

Ацилирование липидов арахидоновой кислотой и образование липидных вторичных посредников в анти-CD3/CD28 костимулированных лимфоцитах в норме и при различных формах лейкемии

М.Г.Мелконян, Г.В.Акопян, А.Ю.Тадевосян, Т.Б.Батикян, ¹Е.С.Амирханян, ²А.Альтман, Ю.В.Тадевосян

Институт молекулярной биологии НАН РА,

¹Гематологический центр МЗ РА,

²Институт Аллергологии и Иммунологии в Ла Гойя, Сан Диего, США

375014, Ереван, ул. Асратяна, 7

Ключевые слова: фосфолипиды, нейтральные липиды, арахидоновая кислота, лимфоциты, костимуляция, липидные вторичные посредники, лейкозы

Выяснение вопросов этиологии, патогенеза и терапии злокачественных новообразований и по сей день является одной из наиболее актуальных проблем современной фундаментальной науки и клинической медицины. Несмотря на широко-масштабные исследования в этой области, на сегодняшний день остаются неразрешенными основные молекулярно-биологические, биохимические, иммунологические механизмы трансформации нормальной клетки в раковую.

Среди широко обсуждаемых в настоящее время различных гипотез этиологии злокачественных новообразований (вирусная, генная или промоторная, химическая, радиационная и др.) особого внимания заслуживает гипотеза мембранной аутогибридизации. Она предполагает исходную дефективность плазматической мембраны (ПМ) клеток, как первопричину канцерогенеза. С точки зрения последней особую значимость приобретают возможные патологические сдвиги как в сигнальной трансдукции, так и в быстрых и обратимых процессах модификации в липопротеиновом бислое ПМ злокачественно трансформированных клеток.

В последние годы резко повысился интерес ученых к изучению мембраносвязанных процессов и особенностей функционирования белковых молекул, вовлеченных в работу различных мембранных систем как в норме, так и условиях различ-

ных патологий. Однако весьма немногочисленны и противоречивы результаты подобных исследований в области мембранной липидологии при различных формах злокачественных новообразований.

ПМ является основным морфофункциональным образованием клетки, участвующим в регуляции всех жизненно важных клеточных функций, обеспечивающих ее целостность и связь с внешней средой. Имеющиеся публикации [1,2,14,26,29] указывают на ПМ как целостную кооперативную систему, представляющую собой совокупность различных, относительно автономных липо-протеиновых доменов (сигнальные, транспортные и др.). Липидный компонент этих доменов участвует в обеспечении условий для оптимального функционирования различных мембраносвязанных белковых молекул быстрыми и обратимыми реакциями (деацилирования, реацилирования, диэстеразного гидролиза, декарбоксилирования, трансметилирования и др.) модификации липидных молекул.

В состоянии относительного покоя клеток как вышеуказанные домены, так и ПМ в целом характеризуются строго специфическим динамическим равновесием качественно-количественных, физико-химических, обменных, структурных и других характеристик [16]. Совокупность послед-

ных мы назвали *метаболическим статусом* покоя, который при активации клеток определяет как специфику течения ранних мембраносвязанных этапов сигнальной трансдукции в ответ на действие специфических агонистов, так и характер клеточных ответов, формирующихся в результате этого.

Любое внешнее воздействие на клетку (физическое или химическое, специфическое или неспецифическое), в зависимости от ее длительности и интенсивности, должно привести к обратимому или необратимому, кратковременному или хроническому (патологическому) смещению существующего в покое равновесного состояния липопротеинового бислоя ПМ.

Вышеотмеченное, а также наличие общей теории мембранной мишени возникновения различных заболеваний оправдывают пристальное внимание, уделяемое учеными изучению роли ПМ в механизмах канцерогенеза. В этом отношении примечательны нарушения, обнаруженные в мембранных механизмах сигнальной трансдукции [23,25], в активностях отдельных ферментных систем липидной модификации [22] и физико-химических свойствах липидного бислоя [12] в различных злокачественно трансформированных клеточных популяциях. В условиях неконтролируемой пролиферации, дифференциации или запрограммированной смерти (апоптоза) клеток было также обнаружено наличие специфических нарушений в таких процессах липидного метаболизма, как липогенез [6,13], деацилирование-реацилирование отдельных липидных фракций мембран [5,11,20], образование различных липидных вторичных посредников (ЛВП) при стимуляции фосфоинозитидного (ФИ) или сфингомиелинового (СФМ) сигнальных механизмов [5,7,21] и др.

Следует однако отметить, что в подобных исследованиях отдельными научными группами обычно используются различные популяции малигнизированных клеток, стимулируемых разнообразными внешними сигналами и в неодинаковых экспериментальных условиях (концентрации агонистов, временные интервалы, инкубационные среды и т.д.). Все это весьма усложняет корректный сравнительный анализ полученных экспериментальных данных.

Все еще остаются не до конца выясненными

особенности сдвигов как в кооперативных процессах липидной модификации в ПМ различных, злокачественно-трансформированных клеточных популяциях, так и функционировании мембранных сигнальных систем, приводящих к образованию отдельных форм ЛВП.

Исходя из относительной скудности результатов научных изысканий в области мембранной липидологии, направленных на решение основополагающих вопросов этиологии, патогенеза и терапии раковых новообразований, целью данного исследования явилось изучение в лимфоцитах возможных отклонений от нормы в процессах кратковременного (5 сек) включения и более длительного (60 мин) межфракционного перераспределения [14 C]АК в различных фракциях фосфолипидов (ФЛ) и нейтральных липидов (НЛ) в норме и при трех формах лейкемии. Исследованы также закономерности образования в [14 C]АК-меченных лимфоцитах некоторых ЛВП на различных этапах (5, 60 сек) стимуляции клеток анти-CD3 и анти-CD28 моноклональными антителами.

Материал и методы

Лимфоциты из цельной крови практически здоровых доноров и больных различными формами лейкоза выделяли методом Innes et al. [15] в градиенте фикола-верографина (1 часть 32,8% верографина и 2,4 части 8% водного раствора фикола 400 000, $d = 1,076-1,077$). Окраска трипановым синим обнаруживала, как правило, более 90% жизнеспособных клеток. При чрезмерном загрязнении лимфоцитов эритроцитами последние лизировали гипотоническим шоком. Лимфоциты осаждали и суспендировали (10^5-10^6 клеток/мл) в минимальной основной среде Игла (pH-7,4).

Для включения свободной меченой АК в липиды мембран интактных лимфоцитов к 0,2 мл клеточной суспензии (10^6 клеток/мл) приливали 0,3 мл инкубационной среды, содержащей 0,2 мКи/мл [14 C]АК ("Amersham", Англия, уд. акт. 56 мКи/ммоль), $MgCl_2$ – 50 мкмоль, АТФ – 12,5 мкмоль, КоА – 1 мкмоль, ДТТ – 1 мкмоль. Инкубации проводили в качающейся водяной бане при 37° С. На 5-й сек или 60-й мин инкубации реакции останавливали добавлением 2 мл холодной смеси хлороформ-метанола (1:2 об/об). Экстрагированные методом [9] липиды фракционировали одномерной ТСХ, как описано ранее [2].

Радиоактивность проявленных в парах иода и идентифицированных соответствующими стандартами (Sigma, США) липидных фракций определяли радиосканирующим прибором (Berthold, Германия) и считывали в сцинтилляционной жидкости Брея [10] на спектрометре Roche-Bioelectronique Kontron, SL-4221 (Франция).

Для экспериментов по изучению антигенной стимуляции лимфоцитов 5 мл суспензии клеток (10^8 клеток/мл) предварительно метили [$1-^{14}C$]АК вышеописанным методом в течение 60 мин. Для удаления невключенной жирной кислоты в инкубационную смесь добавляли 15 мл раствора альбумина (2 мг/мл), свободного от жирных кислот (ЖК). Лимфоциты осаждали на центрифуге К-23-Д при 650 g в течение 15 мин и суспендировали в 1 мл среды Игла. Анти-CD3 (ОКТ-3) и анти-CD28 ("BD Bioscience Pharmingen", США) моноклональные антитела (по 2,5 мкг) добавляли к суспензии клеток при 4°C и оставляли на 30 мин. После добавления на суспензию равного объема среды Игла несвязанные антитела удаляли центрифугированием (650 g, 15 мин). Лимфоциты со связанными антителами стимулировали при 37°C добавлением на 0,2 мл суспензии лимфоцитов (10^6 клеток/мл) по 0,3 мл IgG (goat anti-mouse, "Jackson ImmunoResearch", США) в конечной концентрации 10 мкг/мл. В качестве контроля были взяты данные нестимулированных клеток. На 5-й и 60-й сек инкубации реакции останавливали добавлением 2 мл холодной смеси хлороформ-метанола. Экстракцию, разделение липидов и подсчет радиоактивности осуществляли описанными ранее методами.

Каждое экспериментальное условие было воспроизведено в 3-5 различных экспериментах по 3 параллели для каждой экспериментальной точки. Статистический анализ проводили по методу Стьюдента.

Результаты и обсуждение

По своей функциональной значимости в жизнедеятельности клеток особое место занимают АК-содержащие липиды, их метаболиты, а также свободная ЖК. В норме и при лейкомии установлено, в частности, вовлечение арахидоновой кислоты (АК) в сигнальную трансдукцию через

фосфоинозитидный цикл (ФИ-цикл) как вторичного посредника [17,28] в процессы синтеза биологически активных эйкозаноидов [19], в функционирование СФМ-цикла как медиатора [21,27]. Вышеотмеченное предопределило целесообразность детального исследования закономерностей быстрого (5 сек) включения и более длительного (60 мин) межфракционного перераспределения АК в ФЛ и НЛ лимфоцитов крови практически здоровых доноров, больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), острой лимфобластной лейкоемией (ОЛЛ) и острой миелобластной лейкоемией (ОМЛ) в условиях относительного покоя клеток.

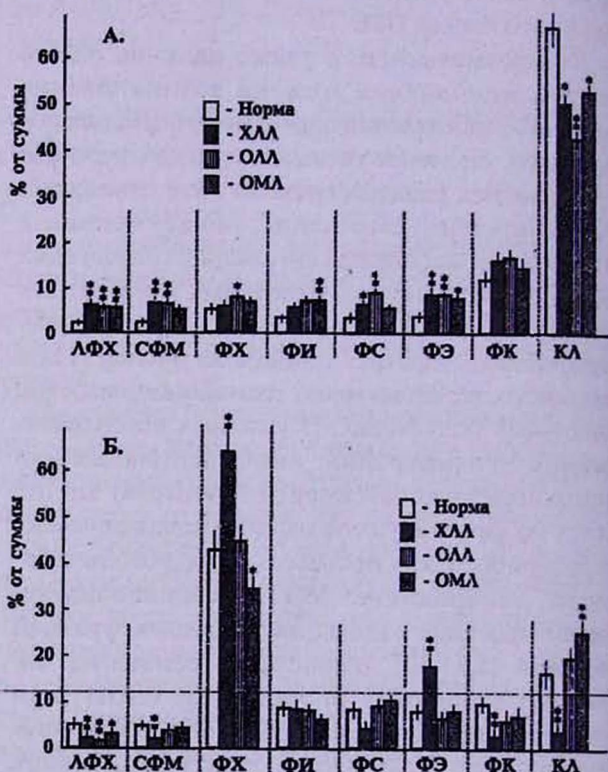


Рис.1. Включение [^{14}C]арахидоновой кислоты в фосфолипиды мембран лимфоцитов практически здоровых доноров, больных хроническим лимфоцитарным, острыми (лимфобластным и миелобластным) лейкозами в течение 5 сек (А) и 60 мин (Б): ЛФХ-лизофосфатидилхолины, СФМ-сфингомиелины, ФХ-фосфатидилхолины, ФИ-фосфатидилинозиты, ФС-фосфатидилсерины, ФЭ-фосфатидилэтаноламины, ФК-фосфатидные кислоты, КЛ-кардиолипиды.

Здесь и на рис.2. данные представлены в процентах от суммы радиоактивности, включенной в липиды мембран, на всех рисунках * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$

Исследование особенностей быстрого (5 сек) включения АК в ФЛ нормальных лимфоцитов показало (рис. 1, А) преимущественное накопление радиоактивности (более 60% от суммы включенной) во фракции кардиолипидов (КЛ). Во фракции фосфатидных кислот (ФК) относительное содержание радиоактивности составило около 13%, а в остальных фракциях колебалось в пределах 2-5%. Обнаруженный нами факт специфичности КЛ как предпочитаемого акцептора для быстрых процессов эстерификации АК дополняет литературные данные об активном вовлечении данного ФЛ в мембранные процессы действия цитотоксинов [18], инфицирования человеческих Т-клеток вирусом лейкемии типа I [29], развития апоптоза в эритролейкемических K562 клетках [24] и пр.

При трех формах лейкемии в лимфоцитах наблюдалось уменьшение относительного содержания КЛ и некоторое повышение всех остальных АК-содержащих ФЛ фракций. Примечательно, что по сравнению с нормой выявленные при патологии достоверные сдвиги на быстрой, мембраносвязанной фазе ацилирования ФЛ идентичны для хронического и двух острых форм заболевания. Можно предположить, что на быстрой, мембраносвязанной фазе протекания липид-модифицирующих процессов в лимфоцитах выявляются нарушения, общие для различных форм лейкемии.

Изучение процессов включения и перераспределения [14 C]АК в мембранные ФЛ в течение 60 мин в норме показало (рис. 1, Б) преимущественное накопление метки (около 45% от суммы включенной) в количественно преобладающей во внешнем монослое мембран лимфоцитов фракции фосфатидилхолинов (ФХ). Подобная закономерность ранее наблюдалась [2,3] и в других клеточных популяциях при эстерификации ФЛ различными ЖК. Она выявлялась (рис. 1, Б) также при исследованных нами формах лейкемии, указывая на функционирование в ПМ клеток специфических механизмов, обеспечивающих избирательное накопление ЖК во фракции ФХ в результате относительно пролонгированного течения процессов ацилирования ФЛ. В норме наблюдалось также многократное понижение (до 18%) уровня АК в КЛ, а в остальных ФЛ фракциях он колебался в пределах 5-10%.

Вследствие длительного (60 мин) ацилирования ФЛ при ХЛЛ по сравнению с нормой было обнаружено (рис. 1, Б) достоверное повышение (на 20%) в лимфоцитах уровня включения АК во фракцию ФХ, тогда как при ОЛЛ он оставался в пределах нормы, а при ОМЛ — опускался ниже нормы. Аналогичная картина сдвигов была выявлена для фракции фосфатидилэтанолamines (ФЭ).

Закономерные различия между нормой и патологией, а также между различными формами лейкемии были обнаружены и для других АК-содержащих ФЛ фракций. Так, при ХЛЛ по сравнению с нормой было выявлено многократное понижение уровня включения АК во фракции СФМ, фосфатидилсерина (ФС), ФК и КЛ, тогда как при ОЛЛ и ОМЛ они остаются в пределах нормы (ФС, ФК) или даже превышают ее (КЛ).

На наш взгляд, в отличие от процессов быстрого (5 сек) ацилирования ФЛ, на более пролонгированных (60 мин) ее этапах выявляются дефекты липид-модифицирующих механизмов, относительно специфичные для различных форм лейкемии.

В следующей серии экспериментов были проведены сравнительные исследования по изучению закономерностей включения [14 C]АК во фракции моноацилглицеринов (МГ), 1,2-диацилглицеринов (1,2-ДАГ) и триацилглицеринов (ТГ) клеточных мембран нормальных и малигнизированных

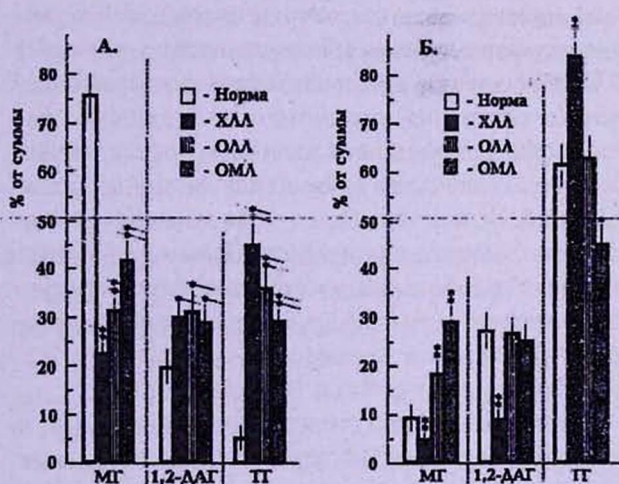


Рис.2. Включение [14 C]арахидоновой кислоты в нейтральные липиды мембран лимфоцитов практически здоровых доноров, больных хроническим лимфоцитарным, острыми (лимфобластным и миелобластным) лейкозами в течение 5 сек (А) и 60 мин (Б).

Здесь и на рис.3 и 4 — 1,2-ДАГ — 1,2-диацилглицерины, МГ — моноацилглицерины, ТГ — триацилглицерины, АК — арахидоновая кислота

лимфоцитов в вышеуказанных экспериментальных условиях. В норме обнаруживалось (рис. 2, А) быстрое (5 сек) включение ЖК во фракции МГ, 1,2-ДАГ и ТГ в соотношении 75, 20 и 5% соответственно. При исследованных формах лейкемии по сравнению с нормой наблюдалось многократное понижение и повышение уровня включения АК во фракции МГ и ТГ соответственно и некоторое повышение накопления метки во фракции 1,2-ДАГ. Следовательно, на быстрой мембраносвязанной фазе включения АК в НЛ (как и в случае ФЛ) обнаруживались однотипные сдвиги, подтверждающие вышеприведенные данные о схожести нарушений в механизмах быстрого ацилирования липидов мембран лимфоцитов при различных формах лейкемии.

Проведение подобных исследований в условиях более длительного (60 мин) времени инкубации показало (рис. 2, Б) преимущественное накопление АК во фракции ТГ как в норме (около 60%), так и при ХЛЛ (более 80%), ОЛЛ (62%) и ОМЛ (43%). Характерно, что при ХЛЛ по сравнению с нормой многократно подавлялось включение ЖК как во фракцию МГ, так и 1, 2-ДАГ. При ОЛЛ и ОМЛ уровни МГ в разной степени, но многократно превышали норму, а для 1, 2-ДАГ они оставались в пределах нормы.

Суммируя вышеприведенные экспериментальные данные, можно заключить, что в условиях различных форм лейкемии по сравнению с нормой в ПМ лимфоцитов установлены патологически измененные состояния *метаболического статуса* покоя, характеризующиеся наличием определенных *дефектных звеньев* в механизмах липидных модификаций. Вследствие этого в условиях патологии как при быстрых, так и относительно медленных *ответах* лимфоцитов на рецептор-неопосредуемый внешний сигнал (АК) выявляются закономерные нарушения в процессах модификации ЖК составов отдельных ФЛ и НЛ фракций ПМ.

На основании полученных нами ранее [1-4] и вышеприведенных экспериментальных данных можно было предположить, что по сравнению с нормой, на фоне патологически измененных *метаболических статусов* покоя ПМ лимфоцитов в их липидном бислое, весьма специфически измененными могут быть и процессы образования ЛВП под воздействием различных специфических и неспецифических внешних сигналов.

Исходя из вышеотмеченного, в отдельной серии экспериментов в норме, при ОЛЛ и ОМЛ на быстром (5 сек) и относительно пролонгированном (60 сек) этапах стимуляции лимфоцитов анти-CD3 и анти-CD28 моноклональными антителами были исследованы закономерности образования ряда липидных метаболитов, в основном обладающих свойствами ЛВП.

При ОЛЛ и ОМЛ на 5-й сек CD-стимуляции лимфоцитов были обнаружены (рис. 3) идентичные и диаметрально противоположные к норме сдвиги

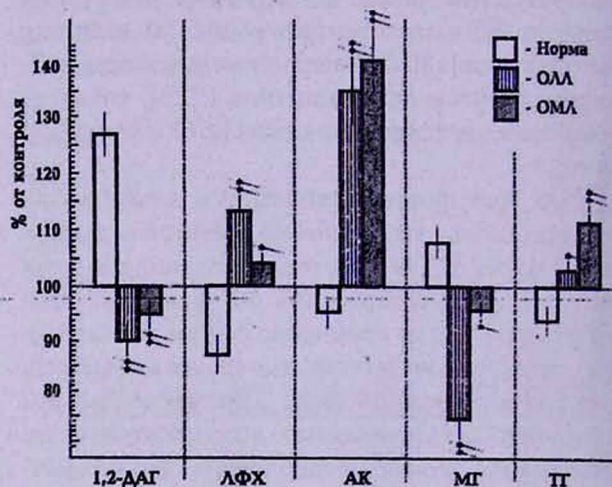


Рис.3. Сдвиги в уровне некоторых липидных вторичных посредников на 5-й сек анти-CD3/CD28 стимуляции лимфоцитов, предварительно меченных [¹⁴C] арахидоновой кислотой в норме, при острой лимфобластной и миелобластной лейкемиях

в содержании всех АК-содержащих липидных метаболитов. Падение (по сравнению с нормой) уровня фракций 1,2-ДАГ и МГ ниже контрольного свидетельствует о полном подавлении при лейкемии начальных этапов инициации ФИ сигнальной системы, что ранее было обнаружено и при ХЛЛ. Быстрое же (в течение 5 сек) и достоверное повышение при ОЛЛ и ОМЛ содержания ЛФХ в лимфоцитах, а также аномально высокие уровни свободной АК свидетельствуют как в пользу нарушений в цикле деацилирования-реацилирования ФЛ, так и о возможном подавлении при лейкемии путей синтеза определенных эйкозаноидов – биологически активных метаболитов АК. Выявление факта (рис. 3) активации процессов накопления данной ЖК во фракции ТГ, выступающей в роли *временного депо* для АК [8], свидетельствует в пользу последнего предположения.

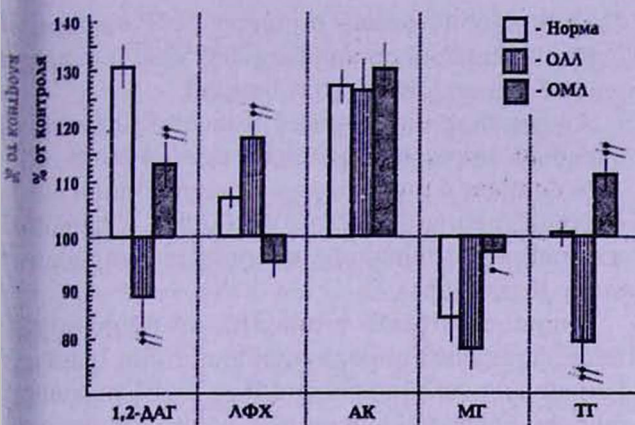


Рис. 4. Сдвиги в уровне некоторых липидных вторичных посредников на 60-й сек анти-CD3/CD28 костимуляции лимфоцитов, предварительно меченных [14 C]арахидоновой кислотой в норме, при острой лимфобластной и миелобластной лейкемиях

На 60-й сек костимуляции лимфоцитов анти-CD3/CD28 антителами при ОЛЛ и ОМЛ в содержании отдельных липидных метаболитов обнаруживаются (рис. 4) весьма разнообразные сдвиги как по сравнению с нормой, так и друг с другом. Так, изменения уровней фракций 1,2-ДАГ, ЛФХ и ТГ значительно отличаются от нормы и диаметрально противоположны при ОЛЛ и ОМЛ. Фракции же свободной АК и МГ претерпевают сдвиги, в основном схожие с нормой. Следовательно, в данной серии экспериментов, как и в процессах относительно длительного (60 мин) ацилирования ФЛ (рис. 1,Б) и НЛ (рис. 2,Б), по сравнению с нормой

выявляются нарушения, относительно специфичные для различных форм лейкемии.

Обобщая представленные выше экспериментальные данные, можно заключить о вовлечении липидного компонента ПМ лимфоцитов в патогенез ХЛЛ, ОЛЛ и ОМЛ. При различных формах лейкемии обнаружены закономерные нарушения в быстрых и относительно пролонгированных ответах лимфоцитов как на рецептор-неопосредуемый (АК), так и на рецептор-опосредуемый (анти-CD3/CD28 антитела) внешние сигналы.

Примечательно, что сдвиги, выявленные на быстром (5 сек) этапе модификации в лимфоцитах крови ЖК состава липидов и инициации процессов сигнальной трансдукции, идентичны для различных форм лейкемии и подтверждают ранее сделанное нами предположение о ПМ-ассоциированном характере дефектов в липид-модифицирующих системах при данной патологии. На более пролонгированных (60 мин, 60 сек) этапах исследуемых процессов обнаруживаются нарушения, относительно специфичные для каждого типа лейкемии. Выявленные нами дефектные механизмы липидных модификаций при лейкемии могут выступать в роли мембранных мишеней для действия химиотерапевтических средств, применяемых в клинике различных форм данного заболевания.

Часть данных получена при выполнении проекта, финансируемого грантом #AB1-2308-YE-02 Американского Фонда Гражданских Исследований и Развития (US CRDF)

Поступила 14.03.07

Նորմայում եւ տարբեր լեյկոզների ժամանակ լիպիդների աղիւսցումը արաբիդոնաթթվով և լիպիդային երկրորդային միջնորդների առաջացումը հակա - CD3 / CD28 համախթանված լիմֆոցիտներում

Մ.Հ. Մելքոնյան, Գ.Վ. Հակոբյան, Ա.Յու. Թադևոսյան, Թ.Բ. Բատիկյան, Ե.Ս. Ամիրխանյան, Ա.Ալտման, Յու.Վ. Թադևոսյան

Խրոնիկական լիմֆոլաստոսիս, սուր լիմֆոլաստոսիս և սուր միելոլաստոսիս լեյկոզներով հիվանդների արյան լիմֆոցիտներում ուսումնասիրվել են ֆոսֆոլիպիդային և չեզոք լիպիդային տարբեր բաղադրամասերում [14 C]արաբիդոնաթթվի (ԱԹ) արագ (5 վրկ) ներմուծ-

ման և հարաբերականորեն երկարատև (60 րոպե) միջբաղադրամասային վերաբաշխման գործընթացների շեղումները նորմայից: Ուսումնասիրվել են նաև մախապես [14 C]ԱԹ-ով նշանակված լիմֆոցիտների հակա-CD3 և հակա-CD28 մոնոկլոնային հակամարմիններով համա-

խթանման տարբեր փուլերում (5 և 60 վրկ) ԱԹ պարունակող որոշ լիպիդային երկրորդային միջնորդ (ԼԵՄ) մոլեկուլների առաջացման օրինաչափությունները:

Ստացված տվյալները վկայում են ուսումնասիրված լեյկոզների ժամանակ, ինչպես լիմֆոցիտների թաղանթների լիպիդային բաղադրիչի տարբեր բաղադրամասերում ԱԹ ներմուծման, այնպես էլ տարբեր ԼԵՄ մոլեկուլների առաջացման կոտպերատիվ մեխանիզմներում օրինաչափ խաթարումների առկայության մասին: Հատկանշական է, որ բացահայտված տեղաշարժերը նույնատիպ են լեյկոզների բոլոր տեսակների համար լիպիդների ԱԹ-ով մոդիֆիկացման և արտաքին հակազենային ազդակ-

ների ներգործությամբ տարբեր ԼԵՄ մոլեկուլների ձևավորման գործընթացների միայն ալազ, թաղանթ կապված (5 վրկ) փուլում:

Լիպիդների ազդեցման և ազդանշանի հաղորդման հարաբերակաճորեն ուշ (60 րոպե, 60 վրկ) փուլերում լեյկոզներից յուրաքանչյուրի համար բացահայտվում են և՛ նորմալից, և՛ հիվանդության մյուս տիպերից տարբերվող յուրահատուկ շեղումներ:

Եզրակացություն է արվում, որ լիպիդային մոդիֆիկացման գործընթացներում մեր կողմից հայտնաբերված խաթարումները ունեն թաղանթ կապված բնույթ և կարող են հանդես գալ որպես քիրախներ կլինիկայում կիրառվող քիմիոթերապիայի համար:

Acylation of lipids by arachidonic acid and generation of lipid second messengers in anti-CD3/CD28 costimulated lymphocytes at norm and diverse forms of leukemia

M.H. Melkonyan, G.V. Hakobyan, A.Yu. Tadevosyan, T.B. Batikyan, E.S. Amirkhanyan, A. Altman, Yu.V. Tadevosyan

The processes of quick (5 sec) and long-term (60 min) [14 C]arachidonic acid (AA) incorporation into the plasma membrane phospholipid and neutral lipid fractions in resting lymphocytes of patients with chronic lymphocytic (CLL), acute lymphoblastic (ALL) and acute myeloblastic (AML) leukemias in comparison with the healthy people have been investigated. The regularities of diverse lipid second messengers (LSM) formation in the [14 C]AA-prelabelled lymphocytes at the different time points (5, and 60 sec) of cell stimulation by anti-CD3 and anti-CD28 monoclonic antibodies crosstalking also have been investigated.

The data obtained evidence that there are regular defects in the mechanisms of lymphocyte lipids fatty acid content modification by AA, as well as in the diverse arachidonyl-LSM generation processes at dif-

ferent forms of leukemia. It is more important that disturbances revealed are identical for three forms of leukemia only at the rapid, membrane-associated stage (5 sec) of lipid acylation and diverse LSM molecules generation in response to external antigenic signal action. Violations, distinctive for each type of leukemia, differing of both norm and other types of disease were observed at the relatively sustained stages of lipid acylation (60 min) and signal transduction (60 sec) processes. It is concluded that alterations in some quick and reversible mechanisms of lipid modification and antigenic signal transduction processes, that are identical for all the studied types of leukemia, have a membrane-bound character and can serve as targets for chemotherapy.

Литература

1. Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Карагезян К.Г. Биол. журн. Армения, 1993, т.46, 2, с. 3-8.
2. Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Батикян Т.Б., Карагезян К.Г., Тадевосян А.Ю. Биохимия, 1996, т. 61, вып. 8, с. 1414-1421.
3. Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Карагезян К.Г. Нейрохимия, 1992, т. 11, 2, с. 194-201.
4. Худавердян Д.Н., Тер-Маркосян А.С., Тадевосян Ю.В. Биохимия, 1997, т. 62, вып. 10, с. 1295-1299.
5. Agarwal M.L., Larkin H.E., Zaidi S.I.A., Mukhtar H., and

- Oleinick N.L. *Cancer Res*, 1993, V. 53, 24, p. 5897-5902.
6. Aussel C., Cattal N., Pelassy C., and Rossi B.J. *Lipid Mediat.*, 1993, 7, 2, p. 99-113.
7. Augustina J.A., Secrist J.P., Daniels J.K., Leibson P.J., Abraham R.T. *J. Immunol.*, 1991, 146, 9, p. 2889-2897.
8. Balsinde J., Dennis E.A. *Eur. J. Biochem.*, 1996, 235, 3, p. 480-485.
9. Bligh E.G., Dyer W.J. *Canad. J. Biochem. Physiol.*, 1959, 37, p. 911-917.
10. Bray G.A. *Anal. Biochem.*, 1960, V. 1, p. 279-285.
11. Cifone M.G., Cironi L., Santoni A., and Testi R. *Eur. J. Immunol.*, 1995, 25, 4, p. 1080-1086.
12. Connor J., Bucana C., Fidler I.J., Schorl A.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 86, p. 3184.
13. De Bittencourt Junior P.I., Yano M.M., Hirata M.H., Williams J.F., and Curi R. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1994, 33, 3, p. 463-475.
14. Ilangumaran S., Arni S., Chicheportiche Y., Briol A., Hoessli D.C. *Anal. Biochem.*, 1996, 235, 1, p. 49-56.
15. Innes J., Runtz M.M., Kim Y.T., & Weksler M.E. *J. Clin. Invest.*, 1979, 64, p. 1608 - 1613.
16. Farge E. *Biophys. J.*, 1995, 69, 6, p. 2501-2506.
17. Gamberucci A., Fulceri R., Bygrave F.L., Benedetti A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1997, 241, p. 312-316.
18. Gasanov S.E., Alsarraj M.A., Gasanov N.E., Rael E.D. *J. Membr. Biol.*, 1997, 155, 2, p. 133-142.
19. Hamasaki Y., Kobayashi I., Hayasaki R., Zaitu M., Muro E., Yamamoto S., Ichimaru T., Miyazaki S. *J. Ethnopharmacol.*, 1997, 56, 2, p. 123-31.
20. Hoek W.G., Ramesha C.S., Chang D.J., Fan N., and Heller R.A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, 10, p. 4475-4479.
21. Jayadev S., Linardic C.M., Hannun Y.A. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 8, p. 5757-5763.
22. Kumada T., Nakashima S., Nakamura Y., Miyata H., Nozawa Y. *Immunobiology*, 1996, 195, 3, p. 347-359.
23. Lee Y.H., Lee H.J., Lee S.J., Min D.S., Baek S.H., Kim Y.S., Ryu S.H., Suh P.G. *FEBS Lett.*, 1995, 358, 2, p. 105-108.
24. Maccarrone M., Nieuwenhuizen W.E., Dullens H.F., Catani M. V., Melino G., Veldink G.A., Vliegthart J.F., Finazzo Agro A. *Eur. J. Biochem.*, 1996, 241, 1, p. 297-302.
25. Smith M.R., Court D.W., Kim H.K., Park J.B., Rhee S.G., Rhim J.S., Kung H.F. *Carcinogenesis*, 1998, 19, 1, p. 177-185.
26. Surviladze Z., Draberova L., Kubinova L., Draber P. *Eur. J. Immunol.*, 1998, 28, 6, p. 1847-58.
27. Visnjic D., Batinic D., Banfic H. *Blood*, 1997, 89, 1, p. 81-91.
28. Wikiel H., Zhao L., Gessner T., and Bloch A. *Biochim. Biophys. Acta*, 1994, 1211, 2, p. 161-170.
29. Yang D., Iwai H., Yamamoto A., Fu D., Hoshino H. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997, 1349, 1, p. 25-32.