

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 616-009.7-039.13 + 616.097

**Академик К.Г. Карагезян, А.М. Завгородняя, Л.В. Карабашян, К.О. Овнанян,
А.Г. Мхитарян, А.М. Арзуманян**

**Молекулярные аспекты цитотоксического действия лимфоцитарных
факторов у больных периодической болезнью на процессы
эмбриогенеза**

(Представлено 7/V 2002)

Особенность этиопатогенеза периодической болезни (ПБ), характеризующейся разновидностью клинических проявлений (абдоминальная, торакальная, суставная и смешанные формы) и кризами различной локализации, исследовались уже с древних времен [1-7 и др.].

В наше время этой проблеме посвящены многочисленные исследования [4, 5, 8-10], не дающие, однако, адекватных методических подходов для осмысления молекулярных механизмов патогенеза этого болезненного состояния. Чрезвычайно неполноценно освещены физиологические, биохимические, молекулярно-биологические, цитологические аспекты ПБ, в основном касающиеся причинно-следственных основ оксидативного стресса как одного из ярких проявлений комплекса этиопатогенетических факторов. Имея прямое отношение к патофизиологическим отклонениям гипоталамических структур, кортикотропинвыделительной функции, секреции кортикотропина, аденокортикотропина, они активно включаются в систему формирования оксидативного стресса при ПБ, что в целом характеризуется широким вовлечением наряду с агентами, стимулирующими функциональную активность симпатической нервной системы, и многих других медиаторов стресса из серии компонентов каскада нейро-, иммуно- и метаболических модуляторов самого широкого спектра действия [11-13].

По сей день остаются нераспознанными молекулярные механизмы зарождения, развития и генерализации симптомов ПБ. Изучению их особенностей при данной патологии и посвящено настоящее исследование. Одним из важных аспектов затронутой проблемы является изыскание наиболее приемлемых методов по выявлению тканей и клеток мишеней, проявляющих наибольшую степень чувствительности и уязвимости к специфическим отклонениям, характерным для ПБ.

Цитотоксическое действие лимфоцитов доноров и больных ПБ на эмбриональные ткани

Эмбриональная ткань	Лимфоциты доноров		Лимфоциты больных ПБ	
	количество эксплантатов	%	количество эксплантатов	%
Почка	$\frac{3}{24}$	12.50	$\frac{40}{52}$	76.92
Надпочечник	$\frac{3}{14}$	21.43	$\frac{28}{34}$	82.35
Селезенка	$\frac{4}{17}$	12.14	$\frac{16}{25}$	80.0
Тимус	$\frac{4}{12}$	36.66	$\frac{11}{18}$	61.11
Гипоталамус	$\frac{5}{21}$	23.80	$\frac{11}{27}$	40.74
Печень	$\frac{4}{18}$	22.22	$\frac{29}{51}$	58.82
Миокард	$\frac{2}{12}$	12.66	$\frac{4}{16}$	25.00
Легкие	$\frac{4}{24}$	16.67	$\frac{12}{21}$	57.14

Примечание. В числителе - число эксплантатов с угнетением роста, в знаменателе - общее число эксплантатов.

Нами предпринята попытка разработки принципа модификации метода Д.К.Новикова [14], основанного, во-первых, на выделении, очистке и идентификации лимфоцитов из периферической крови как практически здоровых лиц, так и больных ПБ; во-вторых, на изучении *in vitro* воздействия неизвестных биологически активных соединений, выделенных из лимфоцитов больного организма, на ростковые процессы тканей 1.5-2-месячных человеческих эмбрионов [7]. В качестве мишеней были использованы размельченные ткани почек, печени, надпочечников, легкого, тимуса, селезенки, гипоталамуса и миокарда. Их культивирование производилось в контрольных и опытных камерах, приготовленных из органического стекла, в инкубационной среде, состоящей из 85%-ной среды 199, 10%-ной лошадиной сыворотки и 5%-ного эмбрионального экстракта, и сопровождалось ежедневной микроскопической (15×20) регистрацией роста клеток [15]. Всего исследовано 366 эксплантатов, из них лимфоциты доноров в количестве $2 - 3 \cdot 10^6$ добавлялись к 122, а лимфоциты больных ПБ - к 244. При констатации росткового процесса исходили из уровня пролиферации клеток из расчета занимаемой ими площади вокруг эксплантата и ежедневного учета наличия или угнетения этого процесса в отношении всех использованных нами эксплантатов.

Результаты исследований, проведенных с лимфоцитами больных ПБ, свидетельствуют о статистически достоверном угнетении росткового процесса, наиболее отчетливо проявляющемся, как вытекает из данных таблицы, в отношении почечной, надпочечниковой и селезеночной тканей. В относительно меньшей степени описанный сдвиг проявляется у клеток легочной, печеночной тканей и тимуса. Особого внимания заслуживает факт максимально выраженного ингибирующего действия на ростковые процессы клеток исследованных тканей, проявляющегося при тестировании лимфоцитов, изолированных из крови больных ПБ в период приступа (см. таблицу).

Наибольшего внимания заслуживают результаты исследований особенностей действия надосадочной жидкости, полученной при реакции бласт- трансформации лимфоцитов (РБТ). Согласно полученным данным, добавление в камеры контрольных проб при отсутствии в них почечного антигена не оказывает ингибирующее действие на рост клеток. Наоборот, надосадочная жидкость, полученная в реакции РБТ с почечным антигеном, вызывает умеренное торможение роста клеток почечной ткани уже через сутки, и этот процесс продолжает развиваться и в последующие 2 дня. Этот факт свидетельствует об особой сенсibilизированности лимфоцитов больных ПБ к почечному антигену, что и служит основанием к формированию в них активных начал, оказывающих угнетающее влияние на рост клеток-мишеней и обуславливающих таким образом киллерную активность этих образований. Проведенные исследования служат, на наш взгляд, убедительным доказательством избирательной поражаемости именно почечной ткани, выступающей в роли ткани-мишени при ПБ. Этот факт подтверждается высоким процентом (20-40%) повреждения почек при ПБ в виде тяжелейшего необратимого осложнения типа амилоидоза почек. В то же время мы не исключаем возможности амилоидозного повреждения при ПБ и других органов. Весьма возможно, что подобное осложнение, характерное и для ПБ, и для болезни Альцгеймера, носит более генерализованный характер с доминированием, однако, в первом случае в почках, а во втором - в мозговой ткани [16-18].

Наличие гепато-лиенального синдрома подтверждается чувствительностью селезеночной и печеночной тканей, а резкое угнетение глюкокортико- идной функции надпочечных желез, в частности 11 ОКС [19], свидетельствует о большей степени повреждаемости этих органов.

Полученные результаты проливают определенный свет на осмысление реально существующих патогенетических механизмов цитотоксического действия многочисленных вновь генерируемых при ПБ факторов лимфоцитарной природы, несомненно, связанных с расстройствами общего иммунологического статуса организма при изученной патологии.

Институт молекулярной биологии НАН РА

**Ակադեմիկոս Վ.Գ. Ղարազյոզյան, Ա.Մ. Զավգորդնյայա, Լ.Վ. Կարաբաշյան,
Վ.Օ. Հովնանյան, Ա.Գ. Մխիթարյան, Ա.Մ. Արզումանյան**

**Սաղմնաձևնության գործընթացների վրա պարբերական հիվանդությամբ (ՊՀ)
հիվանդների լիմֆոցիտար գործոնների ցիտոտոքսիկ ազդեցությունների
մոլեկուլային ասպեկտները**

Աշխատանքի սկզբունքը հանդիսանում է in vitro մարդու 1.5-2 ամսական սաղմերի երիկամի, մակերիկամի, փայծախի, ուրծագեղձի, թոքերի և սրտամկանի հյուսվածքային կուլտուրաների վրա ՊՀ հիվանդների լիմֆոցիտների որպես դոնոր-հսկիչ լիմֆոցիտների ազդեցությունը: ՊՀ հիվանդների լիմֆոցիտների ազդեցության տակ դիտվում է երիկամի (76, 92%), մակերիկամի (82, 35%), փայծախի (64%), լյարդի (58, 82%) և ուրծագեղձի (61, 11%) հյուսվածքների աճի ճնշում, իսկ մնացած հյուսվածքների աճի ճնշումը գտնվում է 25-40% սահմաններում:

Литература

1. *Sigal S.* - Ann. Int. Med. 1945. N23. P.1.
2. *Reiman H.A.* - JAMA. 1948. V.136. P. 239-244.
3. *Mamou H., Catlan R.* - Sem. Hop. Paris. 1952. N28. P. 1062.
4. *Айвазян А.А.* Периодическая болезнь. Ереван. Айастан. 1982. 215 с.
5. *Аствацатрян В.А.* Периодическая болезнь у детей. Ереван. Айастан. 1989. 195 с.
6. *Pras M.* - Familial Mediterranean Fever. II International Conference 3-7 May. 2000 Antalya - Turkey. P. 8-13.
7. *Завгородняя А.М.* Клинико-иммунологические аспекты периодической болезни. Автореф. докт. дис. М, 1990.
8. *Оганесян Л.А., Авакян В.М.* - Сов. мед. 1938. N16. С. 9-12.
9. *Тареев В.М., Насонова В.А.* - Сов. мед, 1959. N11. С.3.
10. *Виноградова О.М.* Периодическая болезнь. М. Медицина. 1973.199 с.
11. *Harutyunyan V.M., Charagyozyan K.G., Hakobyan G.S., Grigoryan G.A.* - 1st International Conference on FMF. September 7-11. 1997. Jerusalem, Israel P. 69.
12. *Gharagyozyan K.G., Guinn P.J., Harutyunyan V.M., Sarkissyan T.F., Emerit E., Zohrabyan L.S.* - Idem. P.70.
13. *Erken E., Gunesacar R.* - Idem. P.84.
14. *Новиков Д.К., Новикова В.И.* В кн.: Клеточные методы иммунодиагностики. Минск. Беларусь. 1979. С. 92-105.
15. *Kastner D.L.* - Familial Mediterreanean Fever. II International Conference 3-7 May. 2000 Antalya - Turkey. P. 60.
16. *Karagyezyan K.G., Zavgorodnyaya A.M., Hovnanyan K.O.* - Idem. P.73.
17. *Zavgorodnyaya A.M., Hovnanyan K.O., Karageuzyan K.G.* - Idem. P.77.
18. *Завгородняя А.М., Гуюмджян И.О.* - Всесоюзный съезд врачей-лаборантов. Ворошиловград. 1979. С. 103.
19. *Завгородняя А.М., Овсепян Л.А., Айвазян Ал. А.* - Иммунология. 1987, N2. С. 86-87.