

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БОЛЬНЫХ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Т. Ф. САРКИСЯН

Ереванский государственный университет

Проведен цитогенетический анализ лимфоцитов десяти больных периодической болезнью (семейной средиземноморской лихорадкой) детского возраста. Отмечен повышенный по сравнению со здоровыми донорами уровень хромосомных aberrаций у этих больных, в среднем равный 5,84%. Число сестринских хроматидных обменов составило в среднем 6,79 на одну клетку. Наблюдались пробелы преимущественно в хромосомах группы «С».

*Անց է կացվել սիրիտոզիկ հիվանդությունը տառապող (միջնորդածագային ընտանեկան դեղերոցք) տասը մանկահասակ հիվանդների լիմֆոցիտների բջջազնեակիվական անալիզ: Հիվանդների մոտ նկատվել է բրոմոսոմային գերակատրոսոմների բարձրացում, որը միջին նաշվով նախատար է 5,84 % տողը դոնորների նախնական: Քույր բրոմոսոմային փոխանակությունների միջին հիվանդների մոտ կազմում է միջին նաշվով 6,79 մեկ բջջի նախար: Շեղումներ գերակատրոսոմները հրանցվել են «С» խմբի բրոմոսոմներում:*

The cytogenetic analysis of lymphocytes of 10 children, suffering from periodic disease (familial Mediterranean fever), was held. The increased level of chromosomal aberrations was equal to 5,84 per cent relative to normal donors. The rate of sister chromatide [exchanges was equal to 6,79 per one cell. The gaps were detected mainly in chromosomes of "C" group.

*Ключевые слова:* периодическая болезнь, хромосомные aberrации, сестринские хроматидные обмены.

Анализ хромосомных повреждений в клетках человека стал одним из наиболее важных методов определения роли изменений хромосом при врожденных пороках развития, злокачественных новообразованиях, бесплодии, эндокринных и гематологических болезнях. Недавно был создан регистр хромосомных нарушений у человека под редакцией Н. П. Кулешова и И. В. Лурье (1984 г.). Цитогенетические повреждения в лимфоцитах человека являются ценным индикатором эффекта мутагенных воздействий на организм. Количество цитогенетических нарушений может возрастать при многих болезнях и патологических состояниях, в том числе и при ряде аутоиммунных заболеваний [8]. Несомненный интерес и актуальность в связи с этим представляет цитогенетическое исследование генетически обусловленных и трудно классифицируемых заболеваний с невыясненной этиологией. Примером может служить периодическая болезнь, или семейная средиземноморская лихорадка, являющаяся эндемичной для Армении. Клинико-эпидемиологическим исследованиям периодической болезни посвящены многие публикации [1, 4, 6]. Однако работ, касающихся генетических особенностей этого заболевания, практически не имеется. Некоторыми авто-

рами показано [14], что периодическая болезнь—генетически обусловленное заболевание, характеризующееся аутомно-рецессивным типом наследования, а клинически—атаками лихорадки и острых абдоминальных болей, в основе которых лежит воспаление серозных оболочек, нередко сопровождающееся амилоидозом почек, а иногда коллаптозами.

Имеются отдельные сообщения о нарушении иммунологических функций в клетках больных. Наличие нарушений иммунорегуляции при периодической болезни позволило предположить возможный вклад генов иммунного ответа комплекса HLA в контроль болезни. Однако при исследовании сегрегации HLA—A, B, C, DR в пяти семьях сцепление локуса периодической болезни с HLA не подтвердилось [15]. Показано, что одним из важных факторов патогенеза периодической болезни является подавление клеточного иммунитета с угнетением функций Т-супрессоров и киллеров [2].

В настоящее время накоплено определенное количество данных, подтверждающих прямую связь иммунологических изменений в клетках с возникновением хромосомных aberrаций. Однако не имеется сведений относительно цитогенетических показателей при периодической болезни. В настоящей работе представлены результаты изучения частоты хромосомных aberrаций и сестринских хроматидных обменов в клетках больных периодической болезнью.

*Материал и методика.* Материалом исследования служила цельная периферическая кровь, полученная от десяти больных периодической болезнью детского возраста (10—15 лет), которые находились на лечении в клиническом отделении кафедры педиатрии Ереванского медицинского института. Лимфоциты периферической крови культивировали по общепринятому методу Хангерфорда. Кровь брали из локтевой вены с помощью гепаринизированного шприца. Для стимуляции клеток к бласттрансформации в культуру вводили фитогемагглютинины фирмы «Difco P» (США) из расчета 0,02 мл на 10 мл инкубационной смеси. Клетки культивировали в термостате при 37° в течение 76—96 часов. За два часа до фиксации культуру обрабатывали колхицином; клетки фиксировали смесью метанола и уксусной кислоты в соотношении 3:1. Для анализа частоты сестринских хроматидных обменов (СХО) в культуру вносили 5-бромдезоксигуанидин в конечной концентрации 10<sup>-6</sup> мг/мл.

Полученные препараты окрашивали по методу А. Н. Чеботаря и соавт.

При проведении цитогенетического анализа учитывали следующие показатели: количество aberrантных метафаз в процентах, общее число разрывов, число одиночных и парных разрывов на 100 клеток, а также число СХО на одну клетку.

В среднем анализировали по 150—300 метафаз на каждый вариант. Все эксперименты выполнены в двух повторностях.

Статистический анализ полученных результатов проведен с применением критерия Стьюдента на мини-ЭВМ «ИР-15С».

*Результаты и обсуждение.* Изучение частоты цитогенетических повреждений в группе больных периодической болезнью выявило повышение количества хромосомных aberrаций, в среднем равного на  $5,84 \pm 0,20\%$ . Число СХО на клетку в этой же группе больных составило в среднем  $6,79 \pm 0,31$  (табл.).

В клетках большинства обследованных больных помимо увеличения количества aberrантных метафаз наблюдалось повышенное число разрывов в хромосомах группы «С». Однако вопрос о механизме обра-

Результаты цитогенетического анализа культур лимфоцитов периферической крови больных периодической болезнью (фиксация клеток на 76-ом часу культивирования)

Больной	Частота абберрантных метафаз, %	Общее число разрывов	Число одиночных разрывов	Число парных разрывов	Число СХО на клетку
на 100 клеток					
А	6,72	6,72	2,24	2,99	7,04
Б	4,29	5,71	0,71	5,00	—
В	5,20	5,20	1,20	4,00	10,00
Г	5,00	5,33	1,67	3,67	10,95
Д	7,27	9,09	1,82	7,27	—
Е	9,58	9,58	4,58	5,00	5,13
Ж	4,33	4,33	3,33	1,00	5,26
З	8,67	9,33	4,67	4,67	5,33
И	4,00	4,00	2,00	2,00	6,83
К	3,67	4,00	3,33	0,67	3,76

зования пробелов и их локализации в определенных хромосомах в настоящей работе не обсуждается.

У нескольких больных определяли «спонтанные» уровни СХО, являющиеся биологически обусловленными для данного индивидуума. Этот метод был описан ранее на культурах лимфоцитов здоровых доноров [5] и применен при цитогенетическом анализе в группе больных аллергией [13]. С этой целью была разработана схема проведения экспериментов: 5-бромдезоксигидроуридин вводили в начале культивирования клеток и фиксировали на 76-м часу; в другие образцы культур от тех же больных 5-бромдезоксигидроуридин вводили на 24-м часу культивирования, клетки фиксировали на 96-м часу. Полученные данные выявили определенное различие в частоте СХО: при введении 5-бромдезоксигидроуридина в ранние сроки и ранней фиксации клеток частота СХО на клетку составляла 10,00 (больной В); при поздних сроках введения и поздней фиксации культур она снижалась до 5,44. Подобная зависимость наблюдалась и при анализе частоты абберрантных метафаз: количество хромосомных абберраций снижалось с 5,20 до 3,67%. Аналогичные данные получены и на клеточных культурах другого индивидуума (больной Ж): число СХО на клетку снижалось с 5,26 до 3,16.

Отмечено, что частота СХО в культурах лимфоцитов больных периодической болезнью не превышает уровня СХО у здоровых доноров. Аналогичная закономерность, а также некоторое снижение этого параметра наблюдались и при цитогенетическом анализе больных аллергией [13]. У больных периодической болезнью число СХО на клетку составило  $6,79 \pm 0,31$ , у больных аллергией —  $5,54 \pm 0,62$ , в то время как в группе здоровых доноров —  $7,71 \pm 0,66$ . Эти данные хорошо коррелируют с результатами, полученными при анализе частоты СХО у здоровых индивидуумов: в 72-часовых культурах в среднем число СХО на клетку составило  $8,16 \pm 0,40$ , в 96-часовых культурах —  $5,79 \pm 0,24$  [12]. Причем для каждой возрастной группы характерна значительная межиндивидуальная вариабельность частот спонтанных СХО, размах колебаний которых находится в пределах 6,98—11,35 у новорожденных и 8,85—14,20 на клетку у взрослых [7].

Возможно, что повышение спонтанного уровня хромосомных aberrаций в клетках больных периодической болезнью обусловлено нарушением регуляции иммуногенеза. В настоящее время накоплено определенное количество данных, подтверждающих прямую связь иммунологических изменений в клетках с возникновением хромосомных aberrаций. В частности, показано, что аутоиммунный процесс усилен при многих хромосомных болезнях. Подтверждена роль аутоиммунного процесса в образовании хромосомных aberrаций [8].

Приводятся данные о том, что периодическая болезнь относится к коллагенозам [11], которые, согласно литературным данным, принадлежат к группе болезней с нарушенной репарацией ДНК в клетках [10]. Помимо этого, выявлено повышение уровня хромосомных aberrаций при коллагенозах: системной красной волчанке, ревматизме, склеродермии, ревматоидном артрите [8]. Показана корреляция между степенью наследственной отягощенности по периодической болезни и частотой аллергических заболеваний. В крови больных выявлена гипергистаминемия, что, возможно, отражает латентное состояние аллергии [3].

Тканевые гормоны гистамин и брадикинин, являющиеся медиаторами аллергического процесса, в концентрациях, в которых они образуются в организме человека, при аллергии проявляют мутагенную активность [9], что в свою очередь приводит к повышению частоты хромосомных aberrаций. У больных различными формами аллергии в лимфоцитах периферической крови обнаружено повышение частоты хромосомных aberrаций, составляющей  $6,64 \pm 0,75\%$ . Это значительно превышает контрольный уровень  $1,70 \pm 0,28\%$  ( $P < 0,02$ ). Согласно предварительным данным, у больных бронхиальной астмой уровень aberrантных метафаз также превышает контрольный и в среднем составляет  $4,63 \pm 0,39\%$  [13].

Таким образом, в клетках больных периодической болезнью имеет место определенное повышение уровня хромосомных aberrаций. Выявлены различия между уровнями СХО, связанными с действием внешней среды, и биологически обусловленными или «спонтанными» для данного индивидуума.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазян А. А. Периодическая болезнь. 15—24, Ереван, 1982.
2. Айвазян А. А. Ж. экспер. и клин. медицины АН АрмССР, 26, 3, 255—259, 1986.
3. Аракелов Г. М. Автореф. канд. дисс., 25—30, Ереван, 1975.
4. Аствацатурян В. А., Махонина Л. А. Педиатрия, 8, 85, 1962.
5. Бочков Н. П., Чеботарев А. Н., Платонова В. И., Дебова Г. А. Цитология и генетика, 18, 1, 54—58, 1984.
6. Виноградова О. М. Периодическая болезнь. 200, М., 1973.
7. Дебова Г. А. Автореф. канд. дисс., М., 1984.
8. Ильинских Н. Н., Бессуднова С. С., Ильинских И. Н. Цитология и генетика, 21, 1, 64—70, 1987.
9. Керкис Ю. Я., Скорова С. В. Информ. бюлл. Научн. совета по пробл. радиобиологии АН СССР, 20, 51—52, 1977.
10. Михальсон В. М., Томилин Н. В. Генетика человека. 5, 103—164, М., 1979.

11. Паносян А. Г., Григорян С. В., Давтян Д. Г., Геворкян Г. А., Габриелян Э. С. Бюлл. экспер. биол. и мед., 11, 561—563, 1986.
12. Платонова В. И. Автореф. канд. дисс., М., 1984.
13. Саркисян Т. Ф. Цитология и генетика, 21, 2, 108—111, 1987.
14. Chilovi F., Dobrilla G. Ital. J. Gastroenterol., 17, 5, 275—277, 1985.
15. Schlesinger M., Ilfred D. N., Zamir R., Brautbar C. Tissue Antigens, 24, 1, 65—66, 1984.

Поступило 1. IX 1987 г.

Биолог. ж. Армения, т. 41, № 1, 38—45, 1988

УДК 577.963.3

## НУКЛЕАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И ТЕРМИЧЕСКАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ ХРОМАТИНА, ЛИШЕННОГО ГИСТОНА H1, ПРИ АКТИВАЦИИ

М. А. ДАВТЯН, П. О. ВАРДЕВАНИН, С. Г. ТИРАЦУЯН, Г. Х. ШБИЗ

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии,  
кафедра биофизики

Исследованы изменения в хроматине, лишенном гистона H1, а также в надосажденной жидкости, содержащей негистоновые белки вместе с гистоном H1, при негормональной индукции, вызванной введением смеси аминокислот, и при индукции гидрокортизоном. Показано, что при введении животным смеси аминокислот существенно уменьшается относительное содержание гистона H1. Индукция как смесью аминокислот, так и гидрокортизоном в разной степени затрагивает уровень организации хроматина, чувствительного к действию ДНКазы I, и отражается на параметрах плавления хроматина, лишенного гистона H1.

*Յուշը է արվել, որ ամինաթթուների խառնուրդի ներարկման ժամանակ նկատվում է H<sub>1</sub> հիստոնի հարաբերական պարունակության զգալի նվազում: Ինդուկցիան, ինչպես ամինաթթուների խառնուրդով, այնպես էլ հիդրոկորտիզոնով, արտերը շատով է ազդում քրոմատինի կազմավորման մակարդակի վրա, որը զգալի է ԳՆԹազա I-ի նկատմամբ և անդրադառնում է —H1-ի նախան պարամետրերի վրա:*

It was demonstrated that by introducing amino acids mixture essential reduction of relative contents of histone H1 was observed. Induction, by amino acids mixture and by hydrocortison, in different extent affected the level of chromatin organization, sensitive to DNAasa effect, and was reflected on melting chromatin, void of histone H1.

*Ключевые слова:* хроматин, гистон H1, нуклеазочувствительность, термическая денатурация.

Выявление роли гистона H1 в организации и функционировании хроматина является одной из актуальных и дискутируемых проблем [8], наиболее важной стороной которой является выяснение взаимоотношений этого гистона и транскрипционно активного хроматина. Исследование хроматина, лишенного гистона H1 (X-H1), может дать существенную информацию при выяснении нуклеосомной структуры хроматина в модельных экспериментах по изучению ДНК-белкового взаимодействия и выявлению роли гистона H1 в образовании структур высшего порядка [17]. В настоящее время известно, что гистон H1 в основном связан с