

A 03.00.04
P - 203

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Հ. ԲՈՒՆԻԱԹՅԱՆԻ ԱՆՎԱՆ ԿԵՆՏՐԱԲԻՄԻԱՅԻ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՂԱՐԻՔՅԱՆ ԱՆՆԱ ԼԵՎՈՆԻ

ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՄԱՆ ԹԱՂԱՆԹԱՅԻՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԸ
ՔՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԼԻՄՖՈԼԵՅԿՈՉՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ

9.00.04 «Կենսաքիմիա»

մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի

գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

Ս Ե Ղ Մ Ա Գ Ի Ր

ԵՐԵՎԱՆ – 2002

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ ИМЕНИ Г.Х.БУНЯТЯНА

ГАРИБЯН АННА ЛЕВОНОВНА

МЕМБРАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЛИПИДНОЙ МОДИФИКАЦИИ В
ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ
ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени кандидата

биологических наук по специальности

03.00.04 – "Биохимия"

ЕРЕВАН – 2002,

Ատենախոսության բեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Սոլելուկային կենսաբանության ինստիտուտի գիտական խորհրդում:

Գիտական ղեկավար կենս. գիտ. դոկտոր Յու.Վ. Թադևոսյան
Պաշտոնական ընդդիմախոսներ կենս. գիտ. դոկտոր Գ.Ա. Գևորգյան
կենս. գիտ. թեկնածու Կ.Ա. Ղազարյան
Առաջատար կազմակերպություն Երևանի Ս. Չերազու անվան Պետական Բժշկական համալսարանի կենսաքիմիայի ամբիոն

Պաշտպանությունը կայանալու է 2002 թ. *հունիսի 25* -ին, ժ. *12* -ին

ՀՀ ԳԱԱ Գ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտին կից 042 մասնագիտացված խորհրդի նիստում (375014, Երևան, Պարույր Սևակի 5/1):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ինստիտուտի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքված է «*24*» *հուլիսի* 2002թ.

Սասնագիտացված խորհրդի գիտական քարտուղար կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆ. *Ա. Բարսեղյան* Ա.Ա. Սիմոնյան

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета Института Молекулярной биологии НАН РА.

Научный руководитель: доктор биол. наук. Ю.В. Тадевосян

Официальные оппоненты: доктор биол. наук Г.А. Геворкян
кандидат биол. наук. К.А. Казарян

Ведущая организация: Кафедра биохимии
Ереванского Государственного
Медицинского университета им. М.
Гераци

Защита состоится «*25*» *июня* 2002 г. в *12* ч. на заседании специализированного совета 042 при Институте биохимии им. Г.Х.Бунятыана НАН РА (375014, Ереван, ул. Паруйра Севака 5/1).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биохимии.

Автореферат разослан «*24*» *мая* 2002 г.

Ученый секретарь специализированного совета,
доктор биол. наук, проф. *В.Симонян* 1857-2002 А.А. Симонян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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

В процессе малигнизации затрагиваются такие жизненно важные функции клетки как пролиферация, дифференциация, межклеточные контакты, трансмембранные процессы, защитные реакции и др. В осуществлении всех этих функций, а также в механизмах действия различных этиологических факторов канцерогенеза ключевую роль играет плазматическая мембрана (ПМ) клетки.

Среди широко обсуждаемых в литературе многочисленных гипотез этиологии злокачественных новообразований (вирусная, генная или промоторная, химическая, радиационная и др.), на наш взгляд, особого внимания заслуживает гипотеза "мембранной аутогибридизации", предполагающая исходную дефектность плазматической мембраны как первопричины канцерогенеза. С точки зрения последней особую значимость приобретают возможные патологические сдвиги в быстрых и обратимых процессах липидной модификации в липопротеиновом бислое ПМ злокачественно трансформированных клеток. В этом плане интересны данные литературы (Clevenger C.V et.al, 1994, Volpe P. et.al, 1993), свидетельствующие о липид-зависимости или липид-регулируемости большинства процессов, осуществляемых мембранными белками в норме. Примечательны также нарушения, обнаруженные в мембранных механизмах сигнальной трансдукции (Lee Y.H, et.al, 1995, Smith M.R., et.al, 1998), в активностях отдельных ферментных систем липидной модификации (Kumada T. et.al. 1996) и физико-химических свойствах липидного бислоя (Connor J. et.al, 1991) в различных злокачественно трансформированных клеточных популяциях.

Однако, и по сей день остаются относительно скудными и противоречивыми данные литературы как о функционировании различных сигнальных систем и кооперативных процессов модификации липидного компонента мембранного бислоя в злокачественно трансформированных клетках, так и о механизмах действия химиотерапевтических средств.

Цель и задачи исследования. Основной целью диссертационной работы является сравнительное исследование процессов модификации фосфолипидов (ФЛ) ПМ лимфоцитов крови практически здоровых доноров, больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) и последних, прошедших полный курс химиотерапии как в состоянии относительного покоя, так и при инициации фосфоинозитидного цикла (ФИ-цикл) клеток.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие основные задачи:

1. Провести сравнительный анализ качественно-количественного состава мембранных ФЛ лимфоцитов в норме, при ХЛЛ и после полного курса химиотерапии.

2. Исследовать закономерности кратковременного (5 сек) и более длительного (60 мин) включения и процентного распределения [^{14}C]олеиновой (ОК) и [^{14}C]пальмитиновой (ПК) кислот в ФЛ ПМ покоящихся лимфоцитов доноров, больных ХЛЛ и таковых после курса химиотерапии.

3. Изучить закономерности процессов модификации [^{14}C]ОК- и [^{14}C]ПК- содержащих ФЛ в динамике (5-60 секунд) инициации ФИ-цикла лимфоцитов конканавалином А (Кона) и Т-активином.

4. Провести сравнительный анализ активностей фосфолипаз А₁, А₂, С и лизофосфолипазы ПМ лимфоцитов в норме, при ХЛЛ, а также *in vivo* действие химиотерапии на них.

Научная новизна работы. Результаты экспериментов по краткосрочной (5 сек) и относительно более длительной (60 мин) модификации жирнокислотного состава ФЛ покоящихся лимфоцитов больных ХЛЛ по сравнению с нормой выявили достоверные нарушения в процессах как ацилирования, так и межфракционных взаимопревращений мембранных ФЛ. Эти данные, а также результаты исследований качественно-количественного состава ФЛ в норме и при ХЛЛ указывают на наличие в ПМ лимфоцитов исходно различных "метаболических статусов покоя".

Впервые при ХЛЛ по сравнению с нормой показаны закономерные и достоверные различия в кооперативных мембранных механизмах модификации ФЛ в различные сроки стимуляции клеток митогенным лектином Кона и Т-активином.

Впервые обнаружен достоверный нормализующий эффект химиотерапии на нарушения в определенных липид-модифицирующих механизмах, выявленные при ХЛЛ. Как эти нарушения, так и нормализующий эффект химиотерапии четче выражены на мембраносвязанной (5 сек) фазе сигнальной трансдукции, что указывает на их мембрана-ассоциированный характер.

Результаты, представленные в данной работе, подтверждают ранее сделанное нами предположение о развитии при ХЛЛ дефектов в кооперативных механизмах модификации липидного компонента ПМ как в состоянии относительного покоя, так и при инициации ФИ-цикла лимфоцитов. Отдельные звенья отмеченных механизмов выступают также в качестве мембранных мишеней для химиотерапии, применяемой в клинике ХЛЛ.

Практическое значение работы. Полученные данные позволяют по новому осветить возможные молекулярно-биологические и биохимические механизмы вовлечения липидного компонента мембран лимфоцитов в этиопатогенез ХЛЛ. Представленный экспериментальный материал открывает новые перспективы для дальнейших исследований, направленных на выяснение возможной общности выявленных нами закономерностей этиопатогенеза различных типов раковых новообразований.

Результаты исследований активностей отдельных липид-модифицирующих ферментных систем могут быть использованы в качестве дополнительных тестовых параметров как для оценки наличия и глубины патологического процесса, так и предварительного индивидуального уточнения интенсивности курса химиотерапии, применяемого в клинике отмеченного заболевания.

Апробация диссертационной работы. Результаты работы докладывались: на научной конференции, посвященной 30-летию основания отделения биофизики биологического факультета ЕГУ, Ереван, 1996; на конференции, посвященной 30-летию основания института молекулярной биологии НАН РА, Ереван, 1997; на научной конференции посвященной 70-летию ЕрГМУ, Ереван, 1997; в лаборатории "Репродуктивной эндокринологии" Каролинского медицинского института, Стокгольм, 2000г; на заседании Ученого Совета института молекулярной биологии НАН РА, Ереван, 2001.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ (5 статей и 3 тезиса).

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 123 страницах и содержит 1 схему и 27 рисунков. Библиография включает 244 источника литературы.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания примененных методов исследования, изложения полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка используемой литературы.

В Главе 1. ("Обзор литературы") изложены современные представления о фосфоинозитидном пути сигнальной трансдукции и формировании клеточных ответов, о ферментных системах модификации мембранных липидов в норме и при злокачественных заболеваниях, а также приведены данные литературы о влиянии химиотерапевтических средств на сигнальные системы и механизмы липидной модификации мембран различных злокачественно трансформированных клеток.

Краткое содержание остальных глав приводится ниже.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Лимфоциты периферической крови человека выделяли по методу Иннеса (Innes J., et. al, 1979). Интактность клеток, определяемая окрашиванием трипановым синим, составляла более 90%.

Предварительное мечение клеток 1-[^{14}C]ОК или 1-[^{14}C]ПК (сп. акт. 52 и 54 мКи/ммоль, соответственно, фирмы Amersham, Великобритания) осуществляли по общепринятой методике (Manning R., 1983) в культуральных средах Игла и RPMI. Клетки (10^5 - 10^6 клеток в мл) стимулировали Кона (2 мкг/мл) или Т-активином (5мкг/мл), в присутствии или в отсутствие мепакрина (50 мкМ). Через 5, 10, 30 и 60 сек или 60 мин реакцию останавливали 2 мл холодной смеси хлороформ-метанола (1:2 объем/объем).

Для получения ПМ, ресуспендированные в 50 мМ трис-НСl буфере (рН 7,4) интактные лимфоциты были разрушены ультразвуковым дезинтегратором УЗДН-2Т (2 x 10 сек, 22кГц) с последующим поэтапным (500, 4000 и 20000 г) центрифугированием гомогената на центрифуге К-24.

Активности ФЛаз А₁, А₂ и С в мембранной фракции лимфоцитов определяли (Van Den Bosh H., 1980) в среде трис-НСl (рН 7.4) буфера с использованием 1-ацил-2-[¹⁴С]олеоил-фосфатидилхолина (сп. акт. 58 мКи/ммоль, "Amersham", Великобритания) в качестве экзогенного субстрата. При определении ЛФЛазной активности (Van Den Bosh H., 1973) использовали 1-[¹⁴С]пальмитоил-ЛФХ (сп. акт. 55 мКи/ммоль "Amersham", Великобритания). В реакционную среду вводили также по 20 нМ соответствующих немеченых субстратов, 50-150 мкг мембранного белка, по 5 мМ Са²⁺, Mg²⁺ или по 5 мМ ЭГТА и ЭДТА.

Экстракцию ФЛ и нейтральных липидов (НЛ) проводили по методу Блай и Дайера (Bligh E.G. & Dyer W.I., 1959).

Липидные смеси фракционировали методом одномерной одноэтапной либо двухэтапной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках, приготовленных на основе силикагелей типа "Н" ("Sigma", США) или КСК (Эстония). Разделение ФЛ осуществляли в системах растворителей хлороформ-ацетон-метанол-уксусная кислота-вода (6:8:2:2:1, объем/объем) или хлороформ-метанол-уксусная кислота-вода (25:15:4:2, объем/объем). НЛ фракционировали в системе петролейный эфир-диэтиловый эфир-муравьиная кислота (30:20:1, объем/объем).

Распределение радиоактивности в идентифицированных соответствующими стандартами (Sigma, США) и проявленных в парах иода липидных фракциях определяли сканированием ТСХ пластинок на радиосканере "Berthold" (Германия). Степень радиоактивности проб определяли в жидкости Брея на сцинтилляционном спектрометре "Roche-Bioelectronique Kontron", модель SL-4221, Франция.

Количественное определение ФЛ проводили по методу Эрнстера и сотр. (Ernster I.R., et.al, 1950).

Белок определяли по методу Лоури (Lowry O.H., et.al, 1951). Полученные данные подвергали статистической обработке по методу Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1.1 Липидный компонент клеточной мембраны нестимулированных лимфоцитов в норме, при ХЛЛ и после курса химиотерапии

Основным морфо-функциональным образованием клетки является ее ПМ, участвующая в регуляции всех жизненно важных клеточных функций, обеспечивающих ее целостность и связь с внешней средой.

В последние годы резко повысился интерес ученых к изучению мембраносвязанных процессов, особенностей функционирования белковых молекул, вовлеченных в работу различных мембранных систем

как в норме, так и в условиях различных патологий. Однако подобные исследования в области мембранной липидологии при ХЛЛ весьма скудны, а результаты противоречивы.

Имеющиеся немногочисленные публикации (Тадевосян Ю.В. и др., 1993, 1996 Ilangumaran S. et.al, 1996, Yang D. et.al, 1997, Surviladze Z. et.al, 1998) указывают на клеточную мембрану, как на целостную кооперативную систему, представляющую собой совокупность различных относительно автономных липопротеиновых доменов (сигнальные, транспортные и др.). Липидный компонент этих доменов участвует в обеспечении условий для оптимального функционирования различных мембраносвязанных белковых молекул быстрыми и обратимыми реакциями модификации (деацилирования, реацилирования, диацетилазного гидролиза, декарбоксилирования, трансметирирования и др.) 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 (Farge E. 1995). Совокупность последних обозначен нами как "метаболический статус покоя", который при активации клеток различными агонистами обуславливает специфику как ранних мембраносвязанных процессов, так и формирующихся клеточных ответов.

Исходя из вышеизложенного, начальным этапом наших исследований явилось сравнительное изучение качественно-количественного состава и особенностей жирнокислотной модификации ФЛ компонента ПМ лимфоцитов практически здоровых доноров, первичных (не принимавших химиотерапию) больных ХЛЛ и после получения последними полного курса химиотерапии.

Согласно результатам исследований, в изолированных мембранах лимфоцитов больных ХЛЛ, по сравнению с нормой, обнаружены (рис. 1) ярко выраженные сдвиги в абсолютном содержании (мкг Фн/мг белка) индивидуальных ФЛ фракций. Так, в мембранах ХЛЛ-клеток резко повышен уровень фосфатидилхолинов (ФХ) и их лизопроизводных (в 2 и 3 раза, соответственно), что может быть следствием как возможного сдвига уравновешенных в норме реакций деацилирования-реацилирования ФЛ в сторону синтетических процессов, так и подавления реакций деацилирования. Примечательно более чем двукратное повышение содержания также и фосфатидилэтаноламинов (ФЭ) на фоне достоверного трехкратного уменьшения содержания фосфатидилсеринов (ФС), свидетельствующее о нарушениях в системе межфракционных взаимопревращений ФЛ при ХЛЛ, в норме осуществляемой по схеме $ФС \rightarrow ФЭ \rightarrow ФХ$.

При ХЛЛ по сравнению с нормой выявлено некоторое увеличение количества сфингомиелинов (СФМ) и не обнаружено достоверных изменений в содержании фосфатидилинозитов (ФИ) в мембранах лимфоцитов. Эти данные свидетельствуют о возможной инертности СФМ и ФИ сигнальных систем в ХЛЛ-лимфоцитах, что подтверждается одновременным двукратным уменьшением содержания фракции фосфатидных кислот (ФК).

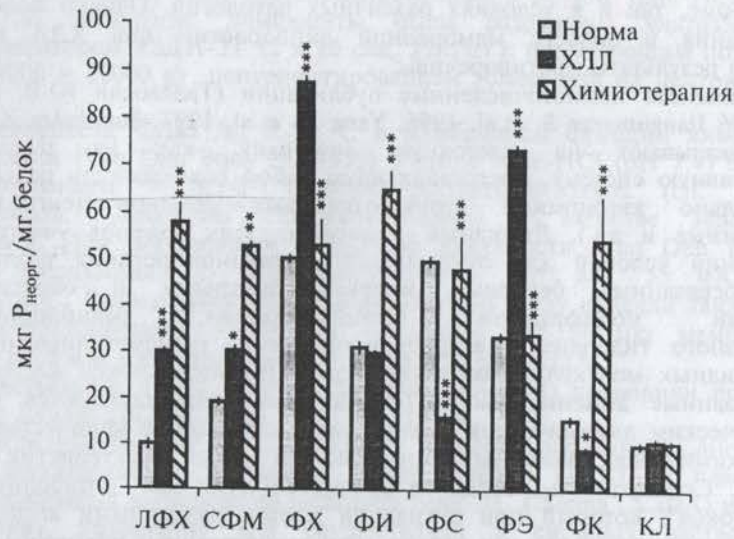


Рис. 1. Содержание фосфолипидов (мкг P_н/мг белка) в изолированных мембранах лимфоцитов практически здоровых доноров, больных ХЛЛ и после курса химиотерапии.
Примечание: Здесь и на следующих рисунках * - P < 0.05; ** - P < 0.01; *** - P < 0.001

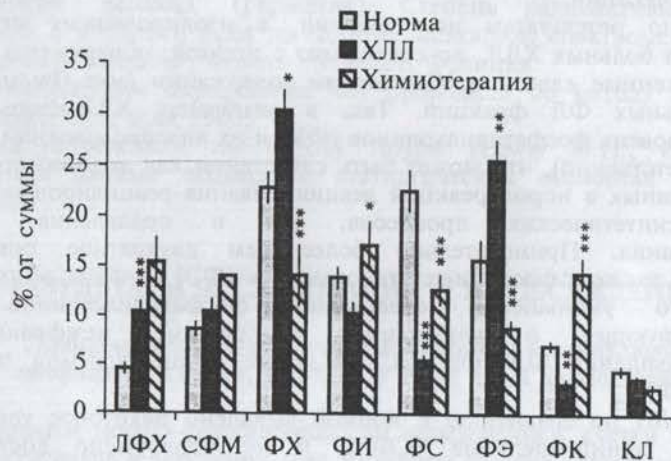


Рис. 2. Относительное содержание (% от суммы) фосфолипидов мембран лимфоцитов в норме, при ХЛЛ и после курса химиотерапии.

В мембранах лимфоцитов тех же больных, но прошедших полный курс химиотерапии, содержание ФХ, ФС и ФЭ фракций в ПМ достигает уровня нормы, что указывает на нормализацию процессов межфракционных взаимопревращений этих, близких по строению ФЛ. Резкое повышение уровня лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) в этих условиях указывает на возможное подавление лизофосфолипазной (лизоФЛаза) активности. Многократное увеличение содержания ФИ и ФК позволяет предположить вероятную активацию ФИ-цикла в лимфоцитах больных ХЛЛ после курса химиотерапии.

Расчеты относительных количеств ФЛ (% от суммы ФЛ) выявили (рис.2) достоверное уменьшение при ХЛЛ содержания лишь ФС фракции. Количественные сдвиги остальных ФЛ фракций по сравнению с нормой колебались в пределах $\pm 10\%$, что является свидетельством возможного сохранения определенного, свойственного для нормы, статуса ФЛ компонента ПМ лимфоцитов больных ХЛЛ, обеспечивающего целостность клеток в различных функциональных и патологических состояниях. После курса химиотерапии в относительном содержании ФЛ ПМ лимфоцитов больных ХЛЛ наблюдались сдвиги в сторону нормализации, зачастую даже превышающие (ФХ, ФЭ, ФК) их уровни нормы.

Обобщая вышеизложенные экспериментальные данные, можно предположить наличие дефектных звеньев как в процессах деацилирования-реацилирования, так и в механизмах межфракционных взаимопревращений мембранных ФЛ при ХЛЛ, являющихся, по всей вероятности, мембранными мишенями для применяемой в клинике химиотерапии.

Данные литературы (Тадевосян Ю.В. и др., 1987, 1992, 1993, 1996, Drummond A.H., 1986, Hamaasaki Y. et.al., 1997, Visnjic D. et.al., 1997) свидетельствуют, что действие любого внешнего сигнала на клетку, в зависимости от его длительности и интенсивности, может привести к кратковременным или хроническим, обратимым либо необратимым сдвигам в динамически уравновешенном "метаболическом статусе покоя" мембранных липопротеиновых доменов. На этом фоне возможны специфические изменения закономерностей быстрых и обратимых кооперативных процессов модификации липидного бислоя при агонист-индуцированной стимуляции клеток. Известно (Тадевосян Ю.В. и др., 1987, 1996, Anderson L. et.al, 1995, Breshnahan B.A. et.al, 1996, Murthy K.S. et.al, 1995), что подобные сдвиги в липид-модифицирующих процессах происходят в течение первых же секунд действия агониста, при которых может реализовываться лишь внутримембранный потенциал отмеченных механизмов.

В условиях относительно более длительного (минуты) действия агонистов процессы, протекающие как в ПМ, так и внутри клетки приобретают новый, относительно устойчивый характер и в этот процесс могут быть вовлечены различные внутриклеточные компенсаторные механизмы, в частности, *de novo* синтеза, транспорта липидов и др.

Несомненно, что длительное воздействие различных внешних или внутриклеточных патогенных факторов (зачастую неизвестных) на клетку, приводит к установлению нового, хронически измененного

метаболического статуса покоя мембраны, в становление которого могут быть вовлечены и патологически трансформированные дефектные звенья механизмов липидной модификации.

В связи с вышеизложенным, далее нами были проведены сравнительные исследования закономерностей быстрого (5 сек) и относительно более длительного (60 мин) включения и процентного распределения специфичного для клеток, но рецептор-неопосредуемого сигнала - [¹⁴C]ОК, в мембранных ФЛ покоящихся лимфоцитов здоровых доноров и больных ХЛЛ до и после принятия ими курса химиотерапии.

Инкубация нормальных лимфоцитов с [¹⁴C]ОК в течение 60 мин приводила (рис.3) к преимущественному накоплению метки (более 50% от суммы общей включенной радиоактивности) во фракцию ФХ. Результаты аналогичных исследований с меченой ПК обнаружили сходную закономерность.

В идентичных условиях эксперимента и в отличие от нормы, в ХЛЛ-лимфоцитах наибольшее накопление [¹⁴C]ОК наблюдалось во фракции ФЭ (более 50%). Обнаружено также резкое уменьшение содержания меченых ФХ и ФС, а также отсутствие достоверных изменений в количестве ЛФХ и ФИ по сравнению с нормой.

Интересно, что после получения теми же больными полного курса химиотерапии обнаружена некоторая тенденция к нормализации в процессах включения и процентного распределения меченой ОК во фракциях ФЭ и ФС на фоне отсутствия достоверных сдвигов в содержании ЛФХ и ФХ. Многократно повышенный уровень ФИ фракции, ацилированной [¹⁴C]ОК, соответствует описанным выше данным (рис.1) по увеличению абсолютного количества этого ФЛ после химиотерапии.

Как было отмечено выше, при краткосрочном (в течение секунд) воздействии агонистов на клетки процессы липидной модификации ПМ осуществляются только внутримембранными механизмами. Исследования закономерностей быстрого (5 сек) включения [¹⁴C]ОК в ФЛ лимфоцитов доноров выявили (рис.4) преимущественное включение ее во фракцию ФС. Обнаруженное нами в норме наибольшее накопление метки во фракции ФХ при 60 мин инкубации, по всей вероятности, является следствием последующей активации фракционных взаимопревращений близких по строению ФЛ по схеме ФС→ФЭ→ФХ.

В отличие от нормы, в злокачественно трансформированных клетках наибольшее накопление метки наблюдалось (как и при 60 мин инкубации) во фракции ФЭ на фоне резкого подавления процесса ацилирования фракций ЛФХ, ФХ, ФИ и ФС. Аналогичные результаты были получены и в экспериментах по быстрому включению [¹⁴C]ПК в ФЛ лимфоцитов больных ХЛЛ (данные не приведены).

Примечательно, что обнаруженные при ХЛЛ нарушения в процессах включения [¹⁴C]ОК в середине курса химиотерапии имели тенденцию к нормализации. Более достоверный характер эти изменения приобретали после окончания полного курса лечения.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что обнаруженные нами впервые закономерные нарушения в процессах деацилирования-реацилирования и межфракционных взаимопревращений различных

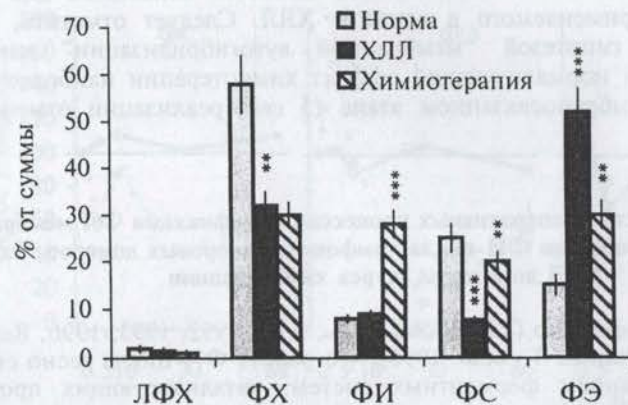


Рис. 3. 60 мин включение и процентное распределение [¹⁴C]олеиновой кислоты в мембранные фосфолипиды лимфоцитов доноров, больных ХЛЛ и последних, прошедших курс химиотерапии

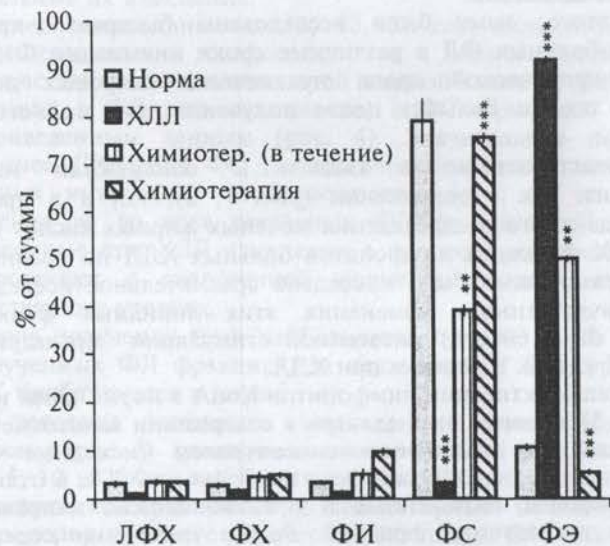


Рис. 4. 5 сек включение [¹⁴C]олеиновой кислоты в мембранные фосфолипиды лимфоцитов доноров, больных ХЛЛ, в середине и после полного курса химиотерапии.

мембранных ФЛ лейкоцитарных клеток, являются мишенями для курса химиотерапии, применяемого в клинике ХЛЛ. Следует отметить, что в соответствии с гипотезой "мембранной аутогибридизации" как эти нарушения, так и нормализующий эффект химиотерапии наиболее четко выражены на мембраносвязанном этапе (5 сек) реализации отмеченных процессов.

1.2 Закономерности кооперативных процессов модификации ФЛ мембран на ранних этапах инициации ФИ-цикла лимфоцитов здоровых доноров, больных ХЛЛ до и после курса химиотерапии

Ранее было показано (Тадевосян Ю.В., и др. 1992, 1993, 1996; Reynolds L.J., et.al, 1993; Shimizu T., et.al, 1996), что работа ФИ-цикла тесно связана с функционированием ферментных систем, катализирующих процессы липидной модификации мембранного бислоя различных типов клеток. Известно также (Kogteva G.S., et.al, 1998, Margy N., et.al, 1996, Visnjic D., et.al, 1997), что ряд продуктов деятельности этих ферментов (свободные жирные кислоты, лизопродукты ФЛ и др.) являются регуляторами активности различных белков - компонентов ФИ-цикла. Вышеизложенное свидетельствует об участии ФЛ компонента мембран клеток в регуляции процессов функционирования ФИ-цикла на ранних этапах лиганд-рецепторных взаимодействий.

Исходя из этого, нами были исследованы быстрые процессы модификации мембранных ФЛ в различные сроки инициации ФИ-цикла лимфоцитов периферической крови практически здоровых доноров, больных ХЛЛ и тех же больных после получения ими полного курса химиотерапии.

Данные, представленные в главе 1.1. обнаружили наиболее выраженные сдвиги как в содержании (рис. 1, 2), так и в процессах включения и процентного распределения меченых жирных кислот (рис. 3, 4) в ФС, ФЭ, ФХ фракциях лимфоцитов больных ХЛЛ по сравнению с нормой. В этой связи нами было проведено сравнительное исследование возможного количественного изменения этих липидных фракций в динамике (5, 10, 30 и 60 сек) митогенной стимуляции предварительно меченых [¹⁴C]ПК клеток в норме и при ХЛЛ.

На ранних этапах активации лимфоцитов Кона в норме нами не было обнаружено (рис. 5) значительных сдвигов в содержании вышеотмеченных липидных фракций по сравнению с контролем (исходные уровни включенной радиоактивности). В лимфоцитах больных ХЛЛ, в отличие от нормы, были выявлены выраженные и противоположно направленные сдвиги в уровнях исследуемых фракций. Резкое увеличение содержания ФЭ на фоне уменьшения количества меченых ФХ и ФС на 5 сек опыта свидетельствует о нарушениях в процессах взаимопревращений близких по строению ФЛ при ХЛЛ, что соответствует представленным выше (рис. 1, 3, 4) результатам экспериментов.

Таким образом, на ранних этапах митогенной активации ХЛЛ-клеток обнаружены значительные нарушения модификации основных ФЛ

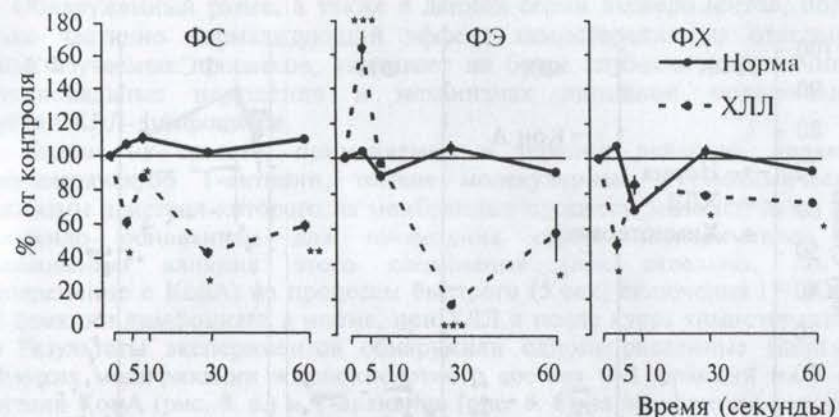


Рис. 5. Динамика Кона индуцированных сдвигов в содержании основных мембранных фосфолипидов, предварительно меченных [¹⁴C]-пальмитиновой кислотой в лимфоцитах доноров и больных ХЛЛ.

фракций мембраносвязанными механизмами, в норме обеспечивающими минимальные их изменения.

Исследование динамики (5, 10, 30 сек) включения [¹⁴C]ОК в ФЛ нестимулированных лимфоцитов в норме (рис. 6) выявило преимущественное накопление этой жирной кислоты (более 70% от суммы включенной в ФЛ радиоактивности) в ФС фракцию, что соответствует вышеприведенным данным (рис. 4). Значительное понижение уровня включенной [¹⁴C]ОК в ФС лейкоцитарных клеток во всех исследуемых временных интервалах сопровождается (рис. 6) усилением процесса накопления ее во всех остальных ФЛ фракциях. Примечательно, что обнаруженные при ХЛЛ изменения в процессе включения меченой ОК в ФЛ протекают с аналогичной норме динамикой, но на различных количественных уровнях.

После получения теми же больными полного курса химиотерапии во всех изученных ФЛ фракциях, за исключением ФИ, уровень включения [¹⁴C]ОК приближается к норме.

В условиях активации нормальных клеток Кона нами было обнаружено (рис. 7) плавное изменение уровней включения меченой ОК в ФЛ на 5, 10 и 30 сек действия митогена. На наш взгляд, это объясняется интенсификацией различных компенсаторных механизмов метаболизма ФЛ, скооперированных с процессами активации ФИ-цикла.

Необходимо заметить, что в идентичных условиях эксперимента динамика включения [¹⁴C]ОК в мембранные ФЛ лимфоцитов больных ХЛЛ, в основном, подвергается диаметрально противоположным сдвигам по сравнению с нормой. После полного курса химиотерапии, полученного теми же больными, уровень включения жирной кислоты в ФЛ фракции приближается к норме.

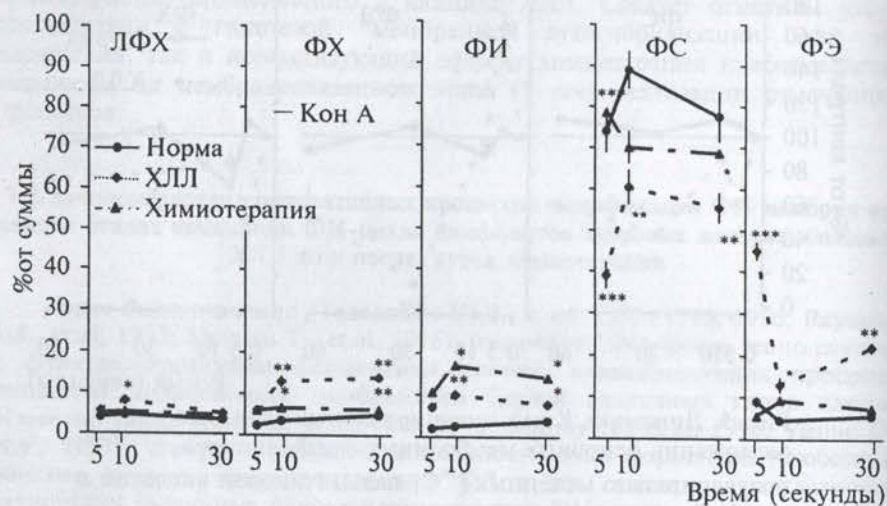


Рис.6. Динамика включения $[^{14}\text{C}]$ олеиновой кислоты в отдельные фракции фосфолипидов нестимулированных лимфоцитов в норме, при ХЛЛ и после курса химиотерапии.

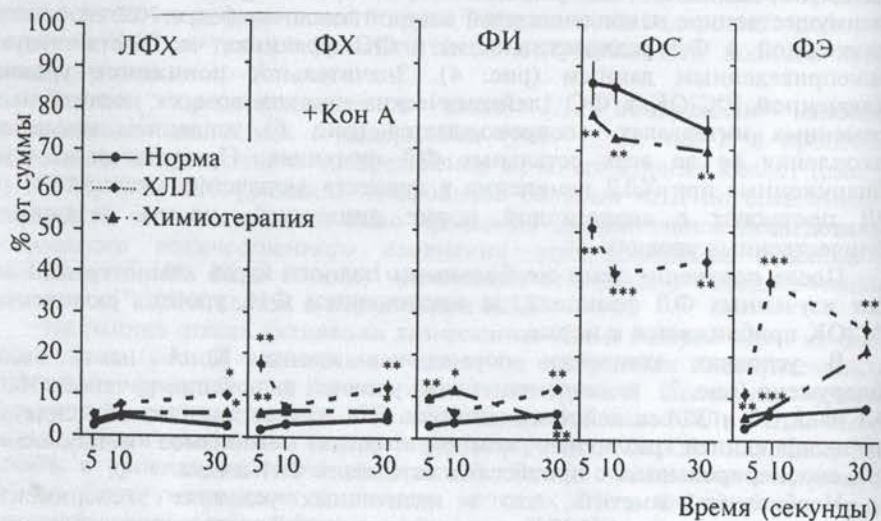


Рис.7. Динамика включения $[^{14}\text{C}]$ олеиновой кислоты в отдельные фракции фосфолипидов при митогенной стимуляции лимфоцитов здоровых доноров и больных ХЛЛ до и после курса химиотерапии.

Обнаруженный ранее, а также в данной серии экспериментов, порой только частично нормализующий эффект химиотерапии на отдельные звенья изучаемых процессов, указывает на более глубокие и устойчивые функциональные нарушения в механизмах липидной модификации мембран ХЛЛ-лимфоцитов.

Одним из средств, применяемых в терапии лейкозов, является иммуномодулятор Т-активин, тонкие молекулярные и биохимические механизмы действия которого на мембранные процессы мало изучены. Это послужило основанием для проведения серии экспериментов по исследованию влияния этого соединения (как отдельно, так и одновременно с КонаА) на процессы быстрого (5 сек) включения $[^{14}\text{C}]$ ОК в ФЛ фракции лимфоцитов в норме, при ХЛЛ и после курса химиотерапии.

Результаты экспериментов обнаружили однонаправленные сдвиги в процессах модификации жирнокислотного состава ФЛ фракций на 5 сек действия КонаА (рис. 8. а.) и Т-активина (рис. 8. б) на лимфоциты доноров, а также диаметрально противоположные (рис. 8. в) - при одновременном введении этих соединений в среду инкубации. Это позволило нам предположить о возможном однотипном действии на лимфоциты Т-активина и КонаА через активацию ФИ-цикла, а также о проявлении быстрых (5 сек) эффектов действия иммуномодулятора только на фоне митогенной стимуляции клеток.

Отметим, что результаты аналогичных экспериментов с лимфоцитами больных ХЛЛ выявили (рис. 8. а, б, в), в основном, противоположно направленные, по сравнению с нормой, сдвиги во всех трех вариантах экспериментов. После курса химиотерапии наблюдаемые нарушения в механизмах включения ОК в мембранные ФЛ почти во всех случаях проявляли тенденцию к нормализации.

Одним из наиболее удобных методов обнаружения изменений в активностях ферментных систем модификации липидов ПМ клеток является применение различных активаторов или ингибиторов этих ферментов. Исходя из вышеизложенного, в качестве подобного средства нами был использован ингибитор деацилаз ФЛ - мепакрин.

Инкубация нормальных лимфоцитов с мепакрином в течение 1 ч обнаружила (рис. 9) значительные изменения в процессах включения $[^{14}\text{C}]$ ОК во фракции ФИ, ФС и ФЕ по сравнению с эффектом только КонаА. Воздерживаясь от обсуждения различных конкретных механизмов, возможно, ответственных за эти сдвиги в присутствии мепакрина, следует констатировать факт нарушения этим, несвойственным для клеток соединением нормального протекания кооперативных процессов модификации липидного компонента ФИ-го сигнального домена при митогенной стимуляции клеток. Результаты аналогичных исследований на лимфоцитах больных ХЛЛ обнаружили (рис. 9) полное отсутствие достоверных сдвигов в отмеченных процессах под действием мепакрина.

Полученные данные подтверждают заключение о наличии при ХЛЛ устойчивых нарушений в механизмах скоротечных кооперативных процессов липидной модификации в пределах ФИ-го липопротенинового сигнального домена, на фоне которых не выявляются эффекты мепакрина, четко обнаруживаемые в нормальных лимфоцитах.

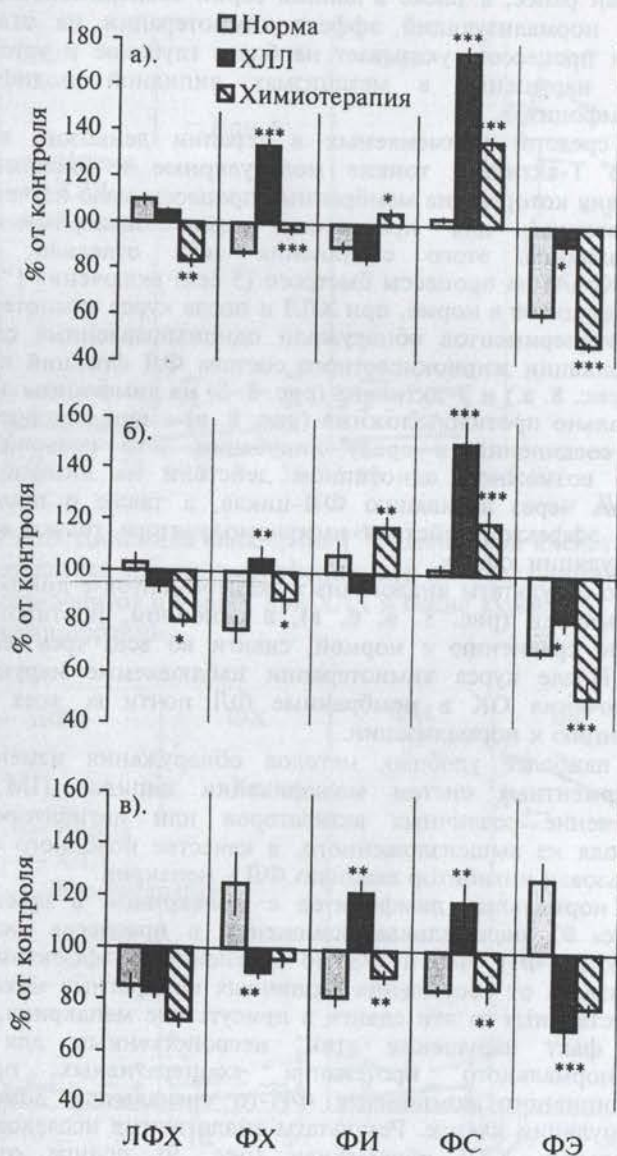


Рис.8. Включение и распределение $[^{14}\text{C}]$ олеиновой кислоты в фосфолипиды лимфоцитарных мембран в течение 5 сек действия КонаА (а.), Т-активина (б.) и одновременного действия КонаА и Т-активина (в.) в норме, при ХЛЛ и после курса химиотерапий.

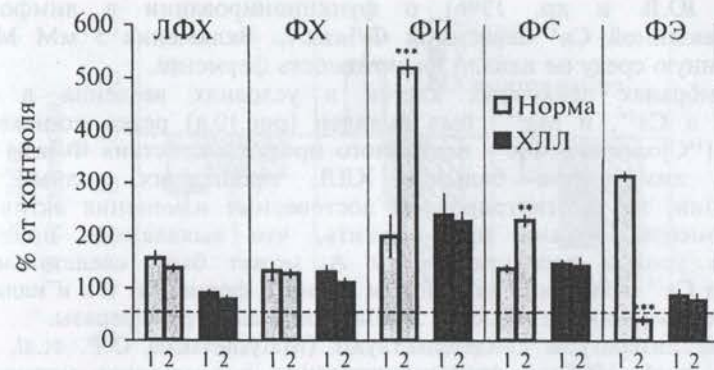


Рис.9. Влияние мепакрина на включение $[^{14}\text{C}]$ олеиновой кислоты в фосфолипиды в условиях митогенной стимуляции лимфоцитов в норме и при ХЛЛ.

Примечание: В качестве контроля использованы данные включения жирной кислоты в фосфолипиды нестимулированных лимфоцитов. 1- чистый эффект КонаА, 2- эффект мепакрина на фоне действия КонаА.

Суммируя изложенные данные, можно заключить, что нарушения процессов модификации мембранных ФЛ как в покоящихся, так и стимулированных различными агонистами лимфоцитах больных ХЛЛ выявляются и на ранних стадиях митогенной стимуляции ФИ-цикла. При этом обнаружен также и определенный нормализующий эффект химиотерапии на отдельные механизмы липидной модификации, нарушенные при ХЛЛ.

1.3 Активности ферментов гидролиза ФХ фракции мембран лимфоцитов доноров и больных ХЛЛ до и после химиотерапии

Приведенные экспериментальные результаты (гл. 1.1, 1.2) свидетельствовали в пользу значительных нарушений в механизмах модификации мембранных ФЛ при ХЛЛ. В этой связи, нами были проведены сравнительные исследования активностей отдельных ферментов деацетилазного и диэстеразного гидролиза ФХ в очищенных ПМ лимфоцитов крови доноров, больных ХЛЛ и этих же больных, получивших в клинике полный курс химиотерапии.

Результаты наших исследований выявили (рис.12), что при включении 5мМ Ca^{2+} в среду инкубации, содержащую 1-ацил-2- $[^{14}\text{C}]$ олеил-ФХ, в мембранах нормальных лимфоцитов стимулирована ФЛазная активность типа A_1 , подавляемая в присутствии Ca^{2+} -хелаторов (ЭГТА и ЭДТА). Эти результаты хорошо согласуются с имеющимися в литературе немногочисленными экспериментальными данными (Bellini F. et.al, 1993,

Тадевосян Ю.В. и др, 1996) о функционировании в лимфоцитах мембраносвязанной Ca^{2+} -зависимой ФЛазы A_1 . Включение 5 мМ Mg^{2+} в инкубационную среду не влияло на активность фермента.

В мембранах лейкозных клеток в условиях введения в среду инкубации и Ca^{2+} , и Mg^{2+} был выявлен (рис.10.а) резко пониженный уровень 2-[^{14}C]олеил-ЛФХ - первичного продукта действия ФЛазы A_1 . В мембранах лимфоцитов больных ХЛЛ, прошедших полный курс химиотерапии, не зарегистрированы достоверные изменения активности этого фермента. Можно предположить, что выявленное при ХЛЛ понижение уровня продукта ФЛазы A_1 может быть следствием как подавления Ca^{2+} -зависимой активности данного фермента, так и наличием в мембранах высоких активностей ЛФЛазы или ацилтрансферазы.

Данные литературы свидетельствуют (Matyshevskaja O.P. et.al, 1994, Cifone M., et.al, 1997) о функционировании в мембранах нормальных лимфоцитов Ca^{2+} -зависимой ФЛазы типа A_2 . Результаты проведенных нами исследований также показали (рис.10.б) наличие в мембранах нормальных лимфоцитов активностей и Ca^{2+} -, и Mg^{2+} -зависимых ФЛаз A_2 , не проявлявшихся при хелатировании этих ионов ЭГТА и ЭДТА. При добавлении в среду по 5 мМ Ca^{2+} и Mg^{2+} , по сравнению с контролем (инкубация субстрата без белка), отмечалось повышение этих активностей примерно в 4 раза и на 80%, соответственно. Что касается мембран лейкозных лимфоцитов, то здесь, по сравнению с нормой, обнаруживалась весьма низкая (25%) активность только Ca^{2+} -зависимой ФЛазы. Как и в случае ФЛазы A_1 , обе активности ФЛазы A_2 не претерпевали достоверных изменений после полного курса химиотерапии.

Помимо вышеотмеченных ФЛаз, в ПМ разных типов клеток локализована также и ФХ-специфичная ФЛазы С (Choquet D. et.al, 1994, Murthy K.S. et.al, 1995), активирующаяся на относительно более поздних этапах как транслокации внешнего сигнала внутрь клетки, так и формирования клеточных ответов (Monick M.M. et.al, 1999, Simarro M. et.al., 1999).

В этой связи нами проведены эксперименты, направленные на возможную идентификацию подобной ферментативной активности в мембранах лимфоцитов доноров и сравнение ее с таковой при ХЛЛ и после химиотерапии.

В мембранах нормальных лимфоцитов обнаружена (рис.10.в) Ca^{2+} -зависимая активность ФХ-специфичной ФЛазы С, которая в присутствии ионов Mg^{2+} не претерпевала достоверных изменений по сравнению с контролем. Результаты этих исследований свидетельствуют также об аномально низкой активности отмеченного фермента в мембранах ХЛЛ-лимфоцитов, в отличие от ФЛазы A_2 , подвергающейся после химиотерапии небольшому, но достоверному сдвигу в сторону нормализации.

На основании сделанного выше предположения о возможном усилении в мембранах злокачественно трансформированных лимфоцитов процессов дальнейшей утилизации ЛФХ путем его деацилирования или реацилирования, в следующей серии экспериментов была осуществлена попытка идентификации и сравнительного анализа активности ЛФЛазы во

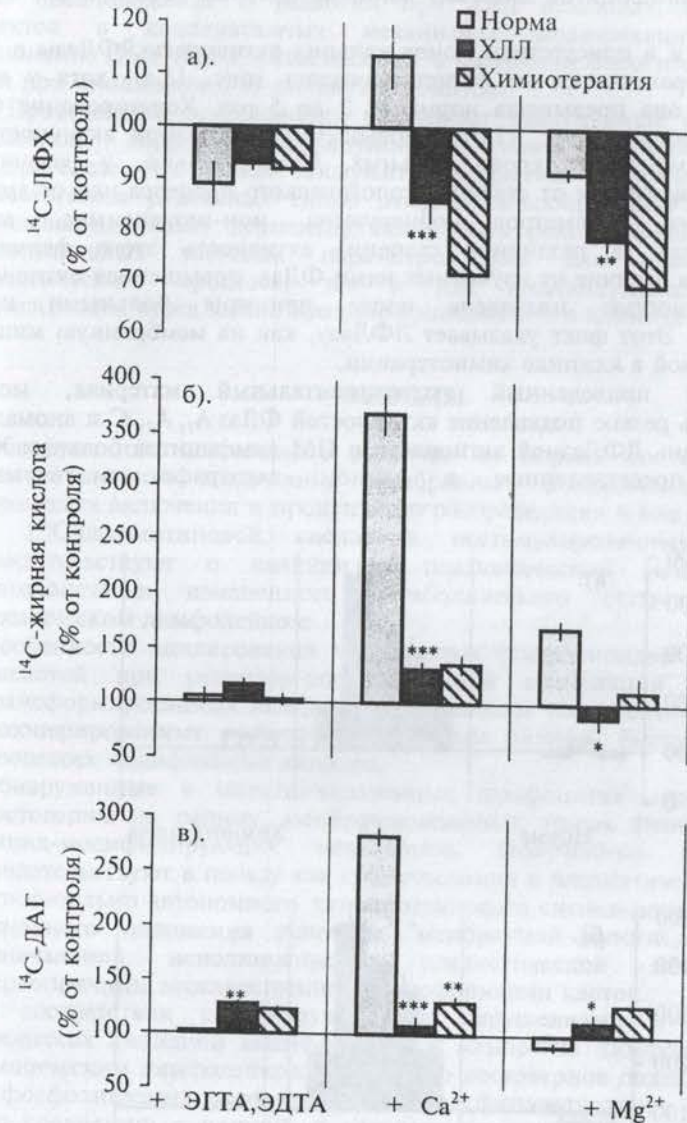


Рис. 10. Активности фосфолипаз A_1 (а), A_2 (б) и С (в) в мембранах лимфоцитов крови доноров, больных ХЛЛ и после курса химиотерапии.

Примечание: Здесь и далее по оси ординат - продукты реакций в процентах от контроля (инкубации без белка).

фракции ПМ лимфоцитов здоровых доноров, больных ХЛЛ и после курса химиотерапии.

В норме и в присутствии ионов кальция активность ЛФЛазы в ПМ лимфоцитов практически не регистрировалась (рис. 11.а), хотя у пяти больных ХЛЛ она превышала норму от 2 до 5 раз. Хелатирование Ca^{2+} ЭГТА не приводило (рис. 11.б) к повышению ЛФЛазной активности в мембранах лимфоцитов крови больных. Следовательно, у различных больных, в зависимости от стадии патологического процесса или от других индивидуальных параметров, обнаружена ион-независимая, резко стимулированная (в различной степени) активность этого фермента. Вместе с тем, в отличие от изученных нами ФЛаз, повышенная активность ЛФЛазы полностью подавлена после принятия больными курса химиотерапии. Этот факт указывает ЛФЛазу, как на мембранную мишень для применяемой в клинике химиотерапии.

Обобщая приведенный экспериментальный материал, можно констатировать резкое подавление активностей ФЛаз A_1 , A_2 , С и аномально высокий уровень ЛФЛазной активности в ПМ лимфоцитов больных ХЛЛ. Результаты, представленные в данном параграфе, подтверждают

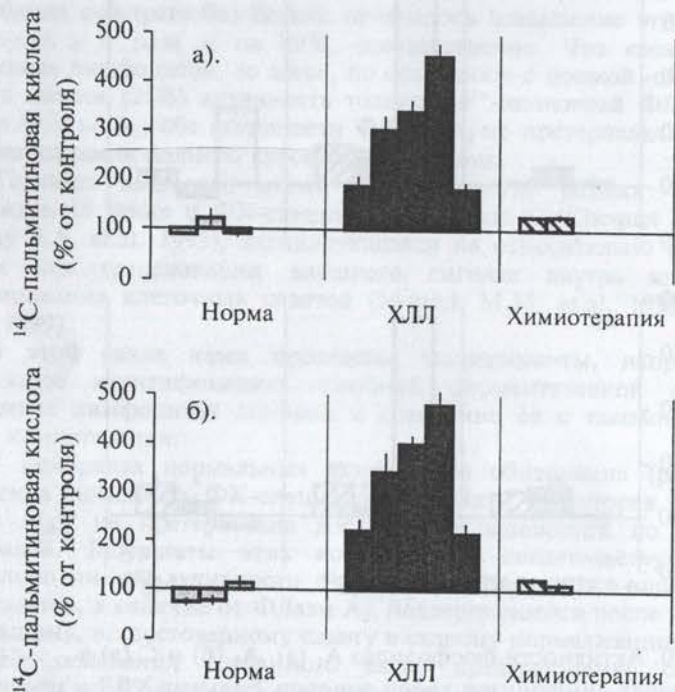


Рис. 11. Активность лизофосфолипазы а). в присутствии 5мМ Ca^{2+} , б). в присутствии 5мМ ЭГТА в мембранах лимфоцитов здоровых доноров и больных ХЛЛ до и после полного курса химиотерапии

наше предположение о развитии при ХЛЛ исходных, более стойких дефектов в кооперативных механизмах модификации липидного компонента ПМ, обнаруживаемых как в состоянии относительного покоя, так и при инициации ФИ-цикла лимфоцитов.

Проведенные исследования открывают перспективы по выявлению возможной общности обнаруженных нами закономерностей в канцерогенезе, что может послужить раскрытию истинных механизмов этиопатогенеза различных типов раковых новообразований. Активности исследованных нами ферментов могут быть рекомендованы в качестве дополнительных тестовых параметров как для оценки глубины патологического процесса, так и для индивидуальной коррекции интенсивности курса химиотерапии, применяемой в клинике ХЛЛ.

ВЫВОДЫ

1. Обнаруженные достоверные различия от нормы как в качественно-количественном содержании мембранных фосфолипидов, так и в процессах включения и процентного распределения в них ^{14}C олеиновой и ^{14}C пальмитиновой кислот в нестимулированных лимфоцитах свидетельствуют о наличии в плазматической мембране клеток патологически измененного метаболического статуса покоя при хроническом лимфолейкозе.
2. Особенности ацилирования мембранных фосфолипидов ^{14}C олеиновой кислотой при рецептор-опосредованной стимуляции патологически трансформированных лимфоцитов указывают на развитие нарушений в скооперированных с фосфоинозитидным циклом, быстропротекающих процессах модификации липидов.
3. Обнаруженные в малигнизированных лимфоцитах нарушения более достоверны на ранних, мембраносвязанных этапах функционирования липид-модифицирующих механизмов. Полученные нами данные свидетельствуют в пользу как существования в плазматической мембране относительно автономного липопротеинового сигнального домена, так и основного положения гипотезы "мембранной аутогидридизации" об изначальной неполноценности плазматической мембраны, как первопричины злокачественной трансформации клеток.
4. В соответствии с обнаруженными нарушениями в динамических процессах липидной модификации, в мембранах лимфоцитов больных хроническим лимфолейкозом выявлено достоверное подавление A_1 , A_2 и С фосфолипазных путей катаболизма фосфатидилхолинов.
5. По сравнению с нормой, в условиях хронического лимфолейкоза на фоне достоверного подавления деацилазных путей образования лизофосфатидилхолинов в мембранах лимфоцитов обнаружена многократная активация их гидролиза лизофосфолипазным путем.
6. Обнаружение четких сдвигов к нормализации как в отдельных процессах, так и в активности ферментных систем модификации липидов после курса химиотерапии указывает на эти механизмы, как на

мембранные мишени для химиотерапевтических средств, применяемых в клинике хронического лимфолейкоза.

7. Активности фосфолипаз A_2 , C и лизофосфолипазы рекомендуются для использования в качестве дополнительных тестовых параметров как для оценки глубины патологического процесса, так и для индивидуальной коррекции интенсивности курса применяемой химиотерапии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Тадевосян Ю.В., Асатрян Л. Ю., Батикян Т.Б., Тадевосян А.Ю., Гарибян А.Л. Быстрые и обратимые модификационные процессы липидного бислоя лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе// Тез. докл. конф., посвящ. 30-летию отделения биофизики биол. фак. ЕГУ. Ереван, 1996, стр. 37-38.
2. Тадевосян Ю.В., Амирханян Е.С., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Гарибян А.Л., Тадевосян А.Ю. Модификационные процессы липидного компонента мембран лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе// Матер. 70-й науч. Конф. ЕрМГУ, 1997, стр. 18.
3. Тадевосян Ю.В., Амирханян Е.С., Асатрян Л.Ю., Батикян Т.Б., Тадевосян А.Ю., Гарибян А.Л., Геворгян Э.С. Кооперативные процессы сигнальной трансдукции и модификации мембранных липидов в малигнизированных лимфоцитах// Матер. конф., посвящ. 30-летию ИМБ НАН РА, Ереван, 1997, стр. 56.
4. Тадевосян А.Ю., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Гарибян А.Л., Мелик-Андреасян М.Г., Геворгян Э.С., Тадевосян Ю.В. Закономерности включения арахидоновой кислоты в липиды мембран нормальных и лейкоэмических лимфоцитов// Медицинская наука Армении, 1999, т. 3, стр. 33-40.
5. Гарибян А.Л., Батикян Т.Б., Асатрян Л.Ю., Тадевосян А.Ю., Амирханян Е.С., Тадевосян Ю.В. Сравнительное исследование процессов липидной модификации лимфоцитарных мембран в норме и при хроническом лимфолейкозе// Медицинская наука Армении, 1999, т. 3, стр. 41-49.
6. Ա.Լ. Ղարիբյան, Ա.Յու. Թաղևոսյան, Յու.Վ. Թաղևոսյան. Թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների աղիացման օրինաչափությունները նորմալ և լեյկոզային լիմֆոցիտներում// ՀՀ ԳԱԱ երիտասարդ գիտաշխատողների հոդվածների ժողովածու, 1999, էջ 99-103:
7. Ա.Յու. Թաղևոսյան, Ա.Լ. Ղարիբյան, Է.Ս. Գևորգյան, Յու.Վ. Թաղևոսյան. Հիդրոկորտիզոնի in vitro ազդեցությունը թաղանթային ֆոսֆոլիպիդների վրա նորմալում և խրոնիկական լիմֆոլեյկոզի պայմաններում// ՀՀ ԳԱԱ երիտասարդ գիտաշխատողների հոդվածների ժողովածու, 1999, էջ 103-108:
8. Гарибян А.Л., Батикян Т.Б., Амирханян Е.С., Мелконян М.Г., Акопян Г.В., Тадевосян Ю.В. Липидные модификации в мембранах лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе: Эффекты химиотерапии// "Медицинская диагностика": (Фундаментальные и прикладные аспекты). Сборник статей научной сессии, посвященный 10-летию НПЦ "Дельта". Ереван, 2001, стр. 69-74.

ՂԱՐԻԲՅԱՆ ԱՆՆԱ ԼԵՎՈՆԻ

ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ՍՈՂԻՖԻԿԱՑՄԱԿԱՆ ԹՎՂԱՆԹԱՅԻՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԸ ԲՐՈՆԻԿԱԿԱՆ ԼԻՄՖՈԼԵՅԿՈԶՈՎ ՀԻՎԱՆԴՆԵՐԻ ԼԻՄՖՈՑԻՏՆԵՐՈՒՄ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

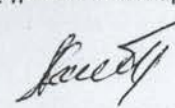
Հանգուցային բառեր՝ *լիմֆոցիտներ, բջջաթաղանթ, ֆոսֆոլիպիդներ, ֆոսֆոհինոզիտիդային ցիկլ, լիպիդային մոդիֆիկացում, բրոնիկական լիմֆոլեյկոզ, քիմիոթերապիա:*

Աշխատանքը նվիրված է ժամանակակից հիմնարար և ենսաբանական գիտության և կլինիկական բժշկության արդիական հիմնահարցերից մեկի՝ չարորակ նորագոյացությունների էթիոպաթոգենեզում բջջաթաղանթի լիպիդային մոդիֆիկացման մեխանիզմների ուսումնասիրությանը: Համեմատական հետազոտության առարկա են դարձել գործնականում առողջ դոնորների, բրոնիկական լիմֆոլեյկոզով հիվանդների և վերջիններից քիմիոթերապիայի բուժընթաց ընդունածների արյան կենսունակ լիմֆոցիտներում և նրանցից անջատված բջջաթաղանթներում լիպիդային մոդիֆիկացման պրոցեսների թաղանթային մեխանիզմները՝ ինչպես բջիջների հարաբերական հանգստի, այնպես էլ ֆոսֆոհինոզիտիդային ցիկլի միտոզենային խթանման պայմաններում:

Ուսումնասիրությունները վկայում են բջիջների չարորակ տրանսֆորմացման էթիոլոգիայի «թաղանթային ատոտոհիբրիդացման» վարկածի օգտին և հաստատում լեյկոզային լիմֆոցիտների բջջաթաղանթի լիպիդային երկշերտի մոդիֆիկացման մեխանիզմներում հիվանդագին փոփոխությունների ենթարկված օղակների առկայությունը: Հայտնաբերված է, որ այդ մեխանիզմները թաղանթային թիրախներ են հանդիսանում կլինիկայում կիրառվող քիմիոթերապիայի նյութերի համար:

Ստացված փորձառական տվյալները ունեն կարևոր հիմնարար գիտական նշանակություն նորովի լուսաբանելով լիպիդային մոդիֆիկացման պրոցեսների որոշակի մեխանիզմների ներգրավումը ազդանշանային տրանսդուցման թաղանթային (արագընթաց) և բջջային պատասխանների ձևավորման հետագա (հարաբերականորեն երկարատև) փուլերում:

Կիրառական տեսանկյունից աշխատանքում ներկայացված տվյալները կարևորվում են փաստելով բրոնիկական լիմֆոլեյկոզի (հնարավոր է և չարորակ այլ նորագոյացությունների) էթիոպաթոգենեզի տարբեր փուլերում բջջաթաղանթի լիպիդային բաղադրիչի ակտիվ ներգրավումը: Լիպիդ մոդիֆիկացնող առանձին ֆերմենտների ակտիվությունները առաջարկվում են օգտագործելու համար չարորակ նորագոյացությունների կլինիկայում որպես լրացուցիչ տեստային ցուցանիշներ հիվանդագին վիճակի խորության գնահատման, ինչպես նաև կիրառվելիք քիմիոթերապիայի բուժընթացի ինտենսիվության անհատական ճշգրտման համար:



15.05.2014

