

АНТИКЛАСТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ У БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЮ

1. Сравнительное изучение действия кластогенов и антикластогенов

Р. М. АРУТЮНЯН, Т. Ф. САРКИСЯН, А. С. МЕЖЛУМЯН, С. А. ПАШИНЯН
Ереванский государственный университет.

Антикластогены—кластогены—хромосомные aberrации—периодическая болезнь.

Для понимания механизмов антикластогенеза—защиты хромосом от кластогенного (повреждающего) действия мутагенов—в качестве информативного метода возможно использование различных функциональных состояний клеток от больных с хромосомной нестабильностью. Нам изучены эффекты действия антикластогенов в клетках больных ПБ, или семейной средиземноморской лихорадкой, чаще всего аутосомно-рецессивного заболевания, которое может иметь и доминантные формы наследования.

Материал и методика. Лимфоциты периферической крови человека культивировали по методике Хангерфорда [6]. Для каждой культуры использовали по 6 мл среды Игла, 1,5 мл сыворотки крупного рогатого скота и 100 ед/мл пенициллина. Клетки стимулировали к бластотрансформации добавлением 0,02 мл фитогемагглютинаина Р (Difco Lab, USA) на 10 мл культуры. Культуры инкубировали при температуре 37°С в течение 72 ч; за 2 ч до фиксации для задержки митоза на стадии метафазы добавляли колcemид (в конечной концентрации 0,3 мкг/мл). Для определения количества СХО на 24 часу культивирования добавляли БДУ в конечной концентрации 10 мкг/мл.

В качестве кластогенов использовали:

1. ФТ (2, 2, 1, 6-пента-тетраенин)—5 карфоланоцикло-трифосфатазтриен—пентафункциональный алкилирующий агент, цитостатик (в концентрации $0,5 \times 10^{-4}$ М); 2. ДК (1,4-диокси-2,3-бис (оксиметил) оксалин)—антибактериальное средство (в концентрации $1,5 \times 10^{-4}$ М);

В качестве антикластогенов использовали:

1. ИФ—человеческий лейкоцитарный рекомбинантный α 2 ИФ—противовирусный белок (в концентрации 37МЕ/МЛ); 2. БМ—(2-этилтиобензимидазол гидробромид)—психостимулятор и иммуностимулятор (в концентрации $0,7 \times 10^{-4}$ М); 3. ГФ или АПЭТФ-23 (5-2-(3-аминопропиламин) этилтиофосфат) эффективный тиоловый радиопротектор (в концентрации $0,7 \times 10^{-4}$ М).

Результаты и обсуждение. Культуры лимфоцитов периферической крови трех больных ПБ и трех здоровых доноров обрабатывали кла-

Сокращения: ПБ—периодическая болезнь, СХО—сестринские хроматидные обмены, БДУ—5-бромдеоксиуридин, БМ—бемитил, ИФ—интерферон, ГФ—гаммафос, ДК—диоксидин, ФТ—фотрин.

стогенами и антикластогенами на 48 часу от начала культивирования, за 28—30 ч до фиксации. Этот период клеточного цикла рекомендован в качестве наиболее чувствительного для изучения эффектов антикластогенов [1].

Три использованных антикластогена, как и оба мутагена, отличались друг от друга различными механизмами действия. Полученные результаты представлены в таблице. Показаны четкие различия в чувствительности хромосом больных ПБ и здоровых доноров при добавлении в культуры исследуемых соединений.

В клетках больных ПБ, обработанных БМ, уровень aberrантных метафаз равен 6.58%, что более чем в два раза превышает таковой в клетках доноров (3.10%) ($p > 0.05$). В присутствии ИФ уровень aberrантных клеток у больных повышается до 10.32%, а у доноров— до 7.00% ($p < 0.05$). ГФ способствует повышению уровня aberrантных клеток у больных до 16.56%, а у доноров— до 8.33% ($p < 0.01$).

Обработка клеток мутагеном ДК вызвала кластогенный эффект в обеих группах. Уровень aberrантных метафаз достигал 17.50% у доноров и 14.75% у больных.

Чистота хромосомных aberrаций и СХО в культурах лимфоцитов здоровых доноров и больных ПБ после обработки кластогенами и антикластогенами

| Обработка | Примерно по клет. к | | Aberrации на 100 клеток | | | | | Число СХО на клет. |
|--------------------------------------|---------------------|------------|-------------------------|--------------------|---------|--------------------|-------|--------------------|
| | клет | с. д. р. ± | случайных разрывов | разных хромосом | соедин. | структ. и ферр. | | |
| | | | | | | | клет | |
| Культуры лимфоцитов здоровых доноров | | | | | | | | |
| К | 70 | 4.29 | 0.0 | 5.7 | 0.00 | 7.70 | 4.00 | |
| БМ | 260 | 3.10 | 2.21 | 8.7 | 0.00 | 3.95 | 3.75 | |
| ИФ | 160 | 7.00 | 1.00 | 8.01 | 0.01 | 6.00 | — | |
| ГФ | 300 | 8.33 | 2.00 | 6.25 | 0.01 | 8.67 | 2.47 | |
| ДК | 140 | 17.50 | 4.13 | 13.75 | 0.63 | 17.51 | — | |
| ДК+БМ | 153 | 3.82 | 1.09 | 2.77 | 0.00 | 3.62 | 6.59 | |
| ДК+ИФ | 128 | 4.69 | 3.12 | 1.58 | 0.00 | — | 0.5 | |
| ДК+ГФ | 237 | 5.07 | 0.44 | 4.65 | 0.00 | 5.49 | 6.78 | |
| ФГ | 250 | 24.05 | 6.00 | 14.50 | 0.50 | 21.00 | 4.61 | |
| ФТ+БМ | 201 | 8.78 | 2.91 | 6.85 | 0.01 | 9.28 | 1.66 | |
| ФТ+ИФ | 212 | 8.96 | 4.22 | 5.68 | 0.00 | 9.90 | — | |
| ФТ+ГФ | 120 | 11.67 | 5.00 | 9.17 | 0.00 | 14.17 | 12.23 | |
| Культуры лимфоцитов больных ПБ | | | | | | | | |
| К | 270 | 2.96 | 0.74 | 2.59 | 0.00 | 3.33 | 6.25 | |
| БМ | 213 | 6.58 | 2.82 | 3.76 | 0.00 | 6.55 | 6.68 | |
| ИФ | 339 | 10.32 | 3.24 | 8.55 | 0.00 | 11.79 | 6.58 | |
| ГФ | 320 | 16.56 | 3.75 | 14.06 | 0.11 | 18.13 | 6.64 | |
| ДК | 490 | 14.75 | 4.50 | 13.25 | 0.0 | 18.25 | 11.93 | |
| ДК+БМ | 343 | 11.63 | 3.21 | 10.76 | 0.00 | 13.97 | 11.10 | |
| ДК+ИФ | 300 | 15.00 | 3.67 | 13.33 | 0.67 | 17.67 | 11.25 | |
| ДК+ГФ | 230 | 11.29 | 3.93 | 12.29 | 0.00 | 16.22 | 9.75 | |
| ФГ | 110 | 33.00 | 13.00 | 0.00 | 1.00 | 46.00 | 16.80 | |
| ФТ+БМ | 103 | 33.00 | 11.65 | 39.80 | 1.95 | 53.40 | 8.27 | |
| ФТ+ИФ | 395 | 17.22 | 11.14 | 14.43 | 0.76 | 26.33 | 17.79 | |
| ФТ+ГФ | 280 | 37.85 | 26.43 | 52.13 | 5.72 | 64.28 | 18.43 | |

Обозначения: К—контроль, БМ— $0.7 \times 10^{-4}M$, ИФ—37 МБ/мл, ГФ— $0.7 \times 10^{-4}M$, ДК— $13.5 \times 10^{-4}M$, ФТ— $0.5 \times 10^{-5}M$.

Защитный эффект антикластогенов был выявлен в клетках доноров, обработанных ДК, в культурах от больных ПБ он не имел места (табл.).

В клетках доноров БМ снижал уровень aberrантных метафаз, индуцированных ДК, до 3.82% ($p < 0.001$), ИФ—до 4.69% ($p < 0.001$), ГФ—до 5.07% ($p < 0.001$).

В культурах от больных уровень aberrантных метафаз в вариантах, обработанных ДК, в присутствии БМ составлял 11.63%, в присутствии ИФ—15.00% и в присутствии ГФ—14.29% ($p > 0.05$).

ФТ обладал сильным кластогенным эффектом в культурах клеток доноров и больных ПБ, вызывая в среднем 20.50% aberrантных клеток у доноров и 33.00% у больных.

В культурах клеток здоровых доноров, обработанных ФТ, защитный эффект исследованных антикластогенов был достоверен. БМ снижал уровень aberrантных метафаз до 8.78% ($p < 0.001$), ИФ—до 8.96% ($p < 0.001$), ГФ—до 11.67% ($p < 0.05$).

Однако подобная закономерность не выявлялась в культурах клеток больных ПБ. ИФ оказался единственным антикластогеном, который проявил достоверный защитный эффект при обработке клеток ФТ, он снижал уровень aberrантных метафаз с 33.00 до 17.22% ($p < 0.001$). Два других антикластогена, БМ и ГФ, не оказывали подобного влияния на клетки больных.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о четких различиях в чувствительности хромосом к кластогенам в культурах больных ПБ и здоровых доноров. В основном исследуемые антикластогены не проявляли защитного эффекта в клеточных культурах больных ПБ.

Данные цитогенетического анализа свидетельствуют о несомненных различиях между клеточными культурами больных ПБ и здоровых доноров, что особенно четко прослеживается в условиях влияния разных факторов химического мутагенеза на хромосомы. Возможно, это связано с особенностями протекания ряда биохимических и иммунологических процессов в клетках больных ПБ. В частности, изучение метаболизма арахидоновой кислоты у больных ПБ [3, 4] позволяло предположить активную роль ее метаболитов в патогенезе этого заболевания. Уменьшение агрегационной способности тромбоцитов может вызвать дефицит тромбоксансинтетазы, фермента, ответственного за агрегацию тромбоцитов. Это позволяет объяснить положительный терапевтический эффект колхицина, который, стимулируя биосинтез тромбоксансинтетазы, одновременно ингибирует биосинтез лейкотриенов.

Таким образом, очевидно, что в этиологии ПБ задействован ряд генетических, биохимических и иммунологических [2] механизмов. Поэтому нецелесообразно выделять основной механизм, ответственный за обнаруженные различия в уровнях антикластогенеза [5]. Результаты нашего исследования лимфоцитов больных ПБ подтвердили, что для этих целей необходимо использовать более специфические кластогены и антикластогены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М. Модификации химического мутагена в клетках человека. Ереван, 1985.
2. Гамбароз С. С., Шахсуваров А. В., Маркосян К. М., Нишян Г. А. Биолог. журн. Армении, 42, 2, 99—101, 1989.
3. Паносян А. Г., Григорян С. В., Давтян Д. Г., Геворкян Г. А., Габриелян Э. С. Бюлл. эксп. биол. и мед., 102, 561—563, 1986.
4. Паносян А. Г., Григорян С. В., Давтян Д. Г., Мхитарян Г. С., Габриелян Э. С. Сб. трудов НИИМР, Ереван, 1992.
5. Gadhari E., Arutyunyan R. M. Anticlastogens in mammalian and human cells. Basel, Heidelberg, New York, 1991.
6. Hungerford D. A. Stain Technol., 40, 333—335, 1965.

Поступило 12 XII 1991 г.