

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

*Трубникова Елена Владимировна*

д-р биол. наук, заведующая лабораторией

*Болдинова Елизавета Олеговна*

студент

*Локтионов Алексей Валерьевич*

соискатель

Курский государственный университет

г. Курск, Курская область

### **АНАЛИЗ УРОВНЯ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗА У БОЛЬНЫХ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЛИМФОМАМИ ПРИ ПЕРВИЧНОМ ПОСТУПЛЕНИИ И ПРИ РЕЦИДИВЕ**

*Аннотация:* статья посвящена изучению хромосомных мутаций, возникающих в лимфоцитах при злокачественных лимфомах. Проанализирована частота возникновения хромосомных aberrаций при первичном поступлении больных и при рецидивах, и выявлены различия в структуре кариотипических нарушений, отражающие осложнение проявлений опухолевых процессов при рецидивах заболевания.

*Ключевые слова:* спонтанный мутагенез, злокачественные лимфомы, хромосомные aberrации, нарушение функционирования лимфоцитов.

Изучение проявлений онкологических заболеваний является важным аспектом современной науки. Одними из самых распространенных видов злокачественных новообразований являются лимфомы, которые стоят на пятом месте после рака молочной железы, предстательной железы, легкого и толстой кишки [6].

Злокачественные лимфомы (ЗЛ) представляют собой гетерогенную группу онкологических заболеваний, отличающихся по биологическим свойствам, морфологическому строению и клиническим проявлениям [5]. Как бы то ни было,

все типы ЗЛ приводят к нарушению функционирования лимфоцитов. Лимфоидные клетки в процессе своего созревания проходят длинный путь от стволовых клеток до строго специализированных, в ходе которого происходят многочисленные перестройки ДНК. Онкологическое заболевание превращает этот фактор в причину формирования генетических нестабильностей в лимфоцитах [4].

Необходимость исследования злокачественных лимфом заключается также в том, что ЗЛ это социально значимые заболевания. Страдают ими, люди как молодого и трудоспособного возраста – 12–40 лет, так и пожилого – 60 и более лет [2]. Эффективность комплексного лечения, включающего химическую и лучевую терапию, позволило добиться того, что частота рецидивов при ЗЛ оказалась равна 18-30%, однако пятилетняя выживаемость больных после наступления рецидива составляет всего 50% [1].

*Целью работы* явилось изучение и сравнение уровня спонтанного мутагенеза у больных злокачественными лимфомами при первичном поступлении и при рецидиве заболевания.

#### *Материалы и методы.*

Материалом для исследования послужила выборка из 39 больных злокачественными лимфомами жителей Курской области. Из них 30 человек заболели ЗЛ впервые, а 9 обратились с рецидивом.

Цитогенетические препараты получали с помощью полумикрометода из лимфоцитов периферической крови [3]. Вначале культуру лимфоцитов стимулировали ФГА и оставляли на 72 часа для инкубации. Затем её обрабатывали колхицином, для увеличения числа хромосом в стадии метафазы, гипотонизировали и фиксировали. Клеточную суспензию раскапывали на охлаждённые, химически чистые стекла и окрашивали рутинным методом. После этого с помощью микроскопа проводили анализ хромосомных aberrаций.

#### *Результаты исследования.*

На основе вышеописанной методики был проведен анализ уровня спонтанного мутагенеза у больных ЗЛ при первичном поступлении и при рецидиве. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1

Уровень спонтанного мутагенеза у больных ЗЛ при первичном поступлении и при рецидиве

Показатель	Первичное поступление	Рецидив	t(p)	F(p)
	M ± Std.Dev.	M ± Std.Dev.		
Количество aberrантных клеток	3,53 ± 2,21	3,33 ± 2,60	0,22 (0,82)	1,38 (0,50)
Количество aberrаций	4,47 ± 3,95	4,89 ± 5,30	0,26 (0,80)	1,81 (0,23)
Число поврежденных хромосом	4,53 ± 3,20	6,33 ± 7,94	1,02 (0,32)	6,14 (0,01)
Кол-во aberrаций хроматидного типа	2,07 ± 1,48	1,33 ± 1,41	1,31 (0,20)	1,10 (0,95)
Кол-во аб хромосомного типа	2,40 ± 3,29	3,56 ± 4,98	0,82 (0,42)	2,29 (0,09)
Кол-во одиночных фр	1,90 ± 1,49	1,33 ± 1,41	1,00 (0,32)	1,12 (0,94)
Кол-во парных фр	1,57 ± 2,36	1,56 ± 1,42	0,01 (0,10)	2,74 (0,14)
Кол-во хроматидных обменов	0,17 ± 0,59	0,00	0,84 (0,41)	0,00 (1,00)
Кол-во хромосомных обменов	0,83 ± 1,53	2,00 ± 3,77	0,39 (0,17)	6,06 (0,01)

Из таблицы видно, что при первичном поступлении больных ЗЛ, количество aberrантных клеток составляет  $3,53 \pm 2,21$ , частота aberrаций при этом равна  $4,47 \pm 3,95\%$ , а число поврежденных хромосом –  $4,53 \pm 3,20$ . Соотношение числа aberrаций хроматидного и хромосомного типа оказалось примерно одинаковым – 46 и 54%, соответственно. Причем больше всего нарушений пришлось на ацентрические фрагменты (парные и одиночные) – 78%, далее по частоте встречаемости идут хромосомные обмены – 18% и всего 4% составили хроматидные обмены.

При рецидивах, показатели во многом схожи с предыдущими данными, но обнаруживаются и важные отличия. В случае рецидива, количество aberrантных клеток равно  $3,33 \pm 2,60$ . Уровень мутагенеза, т.е. частота aberrаций, составил  $4,89 \pm 5,30\%$ , а число поврежденных хромосом, в свою очередь, оказалось равно  $6,33 \pm 7,94$ . Соотношение типов aberrаций меняется, теперь преобладают хромосомные aberrации – 73%, а хроматидные составляют всего 27%. Изменения заметны и в структуре кариотипических нарушений. Количество ацентрических фрагментов уменьшается до 59%, частота встречаемости хромосомных обменов возрастает более чем в два раза – 41%, а хроматидные обмены не встречаются вовсе.

При сравнении показателей мутагенеза при первичном поступлении больных ЗЛ и при рецидивах с помощью критерия Фишера обнаружались статистически значимые различия по числу поврежденных хромосом ( $F = 6,14$ ) и по количеству хромосомных обменов ( $F = 6,06$ ). Оба показателя значительно выше при рецидиве ЗЛ, чем при первичном поступлении больных.

Таким образом, в результате исследования было установлено, что при первичном поступлении больных ЗЛ и при рецидиве уровень спонтанного мутагенеза отличается в незначительной степени –  $4,47 \pm 3,95$  и  $4,89 \pm 5,30\%$ , соответственно. Однако при рецидиве наблюдается статистически подтверждаемое увеличение частоты встречаемости хромосомных обменов с  $0,83 \pm 1,53$  до  $2,00 \pm 3,77$ , вследствие чего увеличивается и общее число поврежденных хромосом. Количество одиночных и парных фрагментов при этом практически не меняется. Все это говорит о том, что при рецидиве картина нарушений, происходящих в генетическом аппарате лимфоцитов, не только не изменяется, но и усугубляется. Увеличивается частота мутаций, происходящих во время удвоения хромосом в период интерфазы. Это свидетельствует о том, что при рецидивах негативные изменения в лимфоцитах происходят на более ранних стадиях их формирования, чем при первичных случаях заболевания ЗЛ.

### *Список литературы*

1. Богатырева Т., Павлов В., Шкляев С. Рецидивы лимфомы ходжкина: возможности продления жизни без высокодозной химиотерапии. // Врач. – 2012. – №11. – С. 7–8.
2. Давыдов М. И., Ганцев Ш. Х. Онкология: учебник. – 2010. – 920 с.
3. Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И. Хромосомы человека. Атлас. – М.: Медицина, 1982. — 263 с
4. Новик А.А., Белохвостов А.С. Молекулярно-генетический подход к диагностике злокачественных лимфом. // Вопросы онкологии. – 1998. – №3. – С.274–279.

5. Поддубная И.В. Лечение индолентных неходжкинских лимфом. // Практическая онкология. – 2004. – Т. 5, № 3. С. 205–206.

6. Чехун В.Ф. Современные молекулярно-биологические аспекты В-клеточных неходжкинских злокачественных лимфом. // Здоровье Украины. – 2008. – № 2/1. – С. 40–41.