

Г. Н. БОГДАНОВ, Ю. Т. КОВТУН, Н. П. КОНОВАЛОВА
**КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПАДА ДНК
В ГОМОГЕНАТАХ СЕЛЕЗЕНКИ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ
ПЕРЕВИВНОГО ЛЕЙКОЗА La**

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 16 III 1971)

Изучение кинетики биохимических процессов, характеризующих рост опухолевых тканей, представляет большой интерес в связи с возможностью получения некоторых количественных параметров, отражающих как степень развития опухолевого процесса, так и эффективность применяемых терапевтических воздействий (¹). В частности, исследование кинетических закономерностей развития перевивного лейкоза La у мышей линии C57Bl, а также характер изменения в ходе развития лейкоза антиокислительной активности липидов и содержания свободных радикалов в различных органах животных-опухоленосителей позволили связать антилейкемическое действие некоторых противоопухолевых препаратов с их воздействием на указанные физико-химические характеристики опухолевых тканей (²).

Ранее нами было показано значительное различие в кинетике процессов распада высокополимерной фракции нуклеиновых кислот в гомогенатах селезенки мышей линии C57Bl в норме и на терминальной стадии развития перевивного лейкоза La (³). Так, после трехчасовой инкубации гомогенатов при 37° глубина распада ДНК селезенки в норме составляла 88%, РНК 92%, в то время как распад нуклеиновых кислот селезенки, взятой на 7 сутки развития лейкоза, составлял 9 и 11% соответственно.

В связи с этим представляло определенный интерес изучение закономерностей этого явления в ходе развития лейкоза La.

Для этого вида перевивного лейкоза ранее были установлены экспоненциальные закономерности увеличения веса селезенки, числа лейкоцитов и лейкозных клеток в периферической крови и лейкозных клеток в костном мозгу (⁴). Поскольку с момента получения Пуйманом этого вида экспериментального лейкоза время его развития постепенно снижается, т. е. процесс протекает более остро (см. (⁵⁻⁷)), мы сочли необходимым проанализировать также данные по изменению веса селезенки в ходе развития лейкоза. Параллельно были проведены исследования по изменению удельного и процентного содержания гемоцитобластов в селезенке, а также вся биохимическая часть работы (в опытах было использовано около 500 мышей линии C57Bl). Удельное содержание лейкозных клеток в гомогенатах селезенки (1:1) подсчитывали в камере Горяева; процентное содержание определяли на мазках, окрашенных по Романовскому.

На рис. 1а показано, как в процессе развития лейкоза меняется вес селезенки и удельное содержание в ней лейкозных клеток. Линейный характер этих изменений в полулогарифмических координатах (рис. 1б) показывает, что они могут быть описаны экспоненциальной зависимостью, причем величина фактора роста в обоих случаях практически одинакова. Значения предэкспоненциальных множителей и факторов роста были вычислены методом наименьших квадратов. Таким образом, увеличение веса селезенки во времени описывается уравнением $S = 110 + 23e^{0.58t}$.

В свою очередь, изменение удельного содержания лейкозных клеток в гомогенате селезенки описывается уравнением $H = 1110e^{0,54t}$. Полученный результат, вероятно, свидетельствует о том, что увеличение веса селезенки в основном связано с процессом инфильтрации ткани лейкозными клетками.

Экспоненциальной зависимостью характеризуется также увеличение процентного содержания лейкозных клеток в селезенке, кинетическая кривая изменения которого описывается уравнением:

$$C = 0,29e^{0,81t}$$

Исходя из результатов по изучению кинетики раз-

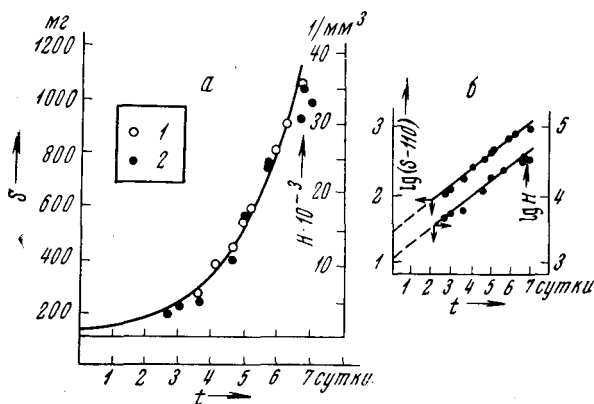


Рис. 1. Кинетическая кривая (а) увеличения веса селезенки (1) и удельного содержания лейкозных клеток в гомогенате (2) в ходе развития перививного лейкоза и соответствующие полулогарифмические анаморфозы (б)

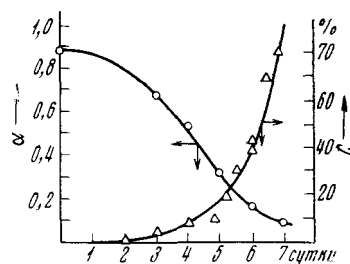


Рис. 2. Кинетические кривые изменения глубины распада ДНК и процентного содержания лейкозных клеток в гомогенате селезенки в ходе перививного лейкоза

вития лейкоза La, представлялось интересным исследовать процесс распада ДНК в гомогенатах селезенки, взятой на 3, 4, 5, 6 и 7 сутки после перевивки, когда процентное содержание лейкозных клеток меняется от 3 до 95%.

Гомогенаты инкубировали в растворе Рингера при 37° в течение трех часов, фенольным методом выделяли ДНК и по цветной реакции на дезоксирибозу определяли содержание фракций ДНК, осаждаемых этиловым спиртом (1,4 по объему), в пробах без инкубации (P_0) и после инкубации (P). По результатам анализа вычисляли глубину распада выделяемой фракции ДНК: $\bar{\alpha} = 1 - P/P_0$. Глубина распада α выражалась следующим образом по данным 6—7 опытов: на 0 сутки (норма) $0,88 \pm 0,02$; на 3 сутки (развивается лейкоз) $0,67 \pm 0,07$; на 4 сутки $0,53 \pm 0,05$; на 5 сутки $0,32 \pm 0,04$; на 6 сутки $0,16 \pm 0,02$; на 7 сутки $0,09 \pm 0,02$.

Как видно из этих данных, в ходе развития лейкоза наблюдается закономерное снижение глубины распада ДНК в гомогенатах селезенки.

Такая заторможенность катаболизма ДНК, наряду с представлениями о неизменности времени генерации и фаз клеточного цикла опухолевых клеток по сравнению с нормальными (^{8, 9}), является отражением известных данных о большей продолжительности жизни лейкозных клеток (¹⁰). Из рис. 2 следует, что падению величины $\bar{\alpha}$ соответствует экспоненциальное увеличение процентного содержания лейкозных клеток в гомогенатах селезенки. Следует отметить, что уже в начальной стадии развития лейкоза (1—4 сутки), когда величина C не превышает 10%, глубина распада ДНК снижается наполовину. Дальнейшее падение глубины распада ДНК происходит на фоне резкого увеличения процентного содержания лейкозных клеток в терминальной стадии процесса (5—7 сутки).

Обнаруженная корреляция, по нашему мнению, свидетельствует о том, что заторможенность распада ДНК является характерной особенностью лейкозного процесса и отражает внутренние биохимические сдвиги в опухолевых клетках.

Авторы выражают благодарность академику Н. М. Эмануэлю за ценные советы и помощь в выполнении данной работы.

Филиал Института химической физики
Академии наук СССР
Черноголовка, Московская обл.

Поступило
15 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. М. Эмануэль, Вестн. Акад. Мед. наук СССР, 8, 86 (1965). ² Н. М. Эмануэль, Химическая кинетика и ценные реакции, «Наука», 1966. ³ Ю. Т. Ковтун, Г. Н. Богданов, Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 269 (1968). ⁴ Н. М. Эмануэль, Н. П. Коновалова, Л. М. Дронова, ДАН, 143, 3, 737 (1962). ⁵ В. Пуйман, Вопр. онкол., 1, 4, 93 (1955). ⁶ К. А. Sedov, G. L. Zhdanov, Neoplasma, 11, № 4 (1964). ⁷ Н. М. Эмануэль, Л. Л. Гуманов и др., ДАН, 183, 724 (1968). ⁸ R. Baserga, Cancer. Res., 25, 5, 581 (1965). ⁹ Ю. М. Васильев, Цитология, 9, 9, 1121 (1967). ¹⁰ И. А. Кассирский, Г. А. Алексеев, Клиническая гематология М., 1962, стр. 352.