

brought in the paper, concerning the ultrastructure of one of the variants of the cells, forming the parenchyma of the tumor—typical secretory cells with a high degree of differentiation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрушак Л. П., Никитченко В. В., Пинчук В. Г. Экспер. онкол., 1984, 6, с. 35.
2. Гачечиладзе Н. А., Габуния У. А. Арх. патол., 1981, 43, 7, с. 13.
3. Карелина Т. В. Там же, 1982, 44, 2, с. 69.
4. Ломая Т. Г. Бюлл.экспер. биол. и мед., 1982, 7, с. 77.
5. Манвелян К. Р. Ж. exper. и клин. мед. АН АрмССР, 1986, 26, 5, с. 439.
6. Райхлин Н. Т. В кн.: Ультраструктура опухолей человека (руководство для диагностики). М., 1981, с. 213.
7. Топурия И. В. Арх. патол., 1981, 43, 11, с. 57.
8. Шарашидзе Л. К., Райхлин Н. Т., Топурия И. В. Вopr. онкол., 1985, 31, 6, с. 25.
9. Squarint F. In: Pathology of tumors in laboratory animals. Intern. Agency for research on cancer. Lyon, 1979, 43.
10. Tarin D. Brit. J. Cancer, 1969, 23, 417.

УДК 547.963.32

И. С. Даниелян, Д. В. Гарибян, Г. М. Степанян,
Б. Т. Гарибджанян, Р. Г. Мкртчян

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА СТРУКТУРУ ДНК ОПУХОЛИ У ОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

В последнее время в лечении злокачественных новообразований значительное место занимает разработка рациональных систем комбинации противоопухолевых препаратов с лучевой терапией. Решение этой задачи во многом зависит от успехов в изучении тонких молекулярных механизмов действия облучения на генетический аппарат клетки.

Установлено, что ДНК опухолей обладает более высокой чувствительностью, чем ДНК нормальных тканей к ионизирующей радиации [6], при этом пиримидины менее устойчивы к действию свободных радикалов, чем пурины и тем самым, а также благодаря эффекту миграции, энергии, принимают атаку на себя, предохраняя пурины [8, 9]. Повреждения в ДНК при облучении могут привести к возрастанию частоты ошибок копирования матрицы при репликации ДНК. Результатом этих повреждений может быть задержка деления, несбалансированный рост и гибель клеток.

Одним из специфических признаков облучения на организм является также состояние иммунодепрессии, биохимические механизмы которой до сих пор остаются не совсем ясными. Известно, что биохимические процессы, связанные с ослаблением функционирования иммунной системы в первую очередь сопряжены с подавлением в ней синтеза ДНК и что экзогенные РНК вызывают усиление иммунного ответа [5, 7]. Одним из механизмов регуляции репликации и транскрипции ДНК считают энзиматическое метилирование ДНК, высказывается предположение о возможной роли этого процесса в злока-

чественной трансформации [12]. Исходя из этого, нам представлялось интересным выяснить, какими специфическими особенностями первичной структуры ДНК обладают опухоли животных, которым трансплантировали опухолевые клетки с гомологическими и гетерологическими препаратами нуклеиновых кислот, и в какой степени первичная структура этих ДНК изменяется при облучении.

Материал и методы

Опыты проведены на беспородных интактных крысах-самцах весом 100—120 г (без опухоли) и с перевивной саркомой-45 (С-45). Всего шесть групп животных (по 10 в каждой группе). Инокулят трансплантировали животным на пятый день облучения после предварительной инкубации при 37°C в течение 20 мин. Облучали животных на аппарате РУМ-17, напряжение тока—15 ма, мощность дозы—30 рентген, экспозиция—10 мин. Через сутки после облучения четырем группам животных (двум необлученным и двум облученным) вводили внутривенно опухолевую ДНК (оп. ДНК), выделенную из С-45, из расчета 2 мг, РНК* дрожжевую—10 мг на крысу. На пятнадцатые сутки животных забивали декапитацией.

Препараты ДНК выделяли из гомогената печени и опухоли в стандартном солевом растворе с ЭДТА в присутствии 1—2% додецилсульфата натрия (рН 8) хлороформной и фенольной депротеинизацией. Полученные препараты обрабатывали проназой и панкреатической РНК-азой. Содержание РНК в полученных препаратах не превышало 1,5—2% [11], а количество белка—1—2% [14]. Выделенные сухие препараты высокополимерных ДНК гидролизовали до оснований (99% муравьиная кислота, 175°C, 30 мин). Основания разделяли двукратной одномерной восходящей хроматографией на бумаге в растворителе н-бутанол—вода—25% аммиак (60:10:0,1), и последующим спектрофотометрическим определением оснований [4] определяли нуклеотидный состав ДНК.

Результаты и обсуждение

В таблице приведены данные по изучению влияния гетерогенных и гомологических препаратов нуклеиновых кислот на метилирование ДНК опухоли С-45 у необлученных и облученных животных. Как можно видеть из таблицы, все изученные ДНК полностью отвечают правилам Чаргаффа и принадлежат к АТ-типу. Количество ГЦ пар оснований (Г+Ц+МЦ) в этих ДНК составляет 45,1—42,4 мол%. По этому признаку заметных различий в ДНК у необлученных и облученных животных с трансплантированными опухолями не обнаруживается. Вместе с тем, изученные ДНК четко различаются по содержанию 5-метилцитозина (5-МЦ). В ДНК опухоли С-45, перевиваемой обычным путем, содержание 5-МЦ повышено ($1,45 \pm 0,19$)

* РНК двуспиральная дрожжевая выделена из препарата нуклеината натрия в Институте экспериментальной биологии АН РА. Авторы выражают искреннюю благодарность заведующему лабораторией нуклеиновых кислот за предоставленную возможность работать с препаратами РНК, ценные советы и консультации.

по сравнению с соответствующей величиной для ДНК печени здоровых животных ($1,09 \pm 0,23$). Трансплантация инокулята с введением гомологической оп. ДНК у необлученных животных привела к увеличению содержания 5-МЦ ($1,63 \pm 0,033$). Трансплантация инокулята в аналогичных условиях с дрожжевой РНК привела к уменьшению содержания 5-МЦ ($1,27 \pm 0,013$). У облученных животных наблюдалось резкое ингибирование уровня метилирования при трансплантации инокулята как с гомологической ДНК, так и с гетерогенной РНК. Можно предположить, что повышение уровня метилирования у необлученных животных связано с нарастанием содержания ДНК в ядрах опухолевых клеток [11], а ингибирование степени метилирования у облученных животных — с уменьшением содержания ДНК в клетках злокачественных опухолей при лучевой

Таблица

Нуклеотидный состав ДНК при экспериментальных воздействиях

Условия опыта	Источник ДНК	Содержание оснований в ДНК, мол %					
		Г	Ц	МЦ ($x \pm \sigma$)	А	Т	Г+Ц+МЦ
Необлученные животные	печень	22,1	20,2	$1,02 \pm 0,023$	29,2	29,4	43,3
Трансплантировали: опухолевые клетки	опухоль	22,1	20,6	$1,45 \pm 0,019$	27,1	27,1	43,6
опухолевые клетки + оп. ДНК	"	22,5	20,2	$1,63 \pm 0,033$	29,8	29,6	44,3
опухолевые клетки + РНК	"	22,0	20,2	$1,27 \pm 0,013$	28,6	28,4	43,4
Облученные животные	печень	21,6	20,0	$0,84 \pm 0,018$	29,0	29,3	42,4
Трансплантировали: опухолевые клетки	опухоль	22,8	20,9	$1,42 \pm 0,017$	29,1	29,1	43,1
опухолевые клетки + оп. ДНК	"	21,7	20,8	$0,76 \pm 0,001$	29,0	29,8	43,2
опухолевые клетки + РНК	"	21,0	20,9	$0,83 \pm 0,020$	28,7	23,3	42,7

Примечание. Различия между средними значениями 5-МЦ в идентичных условиях у необлученных и облученных животных статистически достоверны ($p < 0,005$).

терапии [2]. Кроме того, снижение содержания 5-МЦ при облучении может быть вызвано либо активацией деметилаз, либо действием свободных радикалов, которые могут привести к иницированию ДНК, поскольку гидрофобная CH_3 -группа 5-МЦ способствует ассоциации ДНК с мембраной [10] в точке репликации, и деметилирование должно приводить к диссоциации комплекса ДНК—мембрана, а подобные повреждения ДНК в результате ошибочности репарации могут привести к изменениям первичной структуры ДНК. Следовательно, в процессах, обусловленных свободнорадикальными воздействиями, может наблюдаться снижение уровня метилирования ДНК. И поскольку система ферментативной модификации ДНК посредством метилирования подвергается изменениям в процессе инокуляции

опухолевых клеток с ДНК и РНК и при облучении, все это может указывать на вовлечение этого регуляторного механизма в процесс опухолевой трансформации. В свою очередь, деметилирование может привести к большей резистентности опухоли к облучению, так как 5-МЦ более устойчив к радиации, чем цитозин [13]. Утрата метильных групп из 5-МЦ может привести также к возникновению измененного фенотипа трансформированных клеток [15].

Различие в действии препаратов нуклеиновых кислот можно объяснить особенностями их вторичной структуры [3] и способностью их участвовать в регуляции процессов трансляции у эукариотов [16]. Таким образом, можно предположить, что сочетанное применение при опухолевом процессе препаратов нуклеиновых кислот, облучения и антибластных препаратов может усилить противоопухолевое действие цитостатиков и ослабить их токсическое влияние на организм.

Институт медицинской радиологии

Поступила 7/X 1991 г.

Ի. Ս. Դանիելյան, Զ. Վ. Գարիբյան, Հ. Մ. Ստեփանյան,
Ք. Յ. Գարիբյան, Ռ. Գ. Մկրտչյան

ՆՈՒԿԼԵԻՆԱԲՈՒՆԵՐԻ ԴԵՂԱՄԻՋՈՏՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՌԵՍՈՒՄԵՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՈՒՆՈՒՑՔԻ ԴՆԹ-Ի ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԻ ՎՐԱ ՀԱՌԱՐԱՅԹՎԱԾ ԿԵՆՏԱՆՆԵՐԻ ՄՈՏ

ԴՆԹ-ի առաջնային կառուցվածքի հետազոտությունը իրականացվել էր ճառագայթված և ոչ ճառագայթված կենդանիների վրա, որոնց տրանսպլանտացված էր ուռուցքային բջիջների՝ նուկլեինաթթուների համոլոգիական և հետերոլոգիական միջոցներ:

Բացառությամբ է, որ ուռուցքային բջիջների ԴՆԹ բնութագրվում է 5-մեթիլցիտոզինի բարձր պարունակությամբ:

Ճառագայթված կենդանիների մոտ, ինչպես համոլոգ ԴՆԹ-ի, այնպես էլ հետերոգեն ՌՆԹ-ի ինոկուլյատի տրանսպլանտացիայի ժամանակ նկատվում է ԴՆԹ-ի մեթիլացման մակարդակի կտրուկ իջեցում: Ոչ ճառագայթված կենդանիների մոտ համոլոգ ուռուցքային ԴՆԹ-ի ինոկուլյատի տրանսպլանտացիան բերում է 5-մեթիլցիտոզինի պարունակության ավելացմանը, այն դեպքում, երբ հետերոգեն ՌՆԹ-ն՝ վերջինիս պակասեցմանը:

Հոդվածում քննարկված է նուկլեինաթթուների դեղամիջոցներով տրանսպլանտացված ուռուցքային ԴՆԹ-ի մեթիլացման մակարդակի մոդիֆիկացիայի հնարավոր մեխանիզմը:

I. S. Danielian, D. V. Gharibian, H. M. Stepanian, B. T. Gharibjanian,
R. G. Mkrtchian

Investigation of the Influence of Nucleic Acid Preparation on the Structure of Tumor in Radiated Animals

An investigation of the primary structure of DNA has been conducted in non-radiated and radiated animals, to which tumor cells were transplanted together with homologous and heterologous preparations of nucleic acids.

It was established that tumor DNA is characterised by a high content of 5-methylcytosine (5-MC). An inhibition of the methylation

level is observed in radiated animals upon transplantation of the inoculum with both homologous tumor DNA and heterologous RNA. In non-radiated animals, transplantation of the inoculum with homologous DNA leads to the increase of the content of 5-MC, while transplantation of heterologous RNA results in the decrease of the latter. The possible mechanism of the modification of methylation level of tumor DNA, transplanted along with nucleic acids preparations is discussed in the paper.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. В кн.: Введение в количественную патологическую морфологию. М., 1980.
2. Автандилов Г. Г., Сватко Л. Г., Алиметов Х. А. Бопр. онкол., 1982, 4, с. 3.
3. Беляев Д. К., Мафтынова Р. Л., Мартиенко Н. А. и др. ДАН СССР, 1966, 169, 3, с. 728.
4. Ванюшин Б. Ф. В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1964, с. 236.
5. Герштейн Е. С., Ворновицкая Г. И., Шапот В. С. Биохимия, 1978, 43, 7, с. 1303.
6. Жижина Г. П., Круглякова К. Е., Тодоров И. Н., Эмануэль Н. М. Успехи совр. биол., 1986, 101, 1, с. 3.
7. Земсков В. М., Передерий В. Г. и др. Антибиотики, 1982, 9, с. 64.
8. Критский Г. А., Лахтан В. М., Александров С. В., Копылов В. А. Радиобиология, 1975, 15, с. 803.
9. Кузин А. М. В кн.: Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. М., 1972, с. 166.
10. Немировский Л. Е., Васильев В. К. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1985, 11, с. 556.
11. Спиринов А. С. Биохимия, 1958, 23, 5, с. 656.
12. Федоров Н. А. В кн.: Успехи биологической химии. М., 1974, 13, с. 3.
13. Lindahl T. Nature, 1981, 363.
14. Lowry O. H., Rosenbrought N. J., Farr A. L. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
15. Nuce J., Weinhouse S., Magee P. N. Brit. J. Cancer, 1983, 48, 4, 463.
16. Robertson H. D., Motheus M. B. Proc. Nat. Acad. Sci. US, 1973, 70, 225.

УДК 612.82:577.1

С. А. Хачатрян, Г. Г. Адамян, А. С. Харазян

ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА АММИАКА В МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ МНОГОКРАТНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОВЫШЕННОГО АТМОСФЕРНОГО ДАВЛЕНИЯ

Многократное воздействие повышенного атмосферного давления вызывает ряд изменений в различных функциональных системах организма, носящих противоречивый характер [2, 3, 5, 10]. Так, исследованиями И. А. Александрова и др. [1] показано, что длительное пребывание животных в условиях повышенного атмосферного давления сопровождается формированием в организме своеобразных приспособительных реакций. Причем реакции срочной адаптации реализуются на уровне дыхательной, сердечно-сосудистой и центральной нервной системы, а реакции долговременной адаптации формируются на клеточном уровне. Однако ряд исследователей [4, 6] не только отрицают наличие адаптации, но и указывают на повышение чувствительности организма при повторном применении гипербарии, а также дистрофических и деструктивных изменений в различных органах.