

3. Величина ΔT и ИФА, скорость развития и степень выраженности признаков «фторной» прогерии находятся в прямой зависимости от стажа производственной деятельности во вредных условиях труда.
4. Комплексное использование показателей отклонения биологического возраста (ΔT), отклонения массы жировой ткани ($\Delta ЖТ$), коэффициента старения и индекса физической активности позволяет повысить эффективность оценки уровня профессионального здоровья и обоснованно выделять группы повышенного риска развития профессионально-обусловленной патологии.

Литература

1. Тихончук В. С., Ушаков И. Б., Карпов В. Н., Зуев В. Г. Возможности использования интегральных показателей периферической крови человека // Военно-мед. журнал. — 1992. — № 3. — С. 27 — 31.
2. Авцын А. П., Жаворонков А. А. Патология флюороза /Отв. Ред. В. П. Казначеев. — Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1981. — 335 с.
3. Номограммы для определения некоторых интегральных показателей биологического возраста и профессионального здоровья // АН СССР, вычислит. центр. — М.: ВЦ АН СССР, 1991. — 42 с.

УДК 577.123.5:615.916

Т.В. Лагушко*, В.Г. Цыганков, Е.В. Барковский*

ИЗМЕНЕНИЕ СИНТЕЗА ДНК В ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТКАХ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИОНОВ СВИНЦА.

В литературе накоплено большое количество прямых и косвенных доказательств в пользу того, что развитие патологических процессов, обусловленных действием соединений свинца, может иметь в своей основе иммунные механизмы.

Сами по себе тяжелые металлы и их соли не являются антигенами, т.е. по отношению к ним не происходит иммунной реакции, но, вступая в организме в соединение с белками, последние приобретают новые свойства, в том числе способность стимулировать иммунокомпетентную систему [3]. Иными словами, комплекс металл-белок приобретает антигенные свойства в результате изменения вторичной и третичной структуры белка и может вести к аутосенсibili-

* Минский государственный медицинский институт

лизации организма, где металлу принадлежит решающее значение в специфичности процесса, он выполняет роль гаптена.

Механизмы действия свинца на клеточный метаболизм на молекулярном уровне остаются в большей степени неясными. В середине семидесятых годов было убедительно доказано, что при свинцовой интоксикации наблюдается накопление ионов свинца в ядрах клеток [10]. Эти данные представляют определенный интерес с точки зрения возможности непосредственного взаимодействия ионов свинца с основными макромолекулами ядра – ДНК и РНК. Действительно, в ряде лабораторий было установлено в модельных системах, что ионы свинца стабилизируют вторичную структуру ДНК [1, 7, 8], причем взаимодействие ионов свинца с ДНК имеет более выраженный характер, чем с другими ионами металлов [6, 11]. Несмотря на интересные сообщения о взаимодействии ионов свинца с макромолекулами, в литературе имеются немногочисленные и противоречивые сведения о влиянии ионов свинца на биосинтез ДНК, РНК и белка. Так, в лейкоцитах и клетках *HeLa* под влиянием соединений свинца наблюдается ингибирование синтеза ДНК и белка [12], а в клетках печени, почек и легких, наоборот, стимуляция макромолекулярных биосинтезов [4, 5].

Цель настоящей работы – изучить влияние ацетата свинца на синтез ДНК в иммунокомпетентных клетках.

В опытах использовали крыс – самцов линии Wistar массой 180 – 220 г, находящихся на обычном рационе вивария.

Экспериментальной моделью явилась клеточная популяция свежеизолированных нефракционированных спленоцитов, которые разводили средой 199 + 15 мМ буфера Нерес (рН 7,8) до концентрации $5 \cdot 10^6$ клеток на 1 мл культуральной среды и культивировали в присутствии ацетата свинца в концентрациях 10 мкМ и 100 мкМ в стандартных флаконах при температуре 37⁰С. Контролем служила суспензия клеток, в которую вместо ацетата свинца добавляли соответствующий объем среды 199. Жизнеспособность спленоцитов оценивали по тесту исключения живыми клетками красителя трипанового синего [2]. Синтез ДНК оценивали по количеству радиоактивного ³Н-тимидина (5 – 10 мКи/1мл культуры клеток), включенного в ДНК спленоцитов [9]. Реакцию останавливали через 2, 4, 6, 8 и 10 часов. Во всех экспериментах после окончания культивирования клетки обрабатывали 10% трихлоруксусной кислотой. Нерастворимую фракцию переносили на мембранные фильтры и определяли радиоактивность фильтров в диоксановом сцинтилляторе на жидкостном сцинтилляционном счетчике “Beckman” (США).

Количественные данные о включении ^3H -тимидина в ДНК спленоцитов представляют собой среднее арифметическое измерений в 4 - 6 параллельных культурах и выражены в импульсах в минуту на $5 \cdot 10^6$ клеток. Жизнеспособность спленоцитов, оцениваемая в начале и в конце каждого эксперимента, составляла более 90%.

На рис.1 представлены данные о кинетике включения ^3H -тимидина в ДНК интактных спленоцитов крыс и спленоцитов, культивируемых в присутствии ацетата свинца в концентрации 10 мкМ.

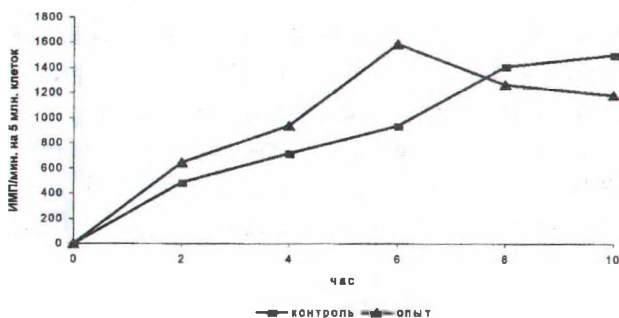


Рис.1 Кинетика включения ^3H -тимидина в ДНК интактных и Pb^{2+} -обработанных (10 мкМ) спленоцитов крыс.

Анализ кинетических кривых показывает, что к 4-6-му часу культивирования клеток наблюдается достоверное увеличение включения ^3H -тимидина в ДНК Pb^{2+} -обработанных спленоцитов по сравнению с интактными клетками, причем более выраженный эффект наблюдается к 6-му часу.

Последующее культивирование нивелирует этот эффект, и к 10-му часу культивирования клеток с ацетатом свинца наблюдается достоверное уменьшение включения радиоактивного предшественника в ДНК Pb^{2+} -обработанных спленоцитов по сравнению с интактными. Приведенные результаты указывают на необходимость проведения именно кинетических исследований при оценке влияния соединений свинца на интенсивность макромолекулярных биосинтетических процессов в спленоцитах. В противном случае можно получить в зависимости от длительности культивирования клеток ацетатом свинца либо активацию, ингибирование, либо отсутствие эффекта на интенсивность синтеза ДНК в клетках.

Культивирование спленоцитов (рис.2) с ацетатом свинца в концентрации 100 мкМ приводит к аналогичному двухфазному характеру изменений включения радиоактивной метки в

ДНК клеток (рис.2). Следует отметить, что наблюдаемое увеличение и последующее снижение включения ^3H -тимидина в ДНК под влиянием ацетата свинца в концентрации 100 мкМ происходит на более ранних этапах культивирования спленоцитов, а именно: увеличение – на 2-ом часу, а снижение – на 4-ом часу.

Анализируя полученные нами данные об увеличении включения ^3H -тимидина в ДНК спленоцитов под влиянием ионов свинца, следует иметь в виду, что количество новосинтезированной ДНК в клетках определяется не только скоростью ее синтеза, но и равновесием этого процесса со скоростью распада, зависящей от стабильности новосинтезированных молекул ДНК и активности нуклеаз. Поэтому, обнаруженное нами увеличение включения ^3H -тимидина в ДНК на начальных этапах культивирования клеток с ацетатом свинца может быть обусловлено стимуляцией синтеза ДНК. С другой стороны, учитывая литературные данные о стабилизирующем действии ионов свинца на структуру макромолекулы ДНК, трудно исключить возможность накопления в спленоцитах, обработанных ацетатом свинца, более устойчивых к распаду новосинтезированных молекул ДНК, что в конечном итоге может привести к увеличению количества радиоактивного предшественника в новосинтезированной ДНК по сравнению с таковым в ин-

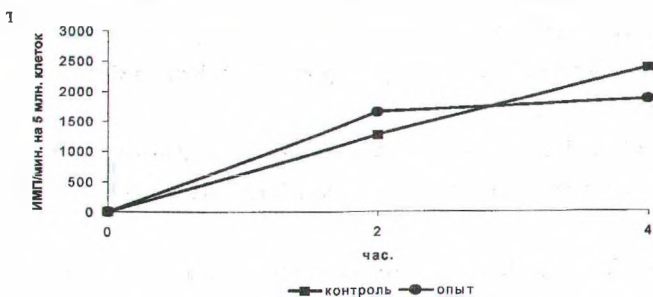


Рис.2. Кинетика включения ^3H -тимидина в ДНК интактных и Pb^{2+} -обработанных (100 мкМ) спленоцитов крыс.

Следует подчеркнуть, что снижение включения ^3H -тимидина в ДНК спленоцитов под влиянием ионов свинца также может быть обусловлено, как угнетением синтеза ДНК, так и увеличением скорости распада новосинтезированной ДНК.

Литература:

1. Неорганическая биохимия. – М. “Мир”. – 1978 – т.2 – 736 с.
2. Новиков Д.К., Новикова Д.И. Клеточные методы иммунодиагностики. – Минск: Беларусь. – 1979 – 222 с.

3. Металлоаллергозы / Ж.Ж. Раппопорт, А.В. Рошин, В.Г. Веселов, В.М. Рубанович.- Красноярск: Издательство Красноярского университета.– 1987.– 176 с.
4. Choi P., Richter G. Cell proliferation in Mouse Kidney induced by lead // *Lab. Invest.* – 1974.– Vol. 30, №5.– P.647 – 652.
5. Hitzfeld B., Planas – Bohne F., Taylor P. The effects of lead on protein and DNA metabolism of normal and lead – adapted rat kidney cells in culture // *Biological Trace Element Research.* – 1989. – Vol. 21.– P. 87-95.
6. Kaba L., Sequaris J.M., Valenta P. Voltametric study on the interaction of the heavy metals Cd(II) and Mn (II) with transfer RNA, DNA and other polynucleotides // *Toxic. Environ. Chem.* – 1985. – Vol.10. – P. 103 – 117.
7. Kozlovski H., Pavlovski T., Swiatek J. Pulse polarographic studies on metal ion interaction with DNA // *Asian Journale Chem.* – 1989. – P. 93 – 104.
8. Loeb L.A., Zakour J. Metals and – Genetic Miscoding: in *Nucleic Acid – Metal Ion Interaction.*, New York.– 1980. – P. 115 – 144.
9. Mills T.A. Ihe immunologic significance of antigen induced lymphocyte transformation in vitro // *J. Immunol.* – 1966. – Vol. 97, N2. – p. 239 – 247.
10. Sabbioni E., Mafarante E. Jdentification of lead – binding components in rat liver: in vitro study // *Chem. Biol. Int.* – 1976. – Vol. 15. – P. 1 – 20.
11. Voltametric and spectroscopic studies on interaction of lead (II) ions calfthymus DNA: in *Proceedings of II Symposium on Inorganic Biochem. and Molecular Biophysics.* – 1989. – P. 335 – 341.
12. Xiao Gonghua, Wang Lindao, Liu Yugu. Ингибирование включения аминокислот в микросомах под действием кадмия, ртути и свинца // *Хуаньцзин Кэсюэ Сюэбао, Acta Sci. Circumstantial*– 1987. – Vol. 7, N 3. – P. 333 – 338.