

После промывания в дистиллированной воде стекла помещают в реагент Шиффа на 2,5–3 ч, а затем последовательно промывают в трех емкях раствора метабисульфата натрия в течение двух минут. Препараты окрашиваются в 1–2%-ном растворе лихтегрина, вместо зеленого прочного, примененного Стихом [5]. Мы рекомендуем увеличенные времени обработки препаратов в реагенте Шиффа (до 2,5–3 ч вместо 1,5 ч).

Для анализа микроядер применяют критерии, предложенные Кантрименом с соавт. [1].

Результаты и обсуждение. Исследованы микроядра в клетках ротовой полости контрольной группы (средний возраст $27,6 \pm 1,5$ лет). Показано отсутствие различий в частоте клеток с микроядрами между мужчинами ($n=14$, $\bar{x}=0,1536 \pm 0,0346$) и женщинами ($n=17$, $\bar{x}=0,2088 \pm 0,0344$), между курящими ($n=14$, $\bar{x}=0,1607 \pm 0,0320$) и некурящими ($n=17$, $\bar{x}=0,2029 \pm 0,0365$). Средняя частота микроядер в этой группе была равна $\bar{x}=0,1839 \pm 0,0246$ ($n=31$).

При изучении частот микроядер у работников производства чистого железа, контактирующих с чистым железом и никелем, а также с небольшими количествами молибдена и хрома, не было выявлено ни повышения их уровня (средний возраст $30,1 \pm 1,3$ года; $n=33$, $\bar{x}=0,1348 \pm 0,0142$) по сравнению с контрольными показателями, ни достоверных различий между курящими ($n=22$, $\bar{x}=0,1523 \pm 0,0169$) и некурящими ($n=11$, $\bar{x}=0,1000 \pm 0,0234$) работниками этого производства (в выборке было всего 3 женщины, поэтому данные по полу не приводятся).

Таким образом, ни курение, ни контакт с вредностями производства чистого железа не вызывают повышения частоты микроядер в клетках ротовой полости. Планируется проверка метода при повышенном уровне загрязнения воздушной среды потенциальными мутагенами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Countryman P. J., Heddle J. A. Mut. Res., 67, 321–332, 1976.
2. Fenech M., Morley A. A. Mut. Res., 147, 29–36, 1985.
3. Hogstedt B. Mut. Res., 139, 63–72, 1984.
4. Heddle J. A., Lue C. B., Saunders E. F., Benz R. D. Cancer Res., 38, 2983–2988, 1978.
5. Stich H. F., Curtis R., Parida B. B. Int. J. Cancer, 30, 553–559, 1982.
6. Stich H. F., Rosin M. P., Vallejera M. O. Lancet, 1, 1201–1206, 1984.
7. Stich H. F., Stich W., Rosin M. P., Vallejera M. O. Int. J. Cancer, 34, 745–750, 1984.

Поступило 29.VIII 1986 г.

Биол. ж. Армении, т. 40, № 1, с. 71–73, 1987

УДК 576.3.088

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ 3-АМИНОБЕНЗАМИДА НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ГИББЕРЕЛЛОВОЙ КИСЛОТЫ В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Г. Г. ЗАЛНЯН, Р. М. АРУТЮНЯН

Ереванский государственный университет, проблемная лаборатория цитогенетики

Ключевые слова: 3-аминобензамид, гибберелловая кислота, хромосомные aberrации, лимфоциты человека, сестринские хроматидные обмены.

Модификация действия химических соединений является важнейшим направлением в исследовании механизмов химического мутагенеза. При

этом актуально изучение веществ, как снижающих чувствительность клеток к мутагенам [5], так и повышающих ее. Из соединений, повышающих чувствительность клеток к мутагенам, изучены ингибиторы репарации синтеза ДНК—кофени и 3-аминобензамид (АМБ), вызывающие усиление цитогенетического действия сильных мутагенов [3, 5, 7].

Перед нами стояла задача оценить возможность усиления действием АМБ действия гибберелловой кислоты (ГК)—регулятора роста и развития растений.

Материал и методика. Материалом для экспериментов служила культура лимфоцитов периферической крови здоровых доноров в возрасте до 35 лет. Кровь культивировали в течение 76 ч полумикрометодом [4]. Исследовали гибберелловую кислоту в 4-х концентрациях и ингибитор репарации синтеза ДНК—3-аминобензамид в концентрации 10 мМ. Анализировали aberrации хромосом в клетках I и II митозов (M_1 и M_2) [3], а также проводили учет сестринских хроматидных обменов (СХО), для чего культуру лимфоцитов обрабатывали на 28-м ч культивирования 5-бромдезоксигуанидином в концентрации 10 мкМ. Дифференциальную окраску препаратов проводили по методике Чеботарева и соавт. [2].

Результаты и обсуждение. Результаты цитогенетического анализа приведены в таблице. Выявлено, что введение АМБ в культуру лимфоцитов в оба срока культивирования (на 46- и 72-м ч) повышает как эффект 3-аминобензамид (10 мМ) на цитогенетическую активность гибберелловой кислоты в культуре лимфоцитов человека

Концентрация ГК, М	Количество просмотрих клеток	Клетки M_1, M_2		Количество просмотрих клеток M_1	Клетки M_1		Количество просмотрих клеток M_2	Клетки M_2	
		абerrантных метафаз, %	общее число разрывов на 100 клеток		абerrантных метафаз, %	общее число разрывов на 100 клеток		абerrантных метафаз, %	общее число разрывов на 100 клеток
$3,0 \cdot 10^{-3}$	150	4.0	4.66	115	4.35	5.22	35	2.86	2.86
+ АМБ (46 ч)	100	9.0	10.0	80	8.75	8.75	20	10.0	15.0
+ АМБ (72 ч)	205	12.68	13.66	190	12.10	13.16	15	20.0	20.0
$1 \cdot 10^{-4}$	200	3.0	3.0	135	3.70	3.70	65	1.54	1.54
+ АМБ (46 ч)	235	10.21	10.21	209	11.48	11.49	26	0	0
+ АМБ (72 ч)	230	10.43	10.87	132	12.88	13.61	98	7.14	7.14
$3 \cdot 10^{-4}$	175	4.0	4.0	125	4.0	4.0	50	4.0	4.0
+ АМБ (46 ч)	115	12.17	12.17	90	15.55	15.55	25	0	0
+ АМБ (72 ч)	200	9.50	9.50	119	15.13	15.13	81	3.70	3.70
$1 \cdot 10^{-4}$	115	2.61	2.61	75	4.0	4.0	40	0	0
+ АМБ (46 ч)	230	10.87	11.74	172	12.79	13.37	58	5.17	6.90
+ АМБ (72 ч)	140	10.0	10.0	70	12.86	12.86	70	7.14	7.14
АМБ (46 ч)	200	2.50	3.0	175	2.86	3.43	25	0	0
АМБ (72 ч)	180	2.78	2.78	142	2.82	2.82	38	2.63	2.63
Контроль	100	2.0	2.0	52	3.85	3.85	48	0	0

число абerrантных метафаз, так и общее число разрывов на 100 клеток, индуцируемых ГК. Так, если при обработке культуры концентрацией ГК $3 \cdot 10^{-3}$ М общее число разрывов составляет 4,66 на 100 клеток, то при введении АМБ на 46-м ч оно равно 10,0, а на 72-м—13,66. Подобная картина наблюдается и в остальных трех вариантах с обработкой ГК+АМБ. Введение же только АМБ в культуру лимфоцитов как

на 46-м, так и 72-м ч культивирования не вызывает достоверного возрастания общего числа разрывов по сравнению с контролем.

При раздельном исследовании эффекта АМБ в клетках, прошедших один и два митоза (M_1 и M_2), наблюдается повышение частоты aberrантных метафаз и общего числа разрывов, т. е. как и в их смеси (M_1 и M_2). Повышение выхода aberrаций хромосом, индуцируемых ГК, при введении АМБ более четко выявлено в клетках, прошедших один митоз.

Анализ спектра хромосомных aberrаций показал, что при всех четырех концентрациях ГК в вариантах с ГК + АМБ происходит в основном возрастание частоты хроматидных разрывов.

В культуре лимфоцитов, обработанных ГК и ГК + АМБ в оба срока введения АМБ, не выявлено достоверных изменений частоты СХО по сравнению с контролем. Это, по-видимому, отражает различия в механизмах образования хромосомных aberrаций и СХО и в свою очередь позволяет судить об аминобензамиде как веществе, способствующем повышению частоты aberrаций хромосом, но не СХО, при их индукции ГК.

Таким образом, исследование эффекта аминобензамиды на цитогенетическую активность гибберелловой кислоты в культуре лимфоцитов человека выявило его сенсibiliзирующее действие. Показано двух-, трехкратное повышение aberrаций хромосом, индуцируемых гибберелловой кислотой. Полученный эффект во многом сходен с обнаруженным нами действием кофеина на тот же регулятор роста растений, но несколько слабее. Реализованный методический подход позволяет оценить возможности модификации мутагенной активности тестируемых веществ в культуре лимфоцитов человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метод учета хромосомных aberrаций как биологический индикатор влияния факторов внешней среды на человека, М., 1974.
2. Чеботарев А. Н., Селезнева Т. Г., Платонова В. И. БЭМБ, 85, 2, 242—243, 1978.
3. Hansson K., Kihlman B. A., Tanzarella C., Palitti E. Mutat. Res., 126, 251—256 1981.
4. Hungerford D. A. Stain Technol., 40, 6, 333—336, 1965.
5. Ramel C. Тез. докл XIV ежегодной конф. Европейского общества по мутагенам окружающей среды. 408, М., 1984.
6. Schwartz J. L., Welchelbaum R. R. Sister Chromatid Exchanges., 293—303, 1984.
7. Shiralshi Y., Ketzo Y., Sanberg A. Mutat. Res., 64, 1, 139—149, 1979.

Поступило 9.VII 1986 г.