



НУКЛЕОТИДНЫЙ ФОНД ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В РАННИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ В АБСОЛЮТНО ЛЕТАЛЬНОЙ ДОЗЕ

НАГНЕВ Э. Р., САВИЦКИЙ П. В.

Государственный медицинский институт им. Н. И. Пирогова, Одесса

Нуклеотиды играют важную роль в процессах аккумуляции энергии, переносе субстратов, регуляции клеточного деления и являются предшественниками при синтезе нуклеиновых кислот [1, 2]. Установлено, что биосинтез нуклеиновых кислот является одним из наиболее радиочувствительных метаболических процессов в клетке. В то же время механизмы пострadiационного нарушения нуклеотидного фонда в отдельных тканях организма еще недостаточно выяснены, особенно при действии на организм радиации в абсолютно летальных дозах [3—6].

Данные о динамике внутриклеточного содержания кислоторастворимых нуклеотидов, а именно — пиридининовых, в тканях животных в ранние сроки острого лучевого поражения ограничены и противоречивы [5—9]. Целью работы было определение в динамике нуклеотидного фонда головного мозга крыс, подвергшихся однократному общему γ -облучению в абсолютно летальной дозе.

Опыты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар массой 180—210 г, которых подвергали 1-кратному общему облучению γ -лучами (^{60}Co -кобальт) при помощи γ -терапевтической установки «Агат-С» в дозе 30 Гр (расстояние источник—поверхность—50 см, поле 15×15 см, время—20 мин, мощность дозы—1,5 Гр/мин). Количество нуклеотидов определяли через 0,5; 1; 3; 6 и 24 ч после радиационного воздействия. Животных декапитировали, голову немедленно погружали в жидкий азот, затем извлекали мозг в замороженном состоянии. Основные этапы получения кислоторастворимого экстракта описаны ранее [10, 11]. Нуклеотиды определяли методом анионообменной хроматографии [12, 13], применяя смолу Dowex 1×8 , 200—400 меш в форматной форме на колонках $0,6 \times 10$ см. Использовали ступенчатый градиент элюции. Собирали фракции объемом 3,5 мл, поступающие с колонки со скоростью 12 мл/ч. Были взяты следующие элюирующие растворы: 1— H_2O ; 2—0,02 М HCOOH ; 3—0,05 М HCOOH ; 4—0,2 М HCOOH ; 5—1,8 М HCOOH ;

6—2 М НСООН; 7—4 М НСООН; 8—0,2 М формиат аммония в 4,0 М НСООН; 9—0,45 М формиат аммония в 4,0 М НСООН; 10—1,0 М формиат аммония в 4,0 М НСООН. Оптическую плотность фракций измеряли при 250, 260, 280 и 290 нм на спектрофотометре СФ-16. Идентификацию нуклеотидов в отдельных пиках (рисунок) производили по их положению на профиле элюции, по спектрам поглощения в УФ, по времени выхода из колонки и с помощью хроматографии известных нуклеотидов в стандартных условиях. Содержание отдельных нуклеотидов рассчитывали на 1 г сырой ткани, используя коэффициенты молярных экстинкций [14] и выражали в мкмоль/г сырой массы ткани. Содержание ГМР и СДР определяли по соотношению их экстинкции при 260 и 280 нм.

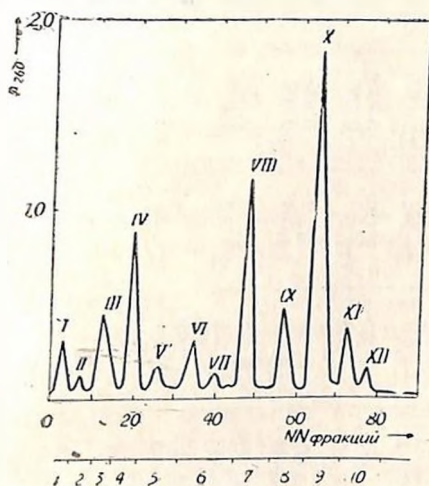


Рис. Профиль элюции кислоторастворимых нуклеотидов головного мозга контрольных крыс. Хроматография на Dowex 1×8, 200—400 меш колонки 0,6×10 см, $\lambda=260$ нм; 1—10—элюирующие растворы (см. «Материалы и методы»). I—нуклеозиды и азотистые основания; II—СМР; III—NAD; IV—AMP; V—ГМР; CDP; VI—IMP; VII—UMP; VIII—ADP; IX—GDP+UDP; X—ATP; XI—GTP; XII—UTP

Ионизирующее излучение в абсолютно летальной дозе приводило к значительным изменениям в нуклеотидном фоне головного мозга облученных животных (таблица). Уже через 30 мин после радиационного воздействия отмечалось снижение уровня ATP на 25 и GDP+UDP на 22% по сравнению с контролем. В отличие от этого в содержании остальных нуклеотидов изменения были незначительны. В частности, содержание ADP и AMP несколько уменьшалось, GTP, UTP и ГМР находились на уровне контроля, UMP и СМР проявляли некоторую тенденцию к повышению, а количество СДР на 18% превышало контроль. Спустя 1 ч после облучения наблюдалось закономерное повышение количества всех нуклеозидомонофосфатов. Однако уровень UMP и СМР возрастал примерно на 30%, тогда как содержание AMP на 14, а ГМР лишь на 7%. Количество ATP к этому времени значительно снижалось по сравнению с предыдущим сроком облучения и составляло 57% от нормы. В противоположность этому количество ADP возрастало уже через 1 ч после облучения, хотя несколько не достигало контрольного уровня. Такая же тенденция, хотя несколько не достигала контрольного уровня, наблюдалась и в содержании

Таблица

Содержание кислоторастворимых нуклеотидов в головном мозгу облученных (30 Гр) крыс (мкмоль/г сырой массы ткани; $n=7-12$)

Условия опыта	AMP	ADP	ATP	GMP	GDP+UDP	GTP	UMP	UTP	CMP	CDP
Необлученные (контроль)	0,593 $\pm 0,020$	0,749 $\pm 0,025$	1,354 $\pm 0,093$	0,659 $\pm 0,004$	0,398 $\pm 0,015$	0,281 $\pm 0,003$	0,024 $\pm 0,002$	0,063 $\pm 0,007$	0,069 $\pm 0,008$	0,022 $\pm 0,002$
Время после облучения:										
30 мин	0,546 $\pm 0,033$	0,622* $\pm 0,022$	1,016* $\pm 0,017$	0,054 $\pm 0,006$	0,311* $\pm 0,031$	0,269 $\pm 0,015$	0,027 $\pm 0,003$	0,059 $\pm 0,006$	0,078 $\pm 0,003$	0,026 $\pm 0,002$
1 ч	0,677 $\pm 0,024$	0,728 $\pm 0,031$	0,774* $\pm 0,024$	0,063 $\pm 0,004$	0,378 $\pm 0,018$	0,159* $\pm 0,007$	0,032* $\pm 0,002$	0,039* $\pm 0,002$	0,091* $\pm 0,001$	0,019 $\pm 0,004$
3 ч	0,779* $\pm 0,013$	0,691 $\pm 0,036$	1,219 $\pm 0,045$	0,067 $\pm 0,002$	0,318* $\pm 0,027$	0,277 $\pm 0,004$	0,025 $\pm 0,002$	0,047 $\pm 0,005$	0,066 $\pm 0,004$	0,020 $\pm 0,005$
6 ч	0,826* $\pm 0,018$	0,452** $\pm 0,039$	0,626* $\pm 0,097$	0,077* $\pm 0,004$	0,292* $\pm 0,015$	0,219* $\pm 0,013$	0,029* $\pm 0,002$	0,036** $\pm 0,003$	0,103** $\pm 0,006$	0,027 $\pm 0,005$
24 ч	0,898** $\pm 0,047$	0,335** $\pm 0,043$	0,427*** $\pm 0,054$	0,099*** $\pm 0,007$	0,203** $\pm 0,038$	0,185** $\pm 0,015$	0,039** $\pm 0,004$	0,017*** $\pm 0,001$	0,123*** $\pm 0,005$	0,018* $\pm 0,003$

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

UTP и GDP+UDP (таблица). Количество GTP через 1 ч после облучения также снижалось, однако в меньшей степени, чем АТР и UTP, и составляло 71%; содержание CDP к этому сроку уменьшалось до 84%. Характерной особенностью изменений содержания нуклеотидов через 3 ч после облучения являлось увеличение количества трифосфатов. В частности, уровень АТР возрастал по сравнению с предыдущим сроком облучения на 33% и приближался к контролю (90%). Содержание АДФ в более ранние сроки облучения существенно не менялось, через 3 ч после воздействия радиации его уровень составлял 92% от контроля.

Динамика содержания уридиновых нуклеотидов однотипна с таковой у адениловых, разница заключается в том, что степень возрастания количества UTP была не столь значительна. Содержание GDP+UDP довольно закономерно снижалось (через 1 ч—94,9%, через 3 ч—79,0%). Существенная разница отмечалась в поведении нуклеозидмонофосфатов. Количество АМР и GMP возрастало и достигало 131 и 114% соответственно. Содержание монофосфатов уридиновых и цитидиловых нуклеотидов снижалось по сравнению с предыдущим сроком облучения (1 ч) и достигало контрольных величин.

Через 6 ч после радиационного воздействия наступала третья волна падения количества АТР—46% по сравнению с контролем. Содержание АДФ также снижалось, но в меньшей степени, чем АТР. В противоположность этому количество АМР незначительно увеличивалось по сравнению с предыдущим сроком облучения (3 ч) и весьма существенно (на 39%) по сравнению с контролем.

У облученных животных через 6 ч после воздействия количество GTP и UTP уменьшалось и составляло соответственно 78 и 58% от контрольного уровня. Содержание GDP+UDP к этому времени продолжало понижаться, в отличие от этого уровень CDP возрастал и на 22% превышал контроль. Одной из существенных закономерностей в этот период являлось то, что на фоне описанного выше снижения количества нуклеозидтрифосфатов отмечалось достоверное повышение количества всех нуклеозидмонофосфатов. В частности, содержание АМР увеличивалось на 39, GMP—31, UMP—21, CMP—49% по сравнению с контролем.

К исходу первых суток в ткани головного мозга облученных крыс изменение содержания всех нуклеотидов являлось наиболее выраженным: количество нуклеозидтрифосфатов составляло в случае АТР—32, GTP—66, UTP—25% от уровня нормы; содержание нуклеозиддифосфатов также снижалось, уровень АДФ составлял 45, GDP+UDP—51 и CDP—82% по сравнению с контролем. В отличие от этого содержание нуклеозидмонофосфатов к концу первых суток максимально повышалось. Так, например, уровень АМР превышал контроль на 52, GMP—на 67, UMP—на 63, CMP—на 78%.

При анализе полученных результатов можно отметить, что ионизирующая радиация в абсолютно летальной дозе приводит к значительным изменениям содержания свободных нуклеотидов головного мозга облученных крыс. Основной закономерностью является прогрессирующее

снижение количества нуклеозиддн- и трифосфатов и синхронное повышение нуклеозидмонофосфатов. Это дает основание полагать, что одной из возможных причин уменьшения количества нуклеозидтрифосфатов является усиление их расщепления, наблюдающееся при радиационном воздействии на организм животных в абсолютно летальной дозе. Ряд авторов обнаружил подобную закономерность при изучении нуклеотидного фонда в печени и других органах облученных животных [6, 7].

При сравнении нуклеотидов по степени их фосфорилирования отмечаются наиболее глубокие изменения нуклеозидтрифосфатов. Суммарное содержание их к исходу первых суток минимальное и составляет 37% от уровня контроля. Однако уровень нуклеозидмонофосфатов к концу первых суток превышает контроль более чем в 1,5 раза и достигает 157% по сравнению с контролем.

В заключение следует отметить, что более полную характеристику энергетических ресурсов головного мозга, важнейших биосинтетических и других процессов, в которых принимают непосредственное участие нуклеотиды, можно будет дать при исследовании наряду с содержанием нуклеотидов активности энзиматических систем, катализирующих биосинтез и катаболизм этих важных соединений. По предварительным результатам, система нуклеозидфосфаткиназ и нуклеозидтрифосфатаз претерпевает значительные изменения при данной дозе облучения, в ряде случаев коррелирующие с наблюдаемыми сдвигами нуклеотидного фонда.

RAT BRAIN NUCLEOTIDES POOL AT THE EARLY STAGE OF γ -IRRADIATION INDUCED DISEASE

NAGIEV E. R., SAVITSKY I. V.

N. I. Pirogov Medical School, Odessa

The acid-soluble nucleotides' content has been studied in rat brain in 0,5, 1,3,6 and 24 hours after whole-body gamma-irradiation (30 Gr). A decrease in nucleoside-di- and triphosphates and marked increase in nucleoside monophosphates level was found at the end of 24 hours after γ -irradiation. These data indicate that the early period of acute X-ray disease is accompanied by enhanced destruction of nucleoside-diphosphates and particularly macroergic nucleoside-triphosphates. The changes in uridine and cytidine nucleotides were more marked than in adenine nucleotides.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Микельсон А. Химия нуклеозидов и нуклеотидов, М., Мир, 1966.
2. Дэвидсон Дж. Биохимия нуклеиновых кислот, М., Мир, 1976.
3. Кузин А. М. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии, М., Наука, 1970.
4. Кузин А. М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра, М., Атомиздат, 1973.
5. Кощенко Н. Н., Романцев Е. Ф. Радиобиология, *И*, 4, 490—493, 1974.

6. *Barbieri B., Pasquelli V., Moruzzi M. S. Biol. Sperim., 44, 3, 197—200, 1968.*
7. *Цвелева Н. А. Радиобиология, 2, 5, 674—680, 1962.*
8. *Рыкина Т. Н. Биохимия, 24, 3, 556—562, 1959.*
9. *Савицкий Н. В., Литовченко Н. Н. Радиобиология, 16, 1, 16—20, 1976.*
10. *Киреев М. М., Кенвой В. Д. Вопр. мед. химии, 24, 5, 629—632, 1978.*
11. *Pressman B. C. J. Biol. Chem., 232, 2, 967—978, 1158.*
12. *Hurlbert R. B., Schmitz H., Burmm A., Potter V. R. J. Biol. Chem., 209, 1, 23—54, 1954.*
13. *Siekevitz P., Potter V. R. J. Biol. Chem., 215, 1, 237—255, 1955.*
14. *Калинин Ф. Л., Лобов В. П., Жидков В. А. Справочник по биохимии, Киев, Наукова думка, 1971.*

Поступила 5. XII 1982