

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1985

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoi khimii

*ISSN 0042-8809*

1985

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИ-  
МОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН,  
Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ,  
Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС,  
С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)  
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)  
БЫЧКОВ С. М. (Москва)  
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)  
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)  
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)  
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)  
ТАРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)  
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)  
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)  
ШАПОТ В. С. (Москва)  
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)  
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

можно, связано с конформационными перестройками в хроматине при его взаимодействии с эстрогенрецепторными комплексами. Хотя заметные количественные и качественные сдвиги обнаруживаются во фракциях  $\Phi_2$  и  $\Phi_3$ , не исключена возможность наличия эстрогенчувствительных белков и во фракциях  $\Phi_4$ ,  $\Phi_5$  и  $\Phi_6$ , изучение которых позволит дать более полную характеристику этих сдвигов.

Обнаруженные перестройки в составе ЛСНБ хроматина печени петушков при воздействии эстрадиола, по-видимому, способствуют усилению депрессирующего влияния женского полового гормона в клетках неполовозрелых самцов, у которых индукции вителлогена в норме не происходит.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Уманский С. Р. — Успехи биол. химии, 1977, т. 17, с. 27.
2. Burlon K. — Biochem. J., 1956, v. 62, p. 315.
3. Chauveau J., Moule Y., Rouiller C. R. — Exp. Cell Res., 1956, v. 11, p. 317.
4. Clark J. H., Markaverich B., Upchurch S. et al. — Advanc. exp. Med. Biol., 1979, v. 117, p. 17.
5. Gazit B., Panet A., Cedar H. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1980, v. 77, p. 1787.
6. Goodwin G. H., Johns E. W. — Europ. J. Biochem., 1973, v. 41, p. 214.
7. Hiremath S. T., Maciewicz R. Y., Wang T. Y. — Biochim. biophys. Acta, 1981, v. 653, p. 130.
8. Horwitz K. B., McGuire W. L. — J. biol. Chem., 1980, v. 255, p. 9699.
9. Kostraba N. C., Montagna R. A., Wang T. Y. — J. biol. Chem., 1975, v. 250, p. 1548.

10. Laemmli S. — Nature, 1970, v. 227, p. 680.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. et al. — J. biol. Chem., 1951, v. 193, p. 265.
12. Mairesse N., Galand P. — J. Steroid Biochem., 1980, v. 12, p. 299.
13. Montagna R. A., Becker F. F. — Biochim. biophys. Acta, 1980, v. 606, p. 148.
14. Pasqualini J. R., Cosquer-Clavreul Ch., Videli G. et al. — Biol. Reprod., 1981, v. 25, p. 1035.
15. Sanders C. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1977, v. 78, p. 1034.
16. Umansky S. R., Kovalev Y. I., Tokarskaya V. I. — Biochim. biophys. Acta, 1975, v. 383, p. 242.
17. Wang T. Y. — Biochem. J., 1967, v. 242, p. 1220.
18. Wang T. Y. — Biochem. biophys. Acta, 1978, v. 518, p. 81.
19. Weber K., Osborn M. — J. biol. Chem., 1969, v. 244, p. 4406.

Поступила 14.06.84

#### COMPOSITION OF LABILE-BOUND NON-HISTONE PROTEINS IN CHROMATIN OF COCKEREL LIVER TISSUE AFTER TREATMENT WITH ESTRADIOL

E. S. Gevorgyan, A. Sh. Abramyan, K. S. Malinyan, G. A. Panosyan

Chair of Biophysics, State University, Yerevan

Preparations of chromatin and labile-bound nonhistone proteins were isolated from cockerel liver cells after treatment of birds with estradiol as well as from controls. Six protein fractions were obtained by means of column chromatography on DEAE cellulose; two of these fractions were quantitatively altered due to the hormonal effect. Electrophoretic separation of both total labile-bound nonhistone proteins and their hormone-dependent fractions showed that protein composition was altered after the estradiol treatment as compared with controls.

УДК 618.19-006.6-085.277.3-036.8-07:616.155.3-008.3:577.212.3

М. А. Нишанова, Н. А. Митряева, Л. А. Гайсенюк

#### СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПРОЦЕССЕ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

НИИ медицинской радиологии Минздрава УССР, Харьков

Использование в системе комплексного лечения опухолевых заболеваний цитостатической терапии дает определенный противоопухолевый эффект, но при этом неизбежно имеет место поражение активно пролиферирующих нормальных тканей организма, к которым относится костный мозг. Возникающая миелодепрессия является препятствием для даль-

нейшего лечения онкологических больных и может сопровождаться развитием угрожающих жизни осложнений.

Поскольку разрушающее действие химиопрепаратов связано прежде всего с повреждением ядерной ДНК клетки [1, 2, 5], восстановление структурной целостности и функциональной активности генетического аппарата клетки может

явиться определяющим фактором для нормального функционирования популяции в целом. Поэтому изучение структурно-функционального состояния генетического аппарата клеток крови в процессе противоопухолевой терапии может дать информацию для прогнозирования и выявления ранних нарушений гемопоэза в условиях указанного воздействия.

### Методика

У 22 больных раком молочной железы III—IV стадии изучали структурно-функциональное состояние генетического аппарата лейкоцитов крови по включению  $^3\text{H}$ -тимидина в ДНК и определению структурных повреждений ДНК иммунофлюоресцентным методом. Исследования выполняли в процессе проведения больным противоопухолевой химиотерапии в сроки до лечения, в середине и в конце курса лечения. Для лечения больных применяли различные схемы комбинированной химиотерапии в виде коротких интенсивных курсов с включением цитостатиков различных химических групп: алкилирующих соединений, антиметаболитов, антибиотиков, алкалоидов, гормональных препаратов в общепризнанных разовых суммарных дозах.

Функциональную активность лейкоцитов периферической крови у больных изучали по включению меченого предшественника синтеза ДНК —  $^3\text{H}$ -тимидина [8]. У больных утром патошак из локтевой вены брали 2 мл крови, разливали в пробирки по 0,5 мл, добавляли меченый  $^3\text{H}$ -тимидин (удельная активность 22 Ки/ммоль в количестве 1 мкКи на пробу), инкубировали при 37 °C в течение 1 ч. После инкубации пробы отмывали 3% раствором уксусной кислоты. Осадок растворяли в 0,4 мл 0,14 М растворе хлористого натрия, добавляли пергидроль 1—2 капли, выпаривали, заливали муравьиной кислотой и инкубировали на холоду в течение ночи. Радиоактивность проб измеряли на счетчике «Isoscar-300» фирмы «Nuclear Chicago» (эффективность счета по  $^3\text{H}$ -тимидину ~30—40%). Контролем служили пробы, которые не подвергали инкубации.

Структурные нарушения ДНК изучали в мазках периферической крови больных иммунофлюоресцентным методом [3]. Антитела к ДНК получали из сыворотки крови иммунизированных кроликов. Иммунизацию животных проводили препаратами одноклеточной ДНК [9]. ДНК выделяли из тимуса телят [7]. Гиперхромный эффект ДНК после кипячения с формальдегидом составлял около 40%. Антитела к  $\gamma$ -глобулиновой фракции сыворотки крови определяли реакцией пассивной геммагглютинации (РПГА) [4]. Титр антител составлял  $(1:20) \cdot 10^3$ . В РПГА полученные антитела реагировали исключительно с одноклеточной ДНК.

Для иммунофлюоресцентного анализа мазков периферической крови больных применяли ослинную сыворотку, меченую изотопизанатом флюоресценна, содержащим антитела к глобулину кролика, а также альбумин, меченный родаминсульфафторидом, и  $\gamma$ -глобулин, содержащие антитела к одноклеточной ДНК. При исследовании клеток положитель-

ным результатом считали сверкающую флюоресценцию ядер изумрудно-зеленого цвета, четко контрастирующую с темным фоном мазка, оцениваемую как  $(++++)$ . Кровь у больных брали из вены в заранее приготовленные пробирки с гепарином. После отстаивания плазму с лейкоцитами отсасывали и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Каплю из осадка наносили на предметное стекло в виде мазка.  $\gamma$ -Глобулин, содержащий антитела к одноклеточной ДНК, наносили в разведении 1:5. Для выявления иммунологической специфичности использовали мазки крови, обработанные  $\gamma$ -глобулином, выделенным из сыворотки крови немуннизированных кроликов, и мазки, обработанные люминесцирующей сывороткой без предварительного нанесения иммунной. На каждые 100 клеток мазка считали количество флюоресцирующих клеток.

Данные были обработаны статистически методом Стьюдента — Фишера.

### Результаты и обсуждение

К концу курса лечения больных обнаруживали повышение числа флюоресцирующих клеток ( $26 \pm 1,36$ ;  $P < 0,001$ ). Количество таких светящихся клеток у больных до лечения и в середине лечения было  $11 \pm 0,81$  и  $13 \pm 0,78\%$  соответственно. Поскольку используемые в исследовании антитела взаимодействуют исключительно с одноклеточной ДНК, то специфически светящиеся клетки свидетельствуют о наличии в их ядрах одноклеточных участков ДНК. Естественный фон светящихся клеток, вероятно, обусловлен тем, что часть ДНК интерфазных клеток, находящихся в S-фазе, реагируют с антителами к одноклеточной ДНК. В литературе имеются сведения о том, что время появления свечения ядра клетки соответствует периоду репликации ДНК [6, 12]. Увеличение числа светящихся клеток свидетельствует о появлении к концу химиотерапии большого количества клеток с поврежденной структурой ДНК.

Коэффициент синтеза ДНК (отношение величин, характеризующих включение меченого предшественника в ДНК до лечения к значениям этого показателя в соответствующие сроки после начала лечения) в лейкоцитах периферической крови 22 больных раком молочной железы в середине курса химиотерапии был равен  $4,67 \pm 0,87$ , в конце курса лечения —  $3,36 \pm 1,27$ .

Чем выше коэффициент, тем более значительно подавлен синтез. По нашим данным, у больных к середине и концу курса лечения наблюдалось стойкое подавление синтеза ДНК, что свидетельствовало о нарушении функциональной

активности генетического аппарата лейкоцитов периферической крови.

Сопоставление данных по синтезу ДНК с таковыми количеств клеток, имеющих структурные повреждения, показывает, что в динамике лечения наблюдаются структурно-функциональные нарушения генетического аппарата лейкоцитов. Угнетение синтеза ДНК у онкологических больных, по всей вероятности, связано с нарушением функционального состояния ДНК-матриц, что подтверждается литературными данными [10, 11]. К концу лечения, по-видимому, имеют место ослабление репаративных возможностей клетки вследствие накопления дозы лечебного фактора, изменения общего состояния организма, что приводит к накоплению структурных повреждений ДНК.

Таким образом, у онкологических больных в процессе химиотерапии наблюдаются структурно-функциональные изменения генетического аппарата в лейкоцитах периферической крови, что, по-видимому, и является одной из причин развивающихся цитопений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Белоусова А. К. — В кн.: Химиотерапия злокачественных опухолей. М., 1977, с. 56—118.
2. Дубинин Н. П. Потенциальные изменения в ДНК и мутации. Молекулярная цитогенетика. М., 1978, с. 34—36.
3. Иммунолюминесценция в медицине. /Под ред. Е. Н. Левиной. М., 1977.
4. Поверенный А. М., Леви М. И. — Биохимия, 1964, т. 29, № 1, с. 80—86.
5. Франкфурт О. С. Клеточные механизмы

химиотерапии опухолей. М., 1976, с. 132—188.

6. Freeman M. V., Reiser S. M., Erlanger B. F. et al. — Exp. Cell Res., 1971, v. 69, p. 345—355.
7. Kay E. R., Simmons H. S., Dounie A. O. — J. Amer. chem. Soc., 1952, v. 74, p. 1724—1730.
8. Pauly L. L., Schuller M. E. — J. appl. Radiat., 1977, v. 28, p. 509—512.
9. Plescia O. J., Braun W., Palczvek N. C. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1964, v. 52, p. 279—285.
10. Roberts J. J., Grathorn A. R., Brent T. P. — Nature, 1968, v. 218, p. 970—972.
11. Roberts J. J., Brent T. P., Grathorn A. R. — Europ. J. Cancer, 1971, v. 7, p. 515—524.
12. Tan E. M., Lerner R. A. — J. molec. Biol., 1972, v. 68, p. 107—114.

Поступила 22.06.84

#### THE STRUCTURE-FUNCTIONAL STATE OF GENETIC APPARATUS IN LEUKOCYTES OF PATIENTS WITH MAMMARY GLAND CARCINOMA IN THE COURSE OF CYTOSTATIC TREATMENT

M. A. Ishkhanova, N. A. Mitryaeva, L. A. Gaysenyuk

Institute of Medical Radiology, Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kharkov

Functional state of genetic apparatus was studied in leukocytes of patients with carcinoma of mammary gland at the III-IV stage by measuring incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine into DNA as well as by monitoring impairment of DNA structure using immunofluorescent procedure and antibodies to DNA. The studies were carried out before, in the middle period and at the end of the antitumour chemotherapy. The structure-functional state of genetic apparatus was injured in circulating leukocytes in blood of oncological patients.

УДК 615.281:547.551.525.211.11.015.4.015.2:615.256.51

Е. М. Рязанов, А. В. Третьяков, В. А. Александров

#### ИНДУКЦИЯ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ У КРЫС С ПОМОЩЬЮ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова Минздрава СССР, Ленинград

Процессы биологического ацетилирования широко распространены в природе. Субстратом для действия N-ацетилтрансфераз (КФ 2.3.1.5) могут быть соединения, имеющие в молекуле NH<sub>2</sub>-группу: ароматические амины, α-аминокислоты, гидразины и др. Ацетилирование — многостадийный процесс, включающий в себя образование ацетильной группы, синтез ацетил-КоА и перенос N-ацетилтрансферазами ацетильной

группы от ацетил-КоА на субстрат. Реакции ацетилирования осуществляются в печени, селезенке, легких, пищеварительном тракте, а также форменными элементами крови. При этом активность N-ацетилтрансфераз контролируется двумя аллелями, т.е. может представлять генетически определенные фенотипы — «быстрое» и «медленное» ацетилирование [2].