

А. М. КУЗИН и Е. В. БУДИЛОВА

ОБ ИЗМЕНЕНИИ СТРУКТУРНОЙ ВЯЗКОСТИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ МОЗГА И СЕЛЕЗЕНКИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

(Представлено академиком Л. С. Штерн 7 VII 1954)

Как было показано нами ранее (1), глубокие изменения в синтезе нуклеиновых кислот такого радиочувствительного органа, как селезенка млекопитающих, наступают лишь при непосредственном облучении исследуемой ткани. Можно было допустить, что нарушениям синтеза предшествует изменение макромолекулярного состояния молекул нуклеиновых кислот, что показано для нуклеиновых кислот зубной железы (2) и стенок кишечника (3).

Если процессы разрушения нитевидных молекул нуклеиновых кислот действительно лежат в основе дальнейших нарушений их синтеза и синтеза белковых веществ (что, в свою очередь, приводит к остановке деления клеток и к обычно наблюдаемым цитологическим картинам поражения клетки), то можно было предположить, что в тканях различной чувствительности к ионизирующим излучениям эти процессы будут идти различно. Для проверки этого предположения мы исследо-

вали структурную вязкость нуклеиновых кислот двух органов: селезенки, как ткани наиболее чувствительной к действию проникающих излучений, и головного мозга, как морфологически наиболее радиоустойчивой ткани.

Для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДРНК) из ткани применялась видоизмененная методика Мирского и Поллистера (4), которая состояла в следующем: после декапитации животного ткань мозга или селезенки тотчас же извлекалась, тщательно измельчалась в гомогениза-

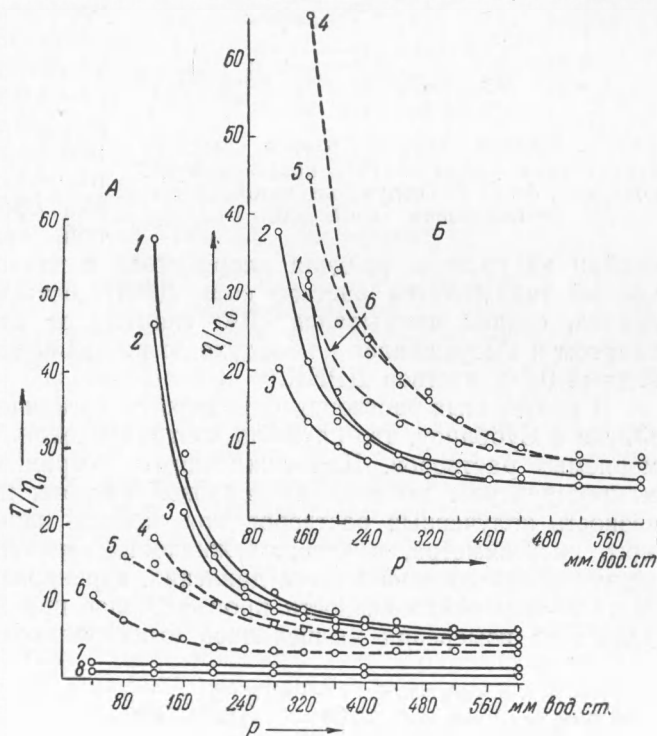


Рис. 1. Влияние общего облучения крысы на структурную вязкость ДРНК селезенки (А) и мозга (Б). 1, 2, 3 — контроль; 4, 5, 6, 7, 8 — опыт

торе при охлаждении с двойным объемом физиологического раствора, содержавшего 0,02 М лимоннокислого натрия, парализовавшего активность деполимеразы ДРНК, которая могла присутствовать в ткани.

Гомогенат центрифугировался в течение 5 мин. при 5000 об/мин, осадок промывался равным объемом физиологического раствора, содержавшего 0,01 М цитрата натрия, и 2 раза равным объемом чистого физиологического раствора.

Затем оставшаяся ткань экстрагировалась 20-кратным для мозга и 80-кратным для селезенки объемом 10% раствора NaCl в течение 48 час. в рефрижераторе. Содержавшийся в полученном экстракте дезоксирибонуклеопротеид осаждался добавлением 10-кратного объема охлажденной дистиллированной воды. Выпавший нитевидный осадок собирался на палочку и снова растворялся в 10% растворе NaCl. Затем производилось освобождение раствора от белка путем встряхивания его с 1/2 объемом смеси изоамилового спирта и хлороформа (1 : 9) с последующим центрифугированием, что повторялось 6 раз до прекращения образования студнеобразной, содержащей белок про-

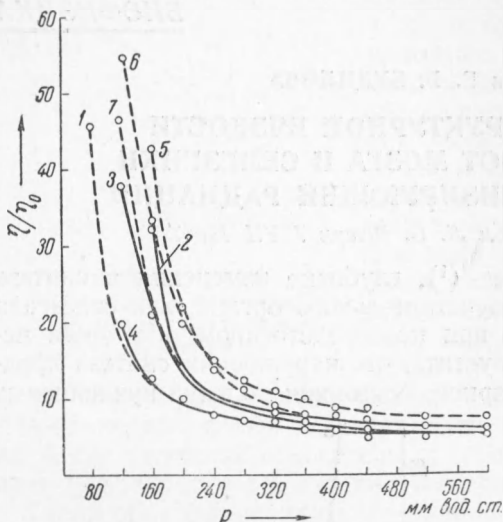


Рис. 2. Влияние облучения головы крысы на структурную вязкость ДРНК мозга. 2, 3, 4—контроль; 5, 6, 7—облучение дозой 1000 г; 1—облучение дозой 10000 г

слойки на границе раздела хлороформа и водно-солевого слоя. Полученный таким путем раствор соли ДРНК осаждался равным объемом спирта, осадок промывался 70% спиртом от хлористого натрия, 96% спиртом и высушивался на воздухе до постоянного веса. Затем готовился водный 0,2% раствор ДРНК.

В полученных растворах определялся органический фосфор по методу Фиске и Суббароу, что служило контролем одинаковой концентрации измеряемых растворов. Для суждения о сохраняемости первоначальной макроструктуры молекул нуклеиновой кислоты измерялась структурная вязкость полученных растворов при помощи капиллярного горизонтального вискозиметра, в котором жидкость перемещалась под действием искусственно создававшегося давления, варьирувавшего от 40 до 600 мм вод. ст. Измерения вязкости производились при 25°. На основании результатов измерения вычислялась относительная вязкость по формуле

$$\eta / \eta_0 = \frac{pt}{p_0 t_0},$$

где p и t — давление, оказываемое на раствор ДРНК в вискозиметре, и время, в течение которого он перемещается под действием этого давления между двумя определенными метками, а p_0 и t_0 — те же величины для воды. Строились кривые зависимости относительной вязкости от давления.

В работе использовались самцы белых крыс весом 180—230 г. Облучение производилось рентгеновскими лучами при условиях: 160 кв, 16 ма, фильтры 0,5 Al + 0,75 Cu, фокусное расстояние 20 см при мощности дозы 68,5 г/мин. Через 24 часа после облучения ткани животных исследовались описанным выше образом.

Как показали предварительные опыты, выделенная вышеописанным методом ДРНК из селезенки и мозга нормальных животных давала весь-

ма вязкие растворы с аномально возрастающей при понижении давления вязкостью, что, как известно, характерно для сильно удлинённых макромолекул.

При тотальном облучении крысы дозой в 1000 г мы закономерно наблюдали резкое падение структурной вязкости ДРНК, выделенной из селезенки. Результаты серии таких опытов представлены на рис. 1 А.

Совершенно иную картину давала структурная вязкость ДРНК, выделенной у тех же животных из мозговой ткани. Результаты этих определений сведены на рис. 1 Б.

Как видно из данных опыта, макромолекулярное состояние ДРНК мозговой ткани не изменялось от доз, вызывающих полную потерю структурной вязкости ДРНК в селезенке.

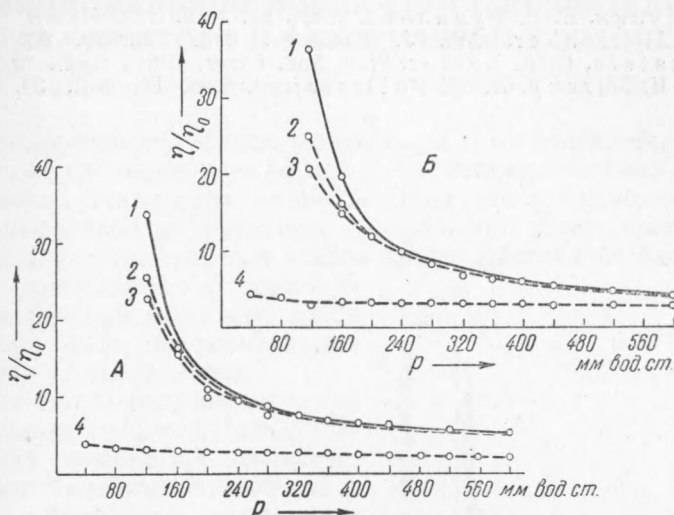


Рис. 3. Облучение раствора ДРНК, выделенной из селезенки (А) и из мозга (Б). 1 — необлученный раствор, 2 — через 2 часа после облучения дозой 50000 г, 3 — через 48 час. после облучения дозой 50000 г; 4 — через 21 час после облучения дозой 100000 г

Опыты были повторены, причем облучению подвергалась только голова крысы дозой 1000 и 10 000 г. Как видно из рис. 2, и в этом случае структурная вязкость выделенной ДРНК осталась без изменения.

Можно было предположить, что ДРНК из селезенки и головного мозга неодинаково устойчивы к воздействию рентгеновских лучей. Чтобы решить этот вопрос, ДРНК была изолирована из этих органов и растворы ее *in vitro* подвергались облучению. Как видно из рис. 3, спустя 2 и 48 час. после облучения дозой в 50 000 г и через 21 час после облучения дозой 100 000 г падение структурной вязкости идет совершенно одинаково и, следовательно, причину их различного поведения *in vivo* надо искать в изменении взаимодействия ДРНК с сопутствующими веществами и, в первую очередь, с ферментом деполимеразой. На участие деполимеразы указывал проведенный нами опыт облучения гомогенатов селезенки, полученных в присутствии ингибитора деполимеразы — лимоннокислого натрия. В этих условиях нуклеиновые кислоты оказываются значительно более устойчивы, чем в целом функционирующем органе.

Выводы

1. Показано, что в различных тканях потеря структурной вязкости ДРНК при тотальном облучении животного идет различно.

2. В радиочувствительной ткани селезенки при воздействии дозой в 1000 г через 24 часа наблюдается почти полное исчезновение структурной вязкости ДРНК.

3. В морфологически резко устойчивой ткани головного мозга при тех же воздействиях и даже при дозах в 10 000 г структурная вязкость ДРНК остается без изменений.

4. Проведенная работа указывает, что нарушение макроструктур высокомолекулярных нуклеиновых кислот является существенным звеном в процессах, лежащих в основе поражения ткани ионизирующими излучениями.

Институт биологической физики
Академии наук СССР

Поступило
3 VI 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Кузин, Е. В. Будилова, ДАН, **91**, № 5, 1183 (1953). ² G. Limperos, W. A. Mosher, Am. J. Roentgen. Rad. Therapy, **63**, 681 (1950).
³ R. N. Feinstein, C. L. Butler, Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **79**, No. 1, 179 (1952). ⁴ A. E. Mirsky, A. W. Pollister, J. Gen. Physiol., **30**, No. 2, 117 (1946).