

## ВПЛИВ ВЕЛИЧИНИ ДОЗИ НА ЗМІНИ ВМІСТУ РНК І ДНК У КІСТКОВОМУ МОЗКУ ОПРОМІНЕНИХ ТВАРИН

*Л. Г. Петрина*

Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра медичної інформатики, медичної та біологічної фізики, e-mail: petryna\_l@ukr.net

*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 кістковому мозку 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  $\gamma$ -випромінювання вміст РНК і ДНК на 1 Гр у кістковому мозку тварин змінювався залежно від функціонального стану організму і розвитку патологічного процесу. Величина зміни співвідношення РНК/ДНК на одиницю поглинутої дози у кістковому мозку щурів залежала від отриманої тваринами дози і змінювалася хвилюподібно у всіх групах тварин, суттєво підвищувалися тільки у тварин, опромінених у дозі 0.2 Гр, що засвідчує про зростання в популяції клітин кістковому мозку, збагачених РНК.*

**Ключові слова:**  $\gamma$ -опромінення, доза, РНК, ДНК, кістковий мозок.

**Petryna L. G. Influence of the extent of radiation dose on the changes of RNA and DNA's contents in the marrow of irradiated animals.** *Experimental researches were conducted on male rats of Wistar's line with the initial mass of body 150-180 grams. Single irradiation of animals was 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 the nucleic acids in a bone marrow was detected in 0, 5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 days after the influence. Control tests were simultaneously conducted with each series of investigation on animals of corresponding age. Results of the experiments show that the RNA and DNA's contents in the bone marrow of animals was changed in dependence on the functional condition of an organism and development of the pathological process. The extent of change RNA/DNA's correlation on a unit of the absorbed dose in a rat's bone marrow depended on the dose received by animals and changed wavyly in all animals' groups. This extent of change RNA/DNA's correlation has substantially increased only for irradiated animals in dose of 0.2 Gy, that is the evidence of cells population increase in bone marrow enriched by RNA.*

**Key words:**  $\gamma$ -irradiation, dose, RNA, DNA, bone merow.

### Вступ

Система кістковомозкового кровотворення має високу радіочутливість. Дослідження, що проводилися в даному напрямку стосувалися дії великих доз іонізуючого випромінювання. Достатньої кількості даних щодо впливу техногенного підвищення фону немає і тому уявлення про патогенез ураження кістковомозкового кровотворення у діапазоні дії малих доз іонізуючого випромінювання є неповними і до теперішнього часу лишається актуальним одержання фактичного матеріалу та описання феноменології, на основі яких будуть створюватися нові концепції механізмів дії малих доз радіації різної інтенсивності [1-5]. Ефект впливу радіації після реалізації відновлюючих процесів залежить від їх співвідношення з процесами прямої дії, які мають своє певне значення для кожної дози та потужності випромінювання. Особливу роль у процесах відновлення відіграють макромолекули РНК і ДНК. Криві „доза-ефект” вмісту РНК і ДНК в кістковому мозку за дії  $\gamma$ -квантів в малих і високих дозах мали великі відмінності [6]. Зміни вмісту ДНК і РНК та відношенням РНК/ДНК на одиницю поглинутої дози (на 1 Гр) можуть відображати зміну активності системи реалізації генетичної інформації в клітинах кісткового мозку, проте вони ніким не визначалися. У зв'язку з цим метою нашого дослідження є вивчення впливу одиниці поглинутої дози, як за малих так і високих доз іонізуючої радіації на динаміку нуклеїнових кислот в кістковому мозку опромінених тварин.

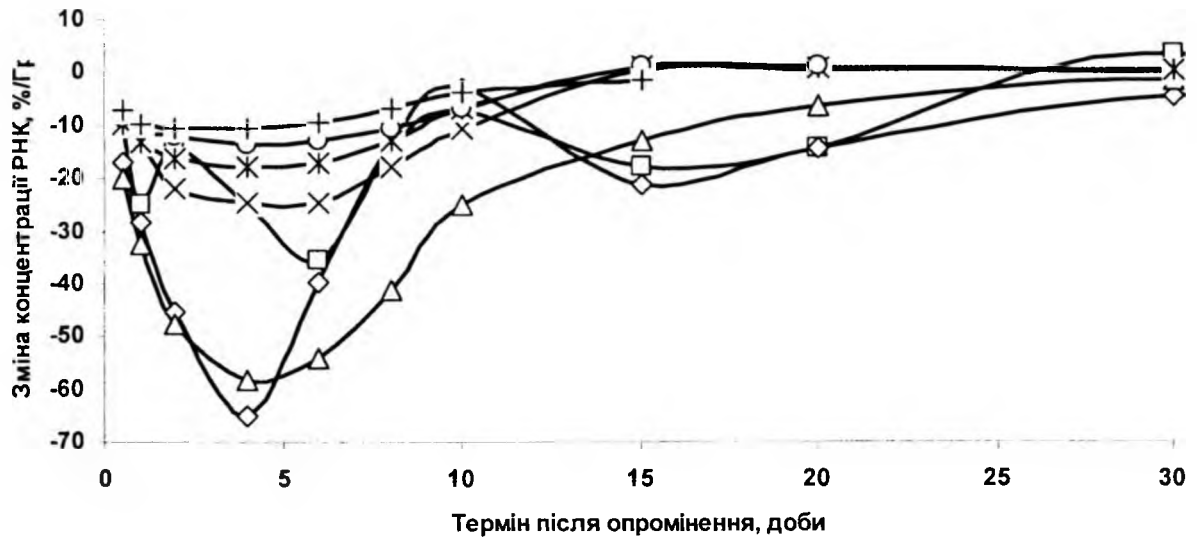
### Матеріали й методи

Експериментальні дослідження проведено на щурах-самцях лінії Вістар з початковою масою тіла 150-180 г. Тварин утримували на стандартному раціоні при вільному доступі до води. Одноразове опромінення тварин у дозах 0,2, 0,5, 1,0, 3,0, 5,0, 7,0 та 9,0 Гр проводили від джерела  $^{60}\text{Co}$  за потужності дози 0,1 Гр/хв. Адекватним контролем слугували удавано опромінені тварини відповідної вікової групи, яких утримували в аналогічних умовах. Експеримент проводили у квітні-травні, отже, були враховані сезонні

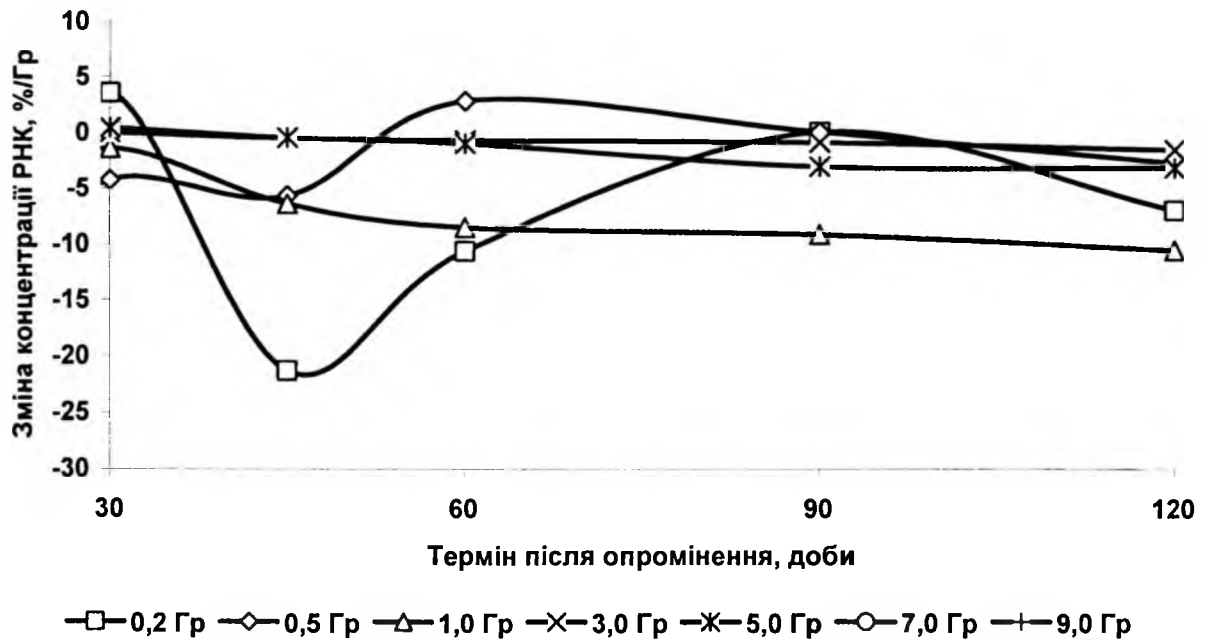
зміни радіочутливості. Досліджували вміст нуклеїнових кислот у крові через 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 діб після впливу іонізуючої радіації за методикою [7]. Отримані дані обробляли статистично.

### Результати й обговорення

Відносна зміна концентрації РНК на одиницю поглинутої дози в кістковому мозку щурів (рис. 1) знижувалася продовж 4-6 діб. Винятком була група тварин, опромінених в дозі 0,2 Гр, – відносна зміна концентрації РНК коливалася, досягаючи максимальних значень на 2, 6, 15 та 45 добу після впливу радіації. Найбільша швидкість зростання показника була у тварин, опромінених в дозах 1,0 та 0,5 Гр. Надалі відносна зміна концентрації РНК зменшувалася. Це спостерігалось до 8-ї-10-ї доби. Показник утримувався на такому рівні до кінця експерименту в групах тварин, опромінених у високих дозах. В групах тварин, опромінених у дозах 0,2 та 0,5 Гр, його стабілізація була тимчасовою і, починаючи з 10-ї до 15-ї доби, відносна зміна концентрації РНК на 1 Гр зростала.

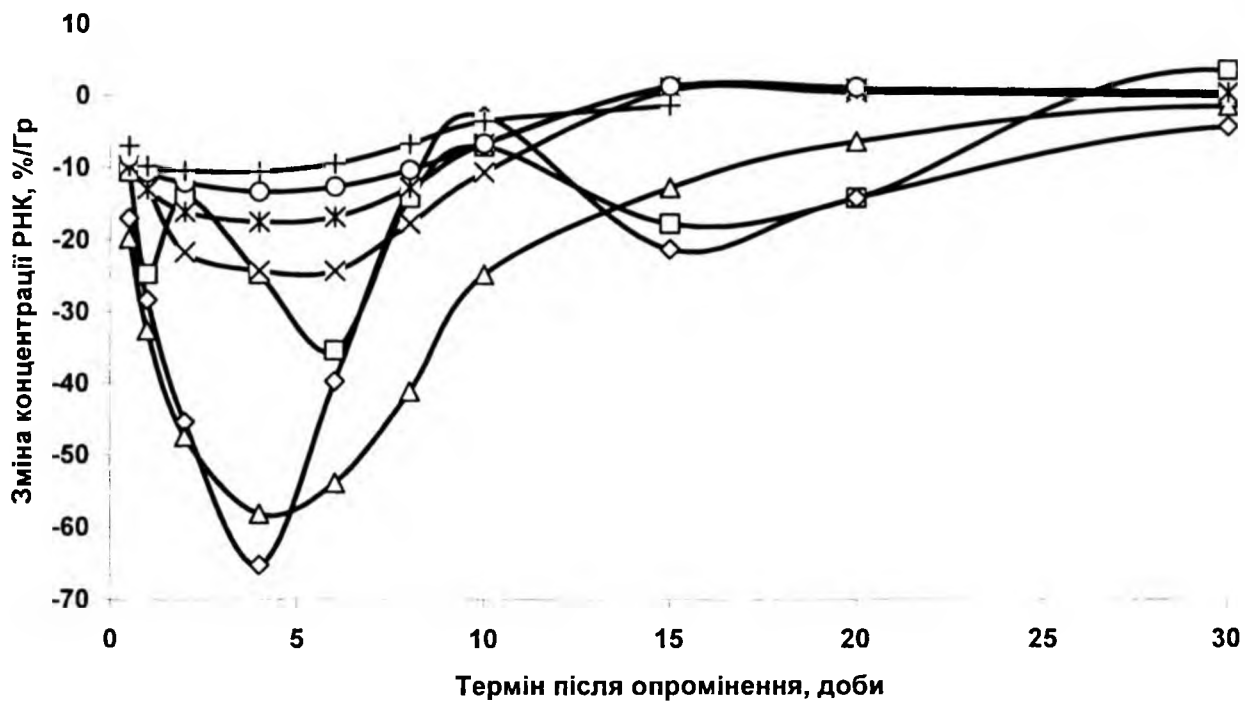


А

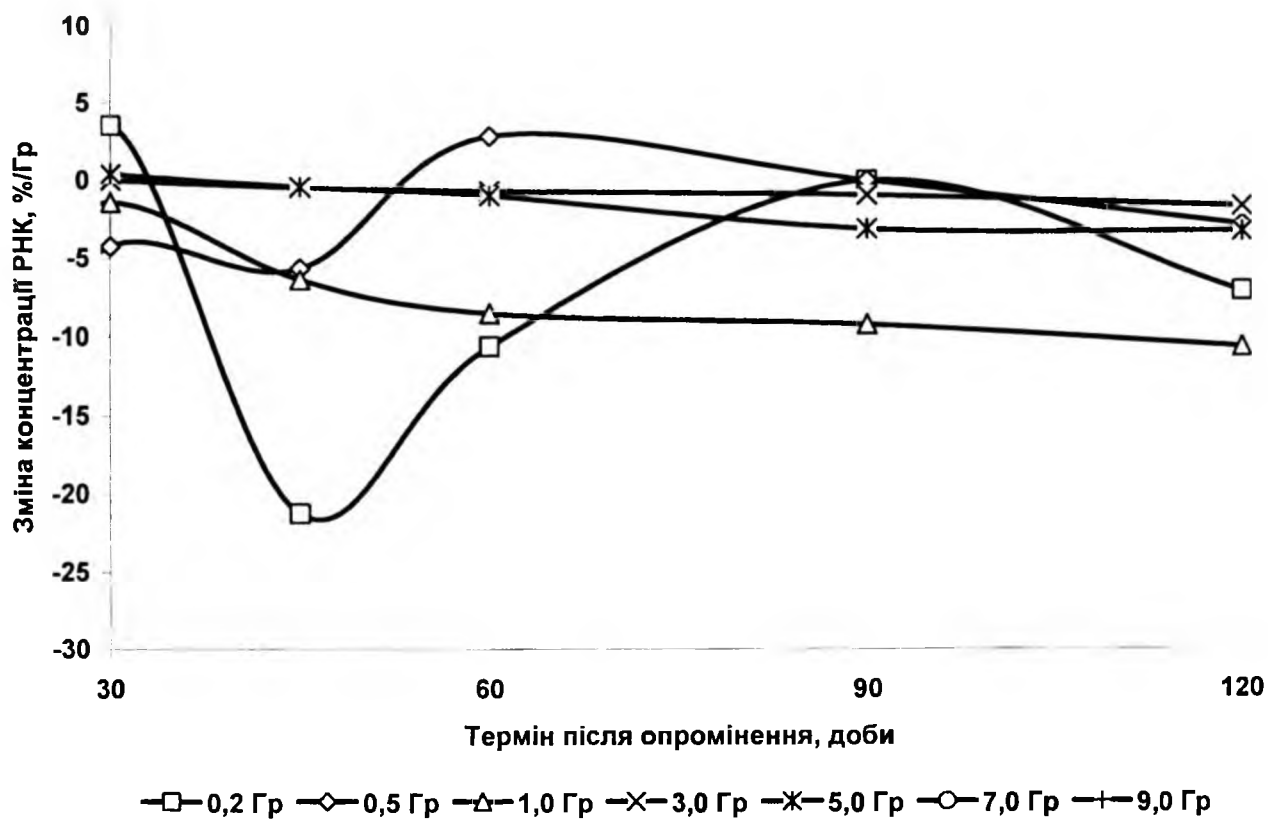


Б

Рис. 1. Динаміка зміни концентрації РНК в кістковому мозку на одиницю поглинутої дози в ранні (А) та віддалені (Б) терміни після одноразового тотального опромінення щурів Вістар  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в різних дозах (% від контролю/Гр).



А



Б

Рис. 2. Динаміка зміни концентрації ДНК у кістковому мозку на одиницю поглинутої дози в ранні (А) та віддалені (Б) терміни після опромінення щурів Вістар  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в різних дозах (% від контролю/Гр).

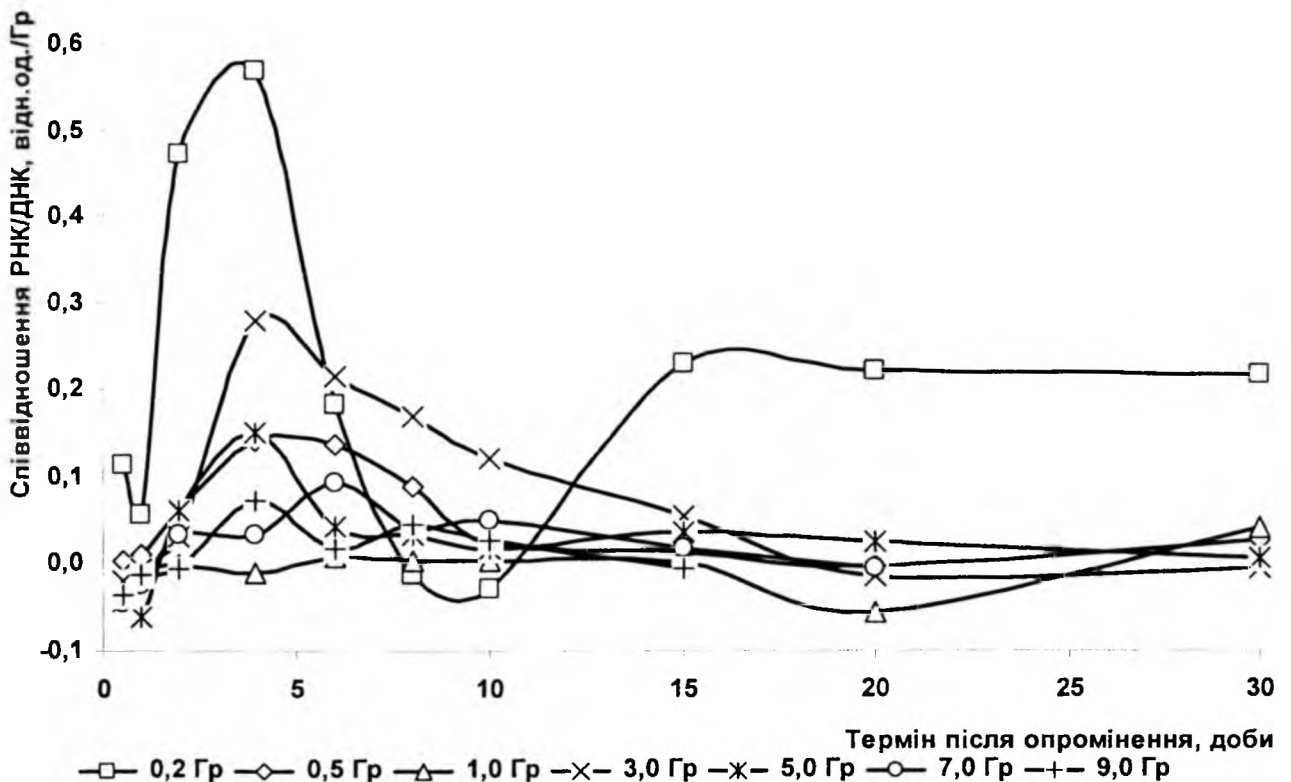


Рис. 3. Динаміка зміни співвідношення концентрації РНК/ДНК у кістковому мозку на одиницю поглинутої дози в ранні терміни після опромінення щурів Вістар  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  в різних дозах (відн.од./Гр).

Зміна концентрації ДНК на одиницю поглинутої дози в кістковому мозку щурів (рис. 2) зростала впродовж 4-6 діб обернено пропорційно до дози впливу. Винятком була група тварин, опромінені в дозі 0,2 Гр – відносна зміна концентрації ДНК на 1 Гр була такою ж, як у тварин, опромінені в дозі 0,5 Гр. Найбільша швидкість зростання показника була у тварин, опромінені в дозах 0,2, 0,5 та 1,0 Гр. Надалі відносна зміна концентрації ДНК на 1 Гр знижувалася. Це спостерігалось до 15-ї-20-ї доби. Показник утримувався на такому рівні до кінця експерименту в групах тварин, опромінені у високих дозах. У групах тварин, опромінені у дозах 0,2 та 0,5 Гр, його стабілізація була тимчасовою і, починаючи з 10-ї до 15-ї доби, та через 60 діб відносна зміна концентрації ДНК на 1 Гр зростала. Динаміка відносної зміни концентрації ДНК у кістковому мозку свідчить про радіаційну депопуляцію органу в ранній період.

Дані, отримані *in vivo* [8], свідчать, що радіаційне порушення біосинтезу ДНК у кістковому мозку може зберігатися в клітинах тривалий час через відсутність репарації пошкодженої ДНК, однією з причин якої є пострадіаційне зниження активності ДНК-полімерези  $\beta$ , порушення біосинтезу ДНК не тільки на стадії ініціації, але і елонгації і, як наслідок, – порушення біосинтезу ДНК довше критичного терміну. В результаті спостерігається глибоке клітинне спустошення критичних органів не тільки внаслідок загибелі клітин, але й за тривалого порушення кінетики клітинних популяцій.

До складу кісткового мозку входять клітини різного ступеня диференціювання, тому було розглянуто співвідношення концентрацій РНК/ДНК [6]. Отримані результати засвідчили, що у всіх групах тварин величина відношення РНК до ДНК зазнавала фазових коливань. Амплітуда цих коливань залежала від отриманої тваринами дози і терміну після впливу радіації. Для оцінки ступеня активності системи реалізації генетичної інформації в кістковому мозку визначали відносну зміну співвідношення РНК/ДНК на одиницю поглинутої дози (рис. 3). Ці величини змінювалися хвилеподібно у всіх групах тварин, але суттєво підвищувалися у тварин, опромінені в дозі 0,2 Гр (в перші 4 доби і повторно через 15 діб), а знижувалися - через 6-10 діб. У тварин, опромінені в дозі 3,0 Гр, показник зростав на 28% через 4 доби і плавно спадав до 20-ї доби.

Від ступеня ушкодження клітин кісткового мозку після опромінення та функціонального стану клітин периферичної крові у віддалені строки залежить не тільки глибина патології, але й тривалість процесів репарації та видужання. [1,4,9]. Зниження концентрації нуклеїнових кислот в кістковому мозку можна пояснити не тільки загибеллю клітин, але й інфільтрацією лімфоцитів, які можуть виконувати роль енергетичних передавачів в опромінені органи й тканини для додаткового забезпечення енергією через щільні контакти. При цьому порушується ряд біохімічних процесів, які є складовими частинами системи передачі сигналу з поверхні клітин в цитозоль [10,11].

Динаміка концентрації нуклеїнових кислот в кісткового мозку засвідчує про те, що відновлення гемопоєзу після опромінення включає в себе два процеси: репопуляцію через посилення проліферації клітин-попередниць, які зберегли життєздатність після опромінення, і репарацію опромінених клітин. Перший з них має переважне значення в діапазоні доз опромінення 0,2-1,0 Гр, коли ще зберігається помітна кількість гемопоетичних клітин. Другий може виявитися вирішальним в області доз опромінення 5,0-9,0 Гр, коли ураження охоплює практично весь пул попередників, а доля непошкоджених клітин настільки мізерна, що не можна надіятися на їх швидку репопуляцію.

### Висновки

Установлено, що відносна зміна концентрації нуклеїнових кислот на одиницю поглинутої дози у кістковому мозку є найвищою у щурів, опромінених у дозах 0,5 та 1,0 Гр, через 4 доби після впливу радіації і суттєво відрізняється від закономірностей доза-ефект у тварин після їх опромінення в дозах 0,2, 3,0, 5,0, 7,0 та 9,0 Гр, що свідчить про радіаційну депопуляцію органу в ранній період. Амплітуда коливань зміни співвідношення РНК/ДНК на одиницю поглинутої дози залежала від отриманої тваринами дози і змінювалася хвилеподібно у всіх групах тварин, суттєво підвищувалися тільки у тварин, опромінених у дозі 0,2 Гр, що засвідчує про зростання в популяції клітин кістковому мозку, збагачених РНК. Результати дослідження підтвердили, що вплив іонізуючої радіації у широких межах доз завдає радіаційного пошкодження одному із критичних органів – кровотворній системі. Вивчення цього питання має виключне значення для пізнання радіаційних уражень кісткового мозку та кровотворної системи в цілому, її радіаційному старінню.

### Література

1. Пінчук Л. Б. Зміни в системі кістковомозкового кровотворення у тварин, які постійно утримувалися в Чорнобильській зоні відчуження / Л.Б. Пінчук, Н.К. Родіонова // Чорнобиль. Зона відчуження: Зб. наук. пр. – К.: Наук. думка, 2001. – С. 429-435.
2. Гофман Дж. Чернобыльская авария: радиационные последствия для настоящего и будущих поколений / Дж. Гофман – Минск: Высш. школа, 1998. – 554 с.
3. Жербин Е.А. Радиационная гематология / Е.А. Жербин, А.Б. Чухловин. – М.: Медицина, 1989. – 176 с.
4. Нальовіна О. Є. Радіочутливість кровотворної та імунної систем / О.Є. Нальовіна, Л.І. Остапенко, О.І. Долішняк, М.Є. Кучеренко // УРЖ. – 1997. – Т. 3, №5. – С. 308-312.
5. Wyllie A. M. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin in morphology and dependence on macromolecular synthesis / A.M. Wyllie, R.G. Morris, A.L. Smith et al // J. Pathol. – 1984. – Vol. 142. – P. 67-77.
6. Петрина Л. Г. Динаміка і дозові залежності порушення синтезу РНК і ДНК у кістковому мозку опромінених тварин / Л.Г. Петрина // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького. – 2002. – Т. 4, №2. – С. 247 - 254.
7. Трудолюбова М. Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных. Современные методы в биохимии / Под ред. В.И. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. —С. 313-316.
8. Мазурик В. К. Взаимосвязь содержания активных форм кислорода и состояния структуры ДНК в клетках костного мозга у мышей в динамике после общего воздействия  $\gamma$ -излучения / В.К. Мазурик, В.Ф. Михайлов, Л. Н. Ушенкова, Н. Ф. Раева // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2003. – Т. 43, Вып. 6. – С. 625 - 632.
9. Петрина Л. Г. Швидкість зміни вмісту РНК і ДНК у крові опромінених тварин / Л. Г. Петрина // Галицький лікарський вісник. – 2007. – Т. 14, № 4. – С. 76 – 79.
10. Bruserud Q. Production of lymphokines in irradiated lymphoid cell population / Q. Bruserud, T. Moen // J. Immunol. Meth. — 1984. — V. 71. — P. 175-184.
11. Тестов Б. В. Неспецифичность действия радиационного излучения на организм / Б.В.Тестов, Т.Д. Афонина // Международная конференция «Биорад – 2001. Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды» (Сыктывкар, 20-24 марта 2001 г): Тез. докл. Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН, 2001. – С. 246-247.

Стаття поступила до редакції 19.11.2009 р.;

Стаття прийнята до друку 30.11.2009 р.

**Петрина Л. Г.** - доктор біологічних наук, професор кафедри медичної інформатики, медичної та біологічної фізики Івано-Франківського національного медичного університету.

**Рецензент:** Адаменко О. М. - професор кафедри екології Івано-Франківського національного технічного університету нафти і газу, доктор геолого-мінералогічних наук, професор, лауреат Державної премії СРСР.