

**ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО И МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЙ НА  
ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ В ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТКАХ  
CANDIDA GUILLIERMONDII НП-4**

**С.В. Марутян, Г.О. Петросян, С.А. Марутян, Л.А. Навасардян, А.А. Трчунян**

Седа Викторовна Марутян\*, Гаяне Оганесовна Петросян, Сюзан Ашотовна Марутян, Липарит Айрапетович Навасардян, Армен Амбарцумович Трчунян

Кафедра биохимии, микробиологии и биотехнологии, Ереванский государственный университет, ул. А. Манкуян, 1, Ереван, Армения, 0025

E-mail: smarutyam@rambler.ru\*, marsed@ysu.am\*, gayanepetrosyan@ysu.am, syuzan.marutyam@ysumail.am, l.navasardyan@ysu.am, trchounian@ysu.am

*В метаболизме живых клеток ключевую роль играют пуриновые нуклеотиды, которыми клетка может быть снабжена либо путем синтеза de novo из более низкомолекулярных предшественников, либо посредством запасных путей синтеза нуклеотидов или так называемых “механизмов спасения нуклеотидов”. Пути спасения нуклеотидов позволяют переиспользовать промежуточные продукты обмена нуклеотидов - азотистые основания и нуклеозиды, и вновь включить их в синтетические процессы. Пути спасения нуклеотидов приобретают особенно важное значение в постстрессовый восстановительный период, экономя энергию и субстраты в восстанавливающихся клетках. Пуриновые нуклеотиды являются аллостерическими ингибиторами ферментов путей спасения нуклеотидов, поэтому в экстремальных состояниях усиление их катаболизма приводит к уменьшению их количества в клетке, что способствует интенсивной работе механизмов спасения нуклеотидов и обеспечивает субстратами “внеплановый” и репаративный синтез ДНК. Нами проведено исследование дезаминирования пуриновых нуклеотидов дрожжей Candida guilliermondii НП-4 при облучении клеток рентгеновскими лучами, миллиметровыми и дециметровыми электромагнитическими волнами, а также после пострадиационной инкубации клеток. Показано, что под влиянием рентгеновского и микроволнового облучения в дрожжевых клетках имеет место изменение интенсивности дезаминирования пуриновых нуклеотидов, особенно нуклеозид-полифосфатов - АДФ, АТФ, ГДФ и ГТФ, которое, по всей вероятности, является адаптивным механизмом в восстановлении дрожжевых клеток после облучения, обеспечивает работу путей спасения пуриновых нуклеотидов и может также быть связанным с метаболизмом этих соединений, которые являются дополнительными источниками энергии в экстремальных условиях.*

**Ключевые слова:** дрожжи, нуклеиновый обмен, дезаминирование, пуриновые нуклеотиды, рентгеновское облучение, миллиметровые и дециметровые волны

**INFLUENCE OF X-RAY AND MICROWAVE RADIATION ON DEAMINATION  
OF PURINE NUCLEOTIDES IN YEAST CELLS CANDIDA GUILLIERMONDII NP-4**

**S.V. Marutyam, G.H. Petrosyan, S.A. Marutyam, L.A. Navasardyan, A.H. Trchounian**

Seda V. Marutyam\*, Gayane H. Petrosyan, Syuzan A. Marutyam, Liparit A. Navasardyan, Armen H. Trchounian  
Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, Yerevan State University, A. Manukyan st., 1,  
Yerevan, Armenia, 0025

E-mail: smarutyam@rambler.ru\*, marsed@ysu.am\*, gayanepetrosyan@ysu.am, syuzan.marutyam@ysumail.am, l.navasardyan@ysu.am, trchounian@ysu.am

*In metabolism of living cells a key role play purine nucleotides which cells can be supplied either by de novo synthesis from lower molecular weight precursors, or by alternate ways of nucleotide synthesis or so-called "nucleotide salvage pathways", which allow reusing of intermediate products of nucleotide metabolism in nucleotide synthesis. This way is important in the post-stress repair period, saving energy and substrates in the repairing cells. Purine nucleotides are allosteric inhibitors of enzymes of nucleotide salvage pathways, therefore the increase in their catabolism leads to a decrease of their amount in the cells, which contributes to the intensive work of the nucleotide salvage pathways and provides substrates for DNA synthesis. Investigation of deamination of purine nucleotides in yeasts *Candida guilliermondii* NP-4 irradiated with X-rays, millimeter and decimeter electromagnetic waves, as well as after post-radiation incubation of cells has been realized. It has been shown that under the influence of X-ray and microwave irradiation in yeasts, the intensity of deamination of purine nucleotide-polyphosphates - ADP, ATP, GDF and GTP, has changed, which in all probability is an adaptive mechanism in the repair of yeasts after irradiation, provides the work of nucleotide salvage pathways, and can be associated with the metabolism of these compounds.*

**Key words:** yeasts, nucleic acids metabolism, deamination, purine nucleotides, X- radiation, milli meter and decimeter waves

**Для цитирования:**

Марутян С.В., Петросян Г.О., Марутян С.А., Навасардян Л.А., Трчунян А.А. Влияние рентгеновского и микроволнового излучений на дезаминирование пуриновых нуклеотидов в дрожжевых клетках *Candida guilliermondii* НП-4. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2019. Т. 62. Вып. 2. С. 48–52

**For citation:**

Marutyanyan S.V., Petrosyan G.H., Marutyanyan S.A., Navasardyan L.A., Trchounian A.H. Influence of X-ray and microwave radiation on deamination of purine nucleotides in yeast cells *Candida guilliermondii* NP-4. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* 2019. V. 62. N 2. P. 48–52

**ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время, в связи с повышением техногенного загрязнения окружающей среды, увеличиваются риски живых организмов подвергаться облучению. Поэтому актуальным становится разработка способов защиты организмов от влияния облучения. Ионизирующее и не ионизирующее облучения могут привести к гибели [1, 2] или к морфологическим изменениям [3, 4] клеток. Негативное влияние облучения на организм реализуется на уровне генома клетки – ДНК [5, 6], а также посредством влияния на продукт его экспрессии – белков [7]. Под влиянием облучения в белках происходят структурные изменения, которые могут привести к образованию различных болезней тканей и органов [8-10]. Поэтому в процессе эволюции клетки приобрели способность восстанавливать образовавшиеся повреждения в структуре ДНК [11], которая называется репарацией и обеспечивает запасы стабильности организма. Однако в случае, если повреждаются компоненты механизма репарации, то повреждения ДНК могут остаться невосстановленными и привести к репродуктивной гибели клетки или к передаче возникших мутаций другим поколениям [12, 13]. В настоящее время неукоснительно растет применение различных видов микроволнового облучения –

миллиметровых и дециметровых электромагнитных волн в науке, технике, медицине и в быту, особенно в связи с использованием сотовой связи и беспроводного интернета (WiFi) [14, 15], что имеет негативное воздействие на живые организмы, вплоть до развития различных болезней головного мозга, половой системы, в том числе и рака [16]. Под воздействием микроволн имеет место тепловое воздействие на клетки мозга и тех органов, которые отличаются недостаточной циркуляцией крови [14]. Живые организмы наделены большими адаптивными способностями, что дает им возможность выживать в экстремальных условиях. В процессе этого организмы вырабатывают определенные защитные биохимические механизмы, которые связаны с синтезом новых белков и с метаболическими изменениями, выяснение которых имеет важное значение для понимания механизмов выживания живых организмов. Особенно важное значение имеет исследование генетического материала, метаболизма структурных мономеров ДНК – нуклеотидов, а также структурных и функциональных изменений белков низших эукариот, в частности – дрожжей, что дает важную информацию об изменениях в высших эукариотических клетках при экстремальных условиях.

Целью настоящей работы являлось исследование дезаминирования пуриновых нуклеотидов

дрожжей *Candida guilliermondii* НП-4 при облучении клеток рентгеновскими лучами, миллиметровыми и дециметровыми волнами, а также после пострadiaционной инкубации (репарации) клеток.

#### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлись низшие зукариотические дрожжевые клетки *C. guilliermondii* НП-4. Дрожжи были инкубированы в жидкой синтетической среде, на качалке, при температуре 30 °C [1]. В стационарной фазе роста дрожжевую биомассу из культуральной среды выделяли путем центрифугирования при 5000g, продолжительностью 10 мин.

Облучение дрожжей *C. guilliermondii* НП-4 рентгеновскими лучами проводили на установке Дрон-3, с Си-рентгеновской трубкой, в условиях  $U = 25$  кВ,  $I = 15$  мА, в течение 20 мин, общая доза облучения составляла 540 Гр. Облучение миллиметровыми ( $\lambda = 6$  мм,  $\nu = 51,8$  ГГц, мощность потока 0,06 мВт/см<sup>2</sup>) и дециметровыми ( $\lambda = 3$  дм,  $\nu = 900$  МГц, мощность потока 0,01 мВт/см<sup>2</sup>) волнами проводили при комнатной температуре в течение 1 ч.

Пострадиационное восстановление дрожжей *C. guilliermondii* НП-4 проводили в течение 24 ч в условиях, способствующих восстановлению клеток, в которых были выращены дрожжи до облучения.

Количество азота в процессе дезаминирования нуклеотидов было определено по цветной фенол-нитропруссид-гипохлоридной реакции [18].

Статистическую обработку данных проводили по компьютерной программе Statistika 10. Достоверность ( $p$ ) рассчитали по коэффициентам Стюдента, полученные данные приняты достоверными, если  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами было проведено исследование дезаминирования пуриновых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ, ГТФ, ГДФ и ГМФ) после облучения дрожжей рентгеновскими лучами, миллиметровыми и дециметровыми волнами, а также после их пострadiaционной репарации. Полученные данные свидетельствуют, что в необлученных дрожжевых клетках относительно высокая интенсивность дезаминирования среди адениновых нуклеотидов наблюдается для АДФ (рис. 1). Различия с точки зрения интенсивности дезаминирования ГДФ и ГТФ незначительны и примерно в 1,5 раза меньше интенсивности дезаминирования АДФ. Степень дезаминирования АМФ и ГМФ в необлученных клетках очень низкая. Наблюдается также довольно низкая интенсивность дезаминирования

АТФ, что, по всей вероятности, связано с ее энергетической ролью в клетках.

**Облучение рентгеновскими лучами.** В облученных рентгеновскими лучами дрожжах наблюдалось повышение интенсивности дезаминирования для АТФ и АДФ, а для ГДФ и ГТФ, наоборот, общая тенденция падения интенсивности дезаминирования. Для АМФ и ГМФ наблюдалась следовая интенсивность дезаминирования. После пострadiaционной инкубации облученных рентгеновскими лучами дрожжей наблюдается обратная картина: интенсивность дезаминирования адениновых нуклеотидов подавляется, а гуаниновых – увеличивается. Одновременно интенсивность дезаминирования АДФ и АТФ в репарированных клетках остается выше по сравнению с необлученными клетками, а для ГДФ и ГТФ они остаются ниже начальных значений. В репарированных после рентгеновского облучения дрожжах наблюдалось довольно высокое значение дезаминирования АМФ и ГМФ, причем интенсивность дезаминирования ГМФ в репарированных клетках значительно превышает интенсивности дезаминирования всех нуклеотидов, кроме АДФ.

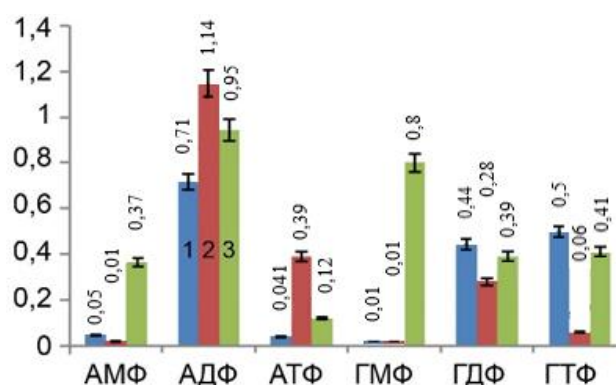


Рис. 1. Дезаминирование пуриновых нуклеотидов в дрожжах *C. guilliermondii* НП-4, подвергнутых рентгеновскому облучению ( $n=7$ ): 1 - необлученные клетки, 2 - облученные клетки, 3 - репарированные клетки

Fig. 1. Deamination of purine nucleotides in yeasts *C. guilliermondii* NP-4 under influence of X-irradiation ( $n=7$ ): 1 - non-irradiated cells, 2 - irradiated cells, 3 - repaired cells

**Облучение миллиметровыми волнами.** После облучения миллиметровыми волнами в дрожжевых клетках наблюдается падение интенсивности дезаминирования нуклеозиддифосфатов АДФ и ГДФ (рис. 2) и увеличение интенсивности дезаминирования нуклеозидтрифосфатов – АТФ и ГТФ. Для АМФ наблюдается очень низкая интенсивность дезаминирования. В репарированных дрожжевых клетках для АМФ и АДФ наблюдается следовая интенсивность дезаминирования, для АТФ имеет место падение интенсивности дезаминирования по сравнению с облученными клетками, хотя полученное значение остается выше по сравнению с не

облученными клетками. В случае ГТФ интенсивность дезаминирования в репарированных клетках уменьшается и остается ниже значений, полученных для не облученных дрожжей, а для ГДФ – увеличивается и превышает первоначальное значение.

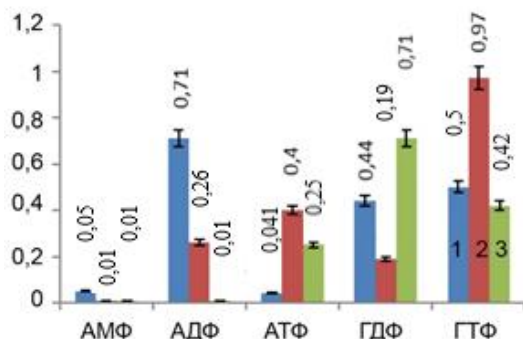


Рис. 2. Дезаминирование пуриновых нуклеотидов в дрожжах *C. guilliermondii* НП-4, подвергнутых облучению миллиметровыми волнами (n = 6): 1 – необлученные клетки, 2 – облученные клетки, 3 – репарированные клетки

Fig. 2. Deamination of purine nucleotides in yeasts *C. guilliermondii* NP-4 under influence of millimeter waves (n = 6): 1 – non-irradiated cells, 2 – irradiated cells, 3 – repaired cells

**Облучение дециметровыми волнами.** При облучении дрожжей *C. guilliermondii* НП-4 дециметровыми волнами (рис. 3) для АМФ, АТФ и ГТФ наблюдается увеличение, а для АДФ и ГДФ – уменьшение интенсивности дезаминирования. После пострадиационной инкубации дрожжей наблюдается повышение интенсивности дезаминирования ГДФ, которая превышает значение, полученное для необлученных дрожжей, а в случае других нуклеотидов наблюдается падение интенсивности дезаминирования, причем для АМФ и АТФ она остается выше по сравнению с необлученными клетками.

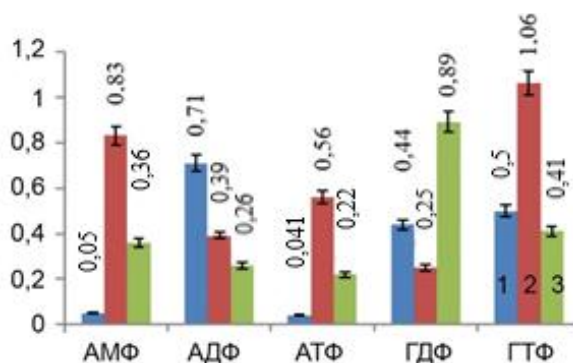


Рис. 3. Дезаминирование пуриновых нуклеотидов в дрожжах *C. guilliermondii* НП-4 подвергнутых облучению дециметровыми волнами (n=6): 1 - необлученные клетки, 2 - облученные клетки, 3 - репарированные клетки

Fig. 3. Deamination of purine nucleotides in yeasts *C. guilliermondii* NP-4 under influence of decimeter waves (n=6): 1 - non-irradiated cells, 2 - irradiated cells, 3 - repaired cells

Пуриновые нуклеотиды играют ключевую роль в клетках живых организмов. Нуклеозидтрифосфаты, особенно АТФ, а иногда и ГТФ, являются источником энергии для метаболических реакций, а нуклеозиддифосфаты и их производные участвуют в различных метаболических реакциях в качестве коферментов или доноров активных субстратов [19]. Клетка может быть снабжена нуклеотидами и нуклеозидами путем синтеза *de novo* из более низкомолекулярных предшественников – продуктов распада нуклеиновых кислот и нуклеотидов [20], однако эти пути синтеза энергоемкие и не всегда в состоянии обеспечивать синтез нуклеиновых кислот необходимыми субстратами. Поэтому в клетках действуют запасные пути синтеза нуклеотидов, или так называемые “механизмы спасения нуклеотидов”, которые позволяют переиспользовать промежуточные продукты обмена нуклеотидов и вновь включить их в синтетические процессы, предотвращая их распад до конечных продуктов [19]. Очевидно, что пути спасения нуклеотидов приобретают особенно важное значение в постстрессовый восстановительный период, сэкономив, таким образом, большое количество энергии и субстратов в восстанавливающихся клетках.

Наличием механизма спасения можно объяснить факт сравнительно невысокого уровня дезаминирования нуклеотидов в дрожжах, особенно для АТФ. По всей вероятности, этим путем микроорганизмы экономят субстраты и энергию для обеспечения дальнейших пластических реакций. С другой стороны, все пуриновые нуклеотиды являются аллостерическими ингибиторами фермента фосфорибозил-пирофосфаткиназы, а ГДФ и ГТФ – также ингибиторами фермента гипоксантин-фосфорибозил-трансферазы, которые являются центральными ферментами механизма спасения пуриновых нуклеотидов. Таким образом, их высокая концентрация в клетке может ингибировать синтез фосфорибозил-пирофосфата, следовательно, негативно влиять на работу путей спасения. [19]. Поэтому в дрожжевых клетках усиление катаболизма АТФ и ГТФ под влиянием разных типов облучения, а также – ГДФ при дальнейшем восстановительном процессе, приводит к уменьшению их количества в клетке и снимает ингибирование ферментов, что способствует интенсивной работе механизма спасения нуклеотидов и обеспечивает субстратами внеплановый и репаративный синтез ДНК. Таким образом, изменение интенсивностей дезаминирования нуклеотидов под влиянием разных типов облучения имеет разный характер и является адаптивным механизмом в восстановлении дрожжей после облучения.

## ВЫВОДЫ

В необлученных дрожжевых клетках относительно высокая интенсивность дезаминирования наблюдается для АДФ, а самая низкая – для АТФ. Под воздействием различных типов излучений меняется степень дезаминирования пуриновых нуклеотидов, которое имеет разный характер: в облученных рентгеновскими лучами и подвергнутых репарации дрожжах самое высокое значение интенсивности дезаминирования наблюдается для АДФ. При облучении миллиметровыми и дециметровыми волнами наивысшее значение дезаминирования наблюдается для ГТФ, а после репарации – для ГДФ.

## ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. **Navasardyan L., Marutyan S., Hovnanyan K., Trchounian A.** Survival and changes in morphology, mitotic and metabolic activity of yeast *Candida guilliermondii* exposed to X-irradiation. *IBBJ*. 2017. V. 54. N 5-6. P. 273-280.
2. **Hall E.J., Giaccia A.J.** Radiobiology for the radiologists. Seventh edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health. Lippincott Williams & Wilkins, Published. 2012. 546 p.
3. **Hovnanyan K., Marutyan S., Pepoyan A., Navasardyan L., Trchounian A.** Transmission and Scanning Electron Microscopy of Contacts between bacterial and Yeast Cells in Biofilms on Different Surfaces. *Open Access Library Journal*. 2015. 2. P. 1-8.
4. **Best B.P.** Nuclear DNA damage as a direct cause of aging. *Rejuvenat. Res.* 2009. 12 (3). P. 199-208.
5. **Shckorbatov Yu.G., Pasiuga V.N., Goncharuk E.I., Petrenko T.Ph., Grabina V.A., Kolchigin N.N., Ivanchenko D.D., Bykov V.N., Dumin O.M.** Effects of differently polarized microwave radiation on the microscopic structure of the nuclei in human fibroblasts. *J Zhejiang Univ. Sci. B*. 2010. V. 11. N 10. P. 801-805. DOI: 10.1631/jzus.B1000051.
6. **Marutyan S.V., Navasardyan L.H.** Investigation of DNA isolated from yeasts *Candida guilliermondii* NP-4 and from bacteria *Escherichia coli* by fluorescence analysis. *New Armen. Med. J.* 2018. V. 12. N 1. P. 78-85.
7. **Davtian M.A., Navasardyan L.A., Barsegyan E.Kh., Arcruni N.A., Marutyan S.V., Grigoryan R.** The protein fractions under extreme conditions. 3rd International Symposium "Problems of Biochemistry, Radiation and Space Biology". Moscow-Dubna. 2007. P. 289-297.
8. **Yakumenko I. Sidorik E., Kyrylenko S., Chekhun V.** long-term exposure to microwave radiation provokes cancer growth: evidences from radars and mobile communication systems. *Exp Oncol*. 2011. V. 33. N 2. P. 62-70.
9. **Skamrova G.B., Lantushenko A.O., Shckorbatov Yu.G., Evstigneev M.P.** Influence of Mobile Phone Radiation on Membrane Permeability and Chromatin State of Human Buccal Epithelium Cells. *Biochem. Biophys.* 2013. V. 1. N 2. P. 22-28.
10. **Zhi W.J., Wang L.F., Hu X.J.** Recent advances in the effects of microwave radiation on brains. *Mil. Med. Res.* 2017. V. 21. N 1. P. 29. DOI: 10.1186/s40779-017-0139-0.
11. **Willey J., Sherwood L., Woolverton C.** Prescott's Microbiology. 2014. New York: McGraw Hill. 381 p.
12. **Burhans W.C., Weinberger M.** DNA damage and DNA replication Stress in Yeast Models of Aging. In: Breitenbach M., Jazwinski S.M., Laun P. Aging research in yeast. 2012. Springer. P. 187-206.
13. **Goodman T.R.** Ionizing Radiation: Effects and Their Risk to Humans. American College of Radiology. 2010. <https://www.image-wisely.org/Imaging-Modalities/Computed-Tomography/Imaging-Physicians/Articles/Ionizing-Radiation-Effects-and-Their-Risk-to-Humans>.
14. **Cox J., Ang K.K.** Radiation Oncology. Elsevier. 2009. 1088 p.
15. **Soghomonian D., Trchounian K., Trchounian A.** Millimeter waves on extremely high frequency electromagnetic fields in the environment: what are their effects on bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. V. 100. N 11. P. 4761-4771. DOI: 10.1007/s00253-016-7538-0.
16. **Yan-Hui Hao, Li Zhao, Rui-Yun** Effects of microwave radiation on brain energy metabolism and related mechanisms. *Mil. Med. Res.* 2015. V. 2. N 1. P. 4. DOI: 10.1186/s40779-015-0033-6.
17. **Shapiro M.G., Priest M.F., Siegel P.H., Bezanilla F.** Thermal mechanisms of milli meter wave stimulation of excitable cells. *Biophys. J.* 2013. V. 104. P. 2622-2628.
18. **Kimble K.W., Walker J.P., Finegold D.N., Asher S.A.** Progress toward the development of a point-of-care photonic crystal ammonia sensor. *Analyt. Bioanalyt. Chem.* 2006. V. 385. N 4. P. 678-685.
19. **Andrew N.L., Teresa W.-M.F.** Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis. *Nucleic Acids Res.* 2015. V. 43. P. 2466-2485.
20. **Rolfes R.J.** Regulation of purine nucleotide biosynthesis: in yeast and beyond. *Biochem. Soc. Transact.* 2006. V. 34. P. 786-790.

Поступила в редакцию 19.07.2018  
Принята к опубликованию 18.12.2018

Received 19.07.2018  
Accepted 18.12.2018