

ներ կալիդինի և մեկ ածանցյալ՝ նեյրոտենսինի համար։ Ստացված ածանցյալների ամինաթթվային կազմի ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ կալիդինի մեկ ածանցյալի մեջ ՊԼՖ-ն կապված է ϵ -ամինախմբին, իսկ մյուսի մեջ ինչպես ϵ -, այնպես էլ N-ծայրային ամինախմբին։ Նեյրոտենսինի ածանցյալի մեջ ՊԼՖ-ն միացած է ϵ -ամինախմբին։ Բոլոր ստացված ածանցյալները հարթ միանների նկատմամբ կծկողական ակտիվություն են ցուցաբերում, որը հատուկ է նախիվ պեպտիդներին։ Ածանցյալների կազմի մեջ մտնող ՊԼՖ-ի ֆլուորեսցենցիան թույլ է տալիս որոշել 0,5—1 պիկոմոլ/մլ պեպտիդի բանակությունը։ Եղված կալիդինի և նեյրոտենսինի ածանցյալները մարդու արյան շիճուկի ազդեցության տակ քայքայվում են համեմատաբար ավելի դանդաղ, քան նախիվ պեպտիդները։

NEW FLUORESCENT DERIVATIVES OF KALLIDIN AND NEUROTENSIN

T. N. AKOPYAN, A. M. ARZUMANYAN, H. G. AGHAJANYAN,
A. A. ARUTUNYAN, A. Kh. KHANAZADYAN

Two fluorescent derivatives of kallidin and one—of neurotensin have been prepared by chemical modification of native peptides by pyridoxal-5'-phosphate (PLP). The determination of amino acid composition shows that in one of the derivatives of kallidin ϵ -amino group and in the other δ —as well as N—terminal amino groups have been substituted by PLP. In the derivative of neurotensin δ -amino group has been substituted by PLP. All the obtained derivatives possess spasmogenic activity like native peptides. The fluorescence of PLP residues of derivatives permits to detect 0.5—1 pmol/ml of peptides. The mentioned analogues are degraded by human plasma slower than the native peptides.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арutyanyan A. A., Северин Е. С., Варшавский Я. М. Биохимия, 10, 1, 378, 1975.
2. Lollar B., Riordan J. Annual Rev. Biochem., 35, 733, 1959.
3. Severin E., Galeev A., Khurs F., Khomutov R. Biochem. Biophys. Res. Commun. 35, 318, 1969.
4. Webster M., Prada L. Methods in Enzymology, 19, 681, 1970.

«Биолог. ж. Армения», т. XXV/III, № 2, 1965

УДК 547.963.3

АКТИВАЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОНОМ $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ -ЗАВИСИМОЙ ЭНДОУКЛЕАЗЫ В КЛЕТКАХ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ

Р. А. ЗАХАРЯН

Установлено, что в клетках лимфоидной ткани—селезенке, тимусах крысы, лейкоцитах периферической крови человека—активируемый глюкокортиконом фермент, ответственный за межнуклеосомальную деструкцию хроматина, относится к классу

Ca^{++} - Mg^{++} -зависимых эндонуклеаз и что уровень поли-АДФ-рибозилирования в клетках и поли-АДФ-рибозилирующая активность хроматина в условиях действия глюкокортикоидов и энзиматической межнуклеосомальной фрагментации хроматина в значительной степени снижены.

Ключевые слова: глюкокортикоиды, Ca^{++} - Mg^{++} -зависимая эндонуклеаза, лимфоидная ткань, межнуклеосомальная фрагментация.

Феномен одновременной дезинтеграции и стимуляции новообразования зрелых форм лейкоцитов, в том числе вызванных аденокортикоидной стимуляцией и выбросом в кровь глюкокортикоидных гормонов, широко представлен в лимфоидной ткани. Аденокортикоидная стимуляция или введение глюкокортикоидов, в зависимости от степени стимуляции и дозы введенного гормона, вызывают разрушение гормонально-чувствительных лейкоцитов вплоть до инволюции лимфоидной ткани, сопровождающееся уменьшением митозов, карioreкисеом, энзиматической деградацией хроматина и высвобождением из ядра фрагментированного материала ДНК, захватываемого клетками ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) костного мозга, селезенки, печени и др. [2, 6]. В результате серии экспериментальных работ установлено явление постоянной реутилизации фрагментированного генетического материала ДНК-РНК протенидных комплексов, в дифференцировке и новообразовании зрелых форм клеток РЭС [13—15, 17, 18]. Однако конкретные молекулярные механизмы, лежащие в основе этого процесса, изучены недостаточно.

Ранее нами [1], а затем и другими авторами [19, 20] было показано, что детальное действие глюкокортикоидов на чувствительные клетки лимфоидной ткани *in vitro* и *in vivo* опосредовано активацией эндонуклеазной активности, осуществляющей межнуклеосомальную фрагментацию ДНК.

В данной работе исследован характер активируемой глюкокортикоидами энзиматической активности, ответственной за межнуклеосомальную деструкцию хроматина и возможные цисовые механизмы ее активации.

Материал и методика. Опыты проводились на белых беспородных крысах линии Вистар массой 180—200 г. Животным вводили дексаметазон (Серва) в дозе 50 мкг на 100 г массы, через 8 ч после инъекции гормона их забивали, выделяли тимус и селезенку. Ядра из клеток выделяли по методу Ходарева и др. [7] в среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,25 М, 5 мМ, 50 мМ трис- HCl (рН 7,2). Лейкоциты периферической крови человека выделяли ее центрифугированием в градиенте «Phicoll-Нураген» [9], инкубировали в среде MEM (10%-ная бычья сыворотка), содержащей 10⁻⁶ М дексаметазон-ацетата (Серва). Ядра из тимоцитов, селезенки, лейкоцитов вводили в инкубационную смесь из расчета 100—150 мкг ДНК на пробу. Были использованы следующие инкубационные смеси для определения активности эндонуклеаз: в эксперименте I—буфер А, содержащий 50 мМ трис- HCl , рН 7,2; 0,25 М сахарозы, 0,025 М KCl ; II—буфер А—10 мМ MgCl_2 , 2 мМ CaCl_2 ; III—буфер А—10 мМ MgCl_2 , IV—буфер А—2 мМ CaCl_2 . Пробу инкубировали при 37°. В I, III и IV случаях ядра перед аутолизом предварительно инкубировали при 4° 10 мин с 0,2 мМ ЭГТА, 0,2 мМ ЭДТА или 2 мМ ЭГТА, или 2 мМ ЭДТА соответственно.

После окончания инкубации пробу охлаждали до 0°, ядра осаждали при 800Хg 5 мин; супернатант сливали (супернатант практически не содержал сколько-нибудь значительного количества ДНК, 2—5% от исходного количества ДНК в пробе). Из

ядерного осадка в присутствии 0,7 мМ ЭДТА, pH 7,2, экстрагировали продукты аутолиза хроматина, которые отделяли при $20.000 \times g$ 15 мин; и супернатанте и в осадке количество ДНК определяли спектрофотометрически при μ -260 мкм [19]. К инкубированным ядерным пробам добавляли 10% раствора додецилсульфата натрия до конечной концентрации 1%, 10 мМ Na_2 ЭДТА, pH 7,0, и равный объем 2 М NaCl; полученный лизат дважды депротеинизировали равным объемом смеси хлороформ-изоамиловый спирт, 24:1; депротеинизированную ДНК осаждали этанолом при -20° и анализировали (10–20 мкг ДНК) электрофоретически в 2%-ном ПААГ—0,7%-ной агарозе.

При определении синтеза поли-(АДФ-рибозы) в лимфоцитах 10^6 клеток суспендировали при 0° в 10 мМ трис-HCl, pH 7,8; 0,25 М сахарозе, 1 мМ ЭДТА; 1 мМ MgCl_2 , 30 мМ 2-меркаптоэтанол; оставляли в ледяной бане в течение 15 мин; далее лимфоциты переносили в 0,3 мл 100 мМ трис-HCl (pH 7,8), 40 мМ MgCl_2 , 1 мМ $[^3\text{H}]$ НАД (3,3 Сг/мол New England Nuclear) инкубировали при 30° . Реакцию останавливали при 0° добавлением ТХУ до конечной концентрации 10%, осадок промывали на фильтре «Миллипор» (0,45 мкм); радиоактивность измеряли в счетчике SL-30. Активность поли-(АДФ-рибоза) полимеразы хроматина определяли в инкубационной среде, содержащей 50 мМ трис-HCl (pH 7,8), 40 мМ MgCl_2 , 10 мк $[^3\text{H}]$ НАД; 1 мМ дитиотрейтола, ядерную суспензию, соответствующую 0,3 мг ДНК; 10 мМ ПАМФ (pH 7,8); инкубационную смесь инкубировали в течение 15 мин при 25° . Реакцию останавливали 10%-ной ТХУ, осадок обрабатывали для радиосчета, как описано выше.

Результаты и обсуждение. Данные, полученные нами [1], а затем и другими исследователями [19, 20], позволили сделать вывод о наличии в клетках лимфоидной ткани активированной *in vitro* и *in vivo* глюкокортикоидами эндонуклеазной активности, ответственной за межнуклеосомальную и, по всей вероятности, программированную деструкцию генома-ДНК хроматина. Остаются невыясненными характер обнаруженной эндонуклеазной активности и возможные пусковые механизмы ее активации и специфической фрагментации хроматина.

На рис. 1 представлена кинетика аутолитического расщепления хроматина ядер тимочитов в зависимости от полного состава инкубационной среды.

В экспериментах 1, 2 и 3 ядра, выделенные из клеток, перед аутолизом выдерживали при 4° в течение 10 мин с 0,2 мМ ЭГТА и 2 мМ ЭДТА; 0,2 мМ ЭГТА или 2 мМ ЭДТА соответственно.

Полученные данные показывают, что при pH 7,2 аутолитическое переваривание ДНК изолированных ядер интенсивно протекает в присутствии катионов Ca^{++} и Mg^{++} ; замена одного другим или отсутствие одного из них угнетает процесс фрагментации ДНК хроматина ядер тимочитов.

Полученные результаты совпадают с данными ряда работ о характере внутриядерных нуклеаз в клетках лимфоидной ткани [3, 4, 8]. Сравнение кинетики нуклеолитической фрагментации ДНК в ядрах тимочитов контрольных животных и животных, получивших дексаметазон, свидетельствует о том, что последний значительно активизирует Ca^{++} и Mg^{++} -зависимую эндонуклеазу при концентрациях 2 и 10 мМ соответственно, т. е. при концентрации, обеспечивающей синергизм и действие между катионами Ca^{++} и Mg^{++} [7]. В первые 5 мин инкубации эта активность возрастает более чем в 4 раза, и *in vitro* возможный «полный» аутолиз хроматина (40–50%) завершается через 10 мин инкубирования. Дексаметазон практически не активизирует другие типы эндо-

нуклеазных активностей. Аналогичная закономерность выявлена в экспериментах с клетками селезенки. Как видно из рис. 2, через 6 ч после действия 10^{-5} М дексаметазона на лейкоциты в изолированных яд-

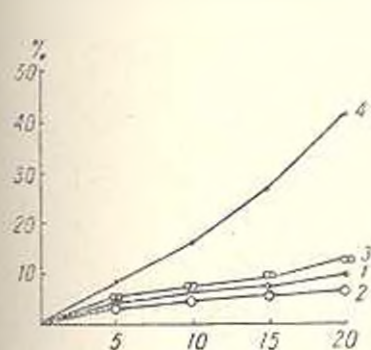


Рис. 1а.

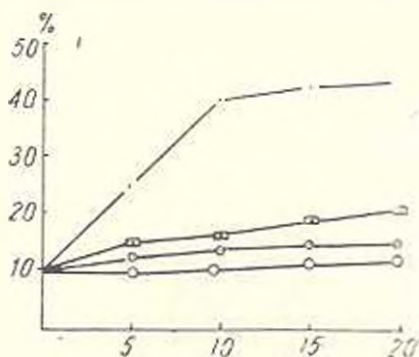


Рис. 1б.

Рис. 1. Нуклеолитическое расщепление ДНК хроматина эндогенными нуклеазами в изолированных ядрах тимоцитов. а) 1—Инкубация ядер в среде А; 2—в среде А, содержащей 10 мМ $MgCl_2$; 3—в среде А, содержащей 2 мМ $CaCl_2$; 4— в среде А, содержащей 10 мМ $MgCl_2$ и 2 мМ $CaCl_2$; б) то же через 6 ч после воздействия 50 мкг дексаметазона (100 г массы крысы). 1—Инкубация ядер в среде А; 2—в среде А, содержащей 10 мМ $MgCl_2$; 3— в среде А, содержащей 2 мМ $CaCl_2$; 4— в среде А, содержащей 10 мМ $MgCl_2$ и 2 мМ $CaCl_2$. По оси абсцисс—время инкубации, мин, по оси ординат—количество ДНК в экстрагируемых фрагментах, процент от всей ДНК в пробе.

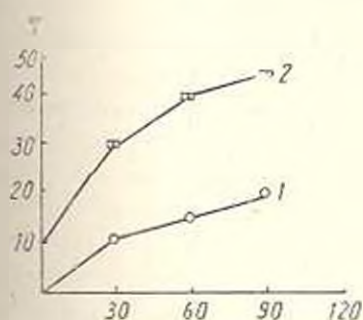


Рис. 2а.

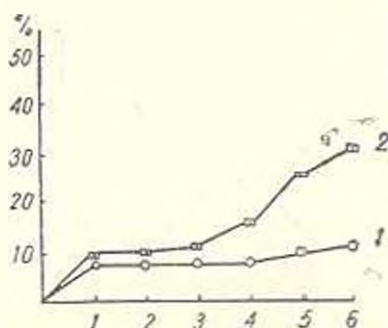


Рис. 2б.

Рис. 2. Нуклеолитическое расщепление ДНК хроматина в ядрах лейкоцитов периферической крови человека. а) 1. Ядра лейкоцитов, преинкубированных в течение 6 ч в отсутствие дексаметазона, инкубированы в среде А с 0,2 мМ $CaCl_2$ и 10 мМ $MgCl_2$; 2. ядра лейкоцитов, преинкубированных в течение 6 ч в присутствии 10^{-5} М дексаметазона, инкубированы в среде А с 0,2 мМ $CaCl_2$ и 10 мМ $MgCl_2$. б) 1. лейкоциты, преинкубированные в течение 1—6 ч в отсутствие дексаметазона; через разные интервалы времени преинкубации ядра выделялись из лейкоцитов и инкубировались в среде А с 10 мМ $MgCl_2$ и 2 мМ $CaCl_2$ в течение 30 мин; 2. лейкоциты, преинкубированные в течение 1—6 ч в присутствии 10^{-5} М дексаметазона, далее, как в предыдущем случае. По оси абсцисс, обозначения те же, что и на рис. 1

раз значительно возрастает активность Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндо-нуклеазы; повышение активности фермента заметно уже через 4 ч инкубирования лейкоцитов в среде с дексаметазоном.

На рис. 3 показано электрофоретическое распределение фрагментов ДНК хроматина ядер тимочитов, селезенки, лейкоцитов, расщепленного в регулярные повторяющиеся участки в области спейсеров Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндонуклеазой, активированной введением дексаметазона. Фрагменты ДНК распределены в виде дискретных полос соответственно нуклеосоме и ее олигомерам.

Картина распределения фрагментов аналогична таковой при воздействии микрококковой нуклеазы и указывает практически на отсутствие или, в неясном случае, на минимальную активацию индуцируемой дексаметазоном соответствующей протеазной активности, что было показано и ранее [1, 10, 19].

Ca^{++} , Mg^{++} -зависимая эндонуклеаза относится к классу ферментов, прочно связанных с хроматином, и избирательность ее действия в отношении межнуклеосомального расщепления ДНК в хроматине определяется, по всей вероятности, локализацией в ограниченных районах хроматина — возможно, в межнуклеосомальных участках.

Вместе с тем в литературе есть ряд сообщений относительно возможных механизмов регуляции активности нуклеаз, в том числе Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндонуклеазы, в частности, описано ингибирование активности нуклеаз в результате их поли-АДФ-рибозилирования поли-(АДФ-рибозы) полимеразой [16, 21—23], ферментом, прочно связанным с межнуклеосомальными линкерными участками хроматина [11, 12]. С позиции вышесказанного исследования активность поли-АДФ-рибозилирования в лейкоцитах периферической крови человека в условиях активации дексаметазоном межнуклеосомальной фрагментации хроматина Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндонуклеазой.

Данные, представленные на рис. 4, показывают, что подавление процесса поли-АДФ-рибозилирования в клетке ассоциировано с активацией межнуклеосомальной деградации хроматина и по времени совпадает с индукцией глюкокортиконом активности Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндонуклеазы. Наблюдаемое ингибирование поли-АДФ-рибозилирования следует отнести в основном за счет подавления поли-АДФ-полимеразной реакции в хроматине, и оно может быть вызвано уменьшением в хроматине протенинов, акцепторов поли-АДФ-рибозы; понижением поли-(АДФ-рибозы) синтетазной активности; повышением активности поли-АДФ-рибозы гликогидролазы. Для выяснения ясности в полученный результат была изучена поли-(АДФ-рибоза) синтетазная активность хроматина тимочитов, лейкоцитов периферической крови человека в норме и после воздействия дексаметазона в условиях подавления поли-(АДФ-рибоза) гликогидролазной активности хроматина. Данные, представленные на рис. 5, свидетельствуют о том, что под влиянием глюкокортикоида поли-(АДФ-рибоза) синтетазная активность хроматина клеток лимфатической ткани понижается. Это понижение возможно как за счет уменьшения самой синтетазы, локализованной межнуклеосомно, так и протенинов — основных акцепторов поли-(АДФ-рибозы): гистонов H1, H2B и ряда негистоновых, преимущественно кислых белков, локализованных в том же участке хроматина [12]. Как бы то ни было, понижение уровня поли-АДФ-рибозилирования хроматина в условиях

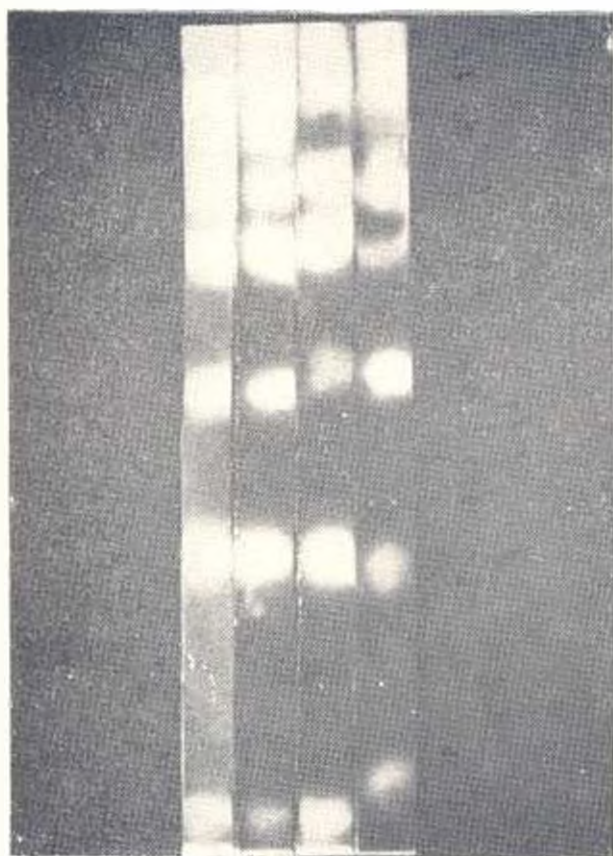


Рис. 3. Электрофоретическое распределение фрагментов ДНК хроматина (1—ядер тимоцитов, 2—селезенки, 3—лейкоцитов), расщепленной Ca/Mg -зависимой нуклеазой, активированной дексаметином (см. методы).

активации дексаметазоном межнуклеосомной деструкции его свидетельствует о значении данной модификации для нативной структуры хроматина; нарушение степени поли-АДФ-рибозилирования хроматина яв-

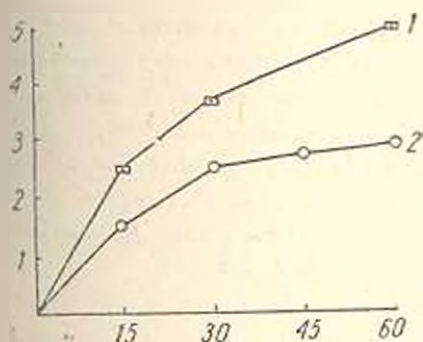


Рис. 4а

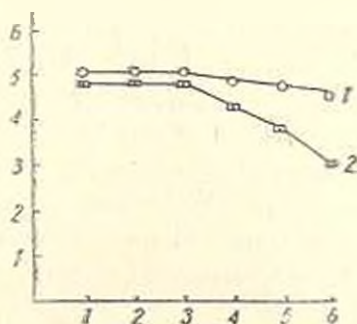


Рис. 4б.

Рис. 4. Синтез поли-(АДФ-рибозы) в лейкоцитах периферической крови человека (см. методы) а) 1. Лейкоциты, предварительно инкубированные в течение 6 ч в отсутствие дексаметазона; 2. лейкоциты, предварительно инкубированные в течение 6 ч в присутствии 10^{-4} М дексаметазона. По оси абсцисс — радиоактивность в имп/мин 10^{-3} ; ординат — время инкубации клеток с $[^3\text{H}]$ НАД. б) 1. Лейкоциты, предварительно инкубированные в течение 1–6 ч в отсутствие дексаметазона, через обозначенные интервалы времени ядра выделялись из лейкоцитов и инкубировались в буфер А с 10 мМ MgCl_2 и 2 мМ CaCl_2 ; 2. лейкоциты, предварительно инкубированные в течение 1–6 ч с 10^{-4} М дексаметазоном, далее, как в предыдущем случае.

ляется фактором, повышающим доступность «линкеров» Ca^{++} , Mg^{++} зависимой эндонуклеазе, которая, что не исключается, в свою очередь может быть активируема на фоне пониженного уровня поли-АДФ-рибозилирования [16, 21–23].

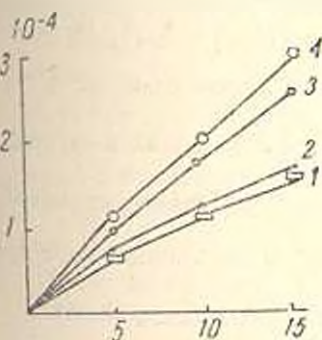


Рис. 5. Поли-(АДФ-рибоза) полимеразная активность изолированных ядер тимоцитов и лейкоцитов периферической крови человека в норме и после воздействия дексаметазона (см. методы). 1—ядра тимоцитов после воздействия дексаметазона; 4—ядра тимоцитов, норма; 2—ядра лейкоцитов после воздействия дексаметазона; 3—ядра лейкоцитов, норма. По оси абсцисс — включение НАД в полимер АДФ-рибозы; по оси ординат — время инкубации выделяемых ядер с $[^3\text{H}]$ НАД в мин.

Таким образом, физиологическая связь между повышением функции коры надпочечника и инволюцией лимфонной ткани, сформулированная Селье [5] как единый механизм адаптации организма к различным стрессорным воздействиям, реализуется через активацию глюкокортикоидами Ca^{++} , Mg^{++} -зависимой эндонуклеазы, осуществляющей программированную межнуклеосомальную деструкцию хроматина на фоне пониженного уровня поли-АДФ-рибозилирования в клетке и низкой поли-(АДФ-рибоза) синтетической активности хроматина.

Институт экспериментальной биологии

АН Армянской ССР

Поступило 22.11.1984 г.

$\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ -ԿԱՆՅԱԼ ԷՆԴՈՆՈՒԿԼԵԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎԱՅՈՒՄՆ,
ԳԼՅՈՒԿՈԿՐՏԻԿՈՒԴՈՒԼ ԼԻՄՖՈՒԴ
ՀՅՈՒԹՎԱՄՔԻ ԲՋԻՋՆԵՐՈՒՄ

Ռ. Ա. ԶԱԽԱՐԻԱՆ

Պարզվել է, որ լիմֆոիդ նյութաձերի բջիջներում՝ փայծաղում, առնետի տիմոցիտներում, մարդու պերիֆերիկ արյան լեյկոցիտներում, գլյուկոկորտիկոիդով ակտիվացվող ֆերմենտը, որը պատասխանատու է բրոմատինի միջնուկլեոսոմալ զևարուկցիայի համար, պատկանում է $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ կախյալ էնդոնուկլեազների զասին և պուլի կենս-սիրոզացման մակարդակը բջիջում ու պուլ-Աեն-սիրոզացնող ակտիվությունը բրոմատինում զգալի չափով բնկած են գլյուկոկորտիկոիդներով բրոմատինի էնզիմատիկ միջնուկլեոսոմալ ֆրազմենտացիաների ակտիվացման պայմաններում:

ACTIVATION BY GLUCOCORTICOIDES OF $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ -DEPENDENT ENDONUCLEASE OF LYMPHOID TISSUE CELLS

R. A. ZAKHARIAN

In lymphoid cells of spleen, thymocytes of mice, leucocytes of human plasma the enzyme that is activated by glucocorticoides and responsible for internucleosomal degradation of chromatin belongs to the $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ -dependent endonucleases.

The activation by glucocorticoides of internucleosomal destruction of chromatin is accompanied by low level of poly-(ADP-ribose) polymerization in cell and poly (ADP-ribose) polymerase activity in chromatin.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Захарян Р. А., Погосян Р. Г. Докл. АН АрмССР, 67, 110, 1978.
2. Иванник В. Р., Голубева Р. В., Прохуряков С. Я., Рябенко Н. И. Биохимия, 44, 1478, 1979.
3. Никонов Л. В., Нелинович П. А., Уманский С. Р. Радиобиология, 22, 2, 160, 1982.
4. Никонов Л. В., Емцева И. М., Уманский С. Р. Радиобиология, 22, 4, 441, 1982.
5. Селье Г. Очерки об адренокортикальном синдроме. М., 1960.
6. Сергеев П. В., Сейфуллин Р. Д., Майский Л. И. В кн.: Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. 121, М., 1971.
7. Ходарев Н. Н., Вотрин И. И., Баснакян А. Г., Дебов С. С. Биохимия, 44, 4, 622, 1979.
8. Ходарев Н. Н., Иванова Т. Н., Вотрин И. И. ДАН СССР, 268, 1, 1000, 1983.
9. Baum A. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 21, 97, 1968.
10. Christensen B. C., Ottensen J. Acta Haematol., 13, 239, 1955.
11. Girt Ch. P., West M. H. P., Ramirez M. L., Smulson M. Biochemistry, 17, 3501, 1978.
12. Girt Ch. P., West M. H. P., Smulson M. Biochemistry, 17, 3495, 1978.
13. Hamilton C. D. J. Clin. Invest., 33, 939, 1954.
14. Hamilton L. D. Nature, 178, 597, 1956.
15. Hill M. Nature, 183, 1059, 1959.
16. Leone F., Farina B., Farante M., Mauri A. Симпоз. СССР—Италия, 20, М., 1980.
17. Orsmond E. E., Tluey H., Davidson K. B., Seaman A. J., Li J. G. Cancer, 5, 331-1952.

18. Ottesen J. Acta Physiol. Scand, 32, 75, 1954.
19. Umansky S. R., Korol B. A., Nellipouish P. A. Biochimica et Biophysica Acta 635, 9, 1981.
20. Wyllie A. H. Nature, 284, 555, 1980.
21. Yamada M., Nagao M., Miwa M., Sugimura T. J. Bioch., 77, 10—11, 1975.
22. Yoshikawa K., Tanigawa Y., Buzzio L., Kolde S. S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 289—293, 1975.
23. Yoshikawa K., Tanigawa Y., Kolde S. S. Biochem. Biophys. Res. Comm., 59, 2, 658, 1974.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXVIII, № 3, 1985

УДК 539.16.047

ОЦЕНКА ДОЗЫ ИЗЛУЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ РЕГРЕССИОННОЙ МОДЕЛИ, ВКЛЮЧАЮЩЕЙ ЭНЗИМАТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

В. Б. МАТЮШИЧЕВ

С помощью множественного регрессионного анализа изучена связь уровней 11-ти энзиматических показателей с дозой (40—100 грэй) внешнего бета-облучения крыс. Отобрана группа из 6-ти тестов, совместный учет которых позволяет прогнозировать полученную животным дозу с ошибкой 13—17%.

Ключевые слова: ферменты, бета-излучение, регрессионный анализ.

Среди требований, предъявляемых к энзиматическим (и вообще биологическим) индикаторам лучевого поражения, ведущим является существование дозовой зависимости изменений соответствующих показателей [2]. До сих пор, однако, не выявлено теста, способного самостоятельно шкалировать сколько-нибудь значительные диапазоны дозовых нагрузок, и, вероятно, его вообще нет. Более обнадеживающими представляются поиски таких свойств у некоторого комплекса параметров, но подобные исследования пока единичны [3]. В этой связи задача настоящей работы сводилась к многомерному анализу пострадиационных сдвигов активности ферментов, проявившихся в предварительных экспериментах способность отражать своими модуляциями выраженность нарушений, возникающих при разгар лучевой болезни, с целью выявления ферментных систем, информативных при внешнем бета-облучении организма. В качестве субстратов активности наиболее рациональным представлялся выбор плазмы крови и кожи как ткани, непосредственно повреждаемой малопроникающим излучением.

Материал и методика. Беспородных белых крыс-самцов массой 160—180 г с эпилированной кожей спины помещали в герметичную камеру и подвергали внешнему бета-облучению от ^{85}Kr в дозах 40, 60, 80 и 100 грэй. Через 1, 3, 5, 7 суток после воздействия по 10 животных из каждой подопытной группы вместе с 10-ю интактными особями декапитировали под эфирным наркозом. В плазме крови и водных экстрактах кожи, взятой с участков, лишенных перед опытом шерсти, стандартными методами измеряли активности щелочной фосфатазы, альфа-амилазы, лактатдегидрогеназы, ала-