

Р. М. АРУТЮНЯН

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИСТЕИНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ОБРАБОТАННЫХ тиоТЭФ

Возрастание в окружающей среде химических соединений, обладающих мутагенными свойствами [3], делает актуальной задачу изучения протекторов от их специфического и неспецифического действия на наследственные структуры человека.

Несмотря на тщательное исследование действия протекторов в частности тиоловых соединений, на целом ряде биологических объектов [4], механизмы их защитного эффекта при химическом мутагенезе все еще недостаточно изучены. Четкого представления о закономерностях действия протекторов не дает и анализ отдельных работ последних лет, в которых оно изучалось при индукции хромосомных аберраций алкилирующими агентами в культуре лейкоцитов человека [6—8].

Выявление нами [1] защитного действия цистеина, тесно связанного с функциональным состоянием клеток и вероятно не зависящего от его химического взаимодействия с мутагеном, поставило вопрос о возможных причинах подобного эффекта. В некоторых работах [5, 7] в качестве одной из причин рассматривалась десинхронизация вступления в митоз клеток, подвергшихся воздействию протектора.

Для выявления наличия подобной зависимости нами проведены опыты с различной длительностью культивирования лейкоцитов человека, обработанных на 28-ом часу тиоТЭФ и цистеином.

*Материал и методика.* Культивирование крови клинически здорового донора (25 лет) осуществлялось по описанной ранее методике [2]. Длительность культивирования составляла 58, 62, 66 час.

Колхицин вводили за 3 час. до фиксации. Гипотонизация проводилась 0,5% раствором KCl, после чего культуры фиксировали смесью ледяной уксусной кислоты и метилового спирта. Препараты окрашивали азур-зоином.

В каждой из 3 серий опытов культуры обрабатывали лекарственным препаратом тиоТЭФ (триэтилтиофосфамидом) на 28-ом час. в концентрации 20  $\gamma$ /мл в течение 1 часа, после чего их дважды отмывали раствором Хенкса и заливали свежей культуральной смесью. L-цистеин (L-cysteine-HCl, hydrate фирмы Calbiochem) вводили на 1 час в различных вариантах: до введения тиоТЭФ, одновременно с ним и после его отмыва.

Анализ хромосомных аберраций проводили на стадии метафазы, при этом учитывая одиночные и парные фрагменты, обмены хроматидного и хромосомного типов.

*Экспериментальная часть и обсуждение.* Частота аберрантных клеток и аберраций, выявленная в трех сериях опытов, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Частота аберрантных клеток и хромосомных аберраций в культуре лейкоцитов человека при фиксации на 58, 62, 66 часу культур, обработанных тиоТЭФ и цистеином

Час фиксации	Варианты опытов*	Проанализировано клеток	Аберрантные клетки				Хромосомные аберрации			
			всего	%	$\chi^2$	P	всего	на 100 клеток	F	P
58	К	400	4	1,0	0,16	>0,1	4	1,0	0,6	>0,1
	Ц	200	4	2,0			4	2,0		
58	Т (1 ч)--О	150	69	46,0	14,1	<0,001	82	54,7	21,4	<0,001
	Ц (1 ч)--О--Т (1 ч)--О	100	30	30,0			35	35,0		
	Т+Ц (1 ч)--О	100	27	27,0			29	29,0		
	Т (1 ч)--О--Ц	100	28	28,0			32	32,0		
62	Т (1 ч)--О	100	50	50,0	21,7	<0,001	56	56,0	21,6	<0,001
	Ц (1 ч)--О--Т (1 ч)--О	100	24	24,0			26	26,0		
	Т+Ц (1 ч)--О	175	50	28,6			57	32,6		
	Т (1 ч)--О--Ц	100	29	26,0			31	31,6		
66	Т (1 ч)--О	150	36	24,0	4,8	<0,05	42	28,0	6,5	<0,05
	Ц (1 ч)--О--Т (1 ч)--О	100	16	16,0			48	18,0		
	Т+Ц (1 ч)--О	100	16	16,0			20	20,0		
	Т (1 ч)--О--Ц	125	18	14,4			19	15,2		

\* Т -- тиоТЭФ, Ц -- цистеин, О -- отмыв.

Данные по типам хромосомных аберраций в трех сериях опытов обобщены в табл. 2, из данных которой следует, что основную часть аберраций хромосом при действии тиоТЭФ составляют аберрации хроматидного типа. В вариантах с протектором частота аберраций снижается, в основном за счет аберраций хроматидного типа.

Анализ данных табл. 1 приводит к выводу о том, что обработка культур одним цистеином не повышает частоты аберрантных клеток и хромосомных аберраций ( $p > 0,1$ ).

После введения цистеина до тиоТЭФ, одновременно с ним и после его отмыва частота аберрантных клеток и хромосомных аберраций достоверно снижается. При фиксации на 58 и 62 часу частоты аберрантных клеток и хромосомных аберраций не отличаются ( $p > 0,1$ ), однако они уменьшаются при фиксации на 66 час. В этой серии опытов также наблюдалось ослабление защитного эффекта цистеина ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с фиксациями на 58 и 62 час.

При задержке или стимуляции вступления в митоз клеток, обработанных цистеином, должно было наблюдаться относительное смещение кривых на рис. 1, в вариантах с цистеином и без него. Так как оно не имело места, вытекает вывод об отсутствии десинхронизации темпа вступления в митоз клеток, обработанных цистеином. Он косвенно подтверж-

Таблица 2  
 Типы хромосомных aberrаций в культурах, обработанных на 28-ом час.  
 тиоТЭФ и цистеином

Час фиксации	Вид обработки культур	Aberrации на 100 клеток			В % к общему числу aberrаций		
		одиночные фрагменты	обмены (хромати-дина)	парные фрагменты	одиночные фрагменты	обмены (хромати-дина)	парные фрагменты
58	T (1 ч) — O	36,0	3,3	15,3	65,9	6,1	28,0
	Ц (1 ч) — O — T (1 ч) — O	19,0	2,0	14,0	54,3	5,7	40,0
	T + Ц (1 ч) — O	20,0	1,0	8,0	69,0	3,4	27,6
	T (1 ч) — O — Ц	21,0	1,0	10,0	65,6	3,2	31,2
62	T (1 ч) — O	36,0	5,0	15,0	64,3	8,9	26,8
	Ц (1 ч) — O — T (1 ч) — O	15,0	1,0	10,0	57,7	3,8	38,5
	T + Ц (1 ч) — O	18,3	1,7	12,6	56,1	5,3	38,6
	T (1 ч) — O — Ц	18,0	3,0	10,0	57,0	9,7	32,3
66	T (1 ч) — O	19,3	2,0	6,7	69,0	7,2	23,8
	Ц (1 ч) — O — T (1 ч) — O	9,0	0,0	9,0	50,0	0,0	50,0
	T + Ц (1 ч) — O	12,0	0,0	8,0	60,0	0,0	40,0
	T (1 ч) — O — Ц	12,0	1,6	1,6	79,0	10,5	10,5



Рис. 1. Хромосомные aberrации, индуцированные тиоТЭФ: а) одиночный фрагмент; б) парный фрагмент; в) хроматидный обмен.

дается данными об отсутствии изменения митотического индекса в пределах использованной нами концентрации цистеина [5, 7, 9].

Таким образом, при исследовании влияния различных сроков культивирования (фиксации культур на 58, 62 и 66 час.) на модифицирующий эффект L-цистеина ( $10^{-3}$  м) при индукции тиюТЭФ хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов человека, отмечено, что в вариантах с цис-

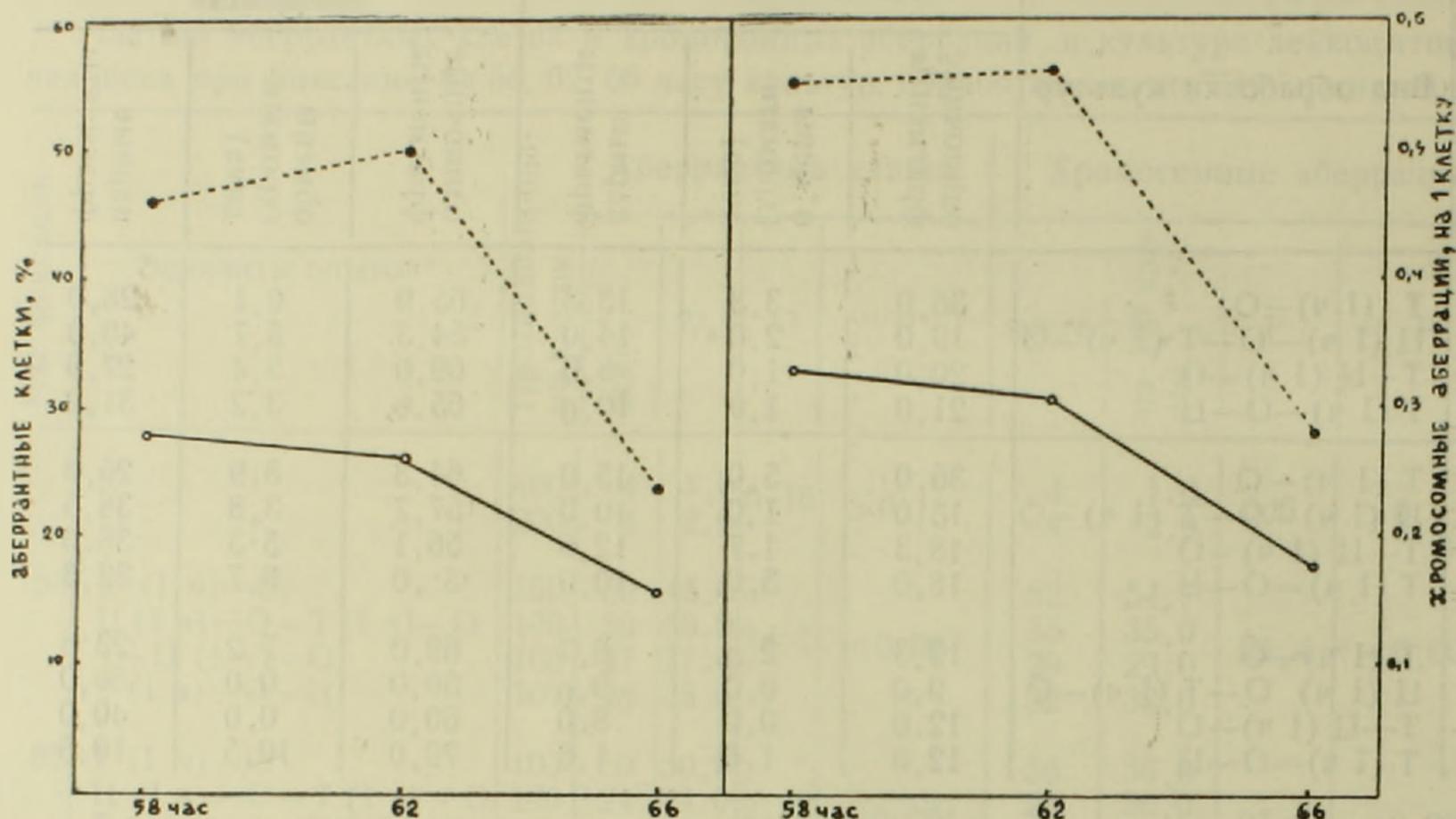


Рис. 2. Зависимость частоты aberrантных клеток и хромосомных aberrаций от времени фиксации. Без цистеина ○ — — —, с цистеином ● — — —.

теином частоты aberrантных клеток и хромосомных aberrаций не отличаются при фиксациях на 58 и 62 час., при фиксациях же на 66 час., наблюдается их снижение, причем защитный эффект цистеина ослабляется.

Анализ кривых зависимости уровня aberrантных клеток и хромосомных aberrаций от времени фиксации показывает, что десинхронизация клеток, обработанных цистеином, не является причиной наблюдаемого эффекта.

Ереванский государственный университет,  
кафедра генетики и цитологии,  
Институт медицинской генетики  
АМН СССР, Москва

Поступило 29.VII 1971 г.

Ռ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ՑԻՍՏԵԻՆԻ ՊԱՇՏՊԱՆՈՂԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՏԻՈՏԷՅՈՎ  
ՄՇԱԿՎԱԾ ՄԱՐԴՈՒ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐԻ ԿՈՒԼՏԻՎԱՑՄԱՆ  
ՏԱՐԲԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է տիրաէֆով ինդուկցված մարդու խրոմոսոմների աբերացիաների վրա L-ցիստեինի պաշտպանական էֆեկտի կախումը լեյկոցիտ-

ների կուլտուրայի աճեցման ժամանակից: Ցույց է տրված, որ ցիստեինը առաջացնում է միատեսակ պաշտպանական էֆեկտ 58 և 62 ժամ կուլտուրայի աճեցման ընթացքում: 66 ժամվա ֆիկսացիայի ժամանակ նշվել է ինդուկցված աբերացիաների և ցիստեինի պաշտպանական էֆեկտի նվազում:

Ստացված տվյալները ապացուցում են, որ ցիստեինով մշակված բջիչների միտոզի անցման ենթադրվելիք դեսինխրոմիդացիան նրա պաշտպանական էֆեկտի պատճառը չի հանդիսանում:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аругюнян Р. М., Кулешов Н. П. Модифицирующий эффект цистеина при индуцировании тиюТЭФ хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов человека. Генетика (в печати).
2. Бочков Н. П., Кулешов Н. П. Генетика, 7, 3, 132, 1971.
3. Раппопорт И. А., Филиппова Л. М. Журнал ВХО им. Д. И. Менделеева, XV, 6, 681, 1970.
4. Щербяков В. К. В сб.: Общая генетика (Мутагенез, мутации), М., ВИНТИ, 109, 1969.
5. Edgren J. Effect of cysteine on chromosome aberrations induced by radiation of human lymphocytes in vitro. Tilgmann. Helsinki, 1970.
6. Gebhart E. Mutation Res. 7, 254; 1969.
7. Gebhart E. Humangenetik, 10, 115, 1970.
8. Gebhart E. Humangenetik, 11, 237, 1971.
9. Holtsi L. R. Acta radiol. suppl. 197, 1939.