

УДК 577.391+547.963.3+591.443

РАДІОГЕННІ ЗМІНИ ВМІСТУ ДНК У СЕЛЕЗІНЦІ ЗА ОПРОМІНЕННЯ ТВАРИН

Петрина Л.Г.

Радіогенні зміни вмісту днк у селезінці за опромінення тварин. – Л.Г. Петрина. – Експериментальні дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар з початковою масою тіла 150-180 г. Одноразове опромінення тварин у дозах 0,2; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 та 9,0 Гр проводили за потужності дози 0,1 Гр/хв. Вміст нуклеїнових кислот у селезінці визначали через 0,5; 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 діб після впливу. Контрольні обстеження проводили одночасно з кожною серією досліду на тваринах відповідного віку. Результати експерименту показали, що під впливом γ -випромінювання вміст ДНК у селезінці тварин змінювався залежно від функціонального стану організму і розвитку патологічного процесу.

Ключові слова: γ -опромінення, доза, ДНК у селезінці.

Адреса: Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра медичної інформатики, медичної та біологічної фізики, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ, 76000, Україна, e-mail: petryna_l@ukr.net

Radiogenic changes in DNA content in spleen by irradiation of animals. – L. Petryna. – Experimental researches are conducted on male rats of Vistar line with the initial mass of body 150-180 grams. Single irradiation of animals are conducted in doses of 0,2; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 and 9,0 Gy with powers of a dose 0,1 Gy/min. The contents of nucleonic acids in a spleen are detected in 0, 5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 days after the influence. Control tests were conducted simultaneously with each series of investigation conducted on animals of corresponding age. Results of the experiments show that the RNA contents in the spleen of animals are change wavily under the influence of irradiation depending on the functional condition of an organism and development of the pathological process.

Key words: irradiation, dose, DNA in a spleen.

Address: Ivano-Frankivsk national medical university, Department of medical computer science, medical and biological physics, Halyska 2, c. Ivano-Frankivsk, 76000, Ukraine, e-mail: petryna_l@ukr.net.

Вступ

Іонізуюча радіація активізує або індукує захисні системи організму, впливає на функціональні підсистеми, які зводять до мінімуму пряму дію випромінювання, відновлюють функції і репарують пошкодження. Особливу роль в процесах відновлення відіграють макромолекули ДНК селезінки, гетерогенного органу імунної системи, яка містить, окрім лімфоїдних, еритроцити, нейтрофіли, стовбурові, ретикулярні та інші клітини. Ефект впливу радіації після реалізації відновлюючих процесів залежить від їх співвідношення з процесами прямої дії [1,2]. Співвідношення деструктивно-некротичних і відновних процесів у селезінці певною мірою відображає коефіцієнт РНК/ДНК.

Дослідження нуклеїнових кислот у селезінці є важливим, бо може відобразити участь цього органу в компенсації кровотворення за дії γ -випромінювання. Лімфоїдні клітини селезінки відрізняються чутливістю до дії радіації за ступенем диференціації, належністю до різних субпопуляцій [1, 2].

Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 150-180 г. Тварин утримували на стандартному раціоні при вільному доступі до води. Разове тотальне опромінення тварин у дозах 0,2; 0,5; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 та 9,0 Гр за потужності дози 0,1 Гр/хв проводили від джерела ^{60}Co . В кожній експериментальній і контрольній групі використовували по 10 тварин. Адекватним контролем слугували удавано опромінені тварини відповідної вікової групи, яких утримували в аналогічних умовах. Експеримент проводили у квітні-липні, отже, були враховані сезонні зміни радіочутливості. У тварин контрольної групи показники визначали в той же день, що й у опромінених тварин, яких обстежували через 0,5; 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 діб після впливу іонізуючої радіації (і тільки тварин, опромінених в дозах 7,0 і 9,0 Гр, обстежували протягом 20 і 15 діб, відповідно). Вміст нуклеїнових кислот визначали за методикою [3].

Результати й обговорення

Вміст ДНК у селезінці тварин, опромінених у дозах 0,2 і 0,5 Гр, коливався в межах норми, тільки через 6 - 8 діб відзначена тенденція до його зменшення (рис. 1). Збільшення дозового навантаження до 1,0 Гр викликало через 6-10 діб статистично достовірне зменшення вмісту ДНК в органі (на 19-23%) порівняно з контролем. Після опромінення тварин в дозі 3,0 Гр спостерігали достовірне зменшення вмісту

ДНК з 1-ї до 15-ї доби. Відновлювався вміст ДНК швидше, ніж вміст РНК [4]. Впродовж 2-х діб вміст ДНК у селезінці щурів спадав пропорційно до дози впливу.

Залежність вмісту ДНК від дози через 4 доби змінювалася у тварин, опромінених у дозі 9,0 Гр, в інших групах тварин ця залежність збереглася (рис.2).

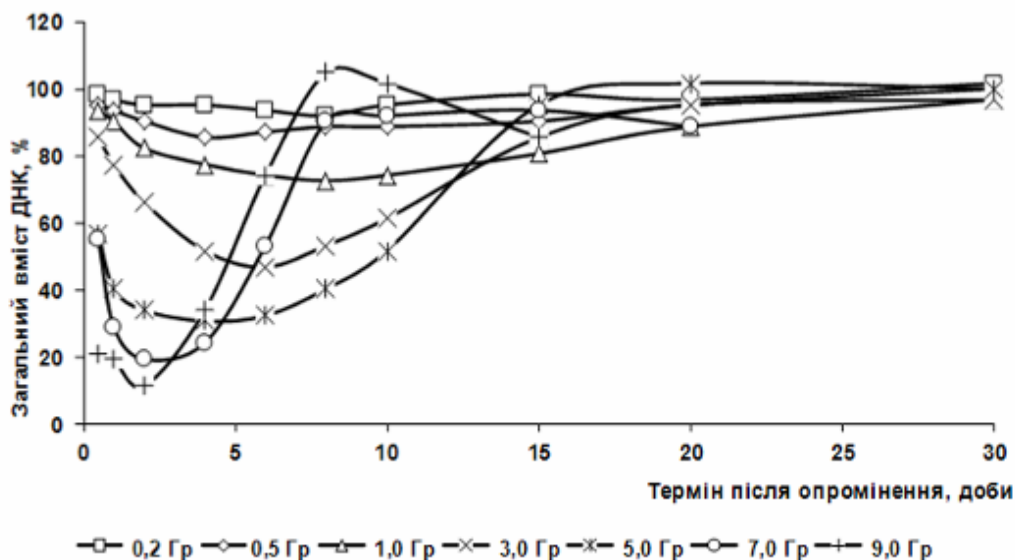


Рис. 1. Динаміка загального вмісту ДНК в селезінці в ранні терміни після опромінення щурів в різних дозах (% від контролю)

Fig. 1. Dynamics of DNA content in the spleen at early times after exposure of rats at different doses (% of control)

У тварин, опромінених у дозах 7,0 та 9,0 Гр, зниження вмісту ДНК продовжувалося до 2-ї доби; у тварин, опромінених в дозах 3,0 і 5,0 Гр, найбільш виражений спад вмісту ДНК у селезінці тварин відзначено через 6 діб. В наступні доби у тварин, опромінених у дозах 7,0 та 9,0 Гр, відзначено швидке зростання вмісту ДНК. У тварин, опромінених у дозі 7,0 Гр, величина вмісту ДНК впродовж 8-20-ї доби сягає величини показника контролю, а нормалізація вмісту ДНК в селезінці тварин, опромінених у дозі 9,0 Гр, не була стійкою і в подальшому відзначено повторне виражене зменшення її вмісту.

Вміст ДНК в 1 г тканин може свідчити про зміни вмісту ДНК в самих клітинах, а не про клітинне спустошення селезінки внаслідок опромінення. У селезінці щурів не відзначено закономірних змін концентрації ДНК після опромінення їх в дозах 0,2, 0,5 і 1,0 Гр (рис.3). У щурів, опромінених в дозі 3,0 Гр, вона була достовірно зниженою з 2-ї до 6-ї доби.

Найбільше виражений спад концентрації ДНК у селезінці тварин, опромінених в дозах 3,0 Гр, відзначено через 6 діб; у тварин, опромінених в дозі 7,0 Гр, – через 4 доби. У тварин, опромінених у дозі 5,0 Гр, зниження концентрації ДНК продовжувалося до 2-ї доби. В наступні терміни концентрація ДНК зростала, досягаючи максимальних значень через 15-20 діб після опромінення. Повного відновлення концентрації ДНК у тварин, опромінених в дозах 3,0 і 5,0 Гр, до кінця першого місяця спостережень не відзначено. У тварин, опромінених в дозі 9,0 Гр, найнижча концентрація ДНК спостерігалася в перші години. Починаючи з 12 год після опромінення тварин в дозі 9,0 Гр, і з 4-ї доби після опромінення тварин у дозах 7,0 і 9,0 Гр відзначено швидке зростання концентрації ДНК. Нормалізація концентрації ДНК в селезінці в цих групах тварин не була стійкою і в подальшому відзначено повторне виражене її зменшення, яке визначалося зниженням маси селезінки. Зменшення концентрації ДНК було більше виражене, ніж РНК. Високий вміст ДНК на ядро може вказувати на поліплоїдію клітин селезінки.

Обернену залежність концентрації ДНК у селезінці від дози спостерігали через 0,5 доби після впливу радіації (рис. 4) в діапазоні доз 3,0-5,0 та 7,0-9,0 Гр, через 1-у добу – в діапазоні доз 3,0-5,0 Гр, через 2-і доби – в діапазоні доз 1,0-7,0 Гр, через 4 доби – в діапазоні доз 1,0-5,0 Гр. Через 4

доби концентрація ДНК у тварин, опромінених у дозі 7,0 Гр, була на такому ж рівні, що і у тварин, опромінених у дозі 3,0 Гр, а концентрація ДНК у тварин, опромінених у дозі 9,0, Гр була на такому ж рівні, що і у тварин, опромінених у дозі 5,0 Гр.

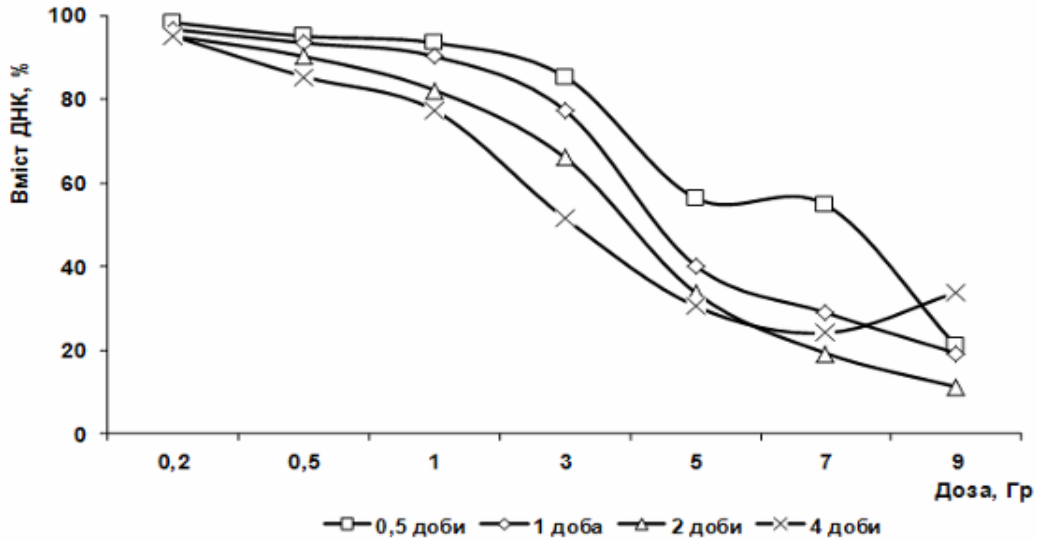


Рис. 2. Дозові залежності вмісту ДНК в селезінці опромінених щурів через 0,5; 1, 2 та 4 доби після дії радіації (% від контролю)

Fig. 2. Dose dependence of DNA in the spleen of irradiated rats at 0.5, 1, 2 and 4 days after radiation exposure (% of control)

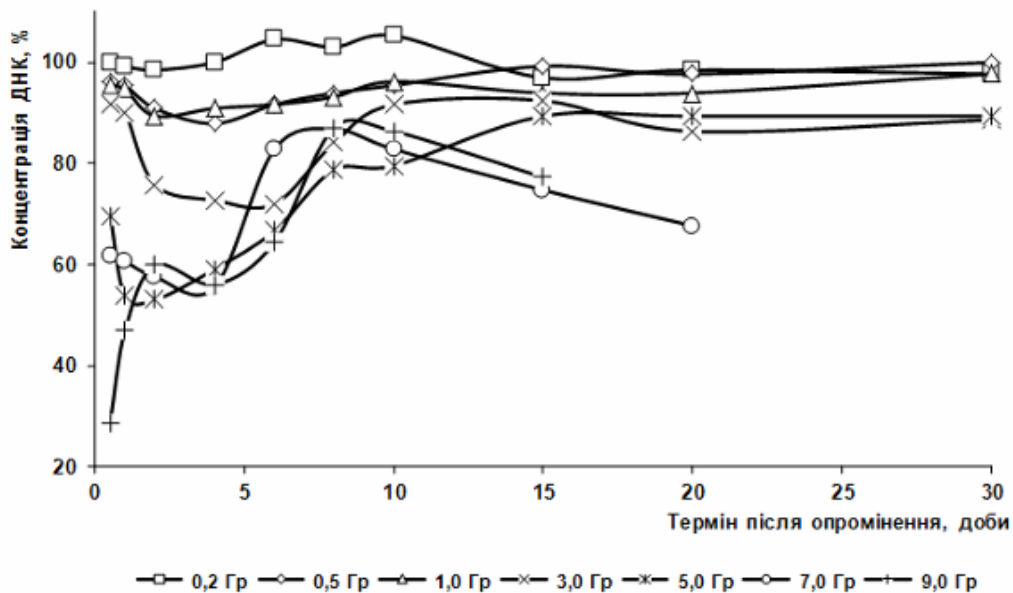


Рис. 3. Динаміка концентрації ДНК в селезінці в ранні терміни після опромінення щурів в різних дозах (% від контролю)

Fig. 3. Dynamics of DNA concentration in the spleen at early times after exposure of rats at different doses (% of control)

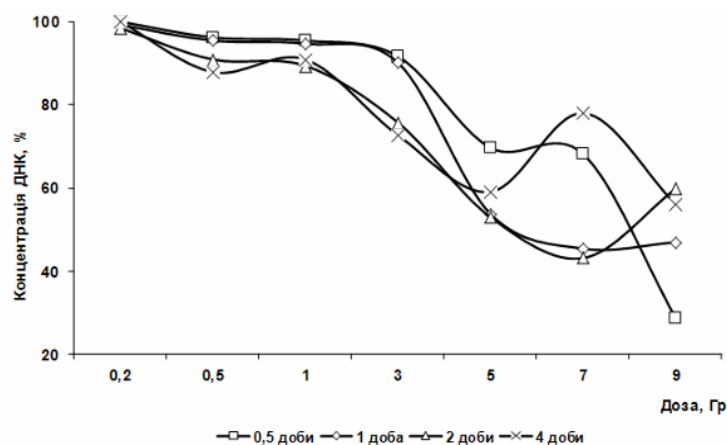


Рис. 4. Дозові залежності концентрації ДНК в селезінці опромінених щурів через 0,5; 1, 2 та 4 доби після дії радіації (% від контролю)

Fig. 4. Dose dependence of the concentration of DNA in the spleen of irradiated rats at 0.5, 1, 2 and 4 days after radiation exposure (% of control)

Селезінка складається із популяцій клітин різного ступеня диференціювання, тому представляло інтерес розглянути співвідношення РНК/ДНК. Відношення РНК до ДНК змінювалося хвилеподібно (рис. 5). У тварин, опромінених в дозах 0,2; 0,5; 1,0 і 3,0 Гр, різниця від контролю за цим показником була невірогідною, хоча відношення вмісту нуклеїнових кислот і білка за даними [5] відрізняються від контролю вже за опромінення в дозі 1,0 Гр. У щурів, опромінених в дозах 9,0; 7,0 і 5,0 Гр, це співвідношення суттєво підвищувалося, досягаючи максимальних значень в перші 12 годин і на 1-у, 6-у добу, відповідно, і різко знижувалося на 2-у, 4-у і 15-у добу після опромінення. Співвідношення РНК/ДНК непрямо відображає зміни транскрипційної активності

хроматину і стан білоксинтезуючої системи у селезінці за вказаних умов. В окремі періоди спостерігалось деяке відновлення співвідношення. Зростання відношення РНК до ДНК може вказувати на збільшення частки молодих клітинних елементів в селезінці. У тварин, що вижили, відношення РНК до ДНК приймало нижчі значення, а у тварин, що загинули, мало тенденцію до зростання (на 25-52% вище показників контрольної групи). Зниження співвідношення РНК/ДНК може вказувати на меншу вираженість білоксинтезуючих систем (важливим компонентом яких є РНК різного типу - рибосомні, інформаційні, транспортні).

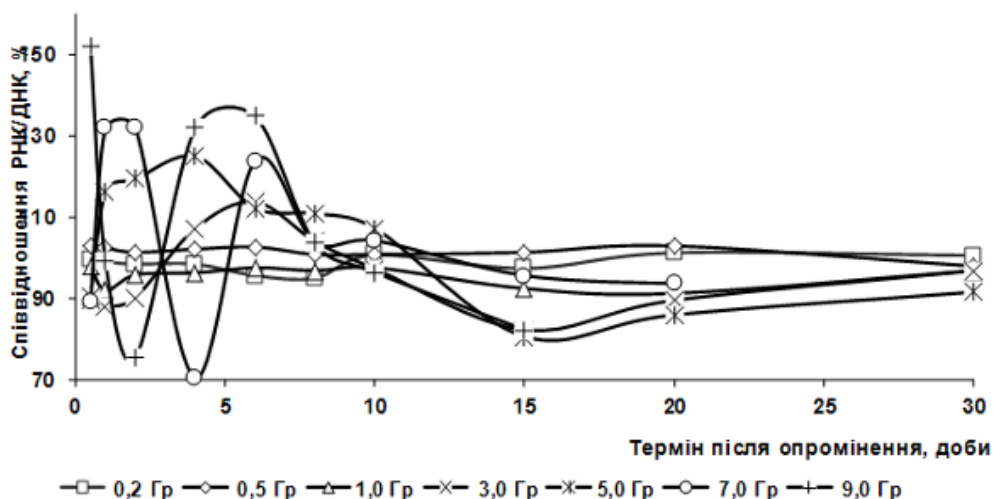


Рис. 5. Співвідношення загального вмісту РНК/ДНК в селезінці в ранні терміни після опромінення щурів в різних дозах (% від контролю)

Fig. 5. Value the total content of RNA / DNA in the spleen at early times after exposure of rats at different doses (% of control)

За даними [6-7] вміст ДНК в 1 г селезінки зменшувався до 60% у всі терміни дослідження. Питома активність ДНК за даними [8] в діапазоні доз 50-250 Р знижувалася і через 5 днів після опромінення дорівнювала 30% від рівня контролю. Вміст ДНК на орган дорівнював 34% від контролю за дози 250 Р. Після впливу γ -випромінення в дозах 1, 3 і 6 Гр встановлено, що достовірно зростає рівень розривів ДНК і також знижується загальна кількість лімфоцитів селезінки [9]. Зростання рівнів розривів ДНК можливо зумовлене напруженістю компенсаторних проліферативних процесів в системі лімфопоезу, що в свою чергу може призвести до збільшення кількості різних генетичних порушень в лімфоцитах.

Висновки

1. Аналіз отриманих даних показав, що під впливом γ -випромінення змінювався метаболізм

ДНК у селезінці щурів. Обернену залежність концентрації ДНК у селезінці від дози спостерігали через 0,5 доби після впливу радіації в діапазоні доз 3,0-5,0 та 7,0-9,0 Гр, через 1-у добу – в діапазоні доз 3,0-5,0 Гр, через 2-і доби – в діапазоні доз 1,0-7,0 Гр, через 4 доби – в діапазоні доз 1,0-5,0 Гр.

2. Результати нашого дослідження вказують на можливу участь селезінки в компенсації кровотворення після опромінення. Незважаючи на підсилене екстрамедулярне кровотворення в селезінці, внесок цього органу в компенсацію еритроїдного і гранулоцитарного кровотворення при цьому опроміненні є невеликий. Проте можна припустити, що підсилена проліферація лімфоїдних клітин в селезінці та, можливо, аналогічно і в інших лімфоїдних органах, за вищих доз запобігає подальшому зниженню кількості лімфоцитів в периферичній крові.

1. Maraldi N.M. Changes in ribonucleoprotein particle and chromatin organization induced by liposomes in isolated nuclei / N.M. Maraldi, A. Galanzi, E. Caramelli et al. // *Cell. Biochem. and Funct.* – 1988. – Vol. 6, №3. – P. 165-173.
2. Муксинова К.Н. Клеточные и молекулярные основы перестройки кроветворения при длительном радиационном воздействии /К.Н. Муксинова, Г.С. Мушкачева – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 160 с.
3. Трудолюбова М.Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М.Г. Трудолюбова // *Современные методы в биохимии* /Под ред. В.И.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. — С. 313-316.
4. Петрина Л.Г. Радиогенні зміни вмісту РНК в селезінці за опромінення тварин /Л.Г. Петрина //Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Біологія.- Випуск 14. - 2011. - С. 129-134.
5. Верещако Г.Г. Влияние внешнего облучения различной интенсивности в дозе 1 Гр на содержание ДНК, РНК и общего белка в семенниках и печени крыс / Г.Г. Верещако, А.М.

- Ходосовская, И.В. Буловацкая, Е.Ф. Конопля // *Радиац. биол. Радиоэкол.* – 1999. – Т. 39, Вып.5. – С. 577-562.
6. Мушкачева Г.С. Особенности биосинтеза нуклеиновых кислот при активации пролиферации эритроидных клеток, вызванной длительным γ -облучением /Г.С.Мушкачева, Е.И.Кисельгоф // *Радиобиология.* – 1983. – Т. 23, Вып. 3. – С. 363-366.
7. Мушкачева Г.С. Влияние окиси трития в широком диапазоне доз на метаболизм нуклеиновых кислот селезенки крыс /Г.С.Мушкачева, В.Б. Шорохова // *Радиобиология.* – 1989. – Т. 29, Вып.4. – С. 554-557.
8. Москалев Ю.И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений.–М.: Медицина, 1991. – 464 с.
9. Шорохова В.Б. Обмен нуклеиновых кислот в радиочувствительных тканях крыс при однократном воздействии окиси трития и в отдаленные сроки после него / В.Б. Шорохова, В.С. Ревина, В.А. Турдакова, Г.С. Мушкачева // *Радиобиология.* – 1979. – Т. 19, Вып. 3. – С. 323-329.

Отримано: 08 серпня 2013 р.

Прийнято до друку: 12 листопада 2013 р.