

Summary. By means of genomic fingerprinting in the cells of regenerating 23 I rat liver were revealed alterations of DNA fingerprint (in the region 1,5—9 kb) comparatively to cells of the same liver at rest. It may be explained by selective under-replication of chromosomes of dividing hepatocytes.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jeffreys A. J., Wilson V., Thein S. L.* Hypervariable «minisatellite» regions in human DNA // *Nature*.— 1985.— 314.— P. 67—73.
2. *Иванов П. Л.* Геномная дактилоскопия: гипервариабельные локусы и генетическое маркирование // *Молекуляр. биология*.— 1989.— 23, № 2.— С. 341—346.
3. *Анализ генома* / Под ред. К. Дейвиса.— М.: Мир, 1990.— 246 с.
4. *Higgins G. M., Anderson R. M.* Experimental pathology of the liver // *Arch. Pathol.*— 1931.— 12, N 2.— P. 186—202.
5. *Новое в клонировании ДНК. Методы* / Под ред. Д. Гловера.— М.: Мир, 1989.— 368 с.
6. *Olszewska E., Jones K.* Vacuum blotting enhances nucleic acid transfer // *Trends Genet.*— 1988.— 4, N 4.— P. 92—94.
7. *Рогова Е. И., Ленский А. Б.* Зонд ДНК, содержащий элементы гена поверхностного гликопротеина вируса ВИЧ-1,— эффективный молекулярный маркер для геотипоскопии человека // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*.— 1990.— № 12.— С. 646—647.
8. *Hodgson C. P., Fisk R. Z.* Hybridization probe size control: optimized «oligolabeling» // *Nucl. Acids Res.*— 1987.— 15, N 15.— P. 6295.
9. *Grisham J. W.* Morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating liver: autoradiography with <sup>3</sup>H-thymidine // *Cancer Res.*— 1962.— 22, N 5.— P. 842—849.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев

Получено 27.11.92

УДК 577.37

**В. Д. Крупин, С. А. Курилко,  
В. Н. Ткаченко, Г. П. Горбенко, В. В. Товстяк**

#### **ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОНОВ НА ТРАНСПОРТ КАЛИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ**

*Исследовано влияние электронов с энергией 5 МэВ на проницаемость мембран эритроцитов для ионов K<sup>+</sup>. Показано, что радиационно-индуцированное усиление выхода K<sup>+</sup> зависит от температуры инкубации клеточной суспензии.*

**Введение.** Известно, что одним из факторов, определяющих радиационное повреждение клеток, является изменение ионной проницаемости плазматических мембран [1—4]. Нарушение процессов транспорта ионов при воздействии радиации проявляется, в частности, в уменьшении содержания внутриклеточного калия [5—8]. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению этого эффекта, механизмы усиления выхода ионов K<sup>+</sup> из облученных клеток окончательно не выяснены.

В настоящей работе представлены результаты исследования действия электронов с энергией 5 МэВ на проницаемость мембран эритроцитов для ионов K<sup>+</sup>.

**Материалы и методы.** Эритроциты донорской крови отмывали от плазмы трехкратным центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин. Клетки суспендировали в среде Хенкса, содержащей (мМ): NaCl — 110; MgCl<sub>2</sub> — 0,55; MgSO<sub>4</sub> — 0,4; CaCl<sub>2</sub> — 0,55; глюкозу — 5,2; NaHCO<sub>3</sub> — 24; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 45.

Гематокрит суспензии эритроцитов, используемой в экспериментах, составлял ~25 %. Концентрацию ионов K<sup>+</sup> во внеклеточной среде определяли с помощью валиномицинового электрода.

Суспензию клеток, помещенную в цилиндрические ячейки диаметром 6 и толщиной 1 см, облучали ускоренными электронами с энер-

© В. Д. Крупин, С. А. Курилко, В. Н. Ткаченко, Г. П. Горбенко, В. В. Товстяк, 1993

гией 5 МэВ на импульсном линейном ускорителе в дозе 100 Гр. Частота следования импульсов составляла 50 Гц. Ток пучка электронов регистрировали с помощью цилиндра Фарадея. Поглощенную дозу рассчитывали по плотности потока электронов.

**Результаты и обсуждение.** При воздействии электронов на суспензию эритроцитов наблюдалось увеличение концентрации ионов  $K^+$  во внеклеточной среде. Степень выраженности этого эффекта зависела от температурного режима инкубации клеток. Как следует из представленных в таблице данных, эритроциты, инкубированные до облучения при 4 °С, обладали большей чувствительностью к радиационному воздействию по сравнению с клетками, инкубированными при 37 °С. Через 1 ч после облучения относительно изменение содержания внеклеточного  $K^+$  (по отношению к контролю) в первом случае составляло ~12 %, во втором — ~5 % при температуре пострadiационной инкубации 4 °С. Понижение температуры инкубации облученных клеток с 37 до 4 °С приводило к усилению выхода ионов  $K^+$ . Так, для эритроцитов, инкубированных до облучения при 37 °С, достоверные изменения содержания внеклеточного  $K^+$  наблюдались только при 4 °С. Если же перед воздействием радиации клетки инкубировали при 4 °С, то увеличилось содержание  $K^+$  по сравнению с начальной составляло ~4 % при температуре 37 °С и ~10—12 % — при 4 °С. Таким образом, снижение температуры инкубации эритроцитов после облучения, обеспечивающее подавление систем активного переноса ионов, не оказывало ингибирующего влияния на выход  $K^+$ . Эти данные свидетельствуют о том, что наблюдаемое уменьшение содержания внутриклеточного  $K^+$  связано с изменением пассивной проницаемости мембран. По-видимому, в формировании реакции эритроцитов на воздействие радиации важную роль играют физические свойства липидного бислоя, в частности, его вязкость. Увеличение вязкости мембран при 4 °С приводит к снижению устойчивости эритроцитов к действию облучения. Аналогичная взаимосвязь между текучестью мембран и радиочувствительностью была обнаружена ранее для других типов клеток [9, 10].

*Влияние радиации на проницаемость мембран эритроцитов для ионов  $K^+$*

До облучения		После облучения		Концентрация внеклеточного $K^+$ , мМ	
Температура, °С	Время, ч	Температура, °С	Время, ч	Контроль	Облучение
4	12	4	1	3,60 ± 0,09	4,03 ± 0,12
—	—	—	5	3,87 ± 0,12	4,24 ± 0,11
4	12	37	1	3,85 ± 0,08	4,01 ± 0,10
—	—	—	5	3,91 ± 0,08	4,07 ± 0,12
37	1	4	1	3,70 ± 0,09	3,90 ± 0,10
—	—	—	5	3,96 ± 0,10	4,15 ± 0,11
37	1	37	1	3,77 ± 0,08	3,87 ± 0,09
—	—	—	5	3,89 ± 0,10	3,87 ± 0,10

$p < 0,05$ .

Следует отметить, что повышение температуры инкубации необлученных эритроцитов с 4 до 37 °С приводило к усилению выхода  $K^+$ . Как известно, в температурном интервале 4—37 °С мембрана эритроцитов претерпевает несколько структурных переходов, затрагивающих как липидную, так и белковую фазы [11]. Очевидно, различия в структурном состоянии мембран лежат в основе модифицирующего влияния температуры на проницаемость липидного бислоя для ионов  $K^+$ .

**Summary.** The effect of electrons with energy 5 MeV on the erythrocyte membrane permeability for  $K^+$  has been investigated. The radiation-induced enhancement of the  $K^+$  output was shown to dependent on the incubation temperature of the cell suspension.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Chapman I., Sturrock M.* The effect of X-irradiation *in vitro* on the transport of potassium ions in the thymocytes // *Int. J. Radiat. Biol.*— 1972.— 22, N 1.— P. 1—9.
2. *Bresciani F., Anricchio F., Fiore C.* Effect of X-rays on movements of sodium in human erythrocytes // *Radiat. Res.*— 1964.— 21, N 3.— P. 394—412.
3. *Shapiro B., Kollman G.* The nature of the membrane injury in irradiated human erythrocytes // *Ibid.*— 1968.— 34, N 2.— P. 335—346.
4. *Myers D., Vide R.* Biochemical effects of X-irradiation on erythrocytes // *Ibid.*— 1966.— 27, N 2.— P. 250—263.
5. *Виноградова М. Ф., Жегневская В. В., Полевой В. В.* К вопросу о механизме нарушения транспорта калия в облученных эритроцитах и роли серотонина в регуляции этого процесса // *Радиобиология*— 1981.— 21, № 5.— С. 768—772.
6. *Герасимова Г. К., Нахильницкая З. Н.* Роль сульфгидрильных групп в радиационном повреждении транспортной функции мембран эритроцитов // *Действие ионизирующего излучения на клеточные мембраны*.— М.: Атомиздат, 1973.— С. 51—57.
7. *Нахильницкая З. Н., Герасимова Г. К.* Некоторые итоги изучения механизма нарушения транспорта ионов калия в облученных эритроцитах // *Там же*.— С. 84—90.
8. *Lozcoiak Z., Hetszer Z.* Participation of free oxygen radicales in a damage of porcine erythrocytes // *Radiat. Res.*— 1981.— 83, N 1.— P. 11—19.
9. *Дворецкий А. И., Айрапетян С. Н., Шаинская А. М., Чебогарев Е. Е.* Трансмембранный перенос ионов при действии ионизирующей радиации на организм.— Киев: Наук. думка, 1990.— 136 с.
10. *Сунгуров А. Ю.* Радиобиология клеточной поверхности // *Итоги науки и техники*.— М.: ВИНТИ, 1989.— 179 с.— (Сер. Радиц. биология; Т. 7).
11. *Черницкий Е. А., Воробей А. В.* Структура и функция эритроцитарных мембран.— Минск: Наука и техника, 1981.— 216 с.

Харьков. гос. ун-т им. А. М. Горького

Получено 24.04.92