

В.Г. Цыганков, Т.В. Латушко\*, Е.В. Барковский\*

**ИЗМЕНЕНИЕ СИНТЕЗА РНК ПОД ВЛИЯНИЕМ ИОНОВ СВИНЦА  
В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ**

Многочисленными исследованиями доказано, что ионы тяжелых металлов могут взаимодействовать с макромолекулами ядер клеток [9]. Прямое взаимодействие ионов свинца с основаниями нуклеиновых кислот вызывает значительные изменения в структуре молекулы ДНК [10]. Существенно отметить, что аналогичное взаимодействие ионов свинца с донорными атомами оснований приводит также к образованию комплексов  $Pb^{2+}$  – РНК [5, 8]. В модельных исследованиях синтеза РНК установлено, что такие ионы металлов как  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Be^{2+}$  изменяют скорость транскрипции РНК [7]. По степени ингибирования общей транскрипции РНК эти металлы можно расположить в следующий ионный ряд:  $Pb^{2+} > Be^{2+} > Cd^{2+} > Co^{2+}$ . Интересно отметить тот факт, что ионы свинца в концентрациях, ингибирующих общую скорость транскрипции, увеличивают скорость инициации цепи РНК [7].

Учитывая приведенные литературные данные о влиянии ионов свинца на РНК, нам представлялось целесообразным изучить изменение синтеза РНК в иммунокомпетентных клетках под влиянием ацетата свинца.

В опытах использовали крыс – самцов линии Wistar массой 180 – 220 г, находящихся на обычном рационе вивария. Экспериментальной моделью явилась клеточная популяция свежеизолированных нефракционированных спленоцитов, которые разводили средой 199 + 15 мМ буфера Нерес (рН 7,8) до концентрации  $5 \cdot 10^6$  клеток на 1 мл культуральной среды и культивировали в присутствии ацетата свинца в концентрациях 10 мкМ и 100 мкМ в стандартных флаконах при температуре 37<sup>0</sup>С. Контролем служила суспензия клеток, в которую вместо ацетата свинца добавляли соответствующий объем среды 199. Жизнеспособность спленоцитов оценивали по тесту исключения живыми клетками красителя трипанового синего [3]. Синтез РНК оценивали по количеству радиоактивного <sup>3</sup>H – уридина (5–10 мкКи/1 мл культуры клеток), включенного в РНК спленоцитов. Реакцию останавливали через 2, 4, 5, 6, 8 и 10 часов. Во всех экспериментах после окончания культивирования клетки обрабатывали 10% трихлоруксусной кислотой.

---

\* Минский государственный медицинский институт

Нерастворимую фракцию переносили на мембранные фильтры и определяли радиоактивность фильтров в диоксановом сцинтилляторе на жидкостном сцинтилляционном счетчике "Beckman" (США).

Количественные данные о включении  $^3\text{H}$ - уридина в РНК спленоцитов представляют собой среднее арифметическое измерение в 4 – 6 параллельных культурах и выражены в импульсах в минуту на 5 млн клеток. Жизнеспособность спленоцитов, оцениваемая в начале и в конце каждого эксперимента, составляла более 90%.

На рис. 1 представлены данные о кинетике включения  $^3\text{H}$  – уридина в РНК интактных спленоцитов крыс и спленоцитов, культивируемых в присутствии ацетата свинца в концентрации 10 мкМ.

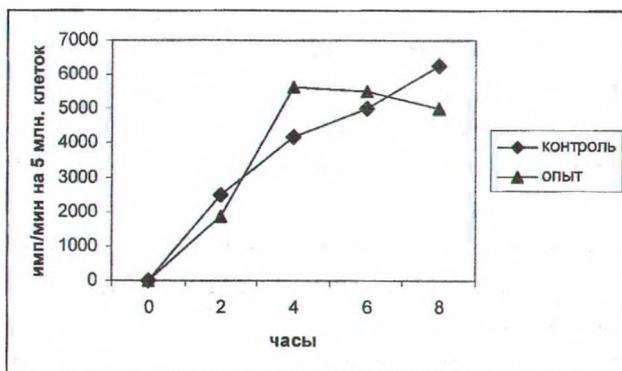


Рис.1. Кинетика включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК интактных и  $\text{Pb}^{2+}$  – обработанных (10 мкМ) спленоцитов крыс.

Сравнительный анализ кинетики включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК интактных и  $\text{Pb}^{2+}$  – обработанных спленоцитов показывает, что к 4-ому часу культивирования клеток наблюдается достоверное увеличение включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК спленоцитов под влиянием ацетата свинца. Последующее культивование, как и в случае с включением  $^3\text{H}$ -тимидина, нивелирует этот эффект, и к 8-ому часу культивирования клеток наблюдается достоверное снижение включения радиоактивного предшественника в РНК  $\text{Pb}^{2+}$  – обработанных спленоцитов по сравнению с интактными.

Культивирование спленоцитов с ацетатом свинца в концентрации 100 мкМ приводит к аналогичному двухфазному характеру изменений включения радиоактивной метки в РНК клеток (рис.2).

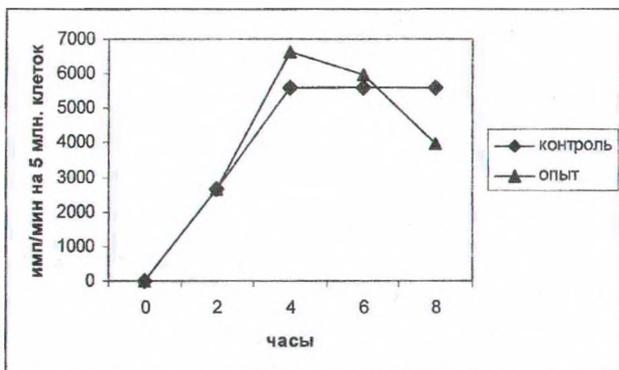


Рис. 2. Кинетика включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК интактных и  $\text{Pb}^{2+}$ -обработанных (100 мкМ) спленоцитов крыс.

Обращает на себя внимание факт полного совпадения характера изменений включения радиоактивных предшественников в ДНК и РНК спленоцитов крыс под влиянием ацетата свинца. На первый взгляд, это может быть отражением общности механизмов, обеспечивающих изменения включения радиоактивных предшественников в ДНК и РНК. Вместе с тем, следует иметь в виду, что ДНК и РНК ни в коем случае не ведут себя сходным образом во всех реакциях с ионами металлов. Например, существует реакция, которая протекает исключительно с РНК, но не идет с ДНК – это деполимеризация полинуклеотида вследствие расщепления фосфодиэфирных связей [2]. Так, использование  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  для разрушения РНК приводит преимущественно к образованию нуклеотидов. Ионы свинца имитируют ферменты в проявлении специфичности по отношению к реакции расщепления полинуклеотидов;  $\text{Pb}(\text{II})$ , например, разрушает гомополинуклеотиды в таком порядке: поли- $\text{A}$  > поли- $\text{U}$  > поли- $\text{I}$  > поли- $\text{C}$  [6]. Особо следует отметить, что ионы свинца разрушают РНК быстрее, чем любой другой из изученных ионов металлов [6].

Поскольку количество новосинтезированной РНК, как и ДНК, в клетках зависит не только от скорости синтеза, но и от равновесия этого процесса со скоростью распада и стабильностью новосинтезированных молекул РНК, то наблюдаемое на начальном этапе культивирования клеток увеличение включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК  $\text{Pb}^{2+}$ -обработанных спленоцитов по сравнению с интактными клетками может быть обусловлено как стимуляцией синтеза РНК, так и уменьшением скорости распада новосинтезированной РНК в результате стабилизирующего эффекта ионов свинца на структуру макромолекулы (5, 8) и (или) угнетения активности рибонуклеаз [1, 4].

Снижение включения  $^3\text{H}$ -уридина в РНК спленцитов при более длительном культивировании с ацетатом свинца (до 10 часов) может быть обусловлено, с одной стороны, угнетением синтеза РНК, а с другой увеличением скорости распада новосинтезированной РНК в результате специфичной реакции деполимеризации полинуклеотида под влиянием ионов свинца.

#### Литература

1. Голубович Е.Я., Орлянская Р.Л. Влияние свинца на интенсивность обмена РНК в клеточных фракциях семенников белых крыс//Токсикология новых промышленных химических веществ, вып. 14, «Медицина».– 1975.– С.22-25.
2. Неорганическая биохимия.– М., «Мир».– 1978.– т.2.– 736 с.
3. Новиков Д.К., Новикова Д.И. Клеточные методы иммунодиагностики.– Минск: Беларусь, 1979.– 222с.
4. Срочинский Я. Цитохимические исследования базофильной зернистости эритроцитов при отравлении свинцом//Гиг. труда и проф. заболевл.– 1966.- №4.– С.41.
5. Brown R.S., Dewan J.C., Klug A. Crystallographic and biochemical investigation of the lead (II) – catalyzed hydrolyses of yeast phenylalanine tRNA//Biochemistry.–1985.–Vol.24.– P.4785-4801.
6. Farkas W.R. Depolymerization of ribonucleic acid by plumbous ion//Biochim. Biophys. Acta.– 1968.–Vol.155, N2.– P.401-409.
7. Nivogi S.K., Feldman R.P., Hoffman D.J. Selective effects of metal ions on RNA synthesis rates//Toxicology.–1981.–Vol.22, N1.– P.9-21.
8. Rubin J.R., Sundaralingman M. RNA chainhydrolysis in phenylalanine t-RNA// J.Biol. Str. Dyn.–1983.–N1.– P.639-646.
9. Sabbioni E., Mafarante E. Identification of lead-binding components in rat liver: in vitro study//Chem. Biol. Int.–1976.– Vol.15. P.1-20.
10. Swiratak J., Gulanowski B. Some aspects of lead (II) DNA interactions// Acta Biochimica Polonica.–1990.–Vol.37, N1.–P.7-20.