

В. И. ТОКАРСКАЯ, С. Р. УМАНСКИЙ, О. И. СКОТНИКОВА,
член-корреспондент АН СССР А. М. КУЗИН

АКТИВАЦИЯ БИОСИНТЕЗА РНК В ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКЕ ОБЛУЧЕННЫХ КРЫС

До настоящего времени большая часть работ по радиационному нарушению метаболизма рибонуклеиновых кислот проводилась спустя два и более часов после воздействия ионизирующей радиации (обз. ⁽¹⁻³⁾). В этот период реакция клеток и тканей на облучение маскируется нейро-гуморальными сдвигами (⁽⁴⁻⁶⁾) и гибелью части клеток в быстро пролиферирующих тканях.

В то же время данные о метаболизме РНК в самые ранние сроки после облучения чрезвычайно ограничены (⁽⁷⁾). Между тем, именно в этот период

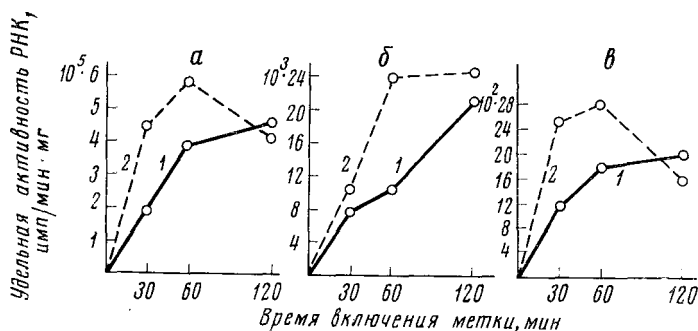


Рис. 1. Кинетика включения метки в ядерную (а) и цитоплазматическую (б) РНК печени крыс и ядерную РНК селезенки (в). 1 — контроль, 2 — облучение

следует ожидать наибольших аномалий процесса транскрипции вследствие появления различных радиационных дефектов в генетическом аппарате клетки.

Целью данной работы явилось изучение начальных этапов радиационного нарушения биосинтеза рибонуклеиновых кислот в различных по радиочувствительности органах крыс: печени и селезенке.

Работа проводилась на крысах-самцах породы Вистар (150—180 г). Животных подвергали облучению в дозе 800 р гамма-лучами ¹³⁷Cs на установке ГУПОС с мощностью дозы 409 рад/мин. В первой серии опытов 2 ¹⁴C-оротовая кислота инъецировалась контрольным и облученным животным (200 мкС на 100 г веса) тотчас после облучения. Спустя 30, 60 и 120 мин. животных забивали и ядерную РНК выделяли, как описано нами в работе (⁽⁸⁾). Для получения цитоплазматической РНК ядра и митохондрии отделяли центрифугированием гомогената (в 0,32 М сахарозе, 3 мМ MgCl₂, 0,01 М трис-HCl, pH 7,2) и из надосадочной жидкости выделяли РНК обработкой 0,5% додецилсульфатом натрия — горячим (70°) фенолом. Радиоактивность определяли в жидкостном сцинтилляционном счетчике после осаждения РНК на нитроцеллюлозные фильтры в присутствии носителя.

На рис. 1а, б представлены данные по кинетике включения ¹⁴C-оротовой кислоты в ядерные и цитоплазматические РНК печени контрольных и облученных крыс. В контроле удельная активность ядерной РНК воз-

растает с увеличением продолжительности метки. В печени облученных животных удельная активность РНК резко повышается (в 2, 3 раза) в первые 30 мин. метки. Через 1 час активность РНК превышает контрольные величины на 50% и к двум часам метки этот показатель оказывается примерно одинаковым для контрольных и облученных животных.

Удельная активность цитоплазматической РНК из печени также превышает контрольные величины. Наибольшая разница (в 2,5 раза) отмечается при 60-минутной метке, что связано с переходом к этому времени из ядра в цитоплазму части РНК, синтезированной в первые 30 мин. после облучения.

Кинетика включения метки в ядерную РНК селезенки контрольных и облученных животных приведена на рис. 1в. Проследить удельную активность цитоплазматической РНК селезенки оказалось невозможным из-за ее низкой удельной радиоактивности. Как видно на рисунке, в селезенке также наблюдается активация синтеза РНК. Характер изменений удельной активности ядерной РНК селезенки оказывается примерно таким же, как в печени. Через 30 мин. отмечается «вспышка» синтеза РНК,— удельная активность новообразованной РНК более чем в два раза превышает контрольные величины. При 60-минутной метке удельная активность РНК превышает контроль на 50% и через два часа после облучения оказывается ниже контроля на 20%. Аналогичные данные в отношении синтеза РНК в селезенке в первые 30 мин. после облучения были получены при использовании ^{32}P -ортофосфорной кислоты в качестве предшественника.

При продолжительной метке животных удельная активность выделенных препаратов РНК определяется как скоростью ее биосинтеза, так и кинетикой распада. Ранее нами было показано, что облучение приводит (хотя и в различной степени) к усилению распада быстросмещающихся ядерных РНК в селезенке и печени крыс (⁹). Именно этим объясняется, по-видимому, падение удельной активности ядерных РНК из органов облученных крыс между 1 и 2 часами метки. Поэтому в следующей серии опытов метку (2 ^{14}C -оротовая кислота, 70 мкС на 100 г веса) контрольным и облученным крысам вводили за 30 мин. до забоя.

Таким образом, продолжительность включения метки в РНК была везде одинаковой и небольшой и нарушение процессинга не должно было существенно отразиться на удельной активности ядерной РНК. Параллельно выделяли кислоторастворимую фракцию и определяли ее активность на 1 г ткани. Полученные данные представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что удельная активность ядерной РНК печени и селезенки через 30 мин. после облучения составляет 200% от контроля. Активность кислоторастворимой фракции в селезенке не изменена, а в печени повышена всего лишь на 20%. Таким образом, увеличение удельной активности ядерных РНК действительно связано с активацией синтеза, а не с повышением удельной активности предшественников. К двум часам после облучения скорость синтеза РНК в печени полностью, а в селезенке частично нормализуется.

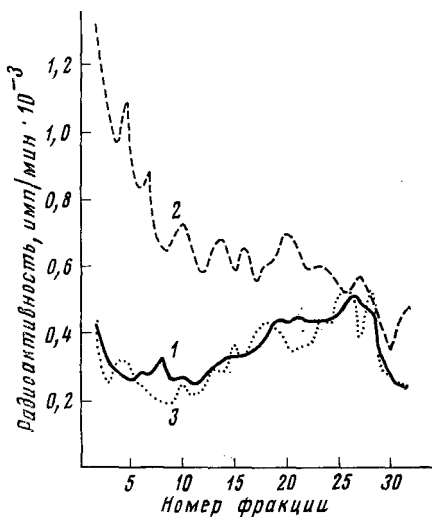


Рис. 2. Седиментограмма ядерных РНК из печени крыс. Градиент сахарозы 5–20%, «Spinco», ротор SW-39, 3 часа, 3800 об/мин. 1 — контроль; 2 — РНК, меченная в первые 30 мин. после облучения; 3 — РНК, меченная между 90 и 120 мин. после облучения

Популяция новообразованных после облучения РНК в печени также исследовалась методом ультрацентрифугирования в сахарозном градиенте. На седиментограмме (рис. 2, 2) отчетливо обнаруживается «сверхпродукция» гигантских ядерных РНК в первые 30 мин. после облучения. И хотя спектр РНК, меченных ко второму часу после облучения (рис. 2, 3), когда в клетке заканчиваются основные репарационные процессы, не отличается от контроля, облученный организм содержит избыточное количество молекул ядерной РНК, которая в дальнейшем может привести к нарушению нормальной работы клетки.

Таблица 1

Включение метки в кислоторастворимую фракцию (КРФ)
и ядерную РНК печени и селезенки облученных крыс

Объект	К	O ₁	O ₁ /K, %	O ₂	O ₂ /K, %
Печень					
КРФ	4,2·10 ⁶	5,1·10 ⁶	121	4,6·10 ⁶	109
РНК	10 ⁵	2,04·10 ⁵	204	0,97·10 ⁵	97
Селезенка					
КРФ	2,6·10 ⁵	2,5·10 ⁵	97	2,03·10 ⁵	78
РНК	1,2·10 ³	2,7·10 ³	225	1,08·10 ³	150

Примечание. К — необлученные крысы; O₁ — метка от 0 до 30 мин. после облучения; O₂ — метка от 90 до 120 мин. после облучения. Активность КРФ дана в имп/мин на 1 г ткани, удельная активность РНК — в имп/мин на 1 мг РНК.

Таким образом, тотальное облучение крыс в дозе 800 р вызывает однонаправленные изменения в ткани печени и селезенки (резкую активацию синтеза РНК в первые 30 мин. после облучения). Показанные ранее в целом ряде работ (¹⁰) усиление синтеза РНК в печени и угнетение в селезенке в более поздние сроки после облучения являются, по-видимому, вторичным эффектом, связанным, в частности, с повышением концентрации кортикостероидов в крови облученных животных.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушкино Московской обл.

Поступило
20 XI 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Е. Комар, К. П. Хансон, Информационные макромолекулы при лучевом повреждении клеток, М., Атомиздат, 1972.
- ² В. И. Токарская, В кн.: Молекулярная радиобиология, М., Атомиздат, 1972.
- ³ А. М. Кузин, Молекулярная радиобиология клеточного ядра, М., Атомиздат, 1973.
- ⁴ D. S. Pradhan et al., Book of Abstr. V Intern. Congr. Radiat. Res., Seattle, 1974, p. 120.
- ⁵ R. Goutier, W. Balyens, ibid., p. 121.
- ⁶ M. Yalvin, Experientia, v. 26, 4, 490 (1970).
- ⁷ S. Omata et al., J. Radiation Res., v. 10, 1, 17 (1969).
- ⁸ О. И. Скотникова и др., Радиобиология, т. 15, 5, 643 (1975).
- ⁹ V. I. Tokarskaya et al., Intern. J. Radiat. Biol., v. 27, 6, 533 (1975).
- ¹⁰ И. Ф. Паскевич и др., Радиобиология, т. 10, 1, 19 (1970).