АНТИКЛАСТОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ У БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

2. Исследование модификаторов метаболизма арахидоновой кислоты

А. С. МЕЖЛУМЯН, Г. Ф. САРКИСЯН, Р. М. АРУТЮНЯН,
А. Г. ПАНОСЯН, С. В. ГРИГОРЯН

Ереванский государственный университет, кафедра цитологии и генетики

Антикластогены—кластогены—хромосомные аберрации—плазма крови—периодическая болезнь

В настоящее время имеется достаточное количество данных относительно участия метаболитов АК в этиологии ПБ. Метаболиты АК играют важную роль в этиологии не только ПБ, но и многих аутоиммунных заболеваний. В то же время в клеточных культурах у лиц с подобными заболеваниями ингибиторы циклооксигеназ и липоксигеназ метаболизма АК обладают антикластогенным эффектом, то есть снижают уровень цитогенетических повреждений [5]. Интересной моделью для исследования этого феномена может быть культура лимфоцитов и плазма крови больных ПБ. Ранее нами показаны четкие различия чувствительности хромосом в клетках больных ПБ и здоровых доноров [2].

В данном сообщении показано влияние метаболитов АК и ингибиторов их биосинтеза АС и БД на процессы кластогенеза и антикластогенеза при действии плазмы ПБ на культуры клеток здоровых доноров. При этом были поставлены две задачи: применение биохимической модели к антикластогенному феномену и использование разработанной ранее тест-системы количественной оценки защитного эффекта [1, 7].

Материал и методика. Материалом исследования служила цельная периферическая кровь больных ПБ и здоровых доноров. Забор крови производился из локтевой вены. Лимфоциты периферической крови культивировали по методу Хангерфорда [8].

Плазму крови трех больных ПБ добавляли в культуры лимфоцитов трех здоровых доноров. Для получения супернатанта культуры лимфоцитов больных ПБ центрифугировали при 3 000 об/мин в течение 15 мин. Полученную плазму добавляли по 0,5 мл в культуры здоровых доноров до начала культивирования.

Для анализа количества СХО на 24 часу культивирования к клеткам добавляли 5-Бромдезоксинуридин в конечной концентрации 10 мкг/мл. Препараты окрашивали по методу Перри и Вольфа [10].

Результаты и обсуждение. Согласно данным цитогенетического анализа, плазма больных ПБ обладала мутагенным эффектом в куль-

Сокращения: ПБ—периодическая болезнь, СХО—сестринские хроматидные обмены, БДУ—5-бромдезоксинуридин, АК—арахидоновая кислота, АС—аспирин, БД—бедитин, ХА—хромосомные аберрации.

турах лимфоцитов здоровых доноров, то есть в вариантах (Пб/Д) (табл.) Количество клеток с aberrациями хромосом достоверно повышалось до 11,43%. Для сравнения в качестве контроля использовалась плазма донора, добавленная в культуры лимфоцитов донора, то есть варианты (Пл/Д). Плазма здоровых доноров не обладала мутагенным эффектом, и количество клеток с aberrациями составляло в среднем 2,92%. Эти данные свидетельствуют об эффективном действии плазмы больных ПБ на хромосомы, приводящем к достоверному повышению количества ХА более чем в три раза ($p < 0,001$).

Мутагенный эффект плазмы больных ПБ на хромосомы способен снижаться при действии селективных ингибиторов метаболизма АК. Поэтому нами исследован цитогенетический эффект ингибиторов, которые добавлялись к клеточным культурам в следующих концентрациях: АС (ингибитор циклоксигеназного пути) — 10^{-5} М, БД (ингибитор β -липоксигеназного пути) — 10^{-6} М.

В культурах здоровых доноров в присутствии плазмы больных ПБ АС способствует снижению уровня aberrантных клеток до 6,67%, и в вариантах без АС эти уровни равны 11,43% ($p < 0,01$). При оценке количества aberrантных метафаз в присутствии плазмы больных ПБ с АК и АС, как и в вариантах без АС, не выявлено различий: 7,67% и 8,93% соответственно. Недостоверны различия и между уровнями ХА.

БД не вызывает протекторного эффекта при анализе уровня aberrантных клеток и ХА в присутствии плазмы больных ПБ. Достоверное снижение этих цитогенетических параметров под влиянием БД наблюдалось в вариантах с добавлением АК, когда частота клеток с aberrациями составляла 3,65%, в отличие от клеток без БД (8,49%, $p < 0,05$).

Согласно данным анализа среднего числа СХО на одну клетку, ни одно из изученных соединений, как и плазма крови обследованных лиц, не приводили к изменению этого параметра (табл.) Кластогенная активность плазмы больных с хроническими воспалительными заболеваниями с аутоиммунными реакциями была подробно представлена в цикле работ Эмери с соавторами [5, 6]. Определенная общность кластогенного эффекта плазмы больных ПБ с данными этих исследований.

Могут ли изменения метаболизма АК в крови больных ПБ стать причиной обнаруженных цитогенетических различий между ними и здоровыми донорами? При обсуждении биохимических механизмов выявленной кластогенной активности целесообразно использовать данные изучения других аутоиммунных заболеваний.

Исследование ингибиторов АК основано на модели «мембранно-опосредованных» хромосомных изменений. Эта модель предполагает действие мембранно-активных агентов, что «стимулирует окисление мембранных липидов, ведущих к образованию кластогенно-активных окисленных образований, липид-гидропероксидазных и альдегидных компонентов» [5, 9].

Обработка	Просмотрено клеток		Аберрации на 100 клеток					Число СХО на клетку
	всего	с асп. (%)	Дупликация	Утрата	Транслокация	С-м. ок.	Структур.	
Д	100	3.00	1.00	2.00	0.00	0.00	3.00	—
Пд/Д	274	2.92	2.19	1.82	0.00	0.00	4.01	3.13
Пб/Д	245	11.43	4.90	7.35	0.41	0.00	12.66	4.06
Пб/Д+АК	240	8.93	2.86	8.93	0.36	0.00	12.15	3.82
Пб/Д+АС	300	6.67	1.67	6.00	0.00	0.00	7.67	3.31
Пб/Д+АК+АС	300	7.67	1.67	6.67	0.33	0.00	8.67	3.68
Пб/Д+БД	212	8.99	2.35	6.60	0.00	0.00	8.96	1.53
Пб/Д-АК+БД	137	3.65	0.73	3.65	0.00	0.00	4.38	3.00

Обозначения: Д—культура крови доноров; Пд/Д—плазма донора, добавленная в культуру крови донора; Пб/Д—плазма больного ПБ, добавленная в культуру крови донора.

Из трех типов ферментативного окисления АК (липоксигеназного, циклооксигеназного и монооксигеназного) первый—липоксигеназное окисление—происходит главным образом по 5, 12 и 15 углеродным атомам. Основными метаболитами этих направлений превращения АК являются: 5-НЕТЕ (в нейтрофилах) и 12-НЕТЕ (в тромбоцитах) [3]. Соотношение этих двух метаболитов в плазме крови в среднем равно 2.00 у здоровых доноров и 0.25 у больных ПБ, во время приступа у больных это соотношение становится равным 1.00, в основном из-за снижения уровня 5-НЕТЕ (Павлова, в печати). Селективный ингибитор биосинтеза 5-НЕТЕ-БД, который был использован в наших опытах, в настоящее время рассматривается в качестве нового терапевтического средства при ПБ.

Второму пути метаболизма АК—циклооксигеназному—придается неспецифическое и менее важное значение в патогенезе ПБ. В качестве ингибитора этого пути нами использованы АС. Известно, что активность циклооксигеназы проявляется при концентрациях АК, значительно более низких, чем активность липоксигеназы. Сравнительно низкие концентрации АК в плазме крови больных ПБ, по-видимому, достаточны для проявления активности циклооксигеназы и эффектов АС, который снижает уровни ХА даже без добавления экзогенной АК.

Добавление экзогенной АК существенно влияет на липоксигеназное окисление и уровень 5-НЕТЕ. Максимальный антикастогенный эффект, по сравнению с вариантами с добавлением АК к плазме больных ПБ, мы наблюдали при действии ингибитора 5-липоксигеназы АК-БД, что свидетельствует об участии метаболитов 5-липоксигеназного окисления АК в каастогенезе при ПБ.

Обнаруженное преобладание aberrаций хроматидного типа в клетках больных ПБ можно объяснить, как было предложено [4], на основе «непрямого» механизма индукции разрыва, но не «прямого» действия генотоксичных веществ на ДНК.

Можно заключить, что специфический подход к изучению механизма антикластогенеза при проведении исследований на клетках больных ПБ не менее эффективен, чем применение неспецифических кластогенов и антикластогенов.

Основываясь на полученных результатах, можно заключить, что для объяснения природы цитогенетических эффектов соединений, участвующих в процессах метаболизма АК, необходимо провести цитогенетический анализ по предложенной схеме на большей группе больных ПБ, обладающих различной чувствительностью к действию ингибиторов АК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Р. М., Кудачин Н. П. Генетика, в. 4, 146—153, 1972.
2. Арутюнян Р. М., Саркисян Т. Ф., Междумян А. С., Пашинян С. А. Биолог. ж. Армении, 15, 1, 1991.
3. Габриелян Э. С., Григорян С. В., Давтян Э. Г., Мхитарян Г. С., Панаосян Г. В. Вестн. экп. биол. и мед., 1990.
4. Auclair C., Gouyette J., Levy A., Emerit I. Archives of Biochemistry and Biophysics, 272, 18—214, 1990.
5. Emerit I., Levy A., Gouyette J. Mutation Research, 110, 317—331, 1983.
6. Emerit I., Michelson A. M. Acta Physiol. Scand., 492, 59—65, 1982.
7. Gebhart P., Achyonyan R. M. Anticlastogens in inflammation and human cells. Berlin Heidelberg New York, 1981.
8. Hangerford D. A. Stain Technol., 40, 333—335, 1965.
9. Khan S. H., Emerit I. Journal of Free Radicals in Biology and Medicine 413—449, 1983.
10. Perry P., Wolff S. Nature, 261, 156—158, 1974.

Получено 12.XI 1991 г.