

Влияние ионизирующего излучения на структурную организацию хроматина печени крыс разного возраста

Т. Г. Мозжухина*, А. Я. Литошенко

Институт геронтологии АМН Украины
254114, Киев, ул. Вышгородская, 67

Белых крыс линии Вистар двух возрастных групп (6—8 месяцев, взрослые и 26—28 месяцев, старые) подвергли рентгеновскому облучению в дозе 2 Гр и брали в опыт через 1 ч и 4 сут после облучения. Была исследована динамика выхода экстрагируемых низкосолевым буфером фрагментов хроматина (ПДН) из ядер печени в условиях активации Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазы, а также характеристики фракций репрессированного (РХ), транскрипционно активного (АХ) и прочно связанного с матриксом (МХ) хроматина. Показано, что при старении в ядрах печени крыс увеличивается содержание ПДН, экстрагируемых низкосолевым буфером в «нулевое время». Вследствие облучения этот показатель также увеличивается в ядрах печени взрослых крыс через 4 сут, старых — уже через 1 ч. Скорость выхода ПДН, расщепляемых эндонуклеазой, увеличена у старых интактных животных по сравнению со взрослыми и изменяется после облучения только в этой возрастной группе. Относительное количество РХ увеличено в ядрах старых интактных животных по сравнению со взрослыми и в ядрах облученных животных по сравнению с интактными. Полученные результаты указывают на определенное сходство возрастных и радиоиндуцированных преобразований хроматина печени, а также на большую чувствительность хроматина печени старых животных к действию ионизирующей радиации.

Введение. Согласно существующим представлениям, процесс старения и радиобиологические эффекты реализуются по механизму свободно-радикального повреждения генетических структур (модификация оснований, индукция одно- и двунитчатых разрывов ДНК, появление щелочлабильных сайтов ДНК, образование сшивок ДНК — белок и ДНК — ДНК и т. д.) [1—4]. Эти повреждения вызывают конформационные изменения в надмолекулярной структуре хроматина и соответственно модификацию его генетической функции [5—7].

Структурные изменения хроматина, определяющие его функциональное состояние, могут быть исследованы с помощью гидролиза эндонуклеазами, скорость которого зависит как от сродства последних к тем или иным сайтам ДНК хроматина, так и от доступности этих сайтов. Другой подход — анализ относительного содержания фракций хроматина, различающихся по структурной организации и функциональной активности. В настоящей работе были применены оба подхода для исследования возрастных особенностей структурной организации хроматина клеток печени крыс и влияния на нее ионизирующей радиации в условиях облучения всего организма животных (whole-body exposure).

*Correspondence address.

Материалы и методы. В работе использовали белых крыс-самок линии Вистар двух возрастных групп: 6—8 месяцев (взрослые) и 26—28 месяцев (старые), которые находились в стандартных условиях содержания вивария.

Животных облучали на приборе РУМ-17 в дозе 2 Гр (мощность дозы 0,87 Гр/мин, 15 мА, 180 кВ, фокусное расстояние 40 см, фильтры $\text{Cu } 0,5+\text{Al } 1,0$) и декаптитировали через 1 ч и 4 сут после облучения.

Выделение и очистка ядер. Печень крыс промывали и гомогенизировали в 0,25 М STMK (0,25 М сахараза, 50 мМ трис- HCl , pH 7,5, 25 мМ KCl , 5 мМ MgCl_2 , 0,5 мМ PMSF). Гомогенат фильтровали через четыре слоя марли и центрифугировали 5 мин при 1000 г в рефрижераторной центрифуге. Супернатант сливали, а неочищенный осадок ядер дважды промывали 1 %-м раствором тритона X-100 в 0,25 М STMK и дважды — STMK . Аликвоту ядер отбирали для определения ДНК спектрофотометрически при 260 нм из расчета 1 ОЕ = 40 мкг ДНК.

Гидролиз ядер Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазой. Ядра ресуспендировали в STMK до концентрации ДНК 200 мкг/мл, добавляли CaCl_2 до конечной концентрации 2 мМ и инкубировали при 16 °С. Аликвоты отбирали через 0, 10, 20 и 30 мин, помещали в лед, разводили в 4—5 раз STMK и центрифугировали (10 мин при 1000 г). Скорость гидролиза рассчитывали по количеству ДНК, экстрагируемой из ядер в составе ПДН (полидезоксинуклеотидов) раствором с низкой ионной силой (0,01×SSC) и выражали в процентах от тотальной ДНК ядер в инкубационной смеси.

Фракционирование хроматина. Хроматин фракционировали по традиционному используемому нами методу [8], позволяющему разделить фракции хроматина: конденсированного, обогащенного репрессированными последовательностями (РХ), деконденсированного, обогащенного активно транскрибируемыми последовательностями (АХ), и прочно связанного с ядерным матриксом и ядерной мембраной (МХ). Содержание ДНК и белка во фракциях хроматина определяли спектрофотометрически [9], соотношение фракций рассчитывали в процентах по общему содержанию ДНК в каждой из фракций.

Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Скорость гидролиза хроматина Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазой оценивали по приросту продуктов гидролиза, вычитая их количество в «нулевой точке». Среднюю скорость гидролиза и оценку значимости различий кривых определяли с помощью регрессионного анализа.

Результаты и обсуждение. На первом этапе работы была изучена динамика расщепления хроматина интактных и облученных крыс активированной Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазой. После облучения животных брали в опыт через 1 ч, т. е. после завершения первой волны репарации [10], и через 4 сут после полного завершения восстановительных процессов [11]. При анализе полученных результатов обращает на себя внимание, что уже в «нулевое» время, т. е. до начала инкубации ядер, количество экстрагируемых низкосолевым буфером фрагментов хроматина (в радиобиологической литературе их обозначают как ПДН [12]) в исследуемых препаратах ядер существенно зависит от возраста и изменяется под влиянием облучения животных. Из данных, приведенных на рис. 1, видно, что в ядрах печени интактных старых крыс количество ПДН существенно больше, чем у взрослых животных ($p < 0,02$). Возрастные различия обнаруживаются и под влиянием облучения: у взрослых крыс содержание ПДН через 1 ч после облучения не отличается от уровня интактных, а через 4 сут превышает этот уровень в 1,5 раза ($p < 0,001$), тогда как у старых крыс этот показатель увеличивается уже через 1 ч после облучения ($p < 0,05$) и через 4 сут превышает уровень интактного контроля в 1,3 раза ($p < 0,05$).

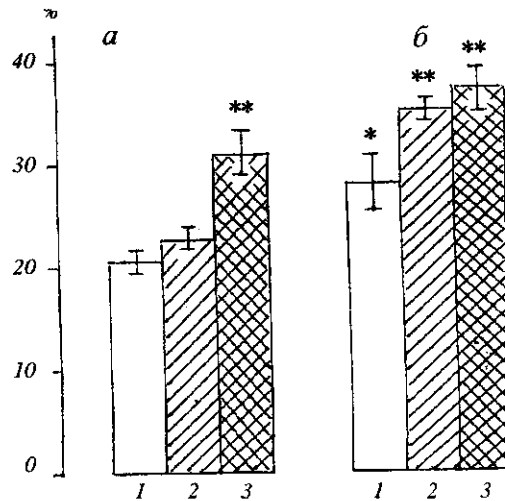


Рис. 1. Содержание ПДН, экстрагируемых буфером низкой ионной силы, в ядрах печени взрослых (а) и старых (б) крыс: 1 — интактные животные; 2, 3 — через 1 ч и 4 сут после облучения соответственно; статистически значимые возрастные (*) и радиоиндуцированные (**) различия

Возрастные различия в содержании ПДН в ядрах клеток печени интактных животных в «нулевой точке» могут быть обусловлены возрастными изменениями как эндонуклеазной активности, так и конформации хроматина. В контрольных экспериментах (результаты не приведены) возрастных изменений активности Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазы не обнаружено. Поэтому можно полагать, что различия в содержании ПДН обусловлены главным образом изменениями конформации хроматина. В исследованиях с применением различных методических подходов было показано, что при старении увеличивается количество как поперечных сшивок ДНК — ДНК и ДНК — белок, усиливающих компактизацию хроматина, так и одно- и двуничатых разрывов в молекулах ДНК, вследствие чего изменяется соотношение транскрипционно активной и репрессированной фракций хроматина в сторону преобладания последней и происходит перераспределение последовательностей ДНК ряда генов между этими фракциями [6, 13, 14]. Таким образом, зависящая от возраста компактизация хроматина сопровождается его фрагментацией, что и обуславливает более высокий уровень ПДН в ядрах печени интактных старых крыс по сравнению со взрослыми (см. рис. 1).

В ряде исследований было установлено, что под влиянием облучения в клетках печени крыс модифицируются структуры хроматина. Эта модификация происходит вследствие гидролиза октамера гистонов и гистона H1 активированными ионизирующим излучением протеиназами, которые входят в состав ядерного матрикса. Эти же протеиназы играют существенную роль в активации эндогенной Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимой эндонуклеазы [15, 16]. Существенным следствием действия ионизирующего излучения является также нарушение метаболических процессов в клетках, ведущее к изменению концентраций низкомолекулярных соединений и, в частности, ионов Ca^{2+} , что также рассматривается как механизм, запускающий пострадиационную активацию ядерных нуклеаз [17], о чем свидетельствует появление в препаратах надмолекулярного комплекса ДНК печени крупноразмерных фрагментов (104 кДа) [18].

Очевидно, обнаруженное в настоящем исследовании увеличение содержания ПДН в ядрах клеток печени взрослых (через 4 сут после облучения) и старых (через 1 ч и 4 сут после облучения) крыс является следствием радиоиндуцированной активации эндогенных нуклеаз. Более раннее проявление этого эффекта в ядрах старых животных могут быть обусловлены как наличием предшествующих повреждений, о чем упоминалось выше, так и

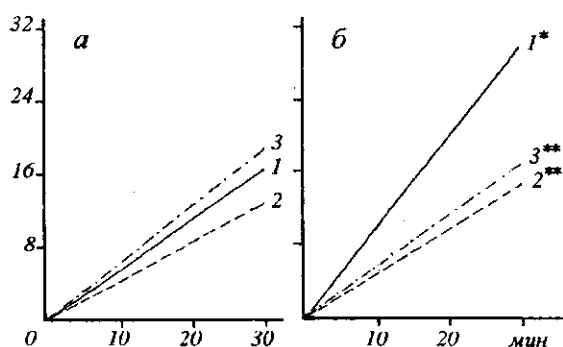


Рис. 2. Динамика выхода растворимых ПДН из ядер печени взрослых (а) и старых (б) крыс в условиях активации Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазы: 1 — интактные животные; 2, 3 — через 1 ч и 4 сут после облучения соответственно; статистически значимые возрастные (*) и радиоиндуцированные (**) различия

снижением в старости активности репарации [19, 20] и антиоксидантной защиты [21].

Анализ динамики выхода ПДН из ядер клеток печени в условиях активирования Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазы (рис. 2) позволил обнаружить возрастные и вызванные облучением различия в характере переваривания хроматина. Так, скорость эндонуклеолиза в изолированных ядрах печени интактных старых крыс достоверно (на 19 %, $p < 0,05$) выше, чем в ядрах взрослых животных. Через 1 ч после облучения в ядрах печени взрослых животных отмечается статистическая тенденция ($0,05 > p > 0,1$) к снижению скорости гидролиза хроматина, а через 4 сут скорость гидролиза не отличается от таковой у интактных крыс. В то же время скорость эндонуклеолиза хроматина в ядрах старых крыс через 1 ч после облучения снижается почти вдвое по сравнению с интактными животными и через 4 сут не возвращается к уровню интактного контроля, как это наблюдается у взрослых крыс, а остается практически на том же уровне, что и через 1 ч после облучения.

Известно, что Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеаза на начальных этапах выплывает крупные фрагменты хроматина, соответствующие петельному уровню его организации. Эти эндонуклеазные разрывы ведут к релаксации суперспиральной структуры доменов хроматина, вследствие чего увеличивается его доступность действию эндонуклеаз и происходит гидролиз хроматина до субъединиц более низкого уровня структурной организации вплоть до мононуклеосомного [22]. Вероятно, именно таким образом осуществляется эндонуклеолиз хроматина в ядрах печени интактных взрослых крыс при активации Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазы соответствующими ионами. Увеличенная скорость выхода ПДН из ядер печени старых интактных крыс может быть обусловлена, по-видимому, двумя факторами. Один из них состоит в том, что в ДНК хроматина старых животных увеличено количество одно- и двунитчатых разрывов (см. выше). Однонитчатые разрывы вызывают локальное уменьшение плотности топологических витков ДНК (локальные разрыхления структуры хроматина). Эти сайты легкодоступны действию эндонуклеаз и, подвергаясь эндонуклеазной атаке, образуют избыточные по сравнению с ядрами интактных взрослых крыс количества ПДН. ПДН, образованные в результате увеличенного с возрастом числа двунитчатых разрывов, обнаруживаются в «нулевое время» (см. рис. 1). Действие второго фактора заключается в том, что при старении параллельно с увеличением числа разрывов ДНК увеличивается количество сверхкомпактизованного хроматина вследствие накопления поперечных сшивок ДНК — ДНК и ДНК — белок. Естественно, что в этих участках хроматина уменьшается число сайтов ДНК, доступных действию ферментов и, как следствие, увеличивается расстояние между этими сайтами. Кроме того, даже расщеп-

ление эндонуклеазой ДНК в составе компактизованного хроматина старых крыс не всегда сопровождается соответствующим его распадом на ПДН нуклеосомного уровня из-за наличия сшивок белок — белок и белок — ДНК. Этот феномен был убедительно продемонстрирован в работах [6, 23]. По-видимому, более высокая скорость выхода ПДН из ядер печени старых интактных крыс, обусловлена не столько количеством частиц, отщепленных от хроматина, сколько их размерами.

Следует полагать, что зависимые от возраста особенности структуры хроматина ядер печени крыс обуславливают и различия влияния ионизирующего излучения на скорость эндонуклеолиза у взрослых и старых животных, в большей степени выраженное у последних. Причем у старых животных и через 4 сут после облучения скорость выхода ПДН из ядер печени не возвращается к уровню интактного контроля (см. рис. 2). Это в сопоставлении с увеличенным содержанием ПДН в «нулевое» время инкубации ядер (см. рис. 1) позволяет считать, что облучение в дозе 2 Гр вызывает у старых животных существенно более выраженную дезорганизацию структуры хроматина (как компактизацию, так и фрагментацию), чем у взрослых.

Во второй серии экспериментов были изучены соотношение и состав различающихся по внутриядерной пространственной организации и функциональной активности фракций хроматина.

Представленные в табл. 1 данные характеризуют изменения относительного количества фракций хроматина печени крыс различного возраста под влиянием облучения. Как видно из данных этой таблицы, фракция РХ в ядрах печени взрослых и старых крыс составляет большую часть тотального хроматина, однако у старых животных доля этой фракции выше, а содержание фракции АХ вдвое меньше, чем у взрослых. Содержание фракции МХ одинаково в обеих возрастных группах. Эти результаты совпадают с данными, полученными прежде, и хорошо коррелируют с возрастным снижением транскрипционной активности хроматина [8, 23].

Через 1 ч после облучения и у взрослых, и у старых крыс происходит

Таблица 1
Относительное содержание фракций хроматина в ядрах печени взрослых и старых крыс, %

Условия эксперимента	Фракция хроматина		
	РХ	АХ	МХ
Взрослые крысы (в)			
1. Интактный контроль	74,1±0,9	13,6±1,0	12,7±0,7
2. 1 ч после облучения	90,8±0,7	4,6±0,6	4,6±0,2
p2-1	< 0,001	< 0,001	< 0,001
3. 4 сут после облучения	79,4±1,0	6,0±0,2	14,3±1,8
p3-1	< 0,01	< 0,001	—
Старые крысы (с)			
1. Интактный контроль	81,6±1,5	6,4±0,6	12,1±1,1
pс-в	< 0,001	< 0,001	—
2. 1 ч после облучения	91,1±0,6	2,4±0,2	8,0±0,3
p2-1	< 0,001	< 0,001	< 0,01
3. 4 сут после облучения	77,0±5,5	7,2±1,6	15,8±2,0
p3-1	—	—	—

существенное перераспределение фракций за счет увеличения относительного содержания РХ и уменьшения доли фракций АХ и МХ. Обращает на себя внимание тот факт, что доля фракции МХ у взрослых крыс снижается в большей мере, чем у старых. Это, по-видимому, связано с наличием сшивок хроматина со структурами ядерной мембраны и матрикса.

Через 4 сут после облучения в ядрах печени взрослых крыс относительное содержание фракций РХ и АХ продолжает достоверно отличаться от уровня интактных животных, хотя и не так выражено, как через 1 ч после воздействия ионизирующей радиации, а содержание фракции МХ возвращается к уровню интактных животных. У старых животных соотношение всех трех фракций хроматина через 4 сут после облучения практически не отличается от значений, присущих интактным крысам.

В табл. 2 представлены данные о количественном отношении белков и ДНК в изученных фракциях хроматина. Величина этого показателя изменяется при старении и некоторых воздействиях, вызывающих активацию либо репрессию генетического аппарата [23]. Как видно из данных табл. 2, отношение белок/ДНК отличается во фракциях хроматина и составляет ряд МС>АХ>РХ у интактных взрослых и АХ>МХ>РХ — у интактных старых животных. Через 1 ч после облучения относительное содержание белка во фракции РХ взрослых крыс снижается, во фракции АХ незначительно увеличивается и не меняется во фракции МХ. Через 4 сут после облучения отношение белок/ДНК возвращается к уровню интактного контроля.

Снижение содержания белка в репрессированной фракции можно, по-видимому, объяснить активацией ядерных протеиназ [16]. Кроме того, учитывая вклад в процесс гидролиза белков хроматина протеиназ ядерного матрикса, можно предположить, что в результате удаления или частичного расщепления белков во фракциях АХ и МХ, достаточно прочно связанных с матриксом, происходит изменение конформации участков хроматина этих фракций и отделение незащищенных белками ДНК в составе РХ. По-видимому, именно этот процесс и лежит в основе столь значительного перерас-

Таблица 2
Отношение белок/ДНК во фракциях хроматина печени взрослых и старых крыс

Условия эксперимента	Фракция хроматина		
	РХ	АХ	МХ
Взрослые крысы (в)			
1. Интактный контроль	2,02±0,16	3,85±0,37	5,61±0,24
2. 1 ч после облучения	1,32±0,11	5,16±1,01	5,44±0,93
p ₂₋₁	< 0,01	—	—
3. 4 сут после облучения	1,68±0,19	4,90±0,55	5,10±0,22
p ₃₋₁	—	—	—
Старые крысы (с)			
1. Интактный контроль	1,81±0,09	6,10±0,35	4,24±0,29
p _{с-в}	—	< 0,001	< 0,01
2. 1 ч после облучения	1,51±0,09	5,88±0,34	4,44±0,81
p ₂₋₁	< 0,05	—	—
3. 4 сут после облучения	1,92±0,10	4,90±0,72	3,63±0,22
p ₃₋₁	—	—	—

предела количественного отношения фракций (см. табл. 1). Это предположение требует дополнительных исследований для подтверждения его справедливости.

Ранее было показано, что при старении увеличивается отношение белок/ДНК в активной фракции хроматина за счет увеличения количества прочносвязанных структурных белков [8].

Во фракции АХ старых интактных животных отношение белок/ДНК увеличено по сравнению с интактными взрослыми, а в МХ — уменьшено. Последствия облучения в этой возрастной группе обнаруживаются через 1 ч, как и у взрослых крыс, только во фракции РХ, однако они выражены в меньшей мере.

Таким образом, в настоящей работе получены достаточно убедительные свидетельства если не общности, то по крайней мере сходства возрастных и радиоиндуцированных изменений структурно-функциональной организации хроматина печени. Это проявляется и в увеличении экстрагируемой низко-солевым буфером части хроматина, и в изменении динамики выхода расщепляемых Ca^{2+} , Mg^{2+} -эндонуклеазой фрагментов хроматина, и в перераспределении его фракций. Обнаруженные изменения хроматина могут препятствовать преобразованиям его структуры в ходе транскрипции и тем самым снижать функциональные возможности клеток. Полученные результаты свидетельствуют и о том, что чувствительность к ионизирующей радиации повышается не только при старении клеток в культуре [24], но и при старении многоклеточных организмов.

Работа поддержана грантами ГКНТ Украины 1.06.02/011-92 и 1.06.02/027-93.

Т. Г. Мозжухіна, О. Я. Літошенко

Вплив іонізуючого опромінення на структурну організацію хроматину печінки щурів різного віку

Резюме

Білих щурів лінії Вістар двох вікових груп (6—8 міс., дорослі та 26—28 міс., старі) піддавали рентгенівському опроміненню у дозі 2 Гр і брали в дослід через 1 год і 4 доби після опромінення. Було досліджено динаміку виходу екстрагованих низькосольовим буфером фрагментів хроматину (ПДН) із ядер печінки за умови активації Ca^{2+} , Mg^{2+} -ендонуклеази, а також характеристики фракцій репресованого (РХ), транскрипційно активного (АХ) та міцно зв'язаного з матриксом (МХ) хроматину. Показано, що за старіння у ядрах печінки щурів зростає вміст ПДН, які екстрагуються низькосольовим буфером у «нульовий час». Внаслідок опромінення цей показник також збільшується у ядрах печінки дорослих щурів через 4 доби, старих — уже через 1 год. Швидкість виходу ПДН, які розщеплюються ендонуклеазою, збільшена у старих інтактних тварин порівняно з дорослими і змінюється після опромінення лише у цій віковій групі. Відносна кількість РХ збільшена у ядрах старих інтактних тварин у порівнянні з дорослими і в ядрах опромінених тварин у порівнянні з інтактними. Отримані результати вказують на схожість вікових та радіоіндукованих перетворень хроматину печінки, а також на більшу чутливість хроматину печінки старих тварин до дії іонізуючої радіації.

T. G. Mozzhukhina, A. Ya. Litoshenko

Influence of ionizing radiation on structural organization of liver chromatin in rats of different age

Summary

Wistar adult (6—8 mo) and old (26—28 mo) rats were irradiated with X-rays at a dose of 2 Gy. The kinetics of release of chromatin fragments (CF) extracted by low-salt buffer from liver nuclei at Ca^{2+} , Mg^{2+} -endonuclease activation, and the features of repressed (RC), transcriptionally active (AC) and matrix-bound (MC) chromatin fractions were evaluated in 1 h and 4 days after irradiation. At «zero time» of endonuclease activation, the content of extracted CF increased in nuclei of intact old rats as compared with adult ones. There was an increase of this parameter in the liver nuclei of adult and old rats in 4 days and 1 h

after irradiation accordingly. The release rate of CF cleaved by activated endonuclease increased in the nuclei of old intact rats in comparison with adult animals, and changes of this rate were observed after the irradiation only in old rat nuclei. The relative amount of RC was greater both in nuclei of intact old animals and in nuclei of irradiated rats. These data testify to the resemblance of age-associated and X-ray-induced reorganization of chromatin structure and indicate the increased susceptibility of liver chromatin of old rats to ionizing irradiation.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kristal B. S., Yu B. P. An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions // *J. Gerontol.*—1992.—47, N 4.—P. B107—B114.
2. Литошенко А. Я. Триггер процесса старения — в ядре или митохондриях? // *Изв. АН СССР. Сер. биол.*—1992.—№ 4.—С. 645—648.
3. Cutler R. C. Superoxydismutase, longyvity and specific metabolic rate // *Gerontology.*—1983.—29, N 2.—P. 113—120.
4. Harman D. Free radicals in aging // *Mol. and Cell. Biochem.*—1988.—84, N 2.—P. 155—161.
5. Gaubatz J., Ellis M., Chalkley R. Nuclease digestion studies of mouse chromatin as a function of age // *J. Gerontol.*—1979.—34, N 1.—P. 672—679.
6. Mozzhukhina T. G., Chabanny V. N., Levytsky E. L., Litoshenko A. Ya. Age-related changes of supranucleosomal structures and DNA-synthesizing properties of rat liver chromatin // *Gerontology.*—1991—37, N 1.—P. 181—186.
7. Straaten H., Weber K. J., Keifer J. Mechanisms of inhibition of gene expression by X-rays and alpha particles // *GSI-Rept.*—1991.—N 91.—P. 1.
8. Мозжухина Т. Г., Литошенко А. Я. Относительное содержание и транскрипционная активность фракций хроматина печени крыс разного возраста // *Биополимеры и клетка.*—1995.—11, № 2.—С. 69—75.
9. Groves W. E., Davis F. C., Sells B. H. Spectrofotometric determination of microgram quantities of protein without nucleic acid interference // *Anal. Biochem.*—1968.—22, N 1.—P. 195.
10. Русинова Г. Г. Исследование репараций ДНК тимоцитов облученных крыс спектрофлюориметрическим методом // *Радиобиология.*—1990.—30, N 3.—С. 405—407.
11. Москалева Е. Ю., Илюшина Н. А. Повреждения ДНК при действии ионизирующих излучений и их репарация // *Итоги науки и техники.—М.: ВИНТИ, 1990.—С. 3—113.* (С. «Радиобиология», Т. 9).
12. Солдатенков В. А., Денисенко М. Ф., Ходарев Н. Н. и др. Особенности деградации ДНК лимфоцитов тимуса на ранних сроках после облучения // *Радиобиология.*—1989.—29, N 3.—С. 291—295.
13. Сьяксте Т. Г., Сьяксте Н. И. Химические соединения, повреждающие ДНК. — Рига: Зинатне, 1991.—152 с.
14. Roy A. K., Chatterjee B. Molecular aspects of aging // *Mol. Aspects Med.*—1985.—8, N 1.—P. 1—88.
15. Малахова Л. В., Газиев А. И. Изменение протеиназной активности ядер печени γ -облученных крыс // *Радиобиология.*—1988.—28, N 4.—С. 447—450.
16. Газиев А. И., Малахова Л. В., Куцый М. П. Пострадиационная активация протеиназ, ассоциированных с ядерным матриксом гепатоцитов крыс // *Там же.*—1987.—27, N 2.—С. 166—170.
17. Хансон К. П., Комар В. Е. Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток.—М.: Атомиздат, 1980.—174 с.
18. Круглова Н. Л., Стражевская Н. Б. О механизме радиационного эффекта на уровне надмолекулярных структур ДНК эукариот // *Радиобиология.*—1987.—27, N 1.—С. 24—29.
19. Zahn R. K., Reinmuller J., Beyer R., Pondeljak V. Age-correlated DNA damage in human muscle tissue // *Mech. Ageing and Develop.*—1987.—41, N 1—2.—P. 73—114.
20. *Modern biological theories of aging* / Eds H. R. Warner etc.—New York: Raven press, 1987.—324 p.
21. Sohal R. S. Role of oxydative stress in cellular differentiation and cellular senescence // *Age.*—1987.—10, N 3.—P. 257—262.
22. Рябченко Н. И., Иванник Б. П. Структурная организация хроматина как фактор, определяющий скорость его эндонуклеолиза в облученных и необлученных тимоцитах // *Радиобиология.*—1987.—27, N 2.—С. 155—159.
23. Chabanny V. N., Mozzuchina T. G., Litochenko A. Ja. Der Einfluss von hydrocortison auf die strukturellen und funktionellen Eigenschaften des Chromatins der Leber unterchiedlich alter Ratten // *Z. Alternforsch.*—1990.—45, N 2.—S. 77—88.
24. Macieira-Coelho A. Genome reorganization during cellular senescence // *Mech. Ageing and Develop.*—1984.—27, N 2.—P. 257—262.