

Р. А. ЗАХАРЯН, Л. А. КАРАПЕТЯН, Дж. К. ДЕМИРЧЯН,
М. А. ПОГОСЯН, А. А. ГАЛОЯН

ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ФОРМИРОВАНИЕ ПОЛИСОМ МОЗГА

Изучалось влияние глюкокортикоида дексаметазона на формирование свободных полисом мозга крыс. Показано, что через 4 час. после однократного введения препарата фракция свободных относительно крупных полирибосом (тетрасом и выше) увеличивается на 20% при соответствующем уменьшении ди- и моносомного пиков. Через 18 час. несвязанная с мембранами полирибосомная популяция остается выше контрольной при выравнивании ди- и моносомного пиков.

В животных клетках тканей—«мишеней» гормональная регуляция глюкокортикоидами белкового обмена осуществляется через регуляцию транскрипции РНК [1—3] и коррелирует с изменением уровня метилирования ДНК [4—6]. Установлено, что кортикостероиды в тканях связываются со специфическими рецепторами-белками и транспортируются в комплексе с белком-рецептором в хроматин, где преимущественно связываются с негистоновыми белками [7]. Концентрация негистоновых белков выше в активном хроматине, им и приписывается существенная роль в регуляции транскрипции [8].

По аналогии с теорией оперона, предложенной Жакобом и Моно [9] для микроорганизмов, предполагали, что в клетках животных гормональная индукция первично реализуется на уровне транскрипции генов, ответственных за синтез и-РНК, играющих ключевую роль в процессах роста и дифференцировки. Это предположение оказалось справедливым для ряда гормонов.

Имеющиеся данные свидетельствуют о высокой чувствительности к воздействию глюкокортикоидов преимущественно рибосомальных цитронов; в печени гормональный эффект кортикостероидов реализуется в первый период через активацию транскрипции р-РНК. В клетках тимуса кортикостероиды подавляют транскрипцию предшественника р-РНК, в значительной степени ее 28 S компонента [10].

В литературе отсутствуют сведения о регуляции глюкокортикоидами синтеза РНК в тканях зрелого головного мозга, отдельные области которого играют существенную роль в регуляции тропных функций гипофиза при стрессовых состояниях; для реализации последних существенное значение имеет уровень кортикостероидов в мозге, в свою очередь регулирующих метаболическую активность и возбудимость головного мозга.

В данном исследовании приводятся результаты изучения влияния аналога преднизолона—дексаметазона, кортикостероида глюкокорти-

жидкого типа, на биогенез рибосом и формирование полисом мозга крыс.

Материал и методика. В опытах использовались взрослые белые крысы весом 125—150 г. Дексаметазон вводили внутривенно в количестве 250 и 900 μ на животное по ранее описанной методике [11]. Первой группе животных препарат вводили в 14 час. в дозе 250 μ и забивали их через 4 час. после инъекции; второй группе — вводили в дозе 900 μ в 15 час. и забивали через 18 час. Мозг животных (без мозжечка и продолговатого мозга) гомогенизировали в 0,25 М сахарозе с 12 мМ $MgCl_2$, 100 мМ KCl , 50 мМ трис- HCl буфером, pH 7,6. Гомогенат центрифугировали 15000 \times g 20 мин. 1,5—2 мл постмитохондриального супернатанта, наносили на 25 мл линейного сахарозного градиента (15—35%), приготовленного на буфере, затем центрифугировали 4 часа при 28000 об/мин. Оптическую плотность полученных фракций измеряли при E_{260} на спектрофотометре Unicam SP-800. Количество РНК в постядерном супернатанте определяли по Шмидту-Тайгаузеру [12].

Результаты и обсуждение. В данном эксперименте мы изучали седиментационное распределение в градиенте сахарозы полученных в отсутствие детергента, не связанных с мембранами свободных полисом мозга контрольных и опытных животных.

Ранее было показано, что добавление дезоксихолата натрия к постмитохондриальной фракции, полученной из коры мозга и из целостного мозга крыс, незначительно меняет седиментационный профиль распределения полисом. Процент крупных полисом при этом во всей популяции рибосом как в постмитохондриальном, так и в полирибосомальном препарате оказывается несколько заниженным [13], хотя общий выход полирибосом увеличивается соответственно на 20—15%. Эти данные свидетельствуют о том, что только 15—20% всей популяции рибосом в нервной ткани связано с мембранами и основная часть ее представлена в не связанном с мембранами виде (свободными структурами), в то время как в других тканях, например в печени, мембраносвязанная часть рибосом составляет 80% от их общего количества [14]. Электронно-микроскопические данные также свидетельствуют о том, что нейрональные рибосомы находятся преимущественно в свободном виде [15]. Соотношение этих двух форм рибосом в мозге (мембраносвязанной и свободной), обладающих различными физическими и функциональными характеристиками, меняется в процессе развития [16].

Седиментационный анализ постмитохондриальной фракции мозга, полученной в отсутствие детергента (рис. 1), показывает, что в норме крупные полисомальные агрегаты (три, тетрамеры и выше) при сравнении с аналогичным показателем печени, селезенки составляют относительно малый процент. Ранее Замзел и др. [17] выявили и охарактеризовали феномен нестабильности крупных полисом мозга как специфическую, характерную особенность полисомных структур зрелого мозга, имеющую, по-видимому, определенное отношение к специализированной функции центральной нервной системы. Так, с возрастом пропорция крупных полисом в мозговой ткани существенно убывает без изменений РНК-азной активности, полисомные агрегаты мозга 2-дневного

возраста значительно менее чувствительны к содержанию в среде ионов Mg^{++} , чем полисомы зрелого мозга. В условиях *in vivo* и *in vitro* при синтезе белка полисомные агрегаты зрелого мозга значительно

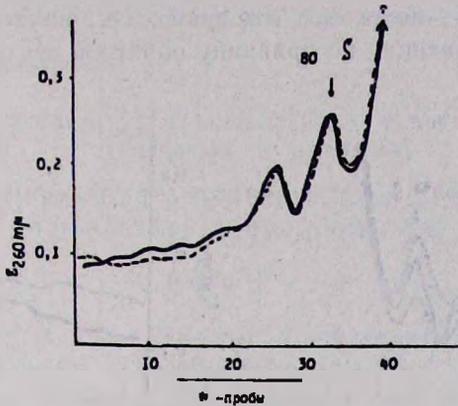


Рис. 1. Профиль седиментационного распределения в градиенте сахарозы 15—30% постмитохондриальной фракции мозга: без (—) и после (---) инкубации в течение 5 мин при 37°C.

быстрее деградируют в относительно малые структуры, чем полирибосомы, полученные в идентичных условиях из мозга новорожденных крыс или из печени зрелого животного. Нестабильность полирибосом мозга, по-видимому, отражает [18, 19] особенности состава и связей в комплексе информационной РНК с рибосомами и не зависит от уровня РНК-азной активности.

На рис. 1 приведен профиль седиментационного распределения в градиенте сахарозы постмитохондриальной фракции мозга без и после инкубации постмитохондриального супернатанта в течение 5 мин при 37°C. Полученный результат свидетельствует об относительно низкой РНК-азной активности и согласуется с данными о наличии в мозге высокой концентрации ингибитора РНК-азы [20].

Через 4 час. после введения дексаметазона (рис. 2) в постмитохондриальном супернатанте полисомиальная фракция увеличивается на 20%. Увеличение относительно крупных полирибосомных агрегатов сопровождается соответствующим уменьшением ди- и моносомного пиков без существенных количественных сдвигов в содержании РНК в постядерном супернатанте: 1410 ± 95 мкг/г свежей ткани в норме и 1540 ± 110 мкг/г ткани после воздействия дексаметазоном.

Через 18 час. после введения стероида несвязанная с мембранами полирибосомная популяция остается выше контрольной при выравнивании ди- и моносомного пиков (рис. 3).

Полученные данные представляют определенный интерес, они свидетельствуют о том, что первичным пусковым моментом в реализации гормонального воздействия глюкокортикоидов на нервные клетки является перераспределение в рибосомальной популяции в сторону увеличения относительно крупных полирибосомных структур за счет сти-

муляции транспорта из ядер в цитоплазму информационной РНК, по-видимому, с относительно крупным молекулярным весом. В результате этого на определенное время в цитоплазме обнаруживается дефицит свободных частиц — моносом, что, возможно, является одним из моментов, обеспечивающих по принципу обратной связи стимуляцию сни-

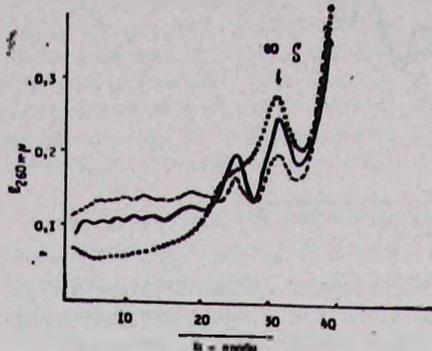


Рис. 2.

Рис. 2. Профиль седиментационного распределения в градиенте сахаразы 15—35% постмитохондриальной фракции мозга: (—) контроль; — — — через 4 час. после введения дексаметазона; после инкубации с РНК-азой 5 мин при 37°C.

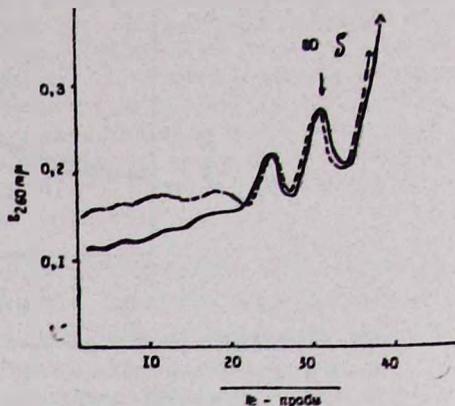


Рис. 3.

Рис. 3. Профиль седиментационного распределения в градиенте сахаразы 15—35% постмитохондриальной фракции мозга: — контроль, — — — через 18 час. после введения дексаметазона.

теза р-РНК под воздействием глюкокортикоидов. Возможно, между концентрацией свободных рибосом-моносом и уровнем транскрипции р-РНК в ядрышке существует определенная регуляторная связь, и выявление материального субстрата данной взаимосвязи представляет определенный интерес.

Данные, полученные в настоящей работе, согласуются и дополняют результаты наших ранних исследований, в которых было показано, что в мозге и гипоталамусе под влиянием дексаметазона коэффициент специфичности ГЦ/АУ во фракциях РНК хромосомно-ядрышкового аппарата повышается в сторону преобладания РНК рибосомального типа [5], наступает стимуляция синтеза р-РНК [21], отмечается увеличение количества ядрышек, контурированных Фельген-положительным материалом [22]. Структурно-функциональное состояние ядрышка тесно связано с функциональным состоянием клетки, с механизмами регуляции информационной связи ядра. Одной из функций последнего является регуляция транспорта в цитоплазму не только рибосомальной РНК, но и информационной РНК, синтезирующейся в хроматине [23].

Результаты исследований свидетельствуют о том, что глюкокортикоиды в мозге в первые часы после введения стимулируют транспорт информационной РНК из ядер в цитоплазму и формирование относи-

тельно более крупных полисомных структур, что транспорт и-РНК, стимуляция синтеза р-РНК, и-РНК и формирование рибосом и полисомных структур сопутствуют друг другу в механизме регуляции глюкокортикоидами метаболизма макромолекул в нервной ткани.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 15.III 1976 г.

Ռ. Ա. ԶԱԲԱՐՅԱՆ, Լ. Ա. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Զ. Դ. ԴԵՄԻՐՉՅԱՆ,
Մ. Ա. ՊՈՂՈՍՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱՌՅԱՆ

ԴԵՔՍԱՄԵՏԱԶՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԻ
ՊՈԼԻՍՈՄՆԵՐԻ ԶԵՎԱՎՈՐՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Ուսումնասիրվել է դեքսամետազոնի գլյուկոկորտիկոիդի ազդեցությունը առնետների ուղեղի ազատ պոլիսոմների կազմավորման վրա: Ապացուցվել է, որ դեքսամետազոնի միանվագ ներարկումից 4 ժամ հետո համեմատաբար խոշոր ազատ պոլիսոմային ֆրակցիան (տետրասոմներ և ավելի բարձր) ավելանում է 20-ով՝ դի- և մոնոսոմային պիկերի համապատասխան իջեցման դեպքում: Ստերոիդի ներարկումից 18 ժամ հետո պոլիոլիգոսոմային պոպուլյացիան, որը կապված չէ թաղանթի հետ, մնում է կոնտրոլից բարձր, երբ դի- և մոնոսոմային պիկերը հավասարվում են:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Fu-Li Yu and Felgelson P. Arch. Biochem. Biophys. 129, 152, 1969.
2. Loeb J. N., Tebencine E. M. Endocrinology 86, 5, 1033, 1970.
3. Wicke J. D., Greenman D. L., Kenney F. T. J. Biol. Chem. 240, 11, 4414, 1965.
4. Allfrey V. G., Podo B. G., Kleinsmith L. J., Mirsky A. E. In „Histones and their role in the transference of genetic information“, 59, 1966.
5. Захарян Р. А., Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 8, 1974.
6. Гарибян Дж. В., Васильев В. К., Захарян Р. А., Галоян А. А., Ванюшин Б. Ф. ДАН СССР, 212, (4, 5, 6), 1973.
7. Салганник Р. И. Клеточное ядро, морфология, физиология, биохимия. 112, 1972.
8. Paul J., Gilmeur R. S. J. Mol. Biol., 34, 305, 1968.
9. Jacob F., Monod J. Symp. Soc. Study Develop. Growth, 21, 30, 1963.
10. Stevens J., Mashburn L. T., Hollander V. P. BBA 186, 332, 1969.
11. Fruschini F., Mongill G. Motta, Martini Endocrinology, 75, 765, 1964.
12. Schmidt G., Thannhauser S. J. J. Biol. Chem., 1945, v. 161, p. 83.
13. Merits I., Cain J. C., Razok E. J., Minard F. N. Experiments 25, 739, 1969.
14. Blobel G., Petter V. R. J. Mol. Biol., 26, 279, 1967.
15. Setelo C., Paly S. L. J. Cell. Biology, 36, 151, 1968.
16. Ganosa M. C., Williams C. A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 63, 1370, 1969.
17. Zomsely C. E., Roberts S., Peache S., Brown D. M. J. Biol. Chem. 246, 7, 2097, 1971.
18. Tsukada K., Liebermann I. Biochem. Biophys. Res. Commun., 19, 702, 1965.
19. Rabinowitz M., Zak R., Beller B., Rampersad O., Wool C. G. Proc. Natl.
20. De Lamirande C., Allard C. Ann. N. J. Acad. Sci., 81, 570, 1959.
21. Захарян Р. А., Карапетян Л. А., Саакян Ф. М., Галоян А. А. Биологический журнал Армении, 27, 11, 99, 1974.
22. Ростомян М. А., Захарян Р. А., Карапетян Л. А., Абрамян С. С., Галоян А. А. Биологический журнал Армении, 1975.
23. Харрис Г. Ядрс и цитоплазма, М., 1973.