

УДК 547.963.3:577.157.6

БИОХИМИЯ

Д. В. Гарибян, И. А. Джагацпаян,
И. С. Даниелян, Г. Г. Меликян, Б. Т. Гарибджанян

Метилирование ДНК мозга и его возможные изменения при применении некоторых психотропных препаратов

(Представлено академиком АН Армении А. А. Галояном 24/V 1990)

В последние годы возрос интерес к изучению состояния ДНК в активно функционирующих нервных клетках.

Внимание нейрохимиков, решающих задачу метаболической активности ДНК клеток мозга, привлекает реакция метилирования ДНК⁽¹⁾, поскольку одним из механизмов обеспечения и регуляции дифференциальной транскрипции генома является метилирование цитозина в ДНК клеток⁽²⁾.

Задачей нашего исследования было выявить и проанализировать те изменения, которые происходят в генетическом аппарате, в частности, изучить реакцию метилирования ДНК у амнестических животных под действием психотропного препарата пирацетама и препарата, транквилизирующего действия феназелама, поскольку они оказывают влияние на обучение, интегративные и амнестические функции мозга.

Эксперименты проводили на нелинейных белых крысах-самцах весом 130—150 г. Животные были подразделены на 4 группы (по 15 крыс в каждой). Одна группа служила пассивным контролем (интактные животные, находящиеся в обычных камерах), вторая группа—активным контролем (обученные животные), а две другие получали препараты пирацетам и феназепам.

Для оценки антиамнестического действия изучаемых веществ вырабатывали условную реакцию пассивного избегания (УРПИ) с последующим применением электрошока в качестве амнестического фактора по модифицированной методике Я. Буреша и О. Бурешовой⁽³⁾. В течение трех минут регистрировали время пребывания в светлом и темном отсеках. Затем в темном отсеке животное получало однократный удар током через электродный пол (обучение). Для получения амнезии использовали максимальный электросудорожный припадок. Проведение электрошока непосредственно после обучения вызывало стирание памятного следа. Тест на воспроизведение осуществляли через 24 ч после обучения. В этот период контрольные животные забывали обучение и предпочитали находиться в темном отсеке. Опытным группам животных вводили внутривенно пирацетам в дозе 200 мг/кг, феназепам в дозе 1 мг/кг в виде взвеси с метилкар-

боксицеллюлозой, и через 45 мин вырабатывалась реакция пассивного избегания с последующим применением электрошока. Контрольным животным вводили эмульгатор. Затем животных забивали декапитацией, извлекали мозжечок и кору больших полушарий. ДНК из тканей выделяли по модифицированному методу Мармура (4). Полученные препараты содержали не более 1—1,5% белка и РНК. Для определения степени метилирования ДНК препараты ДНК высушивали при 105°C и гидролизовали до оснований (99% муравьиная кислота, 175°C, 30 мин). Основания, включая 5-метилцитозин (5 МЦ), разделяли с помощью двукратной одномерной восходящей хроматографии на бумаге. Разделенные основания определяли спектрофотометрически (5).

Таблица 1

Характеристика параметров мнестических функций мозга на модели электрошоковой амнезии УРПН после введения пирацетама и феназепама

Группа	Время нахождения в светлом отсеке, с	
	Первый день	Второй день
Контроль (пассивный)	2.1(1.8÷2.4)	3.4(1.0÷5.8)
Контроль (активный)	2.4(2.39÷2.41)	2.4(1.7÷3.1)
Получившие пирацетам	2.7(2.3÷3.2)	121.3(73.9÷168.8)*
Получившие феназепам	5.5(4.1÷6.9)	2.3(0.6÷4.0)

В скобках доверительные интервалы при $p=0.05$; * обозначает $p<0.05$.

Можно видеть (табл. 1), что введение пирацетама приводило к увеличению времени воспроизведения рефлекса крыс, свидетельствующее о наличии антиамнестического эффекта. Так, после его применения животные через 24 ч пребывали в светлом отсеке 121,3 с, что в 50,5 раза превосходит соответствующие показатели у контрольных животных (2,4 с). Использование феназепама не вызывало различий в поведении этой группы животных по сравнению с контрольными. В табл. 1 представлены данные поведения крыс в светлом отсеке.

При анализе состава ДНК двух отделов мозга (табл. 2) у обученных животных и животных, получивших пирацетам, содержание 5 МЦ в больших полушариях увеличивается по сравнению с пассивным контролем на 47 и 80%, а в мозжечке на 56 и 58% соответственно. В группе животных, получивших феназепам, в этом же случае изменений в уровне метилирования не наблюдается ни в больших полушариях, ни в мозжечке, хотя по сравнению с активным контролем уменьшается содержание 5 МЦ в обоих отделах мозга. Известно, что одной из особенностей пирацетама является облегчение процессов обучения у крыс (6,7), а происходящие при обучении физиологические процессы вызывают перестройку генома, специфические участки ДНК которого могут быть вовлечены в обеспечение данного фи-

аналогического процесса. Повышение уровня 5 МЦ у обученных животных, получивших пираретам, может свидетельствовать об увеличении транскрибирующей активности генома клеток соответствующих отделов мозга.

Нуклеотидный состав ДНК из разных отделов мозга

Таблица 2

Источник ДНК	Группа животных	Остатки нуклеотидов, мол %					G+C+AT
		Г	А	Т	С	Т	
Мозжечок	Контроль (пассивный)	21.3	28.4	20.0	0.74±0.10	28.1	42.9
	Контроль (активный)	21.5	28.9	20.4	1.16±0.11	28.0	43.0
	Получившие пираретам	21.6	28.6	20.5	1.17±0.11	28.2	43.2
	Получившие феназепам	21.5	28.2	20.9	0.77±0.05	28.1	43.1
Кора больших полушарий	Контроль (пассивный)	21.7	28.7	21.0	1.02±0.19	28.5	42.8
	Контроль (активный)	21.5	28.7	20.4	1.20±0.11	28.3	43.5
	Получившие пираретам	21.6	28.0	20.5	1.24±0.11	28.2	43.2
	Получившие феназепам	21.6	28.1	20.5	0.94±0.49	28.0	43.1

Индукцированное пираретамом увеличение количества 5 МЦ в клетках коры больших полушарий по сравнению с активным контролем, по-видимому, вызвано не избирательным синтезом или распадом каких-то молекул ДНК, а ее дополнительным метилированием. Такое индуцированное метилирование, возможно, связано с изменением дезоксирибонуклеотидов, в результате которых появляются новые доступные для метилирования участки (8). Не исключена возможность того, что это увеличение метилирования ДНК обусловлено также повышением доступности некоторых участков ДНК к действию ДНК-метилаз, которое может быть одним из последствий реорганизации соответствующих областей хроматина при их активации.

Следовательно, уровень метилирования ДНК коры больших полушарий в этом случае коррелирует с функционированием клеток мозга в процессе выработки условного рефлекса, поскольку пираретам при этом активизирует деятельность неокортекса и, по-видимому, метилирование ДНК при этом является одним из механизмов запуска транскрипции при обучении. Феназепам не будучи связанным с условно рефлекторной деятельностью в наших экспериментах вызывает уменьшение содержания 5 МЦ в ДНК обоих отделов мозга, что может быть связано с временной репрессией процессов транскрипции препаратом при формировании данного навыка.

Все вышеизложенное говорит о том, что метилирование ДНК действительно может коррелировать с функционированием клеток мозга в процессе выработки условного рефлекса. Кроме того, при воздействии некоторых психотропных препаратов в связи с модуляцией функциональной активности клеток мозга может изменяться уровень метилирования генома.

Институт тонкой органической химии
Академии наук Армении

Ուղեղի ԴՆԹ-ի մեթիլացումը և նրա ննադավառ փոփոխությունները
սրտի փսիխոտրոպ պրեպարատների կիրառմամբ

Որոշ փսիխոտրոպ դեղամիջոցները թողնում են որոշակի ազդեցություն
ուղեղի ուսուցման և հիշողության ֆունկցիաների վրա: Հայտնի է, որ դե-
նոմի դիֆերենցիալ տրանսկրիպցիայի մեխանիզմում ուրույն դեր ունի ԴՆԹ-ում
ցիտազինի մեթիլացումը: Ելնելով այս ամենից ձեռնարկվել է ուղեղի ԴՆԹ-ի
մեթիլացման ռեակցիաների ամենատիկ կենդանիների մոտ պիրացետամի և
ֆենազեպամի ազդեցության տակ:

Ցույց է տրված, որ պիրացետամը ևրկարեցնում է առեւտների մոտ ռեֆ-
լեքսի վերարտադրման ժամանակը, որը վկայում է ամենատիկ էֆեկտի օգ-
տին: Պարզված է նաև, որ կոնտրոլի համեմատությամբ պիրացետամ ստա-
ցած կենդանիների մոտ 5-մեթիլցիտազինի պարունակությունը մեծ կիսազրն-
դերում: Ուղեղիկում այս առումով փոփոխություններ չեն հայտնաբերված:
Ֆենազեպամ ստացած կենդանիների մոտ, կոնտրոլի հետ համեմատած, նման
փոփոխություններ չեն հայտնաբերվել:

Այս ամենից հետևում է, որ ԴՆԹ-ի մեթիլացման մակարդակը համա-
պատասխանում է քիչներում պայմանական ռեֆլեքս մշակման արագու-
թյանը:

Հավանաբար որոշ փսիխոտրոպ դեղամիջոցների ազդեցության պայման-
ներում ուղեղի քիչների ֆունկցիոնալ ակտիվության փոփոխությունների պայ-
մաններում տեղի են ունենում նաև գենոմի մեթիլացման ռեակցիաներում:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ J. S. Griffiths, H. K. Meisler, Nature, v. 223, p. 560 (1969) ² В. В. Ашал-
кин, Б. Ф. Винюшин, Учен. зап. биологии, т. 98, № 3, с. 323 (1984) ³ J. Burgess, O.
Buresova, J. Comp. Neurol., Psychol., v. 56, p. 268—272 (1963). ⁴ Б. Ф. Винюшин,
в кн.: Современные вопросы биохимии, Медицина, М., 1964. ⁵ Н. Н. Бурдеев, Н.
П. Демидкина, Ю. М. Ашуров и др., Биохимия, т. 43, № 11, с. 2082—2091 (1978)
⁶ C. L. Gurgea, D. Lefevre, Psychopharmacologia, v. 20, p. 160—168 (1971). ⁷ S.
Sara, D. Lefevre, Psychopharmacologia, v. 25, p. 39—40 (1972). ⁸ Б. Ф. Винюшин
Н. А. Тумиларова, Л. В. Гурьянов, ИАН СССР, т. 219, № 3, с. 742—744 (1974).