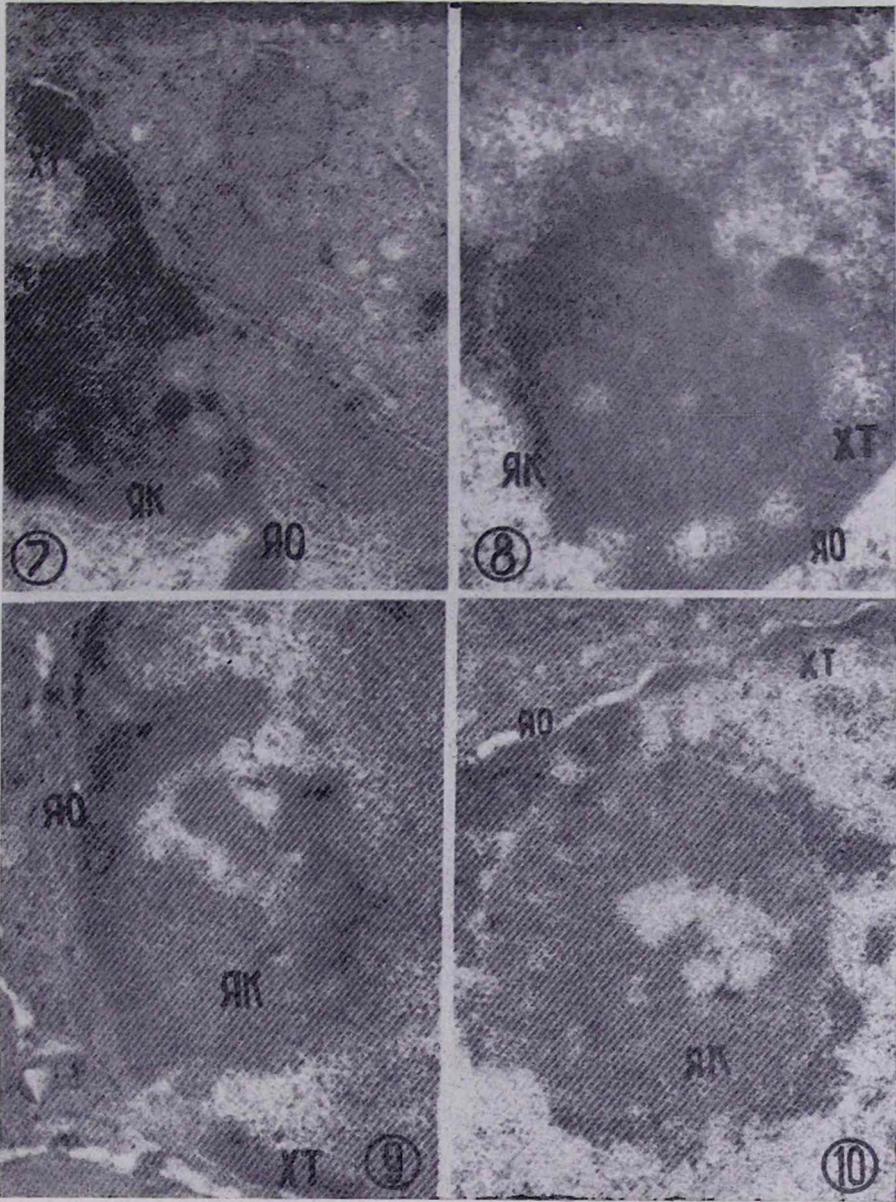


Рис. 7—10. Ядрышки клеток печени после 12-часового воздействия этнонином. Ув. 43800X.

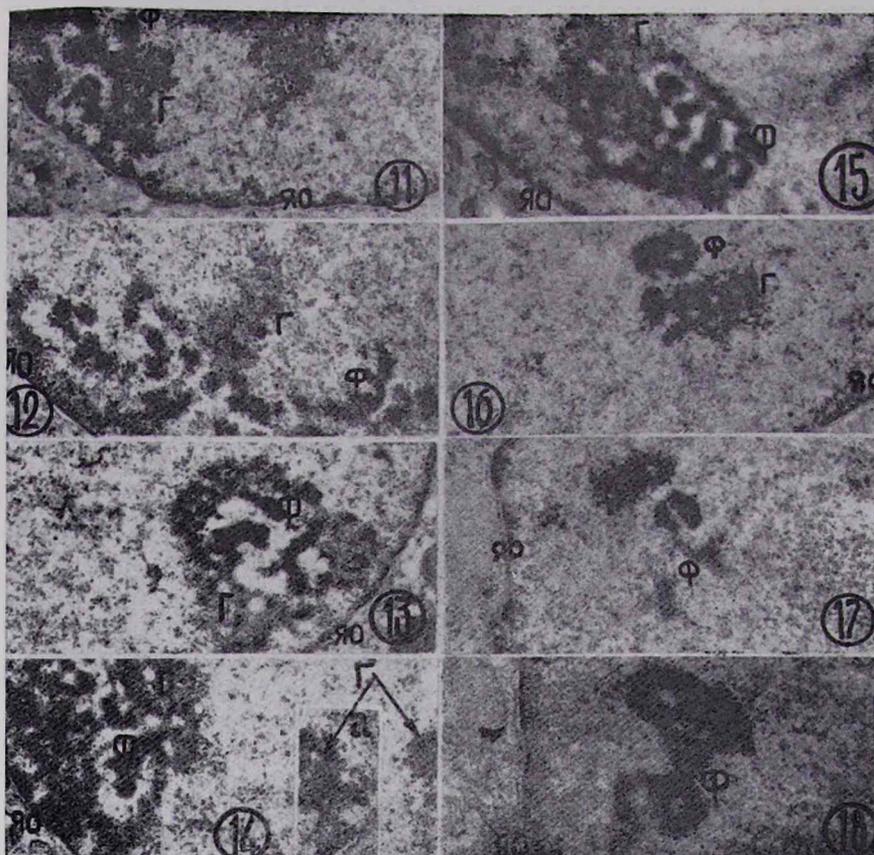


Рис. 11—18. Ядрышки клеток печени после 24-часового воздействия этио-
 нином. Г—гранулярная часть; Ф—фибрилярная часть; рис. 14а—фрагмент
 второго ядрышка того же ядра.

Рис 11—17—ув. 21900X; рис. 18—ув. 31050X.

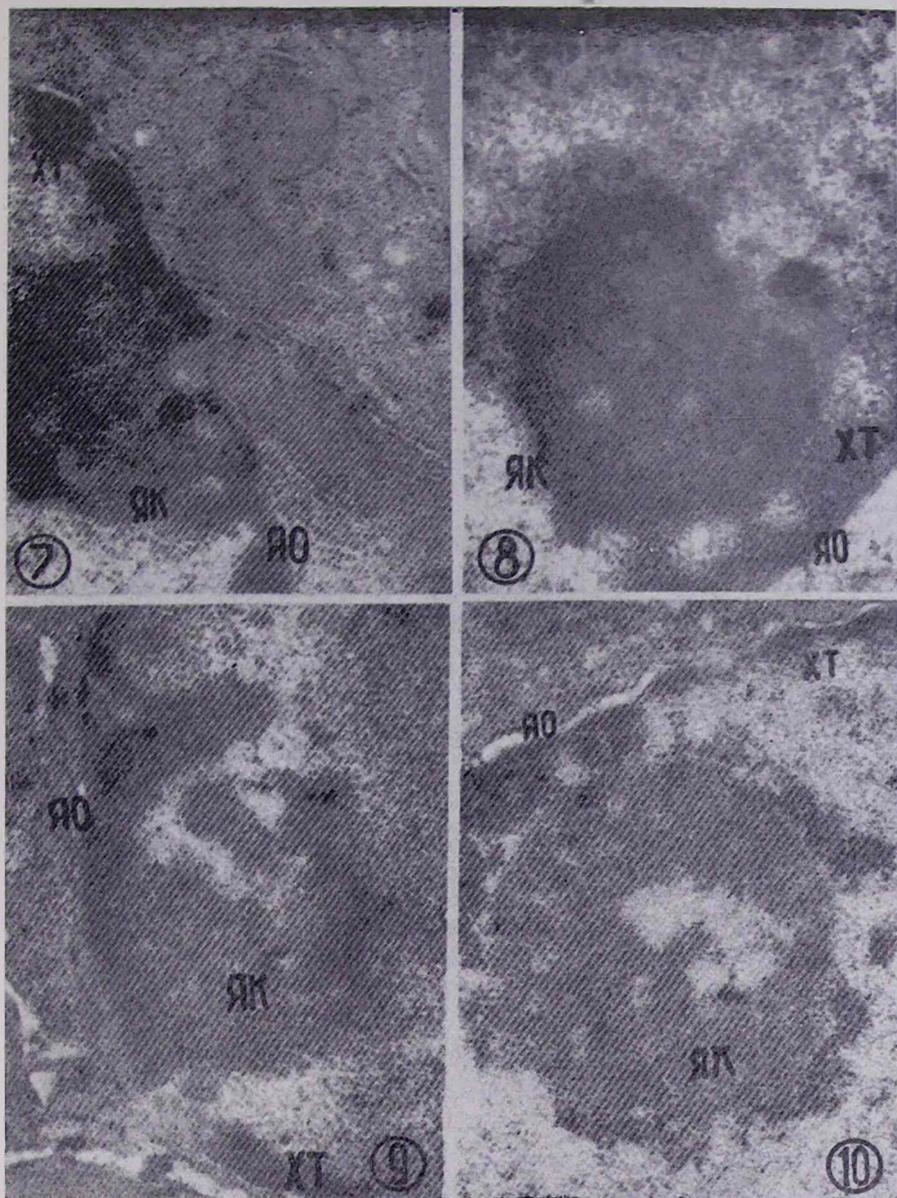


Рис. 7—10. Ядрышки клеток печени после 12-часового воздействия этнонином. Ув. 43800X.

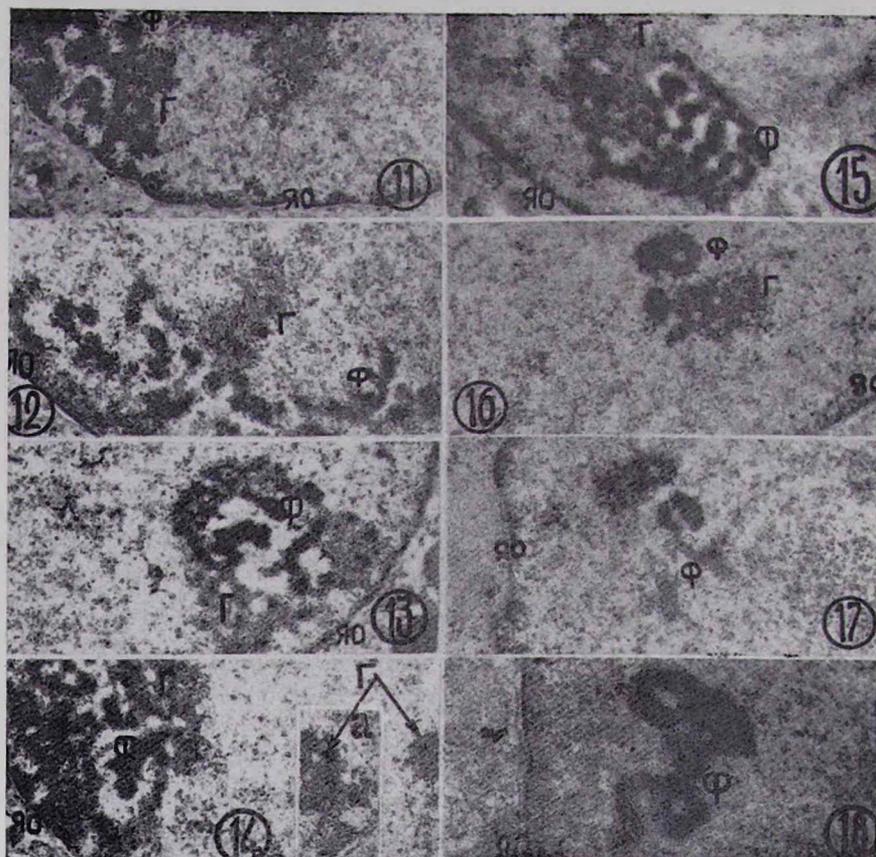


Рис. 11—18. Ядрышки клеток печени после 24-часового воздействия этио-
 нином. Г—гранулярная часть; Ф—фибриллярная часть; рис. 14а—фрагмент
 второго ядрышка того же ядра.

Рис 11—17—ув. 21900X; рис. 18—ув. 31050X.

богата свободными или большей частью сгруппированными интерхроматиновыми гранулами размером 200—250 Å. Отмечалось также наличие единичных перихроматиновых гранул. Указанные структуры диаметром 400—450 Å, окруженные светлым гало, локализовались в непосредственном контакте с поверхностью конденсированного хроматина. Ядрышки располагались в центре ядра или занимали маргинальное положение. В субстанции ядрышек отчетливо различались два основных компонента: электроннооптически плотные гранулы, имеющие диаметр 150 Å, и менее плотная нуклеолома, укомплектованная из 80—100 Å фибрилл, представленных в аморфном веществе нитями или клубками.

Экспериментальные животные. Морфологические изменения ядрышек после инъекции этионина. Наблюдения, касающиеся ультраструктуры клеточных ядер на ранних этапах воздействия этионина, свидетельствуют о том, что гранулярные и фибриллярные компоненты ядрышка не претерпевают каких-либо заметных морфологических изменений. Начиная с 6 час. после введения этионина нормальный контур нуклеол начинает искажаться. В это время структурные нарушения охватывали большинство ядер и выявлялись во всех ядрышках внутри каждой, отдельно взятой клетки. Ядрышки приобретали вид плотных, комковатых масс (рис. 3—6). В разреженных участках аморфного вещества располагались различные по плотности и размерам глыбки хроматина. Характерным для этого периода было также наличие в нуклеоплазме более или менее хорошо ограниченных агрегатов интерхроматиновых гранул, а в зоне субстанции последних—островки хроматинового материала.

Через 12 час. после введения животным этионина структурные изменения в ядрышках мало чем отличались от изменений, выявленных при шестичасовой экспозиции. Однако на многих электронных микрофотографиях можно было видеть увеличение размеров нуклеолярных вакуолей и уменьшение гранулярного компонента ядрышка (рис. 7—10). Конденсированный хроматин к этому времени сохранялся в различных областях ядрышек; в некоторых случаях его массивные глыбки полностью окружали ядрышко.

Наиболее выраженные поражения ядрышек наступали к 24-часовому воздействию этионина (рис. 11—18), причем у одних клеток ядрышки имели вид отдельных фрагментов, состоящих полностью из фибриллярных структур (рис. 17—18), у других—они были представлены в виде плотных гранул, ассоциированных с менее плотным хроматином, и разбросанных внутри аморфного вещества отдельных участков волокнистого компонента (рис. 11—16). Следует также отметить, что в это время нуклеолярные компоненты характеризовались высокой электроннооптической плотностью по сравнению с контролем, хотя размеры фибрилл и сохранившихся РНП-гранул оставались неизменными. Наблюдалось увеличение числа перихроматиновых гранул, обнаруживаемых большей частью в околядрышковой зоне.

Таким образом, в процессе этионинового травления, протекающего в печеночных клетках хомяков, можно условно выделить три периода: ранний, средний и конечный. В раннем периоде происходит сжатие ядрышек; средний период характеризуется уменьшением гранулярных зон и увеличением объема аморфного вещества; в конечном периоде наблюдается четко выраженная сегрегация ядрышка, сопровождающаяся полным дезагрегированием его фрагментированных компонентов и в большинстве случаев потерей РНП-гранул.

Характер выявленных структурных перестроек ядрышка соответствовал изменениям в клетках многих типов, подвергнутых воздействию различного рода агентов, описанным ранее рядом авторов [6—13].

Наши данные о времени появления морфологических изменений в ядрышках соответствуют данным Шинозуки и соавт. [2]. Однако этими авторами не наблюдалось полной утраты гранулярного компонента ядрышек, а окончательное дезагрегирование отмечалось к 12 часам. Весьма вероятно, что несоответствие наших данных и данных этих авторов обусловлено различием во времени наступления конечных периодов сегрегации.

Полученные результаты дают основание заключить, что причиной субмикроскопических изменений ядрышка является нарушение нуклео-протеидного обмена ядра и в первую очередь, по-видимому, РНП-содержащих компонентов.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 24.V 1976 г.

Մ. Հ. ԳԱՆՈՒՍՏՅԱՆ, Ս. Մ. ՀԱԿՈՔՅԱՆ

ԿՈՐԻՋԱԿԻ ՍԵԳՐԵԳՄԵՆՏԱՅԻ ՖԵՆՈՄԵՆԻ ՎԻՋՈՒՍԼԻԶԱՑԻԱՆ ԷՆՏԱԿԱՐԻՈՏԻ ԲՋԻՋՆԵՐՈՒՄ DL-ԷՔԻՈՆԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է DL-էթիոնինի ազդեցությունը սիրիական համստերի փայծաղի բջիջների կորիզակի գերկառուցվածքային կազմավորման վրա:

Ապացուցվել է, որ էթիոնինի ազդեցության ներքո կորիզակները, էքսպոզիցիայի մեծանալուն զուգընթաց, ենթարկվում են պրոգրեսիվ դեզագրեզացիայի՝ վերջնական ֆրագմենտացիայով և մեծ մասամբ ՌՆՊ-ի գրանուլների կորուստով: Ստացված էլեկտրոնամանրադիտակային արդյունքները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ կորիզակի գերկառուցվածքային վնասվածքների պատճառներն են կորիզի նուկլեոպրոտեիդային և առաջին հերթին, ըստ երևույթին, ՌՆՊ պարունակող կոմպոնենտների փոխանակության խանգարումները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Miyal K., Steiner J. W. *Lab. Invest.*, 16, 677, 1967.
2. Shinozuka H., Goldblatt P. J., Farber E. J. *Cell Biol.*, 36, 313, 1968.
3. Reynolds E. S. *J. Cell Biol.*, 17, 208, 1963.
4. Brunt C., Porter K. R. *Am. J. Pathol.*, 46, 691, 1965.
5. Miyal K., Steiner J. W. *Exptl. Mol. Pathol.*, 4, 525, 1965.
6. Ченцов Ю. С., Поляков В. Ю. Ультраструктура клеточного ядра. М., 1974.
7. Bernhard W. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, 23, 13, 1966.
8. Heine U., Langlots A. J., Beard J. M. *Cancer Res.*, 26, 1847, 1966.
9. Jacob J. *Cancer Res.*, 28, 2126, 1968.
10. Jézéquel M. M., Bernhard W. *J. Microscop.*, 3, 279, 1964.
11. Paul J. S., Reynolds R. C., Montgomery P. O'B. *Cancer Res.*, 29, 558, 1969.
12. Stuard R., Bernhard W. *Intern. J. Cancer*, 1, 463, 1966.
13. Svobodu D., Grady H., Higginson J. H. *Am. J. Pathol.*, 49, 1023, 1966.