

Влияние эмоционально-болевого стресса на синтез РНК и белка у крыс разного возраста

Роль стрессорных факторов в старении и формировании возрастной патологии общеизвестна [3]. Не должно вызывать сомнений также то, что влияние воздействий типа стресса, требующего существенного перераспределения внутренних ресурсов организма, во многом опосредовано геномом, реакциями биосинтеза белка. При этом сдвиги биосинтетических реакций в тканях разных органов или субклеточных структурах одних и тех же тканей, вероятно, могут быть количественно и качественно разные. Между тем, этот важный вопрос — влияние стресса на отдельные этапы транскрипции и трансляции в разных органах — недостаточно изучен не только в возрастном, но и в общебиологическом плане.

Цель работы — изучить влияние эмоционально-болевого стресса на синтез РНК и белка в разных тканях и субклеточных образованиях взрослых и старых крыс.

Таблица 1. Влияние стресса на удельную активность меченых предшественников белка в тканях разных органов взрослых и старых крыс

Орган	Статистический показатель	Взрослые		Старые	
		Контроль	Стресс	Контроль	Стресс
Головной мозг:					
лобная кора	$\bar{x}$	1,0	1,1	0,7	1,0
	m	0,1	0,1	0,1	0,1
	v	25	34	38	32
гипоталамус	$\bar{x}$	0,9	0,9	0,8	1,0
	m	0,1	0,1	0,1	0,2
	v	31	29	50	41
гипофиз	$\bar{x}$	1,6	1,5	1,3	1,6
	m	0,2	0,2	0,2	0,3
	v	31	37	36	49
Скелетная мышца	$\bar{x}$	1,8	1,3	1,1	1,4
	m	0,2	0,2	0,1	0,3
	v	34	37	21	52
Сердце (левый желудочек миокарда)	$\bar{x}$	1,4	1,6	1,4	1,6
	m	0,2	0,2	0,2	0,2
	v	26	30	42	36
Костный мозг	$\bar{x}$	1,6	1,7	1,4	1,7
	m	0,1	0,2	0,2	0,3
	v	20	32	37	41
Тонкая кишка (эпителий)	$\bar{x}$	2,1	2,2	2,4	2,3
	m	0,2	0,2	0,3	0,5
	v	25	27	31	58
Надпочечники	$\bar{x}$	1,8	1,8	1,4	1,7
	m	0,2	0,2	0,2	0,2
	v	29	29	35	37
Почки	$\bar{x}$	3,9	5,5	2,8	4,1
	m	0,5	1,2	0,3	0,9
	v	34	58	23	55
Печень	$\bar{x}$	3,0	3,2	2,4	2,8
	m	0,4	0,4	0,4	0,4
	v	32	34	42	42

Примечание. Здесь и в табл. 2 $\bar{x}$ — среднее значение, m — стандартная ошибка, v — коэффициент вариации.

© Т. Г. МОЗЖУХИНА, Л. Г. ВАКУЛЕНКО, А. Я. ЛИТОШЕНКО, Х. К. МУРАДЯН, 1991.

Методика

В работе использовали 28 взрослых (10—12-месячных) и старых (26—29-месячных) крыс-самцов линии Вистар. Эмоционально-болевого стресс (ЭБС) моделировали согласно рекомендациям Ведяева [2]. Болевой (прямоугольные электрические импульсы — 60 В, 15 мс, 50 Гц, 5—15 мс, 11 серий), звуковой (60 дБ, 5—15 мс, 11 серий) и световой (электрическая лампочка 300 Вт, 5—20 мс, 11 серий) раздражители включались авто-

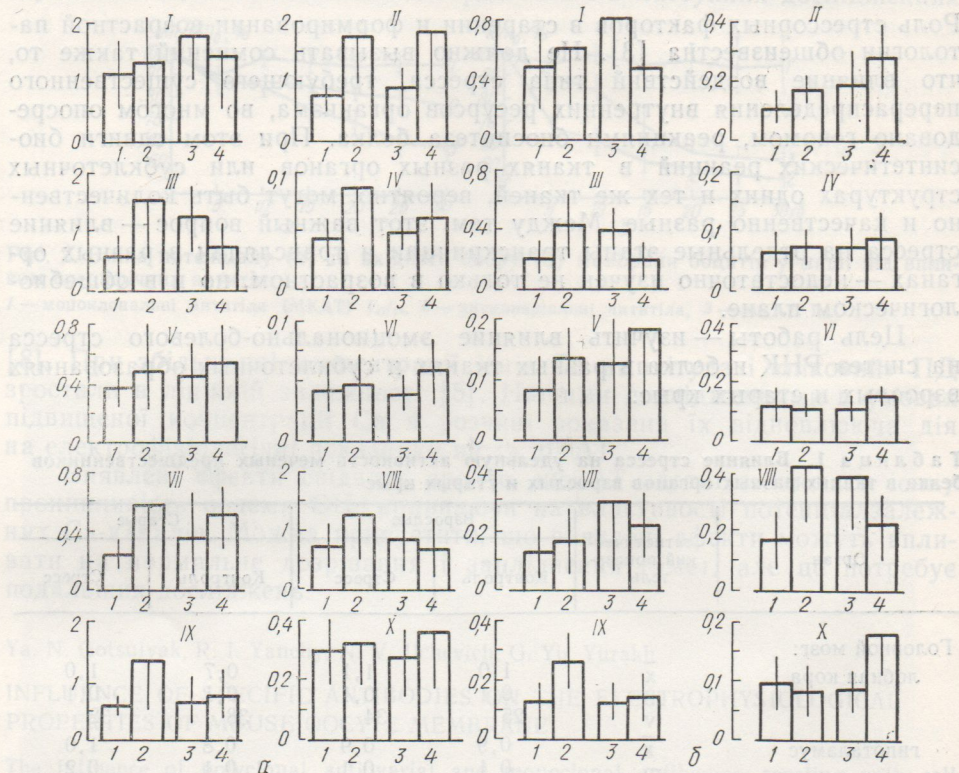


Рис. 1. Влияние 3-суточного эмоционально-болевого стресса на интенсивность синтеза РНК (а) и белка (б) в тканях разных органов у взрослых (1 — контрольных, 2 — стрессированных) и старых (3 — контрольных, 4 — стрессированных) крыс: I — лобная кора, II — надпочечник, III — гипоталамус, IV — почки, V — тимус, VI — печень, VII — костный мозг, VIII — миокард, IX — эпителий кишечника, X — скелетная мышца.

матически по заданной программе в случайной последовательности. Сеансы раздражения продолжительностью 10 мин повторялись ежедневно в течение 72 ч.

Об интенсивности захвата меченых предшественников при синтезе РНК и белка судили по удельной активности (число распадов $\cdot 10^{-3} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$) и относительной удельной активности (ОУА). Меченые предшественники РНК и белка (^{14}C -оротат и ^3H -лейцин — 10 и 50 МБк/кг соответственно) вводили внутрибрюшинно за 30 мин до забоя. ОУА оценивали отношением удельной активности кислотонерастворимого материала к таковой кислоторастворимого. Материалы разделяли с помощью мембранных нитроцеллюлозных фильтров, размер пор которых 0,22 мкм (фирма «Millipore», США) [5]. Хроматин фракционировали по методу Чихиржиной и соавт. [4], содержание ДНК и белка определяли по методу Groves и соавт. [6].

Полученные результаты обрабатывали согласно общепринятым методам статистического анализа [1].

Результаты и их обсуждение

Влияние стресса на захват меченых предшественников и их включение в соответствующие макромолекулы изучали в тканях следующих органов: головного мозга (лобная кора, гипоталамус, гипофиз), скелетной мышцы, сердца (левый желудочек), надпочечников, почек, печени, костного мозга и тонкой кишки (эпителий). Такой подбор тканей обу-

словлен стремлением к изучению влияния стресса на различные митотические процессы.

Сопоставление результатов стресса с данными о влиянии стресса на синтез белка в тканях ни одних из органов не оказывало статистически значимого влияния на синтез белка в тканях ни одних из органов (табл. 1). Хотя в скелетной мышце (рис. 1, X) стресс оказывал влияние на синтез белка, тем не менее в группе стрессированных крыс достоверными. Подвержено, вероятно, справедливо, что влияние стресса на синтез белка: под влиянием стресса в большинстве органов не увеличивались с коэффициентом вариации (рис. 1, а). Результаты анализа белка с помощью дисперсионного анализа показали, что факторы стресса влияют на синтез белка, что подтверждается тем, что рост ОУА белков, был статистически значимым ($P < 0,05$).

Примерно так же получены при анализе

Рис. 2. Влияние 3-суточного эмоционально-болевого стресса на интенсивность синтеза РНК (I, II) и белка (III, IV) в тканях разных органов у взрослых (1 — контрольных, 2 — стрессированных) и старых (3 — контрольных, 4 — стрессированных) крыс.

са на захват меченых предшественников (рис. 1, б). Коэффициент вариации ОУА белков в большинстве органов был только в пределах нормы. Результаты свидетельствуют о том, что стресс вызывает активацию синтеза белка с одновременным снижением синтеза РНК.

Повышение вариабельности стрессовых животных. Транскрипция и трансляция — это этап влияния стресса на биосинтез РНК и белка. Однако, должна снижаться активность на низкоактивных и более выраженные и высокие (табл. 2) и наоборот, во фракциях активности и ОУА. Доля транскрипции двухфакторного дисперсионного анализа (табл. 2) наиболее значимые стрессом, а также действия (F_{ав}) существенное влияние.

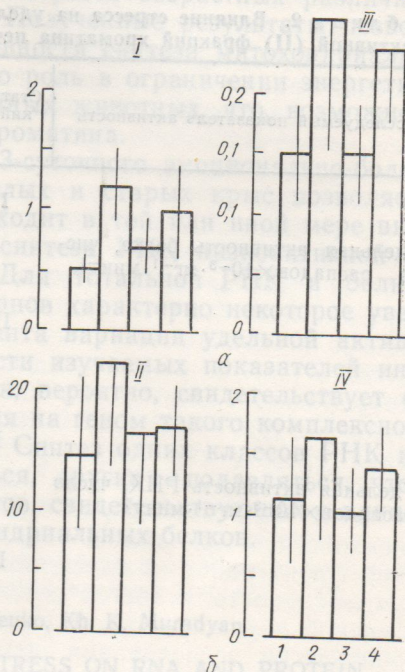
словлен стремлением проанализировать клетки, характеризующиеся разными митотическим индексом и типом дифференциации.

Сопоставление ОУА предшественников белка показало, что стресс не оказывает статистически достоверного влияния на захват ^3H -лейцина в тканях ни одного из исследуемых органов взрослых или старых крыс (табл. 1). Хотя в тканях некоторых органов (почек, лобной коры, скелетной мышцы) отмечалось заметное увеличение значения этого показателя, тем не менее, из-за большого разброса значений, особенно в группе стрессированных животных, отличия были статистически недостоверными. Подобное утверждение, вероятно, справедливо и для ОУА белка: под влиянием стресса в тканях большинства органов одновременно увеличивались средние значения и коэффициент вариации ОУА белка (рис. 1, а). Результаты анализа ОУА белка с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (фактор А — возраст, фактор В — стресс) свидетельствуют, что только в надпочечниках рост ОУА белка, вызванный стрессом, был статистически значим ($F_V = 4,9$; $P < 0,05$).

Примерно такие же результаты получены при анализе влияния стресса

Рис. 2. Влияние 3-суточного эмоционально-болевого стресса на интенсивность синтеза РНК (I, II) и белка (III, IV) активного (а) и низкоактивного (б) хроматина печени взрослых и старых крыс.

Остальные обозначения те же, что на рис. 1.



са на захват меченых предшественников при синтезе тотальной РНК (рис. 1, б). Под влиянием стресса средние значения и коэффициент вариации ОУА РНК в той или иной мере увеличивались в тканях большинства органов, однако статистически значимым это увеличение было только в надпочечниках ($F_V = 4,2$; $P < 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что у крыс 3-суточный ЭБС вызывает активацию захвата предшественников и их включения в РНК и белки с одновременным увеличением коэффициента вариации.

Повышение вариальности удельной активности и ОУА у стрессированных животных представляется естественным, если учесть, что транскрипция и трансляция — многостадийные процессы, и на каждом их этапе влияние стресса может быть различным. При «дроблении» биосинтеза РНК и белка на отдельные звенья вариальность, вероятно, должна снижаться. Действительно, при разделении хроматина печени на низкоактивную (I) и активную (II) фракции обнаружены более выраженные и статистически значимые различия удельной активности (табл. 2) и ОУА (рис. 2). Как и в случае тканей отдельных органов, во фракциях хроматина печени под влиянием стресса удельная активность и ОУА РНК и белка повышаются. Увеличивается также доля транскрипционно активного хроматина II. Согласно результатам двухфакторного дисперсионного анализа, в низкоактивной фракции на удельную активность РНК ($F_V = 11,0$; $P < 0,01$) и белка ($F_V = 7,4$; $P < 0,05$) наиболее существенное влияние оказывали факторы, запускаемые стрессом, а на долю активного хроматина — факторы совместного действия ($F_{AB} = 8,1$; $P < 0,01$). Аналогичное соотношение — более существенное влияние факторов стресса и значительно более слабое

Влияние стресса на геном различно не только в тканях разных органов и фракциях хроматина, но и в различных субклеточных образованиях. Нами изучено влияние ЭБС на синтез митохондриальных

Исследуемый показатель активности	Статистический показатель	Взрослые		Старые	
		Контроль	Стресс	Контроль	Стресс

Удельная активность белка, число распадов $\times 10^{-3} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	I фракция				
	$\bar{x}$	2,0	3,0	1,2	3,1*
	m	0,2	0,8	0,3	0,7
	v	24	64	63	57
	II фракция				
	$\bar{x}$	14,9	21,3	8,8	21,7
	m	3,5	6,4	0,8	5,4
	v	58	74	25	66
Удельная активность РНК, число распадов $\times 10^{-3} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$	I фракция				
	$\bar{x}$	3,0	6,5	2,7	4,7*
	m	0,4	1,4	0,4	0,6
	v	32	57	41	31
	II фракция				
	$\bar{x}$	97,2	123,0	62,7	92,2
	m	25,3	36,5	5,3	20,2
	v	64	78	22	58
Относительное содержание фракции, %	I фракция				
	$\bar{x}$	85,7	86,4	89,3	82,1*
	m	2,1	0,8	0,5	2,7
	v	6	3	2	9
	II фракция				
	$\bar{x}$	14,3	13,6	10,7	17,9*
	m	2,1	0,8	0,5	2,7
	v	35	16	13	40*

Таблица 3. Влияние стресса на синтез белка митохондриального и ядерного кодирования в митохондриях миокарда взрослых и старых крыс

Показатель	Взрослые		Старые	
	Контроль	Стресс	Контроль	Стресс
Синтез белков, ОУА/10 ⁻³				
суммарных	1,5±0,11	1,06±0,12*	1,09±0,16**	0,91±0,05
ядерного кодирова- ния	1,12±0,09	0,49±0,08*	0,57±0,11**	0,52±0,07
митохондриального кодирования	0,64±0,06	0,59±0,07	0,31±0,04**	0,27±0,04

112

белков, кодируемых карде старых и взрослых результатов, в ядрах ядерного и митохондриального генома животных приводит к хондрией за счет синтеза белков ядерного генома. Таким образом, внимание нивелиро синтеза белков ядерного генома заключить, что белков может быть недостаточных ресурсов митохондриального генома связано с большей «напряженностью». Таким образом, стрессорного фактора заключить, что у стрессорной активности повышается активной фракцией тканей большинства животных. Средних значений и ОУА. Повышенности транскрипции, разномасштабного воздействия, как белков при этом не следует и из полученных стресса на синтез

The intensity of RNA and in active and low-active f ted to emotional-painful s biosynthesis in chromatin i hypothalamus is observed.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазян С. А., Енюков В. В. Зависимости.— М.: Физматгиз, 1983.— 134 с.
2. Веделев Ф. П., Воробьев В. В., Здровье, 1983.— 134 с.
3. Фролькис В. В. Перуль, 460 с.
4. Чихиржина Г. И., Дом хроматина эндогенным рибозимом хроматина // М.
5. Кеннел Д. Использование белка. Методы исследования.
6. Growes W, Davis F., Se of protein without nucle

Ин-т геронтологии АМН СССР

белков, кодируемых ядерным или митохондриальным геномом в миокарде старых и взрослых крыс (табл. 2). Как видно из представленных результатов, в старости снижается синтез митохондриальных белков ядерного и митохондриального кодирования. Стресс у взрослых животных приводит к достоверному снижению синтеза белков митохондрий за счет снижения интенсивности синтеза белков, кодируемых ядерным геномом. У старых крыс изменений биосинтеза митохондриальных белков под действием стресса не отмечалось. Обращает на себя внимание нивелирование под влиянием стресса возрастных различий синтеза белков ядерного кодирования. Полученные результаты позволяют заключить, что снижение интенсивности синтеза митохондриальных белков может играть существенную роль в ограничении энергетических ресурсов миокарда стрессированных животных, что, возможно, связано с большей «раскрытостью» их хроматина.

Таким образом, изучение влияния 3-суточного эмоционально-болевого стрессорного воздействия у взрослых и старых крыс позволяет заключить, что у этих животных происходит в той или иной мере выраженной повышение интенсивности синтеза РНК низкоактивной и активной фракций хроматина печени. Для тотальной РНК и белка тканей большинства исследованных органов характерно некоторое увеличение средних значений и коэффициента вариации удельной активности и ОУА. Повышение вариабельности изучаемых показателей интенсивности транскрипции и трансляции, вероятно, свидетельствует о сложности, разнонаправленности влияния на геном такого комплексного воздействия, каковым является ЭБС. Синтез одних классов РНК и белков при этом может стимулироваться, других — подавляться, что следует и из полученных нами результатов, свидетельствующих о влиянии стресса на синтез ядерных и митохондриальных белков.

T. G. Mozzhukhina, L. G. Vakulenko, A. Ya. Litoshenko, Kh. K. Muradyan

THE INFLUENCE OF EMOTIONAL-PAINFUL STRESS ON RNA AND PROTEIN BIOSYNTHESIS IN THE DIFFERENT-AGE RATS

The intensity of RNA and protein biosynthesis is studied in different tissues as well as in active and low-active fractions of liver chromatin, when adult and old rats are subjected to emotional-painful stress during 3 days. Significant stimulation of RNA and protein biosynthesis in chromatin fractions in liver and total RNA and protein in adrenals and hypothalamus is observed.

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айвазян С. А., Енюков И. С., Мешалкин Д. Д. Прикладная статистика. Исследование зависимостей. — М.: Финансы и статистика, 1985. — 487 с.
2. Ведяев Ф. П., Воробьев Т. М. Модели и механизмы эмоционального стресса. — Киев: Здоровье, 1983. — 134 с.
3. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение. — Л.: Наука, 1970. — 460 с.
4. Чихиржина Г. И., Домкина Л. К., Чигарева Н. Г., Ашмарин И. Н. Солюбилизация хроматина эндогенным Ca^{2+} - Mg^{2+} -зависимым фактором. Активность труднорастворимого хроматина // Мол. биология. — 1976. — 10, № 6. — С. 1303—1310.
5. Кеннел Д. Использование фильтров для разделения радиоактивной РНК, ДНК и белка. Методы исследования нуклеиновых кислот. — М.: Мир, 1970. — С. 138—144.
6. Growes W., Davis F., Seils B. Spectrophotometric determination of microgram quantities of protein without nucleic acid interference // Anal. Biochem. — 1968. — 22. — P. 195—210.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Материал поступил
в редакцию 30.02.90