

ВЛИЯНИЕ ИНДУКТОРА АПОПТОЗА — ДЕКСАМЕТАЗОНА — НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН И УЛЬТРАСТРУКТУРУ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК

© Д. Ф. Рахматуллина,¹ Л. Х. Гордон, А. А. Пономарева, Т. И. Огородникова

Институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, Казань;

¹ электронный адрес: rahmatullina@mail.knc.ru

Исследовали дыхательный обмен и ультраструктуру клеток отсеченных корней 5-суточных проростков пшеницы при длительной инкубации с дексаметазоном (ДМ). В течение 5 ч инкубации корней потребление кислорода ингибировалось примерно на 20—30 %. Дыхательный коэффициент при этом не изменялся и был близок к 1. ДМ устранял стимулирующее влияние глюкозы на дыхание, что наводит на мысль о блокаде гликолиза, приводящей к снижению потребления кислорода. Предполагается, что подавление дыхания ДМ также связано с ингибированием I комплекса электрон-транспортной цепи митохондрий, так как янтарная кислота (ЯК) предотвращала действие ДМ. Кроме того, стабилизация внутриклеточного pH карнозином снимала ингибирующее влияние ДМ. Вероятно, влияние ДМ на потребление кислорода связано и с закислением цитоплазмы. Электронно-микроскопические исследования показали, что через 5 ч действия ДМ происходила сильная вакуолизация цитоплазмы клеток корней (один из признаков клеточной смерти). Вакуолизация в значительной мере предотвращалась карнозином. Через 23 ч действия ДМ ультраструктура основной части клеток корня была нарушена. Потребление кислорода снижалось. Декструктивное действие ДМ частично предотвращалось карнозином и через 23 ч инкубации. Полученные результаты дают основание полагать, что в растительных клетках ДМ приводит к закислению цитоплазмы, нарушению энергетического обмена, вакуолизации и гибели клеток.

Ключевые слова: корни пшеницы, потребление кислорода, pH, гликолиз, митохондрии, апоптоз.

Принятые сокращения: ДМ — дексаметазон, ЯК — янтарная кислота.

В настоящее время принята точка зрения, согласно которой дексаметазон (ДМ) является классическим индуктором апоптоза в клетках животных (Тронов, 1999). Отмечается, что ДМ проявляет свою активность, связываясь с цитоплазматическими рецепторами, расположенными внутри клеток-мишеней (Druihlle et al., 2003). Кортикоидные гормоны, к которым относится и ДМ, уменьшают поглощение кислорода и угнетают активность ряда дегидрогеназ митохондрий животных тканей. Предполагают, что угнетающее влияние кортикоидов на тканевое дыхание обусловлено ингибированием транспорта электронов в дыхательной цепи (Черкасова и др., 1968). Есть данные об угнетении потребления кислорода и включения неорганического фосфата в фосфоросодержащие соединения митохондрий в клетках животных при действии ДМ (Клименко, 1973).

Показано, что кортикоидные гормоны обладают способностью блокировать гликолиз. Отмечается, что угнетение гликолиза происходит на уровне глицероальдегидфосфатдегидрогеназы. Причиной ингибирования является снижение отношения НАД/НАДН в цитоплазме, что указывает на увеличение выхода восстановительных эквивалентов из митохондрий в цитозоль (Деркачев и др., 1978).

ДМ используют для регуляции трансгенной экспрессии у растений (Aoyama, Chua, 1997; Padidam, 2003; Amir-sadeghi et al., 2007). Показано, что он регулирует транс-

крипцию генов биосинтеза цитокининов у растений арабидопсиса (Astot et al., 2000). Однако нет работ, в которых ДМ применялся бы для индукции апоптоза в растительных тканях.

Отсутствие данных о действии ДМ в качестве индуктора клеточной смерти в растительных клетках и его влиянии на энергетический обмен побудило нас провести исследование в этом направлении.

Материал и методика

Объектом исследования служили отсеченные корни проростков яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Люба. Замоченные в водопроводной воде семена высевали на стекло, покрытое марлей, смоченной раствором CaCl₂ (0.25 мМ), и выращивали в течение 5 сут в осветительной установке при 25 °С, в которой поддерживали режим освещенности 100 Вт/м² при 12-часовом фотопериоде.

Определение интенсивности дыхания. Дыхательный газообмен регистрировали манометрическим методом в аппарате Варбурга (Семихатова, Чулановская, 1965) в трех повторностях. Навеску отсеченных корней (150 мг) помещали в сосудики Варбурга с соответствующими растворами (3 мл) и после 10-минутного термостатирования измеряли дыхание каждые 60 мин в 1-е ч и за

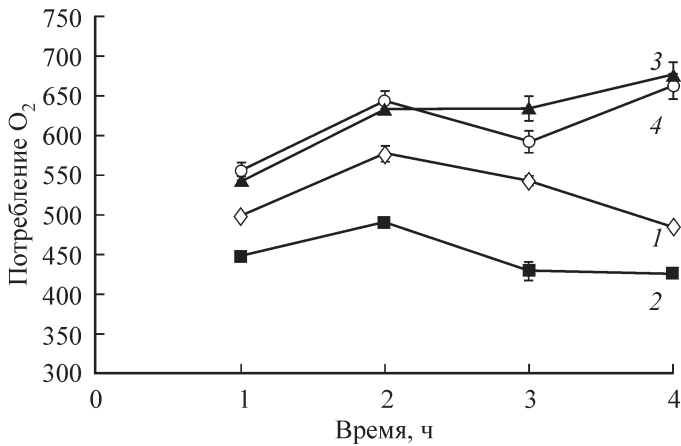


Рис. 1. Влияние дексаметазона (ДМ) и карнозина на потребление кислорода отсеченными корнями пшеницы.

1 — контроль ($2.5 \cdot 10^{-4}$ М CaCl_2), 2 — ДМ (10^{-5} М), 3 — ДМ (10^{-5} М) + карнозин ($2 \cdot 10^{-2}$ М), 4 — карнозин ($2 \cdot 10^{-2}$ М). Здесь и на рис. 2, 3 потребление кислорода выражено в мкл за 1 ч на 1 г сырой массы.

Таблица 1

Влияние дексаметазона (ДМ) на дыхательный коэффициент отсеченных корней пшеницы

Вариант опыта	Дыхательный коэффициент (CO_2/O_2) при длительности инкубации, ч				
	1	2	3	4	5
Контроль, $2 \cdot 10^{-4}$ М CaCl_2	0.94	0.81	0.83	0.85	0.81
ДМ, 10^{-5} М	1.00	0.80	0.80	0.90	0.81

1 ч после 23-часовой инкубации корней в соответствующих растворах. Расчеты проводили в мкл O_2 за 1 ч на 1 г сырой массы.

После определения интенсивности поглощения кислорода корни фиксировали для исследования ультраструктурных изменений в клетках. Отрезки корня длиной 1—2 мм из зоны растяжения фиксировали 2.5%-ным рас-

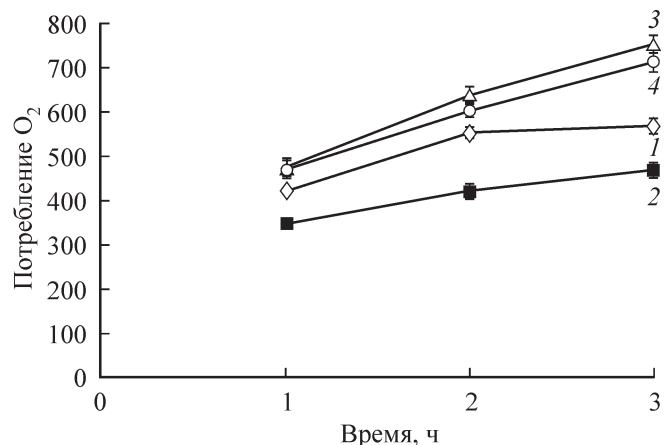


Рис. 2. Влияние ДМ и янтарной кислоты (ЯК) на потребление кислорода отсеченными корнями пшеницы.

1 — контроль ($2.5 \cdot 10^{-4}$ М CaCl_2), 2 — ДМ (10^{-5} М), 3 — ДМ (10^{-5} М) + ЯК ($5 \cdot 10^{-3}$ М), 4 — ЯК ($5 \cdot 10^{-3}$ М).

твором глутаральдегида на фосфатном буфере (рН 7.2) в течение 2 ч. Постфиксировали 1%-ным раствором OsO_4 на том же буфере с добавлением сахарозы (25 мг/мл) в течение 2 ч. Далее образцы дегидратировали в этиловом спирте восходящей концентрации (30, 40, 50, 60, 70 и 96%), ацетоне и окиси пропилена. Заливочной средой служил Эпон 812. Образцы полимеризовали в течение 3 сут, увеличивая температуру от 37 до 60 °С.

Срезы получали на ультрамикротоме LKB-III (Швеция). Контрастировали срезы насыщенным раствором водного уранилацетата 10 мин при 60 °С, а затем 10 мин водным раствором цитрата свинца. Препараты просматривали на электронном микроскопе Jem-1200 EX (Jeol, Япония).

Все полученные результаты обрабатывали статистически. Эксперименты проводили в 3—5 биологических повторностях, каждый вариант имел не менее трех аналитических повторностей. В таблицах и на графиках приведены среднearифметические значения и их стандартные ошибки.

Использованы следующие реактивы: ДМ (10^{-5} М), карнозин ($2 \cdot 10^{-2}$ М) (Acros organics, Бельгия), глюкоза ($2.5 \cdot 10^{-2}$ М), хлорид кальция ($2.5 \cdot 10^{-4}$ М) янтарная кислота (ЯК, $5 \cdot 10^{-3}$ М) (Реахим, Россия).

Результаты

На рис. 1 приводятся данные по влиянию ДМ на потребление кислорода корнями пшеницы. ДМ в течение 4 ч ингибировал интенсивность дыхания в среднем на 20 %. При этом дыхательный коэффициент (CO_2/O_2) оставался на уровне контроля и был близок к 1 (табл. 1).

Ингибирование интенсивности дыхания наблюдалось и через 23 ч инкубации корней с ДМ (табл. 2). ЯК стимулировала потребление кислорода и в контроле, и на фоне ДМ (рис. 2) и снимала подавляющий эффект ДМ на потребление кислорода через 23 ч (табл. 2).

Ингибирование потребления кислорода ДМ полностью предотвращалось рН-буфером — карнозином. Интенсивность дыхания корней на фоне карнозина была даже выше, чем в контроле (рис. 1). При 23-часовой инкубации корней влияние ДМ на интенсивность дыхания также частично предотвращалось карнозином. Дыхание и в этом случае было выше, чем в контроле (табл. 2).

Наши опыты показали, что инкубация корней с глюкозой стимулирует потребление кислорода корнями (рис. 3) и что эта стимуляция снималась в присутствии ДМ.

На рис. 4 представлены данные электронно-микроскопических исследований. В клетках нативных корней наблюдали митохондрии овальной формы ортодоксального типа, каналы шероховатого эндоплазматического ретикулума, диктиосомы и везикулы аппарата Гольджи (рис. 4, а). Через 5 ч инкубации корней в растворе CaCl_2 ультраструктура клеток не претерпевала значительных изменений, митохондрии не отличались от органелл в исходных клетках. Ядро имело характерный вид, гетерохроматин распределен равномерно, хорошо выражена зона ядрышка (рис. 4, б). После длительной (23 ч) инкубации корней в растворе CaCl_2 клетки сохраняли нормальную ультраструктурную организацию, выявлено лишь небольшое просветление матрикса митохондрий (рис. 4, в).

Иная картина наблюдается в присутствии ДМ. Уже через 5 ч инкубации корней с ДМ происходило просвет-

Таблица 2

**Потребление кислорода корнями пшеницы через 23 ч инкубации
в присутствии дексаметазона (ДМ), карнозина и янтарной кислоты (ЯК)**

Вариант опыта	Потребление O ₂	Вариант опыта	Потребление O ₂
Контроль (2.5 · 10 ⁻⁴ М CaCl ₂)	1050.0 ± 21.1	Контроль	711.9 ± 14.1
ДМ, 10 ⁻⁵ М	682.1 ± 30.5	ДМ, 10 ⁻⁵ М	583.1 ± 12.2
Карнозин, 2 · 10 ⁻² М	873.2 ± 19.9	ЯК, 5 · 10 ⁻³ М	943.7 ± 23.5
ДМ + карнозин	1174.1 ± 6.6	ДМ + ЯК	966.4 ± 22.3

Примечание. Потребление кислорода выражено в мкл за 1 ч на 1 г сырой массы.

ление митохондриального матрикса, кристы оставались четко очерченными. Кроме центральной вакуоли в цитоплазме образовывалось несколько дополнительных вакуолей, которые могли объединяться с центральной вакуолью (рис. 4, з). Через 23 ч инкубации с ДМ в клетках хорошо выражены признаки деструктивных процессов (сильная вакуолизация и нарушение целостности тонопласта). Ядро приобретало извилистую форму, происходила конденсация хроматина и расширение перинуклеарного пространства, местами ядерная мембрана была уже разрушена (рис. 4, д). Описанные изменения соответствуют процессу пикнотического разрушения ядра (Гуляев, 1970). Таким образом, через 23 ч действия ДМ ультраструктурная организация большинства клеток корня полностью нарушена (рис. 4, е).

При инкубации корней в течение 5 ч в присутствии ДМ и карнозина не наблюдали дополнительной вакуолизации клеток, митохондрии сохраняли ортодоксальный вид с многочисленными кристами, как и при действии одного карнозина (рис. 5, а, в). Через 23 ч инкубации корней в присутствии ДМ и карнозина начинали выявляться признаки нарушения целостности клеток, хотя митохондрии сохраняли ортодоксальный вид, но происходили вакуолизация и сжатие тонопласта (рис. 5, б). В то же время при длительном воздействии одного карнозина нарушения ультраструктуры выявлено не было, митохондрии имели ортодоксальный вид (рис. 5, з).

Обсуждение

Как уже отмечалось, ДМ приводит к ингибированию потребления кислорода корнями примерно на 20 % (рис. 1). Это ингибирование потребления кислорода происходило в течение 5-часовой инкубации корней в ДМ. Подавление дыхания корней наблюдалось и через 23 ч инкубации корней с ДМ. Влияет ли ДМ на митохондриальное окисление? По существующим данным, ДМ оказывает действие на митохондрии в области 3-го комплекса электрон-транспортной цепи и тем самым приводит к увеличению продукции перекиси водорода и запускает апоптоз (Tomomura et al., 2003). Ранее отмечалось, что ДМ действует непосредственно на митохондрии: снижает митохондриальный мембранный потенциал и способствует выходу цитохрома c, что также свидетельствует о начале апоптоза в клетках (Hegardt et al., 2003).

Снижение митохондриального мембранного потенциала может быть связано с влиянием ДМ на протонную проводимость мембран. Было показано, что ДМ специфически увеличивал протонную проводимость митохондрий клеток крыс (Rousell et al., 2003). Таким образом, анализ

данных из литературы показывает, что ДМ может влиять на митохондриальный аппарат клеток.

О действии ДМ на митохондрии растительных клеток свидетельствуют и наши данные. Можно полагать, что ДМ оказывал влияние в области I комплекса митохондрий, ингибируя окисление НАДН. Ранее было показано, что кортикоидные гормоны приводят к увеличению потока восстановительных эквивалентов из митохондрий (снижение соотношения НАД/НАДН в цитозоле) (Деркачев, 1978). Если ДМ ингибирует поток электронов через комплекс I, то можно было бы ожидать, что ЯК, которая окисляется через комплекс II, будет снимать ингибирующее влияние ДМ на потребление кислорода. Действительно, оказалось, что на фоне ДМ ЯК стимулирует потребление кислорода (рис. 2), что является косвенным подтверждением высказанного предположения.

В наших экспериментах ДМ не изменял дыхательного коэффициента, и подавление дыхания не сменялось стимуляцией потребления кислорода. Можно полагать, что ДМ влиял не только на митохондриальный аппарат клетки, но ингибировал и другие системы, производящие энергию. Одной из таких систем может быть гликолиз. В работе Деркачева (1978) отмечается, что глюкокортикоиды затормаживают окислительный распад углеводов и что это приводит к снижению функциональной и биосинтетической активности большинства клеток. Там же показано угнетение гликолиза глюкокортикоидами, которое свя-

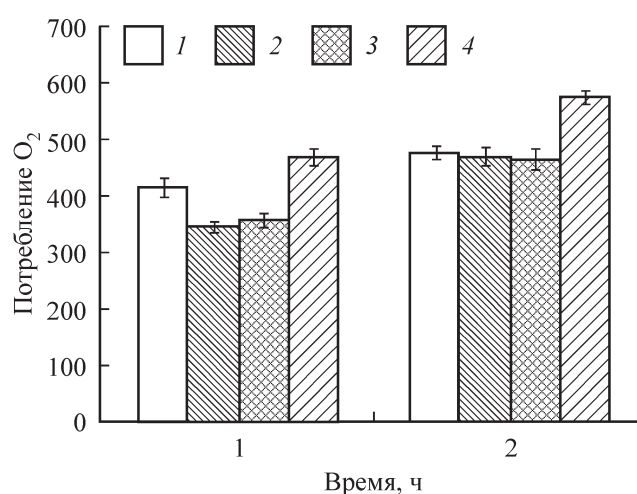


Рис. 3. Влияние дексаметазона и глюкозы на потребление кислорода отсеченными корнями пшеницы.

1 — контроль (2.5 · 10⁻⁴ М CaCl₂), 2 — ДМ (10⁻⁵ М), 3 — ДМ (10⁻⁵ М) + глюкоза (2.5 · 10⁻² М), 4 — глюкоза (2.5 · 10⁻² М).

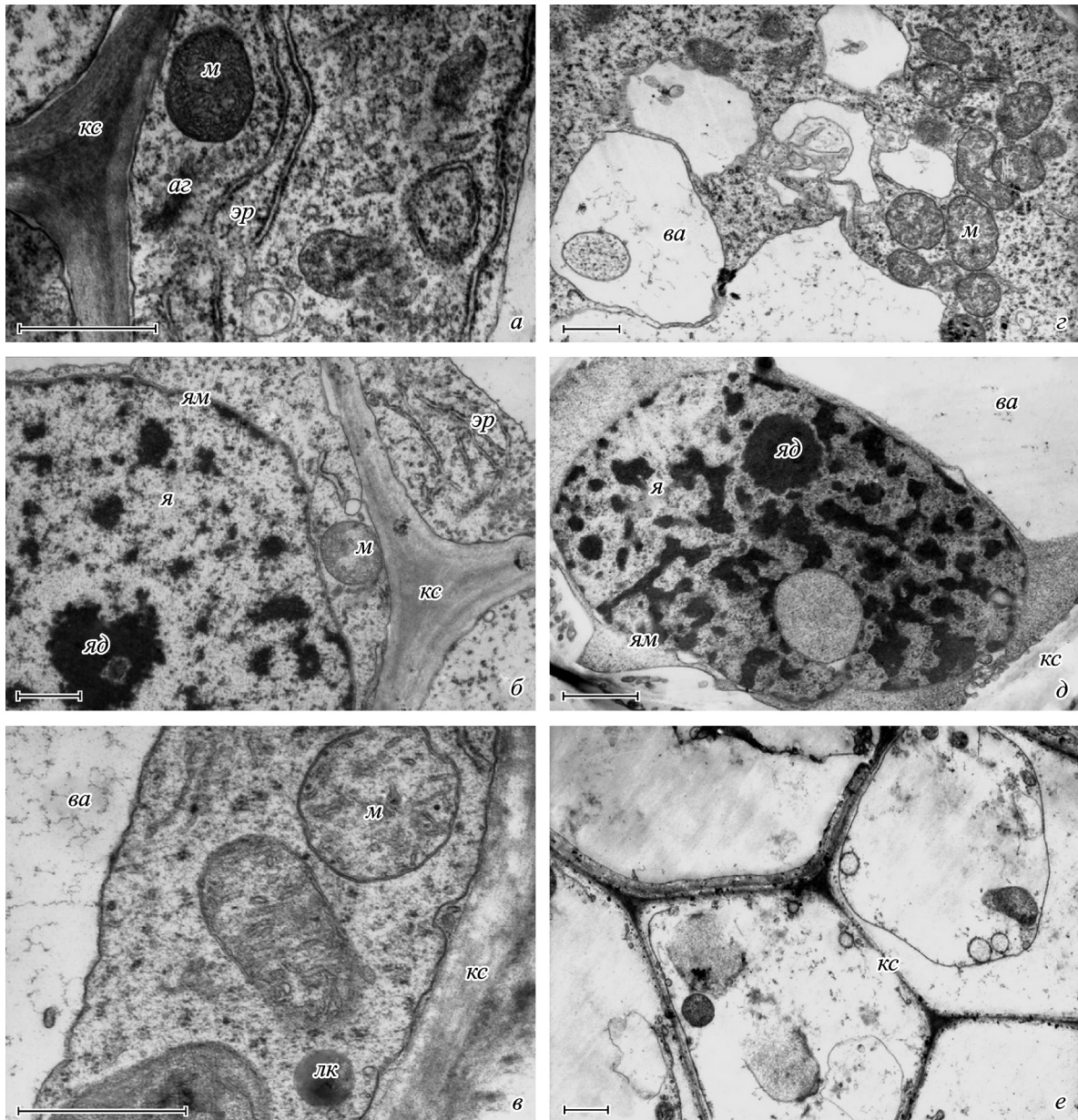


Рис. 4. Изменения ультраструктуры клеток корней пшеницы при действии ДМ в концентрации 10^{-5} М.

a — клетки нативных корней, митохондрии ортодоксального вида; *б* — контроль, 5 ч инкубации, митохондрии не отличаются от оргanelл в исходных клетках; *в* — контроль, 23 ч инкубации, матрикс митохондрий слегка просветлен; *г* — ДМ, 5 ч, образование цитоплазматических вакуолей, просветление матрикса митохондрий; *д* — ДМ, 23 ч, изменение формы ядра, конденсация хроматина, расширение перинуклеарного пространства; *е* — ДМ, 23 ч, полностью разрушенные клетки корня. *аг* — аппарат Гольджи, *ва* — вакуоль, *кс* — клеточная стенка, *лк* — липидная капля, *м* — митохондрия, *эр* — эндоплазматический ретикулум, *я* — ядро, *яд* — ядрышко, *ям* — ядерная мембрана. Масштабные отрезки — 1 мкм.

зано с ингибированием переноса и фосфорилирования глюкозы (Деркачев, 1978).

Полученные нами результаты показали, что глюкоза (субстрат гликолиза) стимулирует потребление кислорода (рис. 3). При этом ДМ предотвращает усиленное глюкозой потребление кислорода. Это косвенно подтверждает предположение о том, что ДМ является блокатором гликолиза.

Можно полагать, что ДМ вызывал угнетение энергетического обмена, которое реализуется последовательно через подавление гликолиза и перенос электронов по дыхательной цепи. Такие изменения в энергетическом обмене могут быть причиной программируемой клеточной смерти, но не обязательно через апоптоз. При выключе-

нии гликолиза и фосфорилирования (одновременно) происходит некротическая гибель клеток (Дзюбинская и др., 2006).

Известно, что у растений встречаются три типа программируемой клеточной гибели: апоптозоподобная клеточная смерть, гибель клеток по типу умирания стареющих клеток в листе и такая клеточная смерть, в которой центральную роль играет вакуоль (Александрюшкина и др., 2004). Апоптоз у растений может происходить с участием вакуолярных гидролитических ферментов (Самуилов, 2001). При индукции апоптоза, например, цианидом значительно увеличивался объем вакуолей и уменьшался объем цитоплазмы. При этом почти не изменялась ультраструктура митохондрий. Отмечается, что при развитии

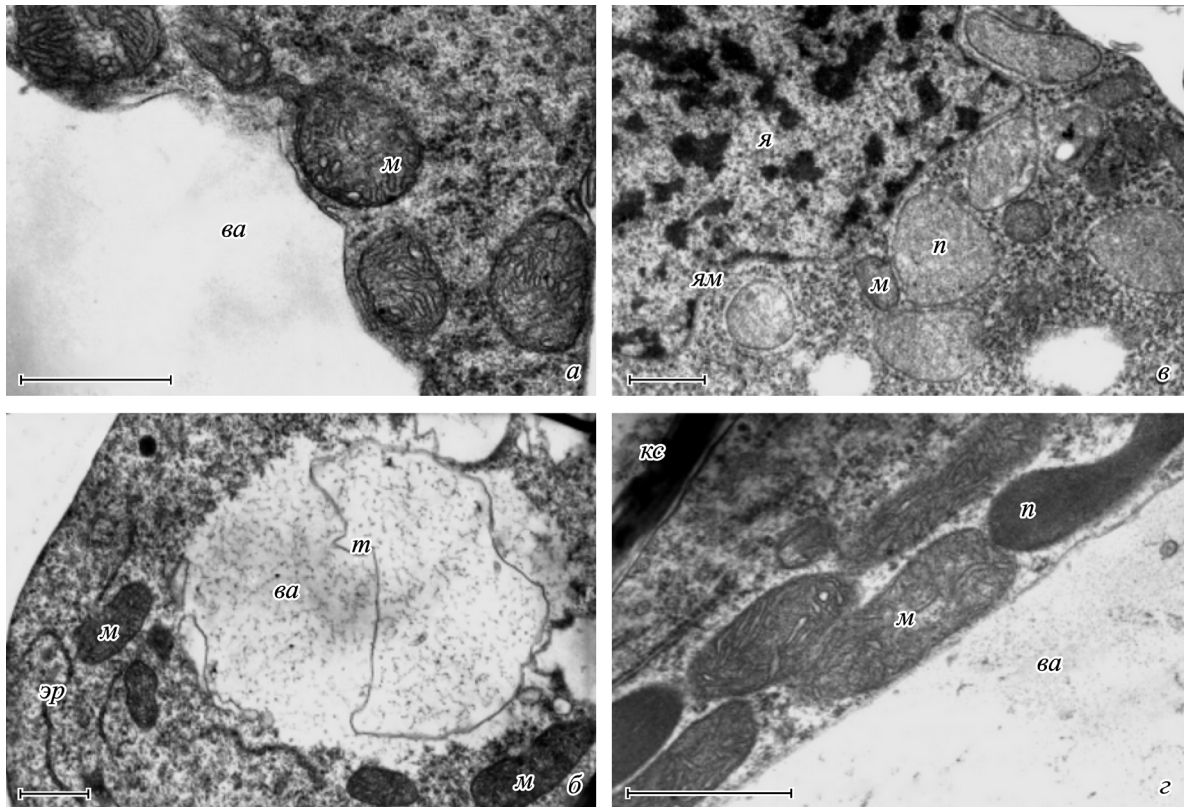


Рис. 5. Изменение ультраструктуры клеток корней пшеницы при действии карнозина ($2 \cdot 10^{-2}$ М) и карнозина совместно с ДМ (10^{-5} М).

а — ДМ и карнозин, 5 ч, ортодоксальные митохондрии; *б* — ДМ и карнозин, 23 ч, вакуолизация клетки, сжатие тонопласта; *в, г* — ортодоксальные митохондрии при инкубации с карнозином соответственно через 5 и 23 ч. *п* — пластида, *т* — тонопласт; остальные обозначения те же, что и на рис. 4. Масштабные отрезки — 1 мкм.

апоптоза выявляется популяция митохондрий с нормальной ультраструктурой (Бакеева и др., 2005).

В наших экспериментах ДМ вызывал небольшое просветление матрикса митохондрий и значительную вакуолизацию клеток уже через 5 ч инкубации (рис. 4, *з*). При этом в центре вакуолей могли находиться остатки цитоплазмы и отдельных органоидов. Через 23 ч действия ДМ ультраструктура основной части клеток была нарушена (рис. 4, *е*). Интерес представляют данные о конденсации хроматина в ядре, что является одним из основных признаков апоптоза в растительных клетках (O'Brien et al., 1998; Замятина и др., 2002). Ядро в клетке имеет неправильную форму, образует инвагинации, кроме того, наблюдается набухание перинуклеарного пространства (рис. 4, *д*). Описанные изменения соответствуют процессу пикнотического разрушения ядра (Гуляев, 1970). Таким образом, ДМ непосредственно не только влияет на ультраструктурную организацию ядра, но и изменяет его функциональную активность, а также ядерно-цитоплазматические отношения в клетке. Можно предположить, что эти изменения связаны с программируемой клеточной смертью.

Таким образом, под влиянием ДМ происходит разрушение клеток, нарастающее по времени. Это согласуется с представлением о том, что клеточная смерть не рассматривается в контексте катастрофического разрушения клеточной целостности, а представляется конечной точкой каскада определенных метаболических событий. Молекулярные разрушения, возникающие при повреждающих воздействиях, не являются обязательной причиной гибели

конкретной клетки. Это только сигнал к таким изменениям, которые в некоторых клетках приводят к смерти. В таком случае могут включаться события, не только ведущие к гибели, но и связанные с ингибированием процессов, ведущих к смерти, т. е. с выживанием (Новожилова и др., 1996). Эти же авторы отмечают, что изменение и дезорганизация внутриклеточных биохимических процессов — еще обратимая стадия развития клеточного коллапса. Однако по мере накопления протонов процесс приобретает качественно иной характер, поскольку сверхкритическое уменьшение рН является стимулом для активации биохимических процессов, в норме себя не проявляющих (Новожилова и др., 1996).

В работе Сапуновой с коллегами (2002) отмечается, что апоптоз является рН-зависимым процессом. Даже небольшое закисление среды приводит к развитию апоптоза. Этими авторами показано, что рН-буфер препятствует сильному снижению рН, хотя возможность небольших локальных изменений рН внутри клеток исключить нельзя. Возможно, что именно такие изменения играют роль сигнала апоптоза. В настоящее время установлено, что подавление дыхания различными ингибиторами сопровождается подкислением цитоплазмы (Лейкина и др., 1990; Трофимова, 2003). Можно полагать, что и в присутствии ДМ в нашем случае имеет место подкисление цитоплазмы: на фоне ДМ через 5 ч рН раствора инкубации был несколько выше, чем в контроле (6.4 ± 0.2 против 5.8 ± 0.1 в контроле). Более высокое значение рН раствора в присутствии ДМ является показателем движения протонов внутрь корневых клеток.

Если это так, то использование буфера pH, в частности карнозина, должно предотвращать действие ДМ. Наши эксперименты показали, что подавление дыхания ДМ полностью предотвращается карнозином (рис. 1). В присутствии карнозина поглощение кислорода было даже выше, чем в контроле. Такая же тенденция (снятие действия ДМ карнозином) частично сохранялась и через 23 ч инкубации корней с ДМ. Показательно, что карнозин в значительной степени предотвращал влияние ДМ на изменение ультраструктуры клеток, особенно при многочасовой инкубации. Не обнаруживалось сильной вакуолизации клеток в этих условиях в течение 5 ч инкубации корней.

Даже через 23 ч совместной инкубации деструктивные изменения в клетках проявлялись значительно слабее (рис. 5, б). Сам карнозин в течение длительной инкубации не оказывал серьезного влияния на ультраструктуру митохондрий, пластид и ядра клеток (рис. 5, в, г). Болдырев (2000) отмечает, что карнозин проявляет свою способность препятствовать клеточной смерти, оберегая клетки от апоптоза, а также от трансформации легкого некроза в тяжелый.

По данным Новожиловой с сотрудниками (1996), наиболее ранние проявления клеточного ответа сопровождались нарушением энергетики. Некоторые авторы (Сафронов и др., 1996) полагают, что воздействие, приводящее к нарушению функции митохондрий, могут рассматриваться как гипотетические индукторы апоптоза. В наших опытах ДМ, по-видимому, приводил к клеточной гибели не столько по пути апоптоза, сколько по пути, в котором причиной гибели является чрезмерная вакуолизация. В развитие клеточной гибели определенным вклад вносят закисление цитоплазмы, вакуолизация клеток, частичное блокирование ДМ энергетического обмена, в частности гликолиза и митохондриального окисления.

Список литературы

- Александрюшкина Н. И., Замятина В. А., Бакеева Л. Е., Середина А. В., Смирнова Е. Г., Ягужинский Л. С., Ванюшин Б. Ф. 2004. Апоптоз у проростков пшеницы при нормальном световом дне. Биохимия. 69 (3) : 356—366.
- Бакеева Л. Е., Дзюбинская Е. В., Самуилов В. Д. 2005. Программируемая клеточная смерть у растений: ультраструктурные изменения в устьичных клетках гороха. Биохимия. 70 (9) : 1177—1185.
- Болдырев А. А. 2000. Дискриминация между апоптозом и некрозом нейронов под влиянием окислительного стресса. Биохимия. 65 (7) : 981—990.
- Гуляев В. А. 1970. Электронномикроскопическая характеристика пикнотической дегенерации ядра. В кн.: Клеточное ядро и его ультраструктура. М.: Наука. 348—355.
- Деркачев Э. Ф. 1978. Метаболическая связь печени и лимфатической ткани при радиационном и глюкокортикоидном стрессах. В кн.: Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. М.: Наука. 123—140.
- Дзюбинская Е. В., Киселевский Д. Б., Лобышева Н. В., Шестаков А. А., Самуилов В. Д. 2006. Гибель устьичных клеток в эпидермисе листьев при нарушении энергообеспечения. Биохимия. 71 (10) : 1383—1391.
- Замятина В. А., Бакеева Л. Е., Александрюшкина Н. И., Ванюшин Б. Ф. 2002. Апоптоз у этилированных проростков

пшеницы. 1. Характерная ультраструктура апоптозной клетки. Физиол. раст. 49 (6) : 828—838.

Клименко К. С. 1973. Влияние гормонов надпочечников на окислительное фосфорилирование в митохондриях головного мозга. В кн.: Митохондрии. Биохимия и ультраструктура. М.: Наука. 84—86.

Лейкина М. И., Литинская Л. Л., Полякова И. А., Зорев Д. Б. 1990. Изменение дыхания и внутриклеточного pH в культуре клеток при действии олигомицина. ДАН СССР. 312 (5) : 1253—1255.

Новожилова А. П., Плужников Н. Н., Новиков В. С. 1996. Механизмы клеточной смерти: проблемы и перспективы. В кн.: Программируемая клеточная гибель. СПб.: Наука. 9—30.

Самуилов В. Д. 2001. Программируемая клеточная смерть у растений. Соросовский образоват. журн. 7 (10) : 12—17.

Сапрунова В. Б., Казимирчук С. А., Тоньшин А. А., Бакеева Л. Е., Ягужинский Л. С. 2002. Индукция апоптоза в миокарде в условиях аноксии. Биохимия. 67 (2) : 293—302.

Сафронов Г. А., Пиенкина Н. Н., Ивницкий Ю. Ю., Панина Е. В. 1996. Возможные пути влияния химических агентов и ионизирующих излучений на процессы апоптоза. В кн.: Программируемая клеточная гибель. СПб.: Наука. 209—217.

Семихатова О. А., Чулановская М. В. 1965. Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза. М.: Наука. 168 с.

Тронов В. А. 1999. Репарация ДНК и апоптоз. Цитология. 41 (5) : 405—410.

Трофимова М. С. 2003. Ионный гомеостаз растительной клетки и механизмы его регуляции: Автореф. докт. дис. М.: 51 с.

Черкасова Л. С., Тайц М. Ю., Тыртышина Г. Ф., Филимонов М. М. 1968. Влияние кортизола на активность некоторых дегидрогеназ, цитохромоксидазы и поглощение кислорода митохондриями головного мозга. В кн.: Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция. М.: Наука. 189—192.

Amirsadeghi S., McDonald A. E., Vanlerberghe G. C. 2007. A glucocorticoid-inducible gene expression system can cause growth defects in tobacco. Planta. 226 : 453—456.

Aoyama T., Chua N. H. 1997. A glucocorticoid-mediated transcriptional induction system in transgenic plants. Plant J. 11 : 605—612.

Astot C., Dolezal K., Nordstrom A., Wang Q., Kunkel T., Moritz T., Chua N. H., Sandberg G. 2000. An alternative cytokinin biosynthesis pathway. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 97 : 4778—4783.

Druilhe A., Letuve S., Pretolani M. 2003. Glucocorticoid-induced apoptosis on human eosinophils: mechanisms of action. Apoptosis. 8 : 481—495.

Hegardt C., Andersson G., Oredsson S. M. 2003. Spermine prevents cytochrome c release in glucocorticoid-induced apoptosis in mouse thymocytes. Cell Biol. Int. 27 : 115—121.

O'Brien I. E., Murray B. G., Baguley B. C., Morris B. F., Ferguson I. B. 1998. Major changes in chromatin condensation suggest the presence of an apoptotic pathway in plant cells. Exp. Cell Res. 241 : 46—54.

Padidam M. 2003. Chemically regulated gene expression in plants. Curr. Opin. Plant Biol. 6 : 169—177.

Roussel D., Dumas J. F., Augeraud A., Douay O., Fousard F., Malthiery Y., Simard G., Ritz P. 2003. Dexamethasone treatment specifically increases the basal proton conductance of rat liver mitochondria. FEBS Lett. 541 : 75—79.

Tonomura N., McLaughlin K., Grimm L., Goldsby R. A., Osborne B. A. 2003. Glucocorticoid-induced apoptosis of thymocytes: requirement of proteasome-dependent mitochondrial activity. J. Immunol. 170 : 2469—2478.

THE EFFECT OF APOPTOSIS INDUCTOR DEXAMETHASONE ON THE ENERGY EXCHANGE AND ULTRASTRUCTURE OF PLANT CELLS

D. F. Rahmatullina,¹ L. Kh. Gordon, A. A. Ponomareva, T. I. Ogorodnikova

Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Science Center RAS;

¹ e-mail: rahmatullina@mail.knc.ru

Changes in respiration and cell ultrastructure induced by long-term incubation with dexamethasone (DM) in excised roots of 5-day old wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings were investigated. During 5 h incubation of roots with DM, oxygen consumption was inhibited by 20—30 %, while respiratory coefficient did not change and its value was about 1. DM prevented from glucose-induced activation of respiration, which indicated blockade of glycolysis and decrease in oxygen uptake by this apoptotic inductor. It has been suggested that the respiratory inhibition by DM might be also connected with the influence of DM on the 1st segment of mitochondrial electron transport chains. This suggestion is supported by the fact that succinate prevented DM-induced inhibition of respiration. Furthermore, stabilization of intracellular pH by dipeptide carnosine abolished inhibitory effect of DM on respiration. Probably depression of oxygen consumption by DM is also due to acidification of cytoplasm. Strong vacuolization of cytoplasm, one of the characteristics of cell death, occurred in 5 h after treatment of roots with DM. Vacuolization was to a great extent prevented by carnosine. The ultrastructure of root cells after long-term (23 h) treatment with DM was disturbed, and oxygen consumption was also dramatically decreased. These effects of DM were in part prevented by carnosine. The data obtained suggest that DM causes acidification of cytoplasm, disturbance of energy exchange and cytoplasm vacuolization in root cells, and induces death of these cells.

Key words: dexamethasone, wheat roots, oxygen consumption, pH, glycolysis, apoptosis.
