УДК 577.3

ДИНАМІКА РІВНЯ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ В ОРГАНАХ ЩУРІВ ПРИ ДІЇ ПРОМЕНІВ РЕНТГЕНА І ВВЕДЕННІ НАТРІЙГАЛАТУ

В. А. Барабой, Л. І. Загоруйко, А. Д. Кречетова, С. П. Мацуй

Відділ радіаційної біофізики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Нашими раніше проведеними дослідженнями встановлено, що введення пропілгалату [7] та натрійгалату [1] інтактним щурам викликає в ранні строки (третя доба) зниження вмісту нуклеїнових кислот (НК) в органах, особливо в радіочутливих (селезінка, слизова оболонка кишечника), з дальшим відновленням і навіть підвищенням вихідного рівня. Введення галатів (60 *мг/кг* ваги тварини) перед опроміненням зумовлювало певну сумацію пригнічуючих впливів обох агентів на рівень НК в ранні строки (третя доба після опромінення); надалі у захищених тварин відновлення вмісту НК в радіочутливих органах відбувалося значно швидше, ніж у незахищених, що і розглядалося як важливий фактор захисту.

Виявлення пострадіаційного захисного ефекту натрійгалату [6], залежності біологічної дії галатів від ступеня і темпу їх окислення [2—5], а також потреба вивчення ефективності галатів при багаторазовому опроміненні тварин зумовили необхідність постановки даного дослідження.

Методика досліджень

Експерименти проведені на 580 лабораторних щурах вагою 150±20 *г*. Вміст ДНК, РНК і суми НК, як і в раніше проведених наших дослідженнях, визначали за модифікованою методикою Шмідта — Таннгаузера [8] з наступним кількісним визначенням на спектрофотометрі СФ-4 [9] і розрахунком на *г* ваги органа. Кількість ДНК і РНК виражали в *мг*% фосфору. Опромінення тварин провадили на апараті РУМ-11 при фільтрах 0,5 *мм* Cu і 1,0 *мм* Al, відстані 40 *см*, напрузі 180 *кв*; накал 10 *ма*, потужність дози 25,4 *р/хв*, або накал 15 *ма*, потужність дози 43 *р/хв*. При фракціонуванні дози опромінення проводили тричі на тиждень по 100 *р* десятиразово (сумарно 1000 *р*) при потужності дози 25,4 *р/хв*. При такій дії загибелі щурів на протязі 30 діб, як правило, не наставало, але спостерігалися помітні зміни загального стану, картини периферичної крові, динаміки ваги тіла та інших показників. Натрійгалат вводили внутрібрюшинно на дистильованій воді (кінцевий pH розчину 7,4—7,8) в дозуванні 60 і 300 *мг/кг*, забарвлення розчину жовто-зелене, темніє з часом. При вивченні ефективності натрійгалату різного ступеня окисленості використовували три зразки препарату: неокислений (безколірний в момент введення), слабо окислений (в момент введення розчин має жовто-зелене забарвлення) і окислений (забарвлення розчину темно-зелене). Окислення натрійгалату в розчині здійснювалося дозованим продуванням повітря під контролем pH та інших показників [2, 4, 5].

Вміст РНК і ДНК визначали в печінці, селезінці і слизовій оболонці кишечника щурів на третю, сьому, 13 — 14-ту та 30-у доби після опромінення і введення натрійгалату. Одночасно з кожною серією експериментів по захисному і пострадіаційному застосуванню натрійгалату досліджували вміст НК в органах інтактних щурів (усього 60 тварин); крім того, в спеціальних серіях експериментів досліджували вплив одного опромінення і одного препарату. В кожній групі у кожний строк досліджували, як правило, не менше десяти тварин.

Результати досліджень

При дослідженні впливу одноразового опромінення щурів рентгенівськими променями в дозі 750 *р* одержані дані, аналогічні одержаним нами раніше [7]: на третю та сьому добу після дії радіації відзначено чітке зниження вмісту ДНК в радіочутливих органах, з відновленням у більш пізні строки, яке частково завершується (селезінка) на 30-у добу. Вміст ДНК в селезінці на третю добу знижується на 43%, у слизовій оболонці — на 22,2%; РНК відповідно — на 19,5 і 26,2%. На сьому добу вміст ДНК в слизовій продовжує зменшуватись; він становить лише 69% вихідного (зниження на 31,2%); вміст РНК нижче вихідного уже на 13,4%. У селезінці відповідно вміст ДНК і РНК нижче вихідного на 30 та 20,5%. На 30-у добу вміст ДНК в слизовій оболонці кишечника досягає вихідного рівня, а в селезінці навіть дещо перевищує його (ці дані одержані на небагатьох тваринах, що перенесли опромінення). Отже, глибина зниження вмісту НК в радіочутливих органах щурів була дещо меншою, ніж у першому нашому дослідженні, а відновлення дещо інтенсивніше, що пов'язано з деякими змінами умов опромінення (зміна трубки на рентгенапараті і викликане цим повторне еталонування дози, перехід до більш високих потужностей опромінення тощо) і з більш інтенсивним рівнем обміну у молодших за віком тварин. Проте зумовлені згаданими обставинами невеликі (порядку 5—10%) кількісні відмінності не вносять розходжень у загальну реакцію радіочутливих органів на опромінення: так само РНК реагує зниженням у ранні строки і швидше проявляє тенденцію до відновлення, вміст ДНК знижується і відновлюється повільніше. Тому дана модель променевого ушкодження, як і застосована раніш [1, 7], придатна для вивчення радіозахисної дії натрійгалату.

Після десятиразового опромінення щурів сумарною дозою 1000 *р* найбільш глибокі і стійкі зміни були відзначені у вмісті ДНК в селезінці та слизовій оболонці тонкого кишечника. На третю добу рівень ДНК в них був нижче вихідного на 46,6 і 42% відповідно; на сьому добу — на 45 і 30%, на 13-у добу — на 39 і 41% і на 30-у добу — на 28 і 30%. Водночас вміст РНК з самого початку не проявив виразної тенденції до зниження (воно становило на третю добу 6,3% для селезінки і 16,7% для слизової оболонки), а вже на сьому добу перевищив вихідний.

Отже, застосована модель променевого ушкодження з фракціонуванням дози викликала достатньо глибокі і характерні, хоч і сумісні з життям більшості тварин зміни вмісту НК в радіочутливих органах щурів. Тим самим вона придатна для вивчення захисного ефекту галатів.

Певний інтерес становить вивчення ефекту введення галатів неопроміненим тваринам. Раніше [1, 7] нами було показано, що введення пропілгалату і натрійгалату в ефективній захисній дозі 60 *мг/кг* викликає певне зниження вмісту НК, особливо РНК, в радіочутливих органах, з дальшим відновленням, причому вміст РНК відновлюється швидше. На 13—30-у доби після введення натрійгалату рівень РНК і ДНК перевищував вихідний. У цій статті представлені дані про ефект одноразового введення натрійгалату в дозі 300 *мг/кг*, десятиразового (три рази на тиждень) введення його в разовій дозі 60 *мг/кг* і одноразового введення його препаратів (60 *мг/кг*) різного ступеня окислення (рис. 1, 2, 3).

Як видно з рис. 3, натрійгалат (300 *мг/кг*) на третю добу викликав деяке зниження ДНК (на 22,4%) у слизовій і практично не впли-

нув на рівень РНК в ній; в селезінці і печінці введення препарату викликало значне збільшення рівня ДНК (на 17,5 та 67,7%) і РНК (на 54,5 і 45,7%) відповідно. В наступні строки проявлялася тенденція до нормалізації вмісту НК, але рівень їх залишався вище вихідного; лише в слизовій оболонці кишечника на 30-у добу він був нижче норми на 18%. Отже, збільшення дози натрійгалату (при введенні інтактним тваринам) не підвищило інгібіторної фази його дії, але істотно підсилило стимулюючий ефект. Можливо, цим зумовлена ефективність натрійгалату в цій дозі при введенні після опромінення.

Десятиразове (по 60 *мг/кг*) введення натрійгалату, як видно з рис. 3, викликає досить значне зниження рівня НК. На третю добу

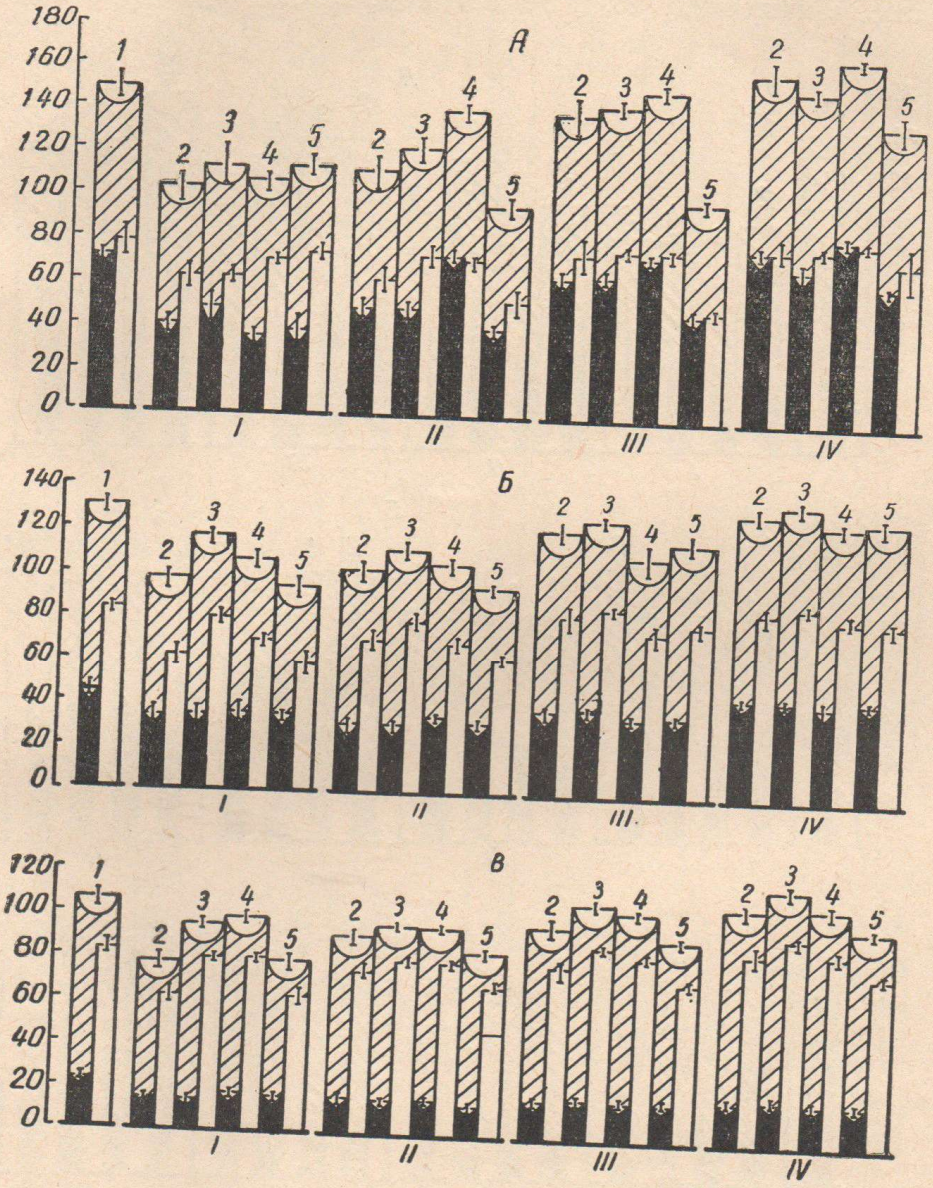

Рис. 1. Вміст ДНК, РНК і суми НК в органах щурів у нормі і на третю (*I*), сьому (*II*) 13—14-у (*III*), 30-у (*IV*) доби після опромінення (750 *р*) та профілактичного введення натрійгалату (60 *мг/кг*).

Темні стовпчики — ДНК, світлі — РНК, заштриховані — сума НК. *1* — норма; *2* — опромінення; *3* — перед опроміненням введено неокислений натрійгалат; *4* — перед опроміненням введено оптимально окислений препарат; *5* — перед опроміненням введено окислений препарат. *А* — селезінка; *Б* — слизова оболонка тонкої кишки; *В* — печінка.

після закінчення курсу ін'єкцій кількість ДНК в селезінці та слизовій оболонці кишечника знижується на 45 та 28% відповідно, тобто приблизно так само, як після десятиразового опромінення. Далі, в селезінці спостерігається, як і у опромінених тварин, поступове підвищення рівня ДНК, яке не досягає проте вихідної величини. В кишечнику аж до 13-ї доби вміст ДНК продовжує знижуватися, досягаючи на цей строк всього 40% вихідного рівня. В печінці курс введень препарату викликає збільшення вмісту ДНК на третю добу з наступною нормалізацією.

Рівень РНК після введення галату знижується більше, ніж після опромінення, досягаючи на сьому добу мінімуму: в селезінці — 40% вихідного, в кишечнику 26, в печінці 33%. Вихідний рівень досягаєть-

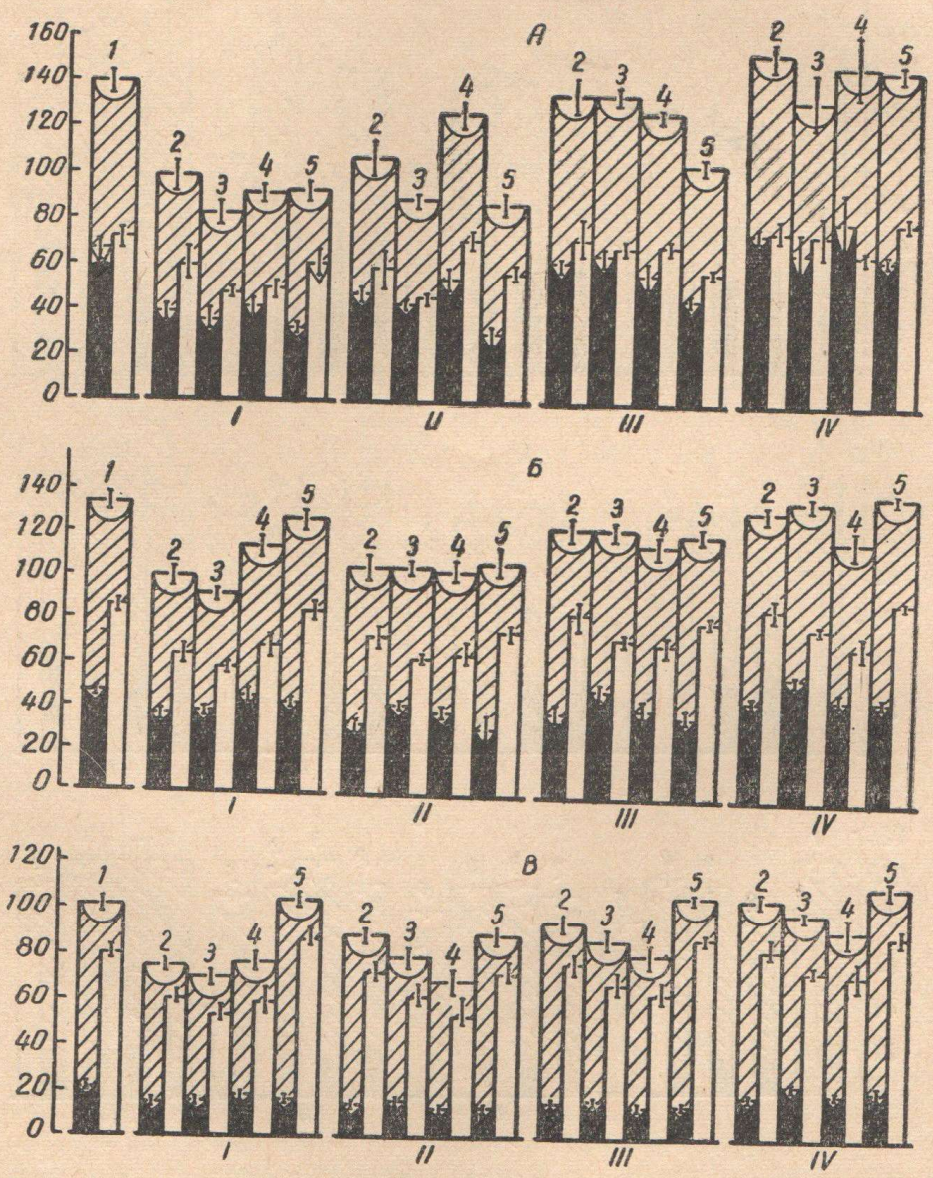

Рис. 2. Вміст ДНК, РНК і суми НК в органах щурів у нормі і на третю (*I*), сьому (*II*), 13—14-у (*III*) і 30-у (*IV*) доби після опромінення (750 *р*) і пострадіаційного застосування натрійгалату (300 *мг/кг*).

1 — норма; *2* — опромінення; *3* — після опромінення введено неокислений натрійгалат; *4* — після опромінення введено оптимально окислений препарат; *5* — після опромінення введено окислений препарат. Інші позначення див. рис. 1.

ся в печінці вже на 13-у добу, в селезінці на 30-у, а в слизовій оболонці на цей строк він все ще нижче вихідного на 10%.

Отже, багаторазове введення натрійгалату (сумарно 600 *мг/кг*,

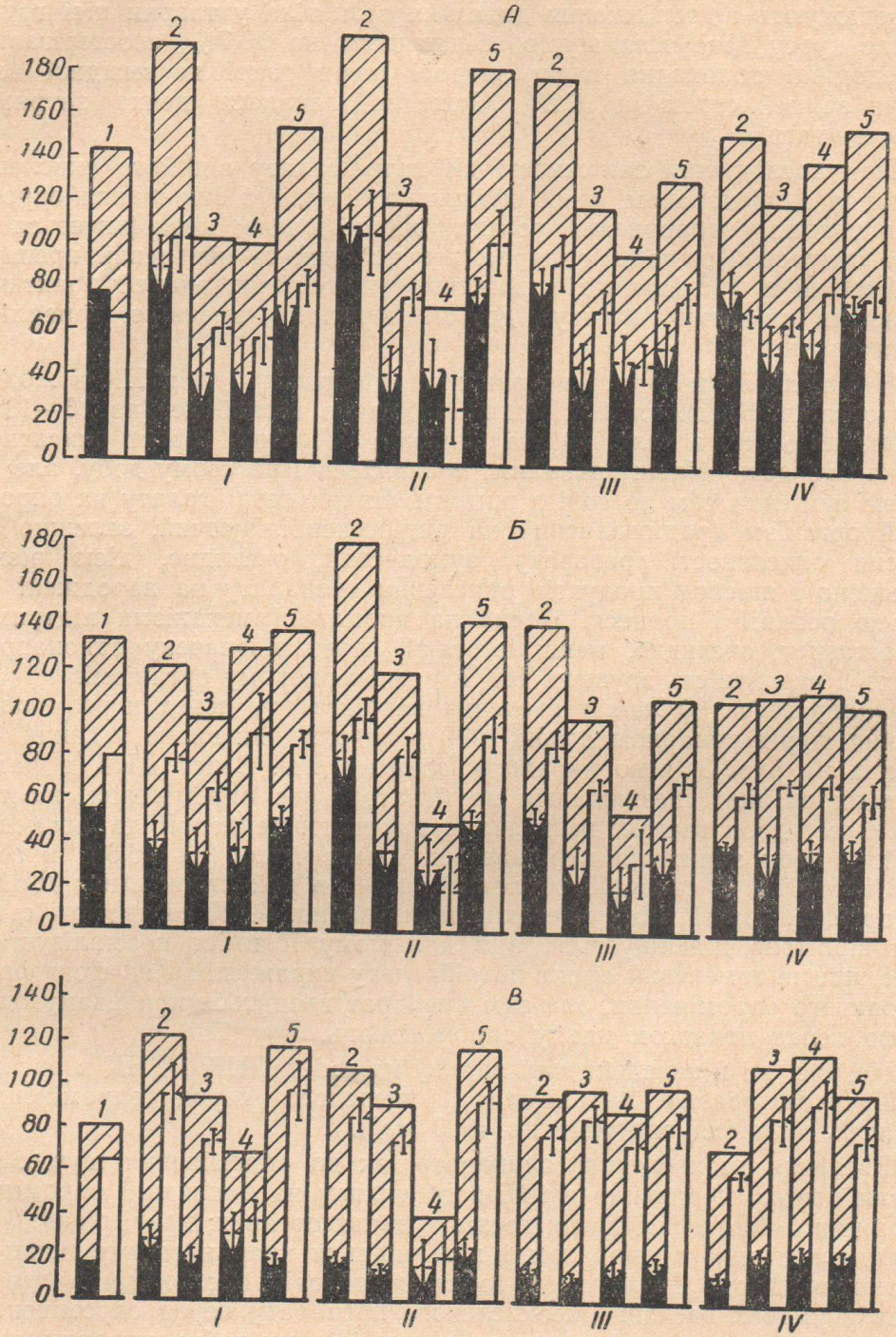

Рис. 3. Вміст ДНК, РНК і суми НК в органах щурів у нормі і на третю (*I*), сьому (*II*), 13—14-у (*III*) і 30-у (*IV*) доби після введення натрійгалату (300 *мг/кг*, а також по 60 *мг/кг* десятиразово, тричі на тиждень), опромінення (по 100 *р* десятиразово, тричі на тиждень) і одноразового введення натрійгалату (60 *мг/кг*) перед курсом опромінень.

1 — норма; *2* — введення оптимально окисленого натрійгалату (300 *мг/кг*); *3* — опромінення (десять разів по 100 *р*); *4* — введення натрійгалату (десять разів по 60 *мг/кг*); *5* — введення натрійгалату (60 *мг/кг*) перед курсом опромінень. Інші позначення див. рис. 1.

тобто всього в два рази вище, ніж при пострадіаційному застосуванні препарату; $ЛД_{50}$ для одноразового введення становить 2450 *мг/кг* [6]) викликає досить глибокі, хоч і оборотні зміни нуклеїнового обміну; можна навіть говорити про своєрідну кумуляцію його ефектів. Це підтверджують і дослідження динаміки ваги тіла у тварин цієї групи. За час курсу вага тіла щурів збільшилась на 10,7%, спостерігалися хвилеподібні коливання ваги; здорові щури такої ж вихідної ваги зросли за цей строк на 16,2%. Отже, відзначалася деяка затримка приросту ваги.

При дослідженні залежності дії натрійгалату від його окислення ми поряд з препаратом, який ефективно підвищує виживання опромінених тварин (забарвлення розчину жовто-зелене; кваліфікується як слабо окислений), вводили щурам неокислений та окислений препарати. Перший в дослідах на виживання опромінених мишей практично не виявив на нього впливу; другий вірогідно зменшує тривалість життя тварин.

Неокислений препарат не викликав вірогідних змін НК в жодному з органів. Введення двох інших зумовило неглибоке (на 16—18%) зменшення ДНК в селезінці та слизовій оболонці. Ефект окисленого зразка був дещо більш тривалим, проявлявся і на сьому добу, але він цілком сумісний сам по собі з життям. Вплив натрійгалату на опромінений організм (радіозахисний чи радіосенсибілізуючий, залежно від ступеня окисленості препарату) зумовлений, очевидно, дією різних (кількісно і якісно) продуктів окислення препарату на породжені радіацією реакції і процеси. Вплив на нормальні механізми підтримки гомеостазису, очевидно, менш істотний, через відзначену однонаправленість і незначність зрушень НК в неопроміненому організмі.

Одноразове (60 *мг/кг*) введення натрійгалату перед курсом опромінення щурів сумарною дозою 1000 *р* виявляє, як видно з даних, наведених на рис. 3, ясно виражену захисну дію. Вміст ДНК в радіочутливих органах, незважаючи на багаторазове опромінення, на третю і сьому доби взагалі не виявляє вірогідної тенденції до зниження. На 13-у добу зниження виражається більш чітко (на 26,6% в селезінці і на 31% у слизовій оболонці), але і в цей строк вміст ДНК в цих органах вищий, ніж у незахищених тварин. РНК на третю і сьому доби вірогідно підвищується, а в дальшому її вміст нормалізується. Отже, протипроменевий ефект натрійгалату виражений і на фоні фракціонованого опромінення, але сам препарат вводиться при цьому одноразово перед початком циклу опромінювань.

На рис. 1 і 2 наведені дані впливу на вміст ДНК і РНК в органах щурів трьох зразків натрійгалату, введеного перед опроміненням (60 *мг/кг*) і після опромінення (300 *мг/кг*).

Введення неокисленого препарату, як до опромінення щурів, так і після нього, не виявило вірогідного впливу на викликані опроміненням зміни вмісту ДНК у всіх досліджуваних органах; криві рівня ДНК у захищених цим препаратом і незахищених тварин майже повністю збігаються. Щодо РНК, то її вміст у слизовій оболонці і в печінці щурів в умовах введення неокисленого препарату перед опроміненням був вищим, ніж у незахищених, на третю і сьому доби; у тварин, яким той же препарат вводили після опромінення, в ті ж строки вміст РНК був нижчим, ніж у незахищених тварин на 7—15—18 *мг%* за фосфором. Якщо судити за цими даними, то слід зробити висновок, що в механізмі протипроменевої дії галатів має значення захист саме ДНК; препарат, який не захищає ДНК, не дає і ефективного захисту на рівні організму. До цього слід додати, що в умовах дії на організм

опромінення в дозах, близьких до мінімальної, абсолютно летальної дози, критичною системою, яка визначає долю опроміненого організму, є кровотворна система. Тому, очевидно, рівень ДНК в селезінці найбільш точно відбиває динаміку популяцій клітин в системі кровотворення, ефективність захисту і долю опроміненого організму.

Протипроменевий ефект натрійгалату, оптимально окисленого і найбільш ефективного в дослідах на мишах, проявляється по-різному в різних органах (рис. 1 і 2). В селезінці його введення як перед опроміненням, так і після нього, не зменшує величини зниження вмісту ДНК і РНК на третю добу (при введенні перед опроміненням — навіть дещо збільшує ефект опромінення, що збігається з нашими попередніми даними); проте в дальшому, особливо на сьому добу, у захищених щурів рівень ДНК і РНК різко підвищується, вірогідно перевищуючи його у незахищених тварин і наближається до вихідного.

В слизовій оболонці кишечника, в якій початкове зниження вмісту ДНК і РНК виражається більш слабко, ніж у селезінці, захисний ефект натрійгалату проявляється в більш або менш вірогідному пом'якшенні цього падіння, що прискорює в дальшому відновлення вихідного рівня ДНК. Проте відновлення рівня РНК в слизовій оболонці в обох групах захищених тварин затримується (при введенні препарату перед опроміненням цей ефект найсильніше виявляється на 13-у добу, при введенні після опромінення — на 30-у добу). Важливо, що аналогічне явище виявлене і в попередніх наших дослідженнях, при введенні як натрійгалату [1], так і пропілгалату [7].

В печінці опромінення викликає мінімальні зміни вмісту ДНК, і ефект захисного препарату з цієї причини незакономірний. Все ж можна відзначити деяке пом'якшення зниження ДНК на третю добу. Вміст РНК при введенні препарату перед опроміненням майже не змінюється. Препарат, введений після опромінення, дещо збільшує зниження РНК, особливо на сьому добу.

Окислений зразок натрійгалату виявляє несприятливий вплив на вміст НК в органах опромінених щурів. В селезінці його введення як перед опроміненням, так і після нього не проявляє вірогідного впливу на викликане опроміненням зниження ДНК і РНК на третю добу. Проте на сьому і 13-у доби, коли препарат оптимально окислений сприяє відновленню рівня НК до норми, і у незахищених щурів проявляється тенденція до відновлення, окислений препарат перешкоджає відновленню. Саме ця його властивість, очевидно, зумовлює його радіоміметичну активність. В слизовій тонких кишок цей препарат не впливає істотно на викликану опроміненням зміну вмісту ДНК. РНК при введенні препарату після опромінення знижується на третю і сьому доби сильніше, ніж без нього. Якщо галат введений до опромінення, він пом'якшує зниження на третю добу, але ці варіації ефекту, напевне, не впливають істотно на сумарний ефект препарату. Таким чином, поведінка окисленого зразка натрійгалату, його здатність дещо збільшувати силу променевого ураження визначаються затримкою відновлення рівня ДНК і РНК в селезінці, тобто по суті затримкою репарації кровотворної системи.

Висновки

1. Одноразове тотальне опромінення щурів летальною дозою радіації викликає у відповідності з нашими попередніми даними [7] закономірне зниження вмісту ДНК і РНК в селезінці, слизовій оболонці тонких кишок, а також у печінці, причому вміст РНК починає знижуватися і відновлюватись раніше.

2. При десятиразовому (три рази на тиждень) тотальному опроміненні щурів сумарною дозою 1000 *р* відзначено стійке, без вираженої тенденції до відновлення, зниження на 30—45% вмісту ДНК в селезінці та слизовій оболонці кишечника.

3. Десятиразове (три рази на тиждень по 60 *мг/кг*) введення натрійгалату неопроміненим тваринам викликає глибоке (на 30—60%) і тривале (третя — сьома — 13-а доби) зниження вмісту ДНК і РНК в радіочутливих органах. При одноразовому введенні того ж препарату (300 *мг/кг*) переважає стимулюючий ефект, особливо в селезінці та печінці. Пригнічуюча дія галатів на нуклеїновий обмін проявляє, таким чином, нахил до кумуляції.

4. Одноразове (60 *мг/кг*) введення натрійгалату перед курсом тотальних опромінень щурів вірогідно захищає вміст НК в радіочутливих органах від ушкоджень іонізуючою радіацією.

5. Неокислений заздалегідь препарат натрійгалату не виявляє вірогідного впливу на вміст НК в радіочутливих органах як інтактних, так і опромінених щурів, що корелює з відсутністю у нього виражених радіозахисних властивостей.

6. Оптимально окислений за нашою методикою препарат натрійгалату, застосований в дозі 60 *мг/кг*, якому властива протипроменева активність, викликає у неопромінених тварин короткочасне (третя доба) і неглибоке зниження ДНК в селезінці і слизовій оболонці кишечника. При підвищенні дози до 300 *мг/кг* ефект стає переважно стимулюючим. Радіозахисний ефект препарату при введенні як до опромінення, так і після нього проявляється в ранньому (сьома доба) і повному відновленні рівня ДНК і РНК в селезінці, в пом'якшенні попереднього зниження вмісту НК в слизовій оболонці кишечника і печінці.

7. Глибокоокислений препарат при введенні (60 *мг/кг*) неопроміненим щурам викликає більш тривале (третя — сьома доби) зниження НК в радіочутливих органах; при введенні до опромінення або після нього вірогідно перешкоджає відновленню рівня ДНК і РНК в селезінці, зниженого внаслідок опромінення, що корелює з раніше встановленою радіоміметичною активністю препарату.

Література

1. Барабой В. А., Мацуй С. П.— Укр. біохім. журн., 1963, 35, 84.
2. Барабой В. А.— Укр. біохім. журн., 1965, 37, 579.
3. Барабой В. А., Молдавская С. И.— Врачебное дело, 1966, 1, 71.
4. Барабой В. А.— Тез. докл. I Всес. симпозиума по фенольным соединениям, М., 1966, 21.
5. Барабой В. А.— Фізіол. журн. АН УРСР, 1967, 13, 809.
6. Городецкий А. А., Барабой В. А.— Противолучевые свойства галлатов, Изд-во АН УССР, 1963, 127.
7. Ліпкан М. Ф., Барабой В. А., Лукашова Р. Г.— Укр. біохім. журн., 1962, 34, 167.
8. Сквирская Э. Б., Чепинога О. П.— Практикум по нуклеопротеидам и нуклеиновым кислотам, М., «Высшая школа», 1964, 214.
9. Спирин А. С.— Биохимия, 1958, 23, 656.