

УДК 616-097.1+576.312/.312.8:575.224.232:575.224.234:001.891.53:579.834.114

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.1.77

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ,
ИНДУЦИРОВАННЫЕ АНТИГЕНОМ *Borrelia garinii* В ЛИМФОЦИТАХ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ В УСЛОВИЯХ *in vitro*¹**

А.Г. Семенов*, Е.Н. Ильинских*, Н.Н. Ильинских*

*Сибирский государственный медицинский университет
(г. Томск)

Известно, что некоторые вирусы и бактерии являются биологическими мутагенами. Цель настоящей работы – изучить частоту встречаемости различных типов цитогенетических нарушений, индуцированных в условиях *in vitro* инактивированным корпускулярным антигеном *Borrelia garinii* в культурах лимфоцитов периферической крови здоровых людей. Для хромосомного анализа, изучения кариопатологии и нарушений митоза от 13 здоровых людей, не болевших иксодовым клещевым боррелиозом, были получены фитогемагглютинин-стимулированные культуры лимфоцитов периферической крови. В половину культур клеток добавляли инактивированный корпускулярный антиген боррелий *Borrelia garinii*, в то время как остальные культуры были интактными. Исследование показало, что добавление в культуры здоровых людей боррелиозного антигена индуцировало существенное повышение (по сравнению с интактными культурами) частоты встречаемости: структурных aberrаций хромосом, среди которых преобладали хроматидные разрывы и одиночные фрагменты; клеток с цитогенетическими нарушениями анеугенного типа (с гипоплоидией или полиплоидией); клеток с различными типами патологий митоза, включая отставание хромосом в митозе, многогрупповые метафазы и многополюсные митозы; клеток с нарушением морфологии ядра (бинуклеары, клетки с микроядрами). Установленные цитогенетические нарушения аналогичны типам хромосомных aberrаций, выявленных в культурах лимфоцитов периферической крови больных острым иксодовым клещевым боррелиозом, что может свидетельствовать о нестабильности генома этих иммунокомпетентных клеток не только в условиях *in vitro* но и *in vivo*.

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, хромосомные aberrации, анеуплоидия, полиплоидия, микроядра, корпускулярный антиген, *Borrelia garinii*.

¹Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований (№ 16-40-700149) и Российского гуманитарного научного фонда (№ 06-15-10190).

Ответственный за переписку: Ильинских Екатерина Николаевна, адрес: 634050, г. Томск, а/я 808; e-mail: infconf2009@mail.ru

Для цитирования: Семенов А.Г., Ильинских Е.Н., Ильинских Н.Н. Цитогенетические нарушения, индуцированные антигеном *Borrelia garinii* в лимфоцитах периферической крови здоровых людей в условиях *in vitro* // Журн. мед.-биол. исследований. 2018. Т. 6, № 1. С. 77–84. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.1.77

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) – острое природно-очаговое инфекционное заболевание с трансмиссивным механизмом передачи, вызванное спирохетами рода *Borrelia*, для которого характерно поражение различных органов и систем и формирование хронического течения.

Известно, что некоторые вирусы и бактерии могут вызывать повреждение ДНК и цитогенетические нарушения в условиях *in vivo* и *in vitro* [1, 2]. Предполагают, что это связано с тем, что инфекционный процесс может сопровождаться ростом частоты повреждений ДНК за счет мутагенных свойств антигенов и токсинов некоторых возбудителей инфекций, а также реактивных метаболитов кислорода и азота, образующихся в очагах воспаления и в ходе иммунного ответа [2, 3]. Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что у больных острым ИКБ существенно повышена частота встречаемости лимфоцитов периферической крови с хромосомными aberrациями различных типов [4, 5]. Показано, что живые или инактивированные боррелии, активно фагоцитирующиеся моноцитами и дендритными клетками, благодаря эффектам липопротеинов OspA и OspB способны индуцировать в условиях *in vitro* повышенную продукцию супероксидного анион-радикала и оксида азота в фагоцитах [6, 7].

Цель настоящей работы – изучить частоту встречаемости различных типов цитогенетических нарушений, индуцированных в условиях *in vitro* инактивированным корпускулярным антигеном *Borrelia garinii* в культурах лимфоцитов периферической крови здоровых людей.

Материалы и методы. Образцы венозной крови для получения культур мононуклеарных клеток были получены от 13 здоровых людей, у которых по данным лабораторного обследования не было обнаружено в крови спец-

ифических антител к антигенам боррелий или вирусу клещевого энцефалита, которые не подвергались ранее укусам клещей и не имели в анамнезе данных о перенесенном заболевании (ИКБ или клещевой энцефалит).

Условием для участия в исследовании было подписание информированного согласия. Работа была одобрена этическим комитетом (протокол № 68 от 30.03.2009) Сибирского государственного медицинского университета и проводилась с учетом письма ВАК «О порядке проведения биомедицинских исследований у человека» (2002) и «Правил клинической практики» (2003)².

Для получения культур лимфоцитов 0,5 мл цельной гепаринизированной крови смешивали с 5 мл среды RPMI-1640 («ПанЭко», Москва, РФ) с добавлением 1,0 мл инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки («Sigma», США), 50 мкг/мл гентамицина, а также 0,1 мл раствора фитогемагглютинаина (ФГА) в качестве стимулятора пролиферации Т-лимфоцитов в концентрации 10 мкг/мл («ПанЭко»). Кроме того, в половину ФГА-стимулированных культур добавляли инактивированный корпускулярный антиген боррелий *B. garinii*, в то время как остальные культуры были контрольными. Культуральную смесь разливали по флаконам, по 2 мл в каждый (около $1,0 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл), которые инкубировали в термостате в присутствии 5 %-го CO₂ при 37 °С в течение 72 ч [8].

Инактивированный корпускулярный антиген *B. garinii* был получен из коллекции штаммов боррелий отдела разработки и экспериментального производства препаратов НПО «Вирион» филиала ФГУП «НПО Микроген» Минздрава РФ (г. Томск). Боррелии предварительно культивировали в среде Barbour-Stoenner-Kelly-H (BSK H, «Sigma») при 32 °С, а затем инактивировали нагреванием. Максимальная концентрация боррелий в пробах составила около $2 \cdot 10^9$ спирохет на 1 мл.

²О порядке проведения биомедицинских исследований у человека // Бюл. ВАК Мин-ва образования РФ. 2002. № 3. С. 46–48; Об утверждении правил клинической практики в Российской Федерации: приказ Минздрава РФ от 19 июня 2003 г. № 266. Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».

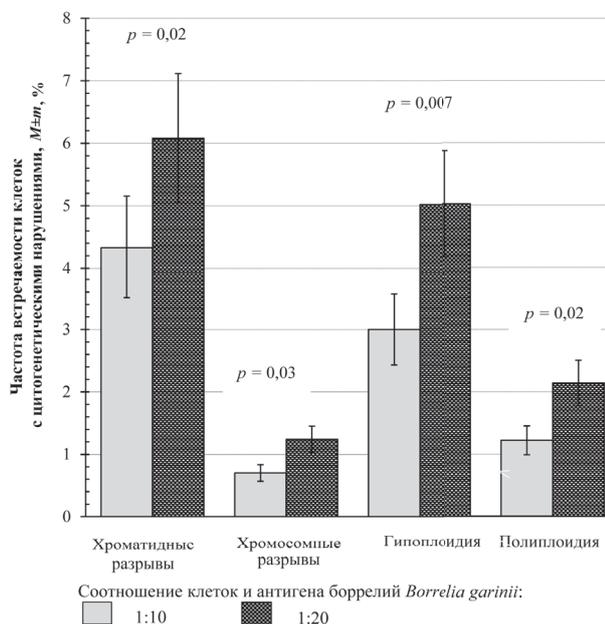
Для подбора оптимальной дозы корпускулярного антигена были использованы две серии экспериментов, в ходе которых инактивированные боррелии *B. garinii* смешивались с клетками культур лимфоцитов в соотношениях 1:10 или 1:20 [9]. В результате для дальнейших экспериментов была выбрана оптимальная концентрация инактивированного антигена с соотношением в культуре клеток и боррелий 1:10, т. е. приблизительно $1,0 \cdot 10^6$ клеток на $1,0 \cdot 10^7$ боррелий).

Кариопатологические изменения клеток анализировали в мазках, которые получали из клеточных культур. Приготовленные препараты фиксировали в этаноле и окрашивали азуром II и эозином по методу Романовского–Гимзы. Подсчет числа нормальных и патологических митозов проводили на каждые 3 000 клеток [10]. При изучении морфологии ядер учитывали клетки с деформацией ядер, клетки с микроядрами, а также двуядерные (бинуклеары) и многоядерные клетки [1].

Для хромосомного анализа в культуры за 2 ч до фиксации клеток добавляли колхицин в концентрации 0,5 мкг/мл [8]. Для гипотонической обработки клеток использовали 0,55 %-й раствор хлорида калия. Фиксацию клеток проводили в трех сменах охлажденной смеси, состоящей из 3 частей абсолютного этанола и 1 части ледяной уксусной кислоты. Препараты окрашивали с использованием красителей азур II и эозин. Хромосомы анализировали при увеличении микроскопа 10×100 . Изучали не менее 200 метафаз у каждого обследованного лица. Кариотипы описывали в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (International System for Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN) в редакции 1995 года. При анализе принимали во внимание следующие типы структурных хромосомных aberrаций: одиночные и парные фрагменты, хроматидные и хромосомные разрывы, обмены, центрические кольца, а также дицентрики и другие асимметричные транслокации. Пробелы («гепы») при анализе не учитывали [8].

Для статистической обработки данных использовали стандартный пакет программ «Statistica 7.0» («StatSoft Inc.», США). Нормальность распределения количественных показателей была подтверждена при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Для оценки различий между выборками применяли парный критерий Стьюдента. Полученные результаты представлены как выборочное среднее арифметическое (M) и ошибка среднего (m). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимали $p = 0,05$.

Результаты. С целью подбора оптимальной дозы корпускулярного антигена *B. garinii* инактивированные боррелии добавляли в ФГА-стимулированные культуры лимфоцитов в соотношениях 1:10 или 1:20. На рисунке показано, что увеличение дозы антигена в культурах лимфоцитов здоровых людей приводило к су-



Влияние инактивированного корпускулярного антигена *Borrelia garinii* на возникновение цитогенетических нарушений в клетках культур лимфоцитов периферической крови здоровых людей в условиях *in vitro*

ущественному повышению частоты встречаемости клеток с различными типами цитогенетических нарушений, включая хроматидные и хромосомные разрывы и фрагменты, а также гипо- или полиплоидию.

Анализ частоты встречаемости клеток со структурными нарушениями хромосом и клеток с измененным числом хромосом (табл. 1) свидетельствует о том, что добавление в культуры здоровых людей боррелиозного антигена, по сравнению с контрольными культурами, индуцировало существенное повышение частоты структурных aberrаций хромосом, среди которых преобладали хроматидные разрывы и одиночные фрагменты ($p < 0,001$), а также было выявлено увеличение в 2,3 раза частоты встречаемости хромосомных разрывов ($p = 0,003$).

Анализ частоты встречаемости клеток с цитогенетическими нарушениями анеугенного типа позволил установить, что внесение в культуры лимфоцитов боррелиозного антигена приводило к значимому повышению, по сравнению с соответствующими показателями в контрольных культурах, числа гипоплоидных ($p < 0,001$) или полиплоидных ($p = 0,002$) клеток.

Изучение различных типов патологий митоза (табл. 2) после добавления культуры корпускулярного антигена *B. garinii* продемонстрировало существенное увеличение, по сравнению с контрольными культурами, встречаемости клеток с отставанием хромосом в метафазе, а также в ана- и телофазе, частоты многогрупповых метафаз и многополюсных митозов ($p < < 0,001$). Более того, в культурах,

Таблица 1

**СТРУКТУРНЫЕ И АНЕУГЕННЫЕ ТИПЫ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ
В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ *in vitro*
ИНАКТИВИРОВАННЫМ КОРПУСКУЛЯРНЫМ АНТИГЕНОМ *Borrelia garinii* ($M \pm m$)**

Показатель	Культуры лимфоцитов		Значимость различий p
	контрольные ($n = 13$)	после добавления антигена боррелий ($n = 13$)	
Число проанализированных метафаз	2675	2143	–
Частота встречаемости клеток со структурными нарушениями хромосом, %	1,27±0,10	5,32±0,53	<0,001
Частота встречаемости хромосом с нарушениями, %, в т. ч.:	1,32±0,11	5,65±0,65	<0,001
хроматидные разрывы	0,91±0,07	4,33±0,50	0,001
хромосомные разрывы	0,31±0,05	0,70±0,09	0,003
Частота встречаемости клеток с измененным числом хромосом в наборе, %, в т. ч.:	1,81±0,13	4,55±0,51	<0,001
гипоплоидных	1,32±0,10	3,00±0,25	<0,001
гиперплоидных	0,25±0,03	0,33±0,05	0,18
полиплоидных	0,25±0,03	1,22±0,34	0,002
Всего клеток с хромосомными aberrациями структурного и анеугенного типов, %	3,10±0,18	9,89±1,15	<0,001

Примечание. Соотношение клеток и боррелий в эксперименте 1:10.

Таблица 2

КАРИОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ МИТОЗЫ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ *in vitro* ИНАКТИВИРОВАННЫМ КОРПУСКУЛЯРНЫМ АНТИГЕНОМ *Borrelia garinii* ($M \pm m$)

Показатель	Культуры лимфоцитов	
	контрольные ($n = 13$)	после добавления антигена боррелий ($n = 13$)
Частота встречаемости клеток с патологией митоза, %, в т. ч.:	1,13±0,11	9,41±1,12
отставание хромосом в метафазе	0,40±0,08	4,27±0,81
отставание хромосом в ана- и телофазе	0,30±0,04	1,82±0,12
многогрупповая метафаза	0,20±0,03	1,72±0,14
многополюсный митоз	0,22±0,03	1,53±0,11
Частота встречаемости клеток с карิโอпатологическими изменениями, %, в т. ч.:	1,98±0,15	10,75±0,81
микроядра	0,75±0,12	5,64±0,56
бинуклеары	0,11±0,02	5,11±0,71

Примечания: 1. Соотношение клеток и боррелий в эксперименте 1:10. 2. Значимость различий между группами $p < 0,001$.

стимулированных антигеном боррелий, было установлено значительное увеличение частоты двуядерных клеток и клеток с микроядрами ($p < 0,001$).

Обсуждение. В настоящем исследовании было впервые доказано, что добавление инактивированного корпускулярного антигена боррелий *B. garinii* в ФГА-стимулированную культуру лимфоцитов здоровых людей в условиях *in vitro* способно вызывать повышение частоты встречаемости клеток с цитогенетическими aberrациями.

Известно, что в экспериментах *in vitro* и на лабораторных животных боррелии способны активно проникать внутрь Т- и В-лимфоцитов, а также фагоцитироваться моноцитами/макрофагами [6], что приводит к активации продукции провоспалительных цитокинов, супероксид-анион-радикала и оксида азота, а также к стимуляции дозозависимого апоптоза моноцитов и Т-клеток [6, 7, 11]. Реактивные метаболиты кислорода и азота и продукты перекисного окисления липидов в очагах воспаления могут

повреждать ДНК, вызывая мутагенный эффект [12]. Кроме того, показано, что повышение частоты интерфазных клеток с микроядрами, которые сигнализируют о наличии повреждений хромосом, как правило, положительно коррелирует с увеличением концентраций продуктов перекисного окисления липидов и провоспалительных цитокинов [13].

Установлено, что образование многоядерной или полиплоидной клетки обычно связано с делением ядра без последующего цитокинеза или со слиянием клеток. Формирование подобных клеток *in vivo* часто может происходить в очаге воспаления, при раке и старении ткани [14].

Показано, что повреждение ДНК может инициировать остановку клеточного цикла с последующим апоптозом клетки или ее переходом в особое состояние, известное как клеточное старение [15]. В ряде исследований доказано, что в очаге воспаления увеличивается число стареющих клеток, которые характеризуются различными типами патологии морфологии

ядра, нарушением расхождения хромосом при делении клетки, появлением патологических митозов с отставшими хромосомами и микро-ядрами, а также формированием многоядерных и полиплоидных клеток [15, 16].

В результате проведенного исследования нами также было впервые установлено, что спектр типов кластогенных и анеугенных цитогенетических нарушений, кариопатологий и патологий митоза, индуцированных корпу-

скулярным боррелиозным антигеном в культурах лимфоцитов здоровых людей в условиях *in vitro*, аналогичен тем типам, которые были выявлены нами ранее в культурах клеток периферической крови, полученных от больных острым ИКБ [4]. Данный факт может свидетельствовать о нестабильности генома этих иммунокомпетентных клеток не только в условиях *in vitro*, но и *in vivo*.

Список литературы

1. Ильинских И.Н., Новицкий В.В., Ильинских Е.Н., Ильинских Н.Н., Ткаченко С.Б. Инфекционная кариопатология. Томск: Изд-во Томск. гос. ун-та, 2005. 196 с.
2. Jinadasa R.N., Bloom S.E., Weiss R.S., Duhamel G.E. Cytolethal Distending Toxin: A Conserved Bacterial Genotoxin That Blocks Cell Cycle Progression, Leading to Apoptosis of a Broad Range of Mammalian Cell Lineages // *Microbiology*. 2011. Vol. 157, № 7. P. 1851–1875. DOI: 10.1099/mic.0.049536-0
3. Молочный В.П., Солодовникова О.Н. Оксид азота нейтрофилов и перекисное окисление липидов в цереброспинальной жидкости у детей, больных гнойными менингитами // *Дальневост. мед. журн.* 2013. № 2. С. 17–19.
4. Ильинских Е.Н., Ильинских И.Н., Семенов А.Г. Цитогенетические нарушения в мононуклеарных клетках периферической крови больных острым иксодовым клещевым боррелиозом // *Цитология и генетика*. 2013. Т. 47, № 1. С. 56–67.
5. Пирогова Н.П., Новицкий В.В., Хлусова М.Ю., Воронкова О.В., Карпова М.Р., Лукашова Л.В. Цитогенетический статус и фенотипические свойства лимфоцитов периферической крови у больных иксодовым клещевым боррелиозом // *Бюл. сиб. медицины*. 2005. № 3. С. 43–48.
6. Cruz A.R., Moore V.M., La Vake C.J., Eggers C.H., Salazar J.C., Radolf J.D. Phagocytosis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme Disease Spirochete, Potentiates Innate Immune Activation and Induces Apoptosis in Human Monocytes // *Infect. Immun.* 2008. Vol. 76, № 1. P. 56–70. DOI: 10.1128/IAI.01039-07
7. Ma Y., Seiler K.P., Tai K.F., Yang L., Woods M., Weis J.J. Outer Surface Lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* Stimulate Nitric Oxide Production by the Cytokine-Inducible Pathway // *Infect. Immun.* 1994. Vol. 62, № 9. P. 3663–3671.
8. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome Preparations of Leukocytes Cultured from Human Peripheral Blood // *Exp. Cell Res.* 1960. Vol. 20. P. 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5
9. Perticarari S., Presani G., Prodan M., Granzotto M., Murgia R., Cinco M. Lymphocyte Apoptosis Co-Cultured with *Borrelia burgdorferi* // *Microb. Pathog.* 2003. Vol. 35, № 4. P. 139–145.
10. Алов И.А. Морфологические и прикладные аспекты патологии митоза // *Арх. патологии*. 1975. Т. 37, № 12. P. 3–14.
11. Christodoulides A., Boyadjian A., Kelesidis T. Spirochetal Lipoproteins and Immune Evasion // *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. Art. № 364. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00364
12. Wei X., Yin H. Covalent Modification of DNA by α , β -Unsaturated Aldehydes Derived from Lipid Peroxidation: Recent Progress and Challenges // *Free Radic. Res.* 2015. Vol. 49, № 7. P. 905–917. DOI: 10.3109/10715762.2015.1040009
13. Xu B., Wang W., Guo H., Sun Z., Wei Z., Zhang X., Liu Z., Tischfield J.A., Gong Y., Shao C. Oxidative Stress Preferentially Induces a Subtype of Micronuclei and Mediates the Genomic Instability Caused by p53 Dysfunction // *Mutat Res.* 2014. Vol. 770. P. 1–8. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2014.08.004
14. Holt D.J., Grainger D.W. Multinucleated Giant Cells from Fibroblast Cultures // *Biomaterials*. 2011. Vol. 32, № 16. P. 3977–3987. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.02.021

15. Sohn J.J., Schetter A.J., Yfantis H.G., Ridnour L.A., Horikawa I., Khan M.A., Robles A.I., Hussain S.P., Goto A., Bowman E.D., Hofseth L.J., Bartkova J., Bartek J., Wogan G.N., Wink D.A., Harris C.C. Macrophages, Nitric Oxide and MicroRNAs Are Associated with DNA Damage Response Pathway and Senescence in Inflammatory Bowel Disease // *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7, № 9. Art. № e44156. DOI: 10.1371/journal.pone.0044156
16. Ohshima S., Seyama A. Cellular Aging and Centrosome Aberrations // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2010. Vol. 1197. P. 108–117. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05396.x

References

1. Il'inskikh I.N., Novitskiy V.V., Il'inskikh E.N., Il'inskikh N.N., Tkachenko S.B. *Infektsionnaya kariopatologiya* [Infectious Cariopathology]. Tomsk, 2005. 196 p.
2. Jinadasa R.N., Bloom S.E., Weiss R.S., Duhamel G.E. Cytotoxic Distending Toxin: A Conserved Bacterial Genotoxin That Blocks Cell Cycle Progression, Leading to Apoptosis of a Broad Range of Mammalian Cell Lineages. *Microbiology*, 2011, vol. 157, no. 7, pp. 1851–1875. DOI: 10.1099/mic.0.049536-0
3. Molochnyy V.P., Solodovnikova O.N. Oksid azota neytrofilov i perekisnoe okislenie lipidov v tserebrospinal'noy zhidkosti u detey, bol'nykh gnoynymi meningitami [Nitric Oxide and Free Radical Processes of Cerebrospinal Fluid in Children with Bacterial Meningitis]. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal*, 2013, no. 2, pp. 17–19.
4. Il'inskikh E.N., Il'inskikh I.N., Semenov A.G. Cytogenetic Aberrations in Peripheral Blood Mononuclear Cells in Acute Lyme Borreliosis Patients. *Cytol. Genet.*, 2013, vol. 47, no. 1, pp. 44–52.
5. Pirogova N.P., Novitskiy V.V., Khlusova M.Yu., Voronkova O.V., Karpova M.R., Lukashova L.V. Tsitogeneticheskiy status i fenotipicheskie svoystva limfotsitov perifericheskoy krovi u bol'nykh iksovodovym kleshchevym borreliozom [Cytogenetic Status and Phenotypic Properties of Peripheral Blood Lymphocytes in Patients with Lyme Borreliosis]. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*, 2005, no. 3, pp. 43–48.
6. Cruz A.R., Moore V.M., La Vake C.J., Eggers C.H., Salazar J.C., Radolf J.D. Phagocytosis of *Borrelia burgdorferi*, the Lyme Disease Spirochete, Potentiates Innate Immune Activation and Induces Apoptosis in Human Monocytes. *Infect. Immun.*, 2008, vol. 76, no. 1, pp. 56–70. DOI: 10.1128/IAI.01039-07
7. Ma Y., Seiler K.P., Tai K.F., Yang L., Woods M., Weis J.J. Outer Surface Lipoproteins of *Borrelia burgdorferi* Stimulate Nitric Oxide Production by the Cytokine-Inducible Pathway. *Infect. Immun.*, 1994, vol. 62, no. 9, pp. 3663–3671.
8. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome Preparations of Leukocytes Cultured from Human Peripheral Blood. *Exp. Cell Res.*, 1960, vol. 20, pp. 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5
9. Peticarari S., Presani G., Prodan M., Granzotto M., Murgia R., Cinco M. Lymphocyte Apoptosis Co-Cultured with *Borrelia burgdorferi*. *Microb. Pathog.*, 2003, vol. 35, no. 4, pp. 139–145.
10. Alov I.A. Morfologicheskie i prikladnye aspekty patologii mitozov [Morphological and Applied Aspects of Pathologic Mitosis]. *Arkhiv patologii*, 1975, vol. 37, no. 12, pp. 3–14.
11. Christodoulides A., Boyadjian A., Kelesidis T. Spirochetal Lipoproteins and Immune Evasion. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8. Art. no. 364. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00364
12. Wei X., Yin H. Covalent Modification of DNA by α , β -Unsaturated Aldehydes Derived from Lipid Peroxidation: Recent Progress and Challenges. *Free Radic. Res.*, 2015, vol. 49, no. 7, pp. 905–917. DOI: 10.3109/10715762.2015.1040009
13. Xu B., Wang W., Guo H., Sun Z., Wei Z., Zhang X., Liu Z., Tischfield J.A., Gong Y., Shao C. Oxidative Stress Preferentially Induces a Subtype of Micronuclei and Mediates the Genomic Instability Caused by p53 Dysfunction. *Mutat. Res.*, 2014, vol. 770, pp. 1–8. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2014.08.004
14. Holt D.J., Grainger D.W. Multinucleated Giant Cells from Fibroblast Cultures. *Biomaterials*, 2011, vol. 32, no. 16, pp. 3977–3987. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.02.021
15. Sohn J.J., Schetter A.J., Yfantis H.G., Ridnour L.A., Horikawa I., Khan M.A., Robles A.I., Hussain S.P., Goto A., Bowman E.D., Hofseth L.J., Bartkova J., Bartek J., Wogan G.N., Wink D.A., Harris C.C. Macrophages, Nitric Oxide and MicroRNAs Are Associated with DNA Damage Response Pathway and Senescence in Inflammatory Bowel Disease. *PLoS ONE*, 2012, vol. 7, no. 9. Art. no. e44156. DOI: 10.1371/journal.pone.0044156
16. Ohshima S., Seyama A. Cellular Aging and Centrosome Aberrations. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2010, vol. 1197, pp. 108–117. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05396.x

*Al'bert G. Semenov**, *Ekaterina N. Il'inskikh**, *Nikolay N. Il'inskikh**

*Siberian State Medical University
(Tomsk, Russian Federation)

**CYTOGENETIC ABNORMALITIES INDUCED *in vitro*
IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF HEALTHY PEOPLE
BY *Borrelia garinii* ANTIGEN**

It is known that some viruses and bacteria can be classified as biological mutagens. This paper aimed to characterize the different types of cytogenetic abnormalities induced *in vitro* by inactivated whole body *Borrelia garinii* antigen in peripheral blood lymphocyte cultures of healthy people. Phytohemagglutinin-stimulated cultures of peripheral blood lymphocytes were obtained from 13 healthy subjects uninfected with Lyme borreliosis to perform a chromosome analysis and study karyopathological and mitotic abnormalities. Inactivated whole body *Borrelia garinii* antigen was added to half of these cellular cultures, while the rest of the cultures remained intact. The research found that addition of the borrelia antigen to the lymphocyte cultures of healthy people induced a significant increase (as compared with the intact cultures) in the frequency of: structural chromosomal aberrations, with chromatid breaks and single fragments being predominant; cells with numerical cytogenetic abnormalities, such as hypoploidy or polyploidy; cells with various types of mitotic abnormalities, including chromosome lagging in mitosis, multigroup metaphases and multipolar mitosis; and cells with pathological nuclear morphology (binucleated and micronucleated cells). The detected cytogenetic abnormalities are similar to the chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocyte cultures of patients with acute Lyme borreliosis, which can indicate genome instability of these immunocompetent cells not only *in vitro*, but also *in vivo*.

Keywords: *Lyme borreliosis, chromosomal aberrations, aneuploidy, polyploidy, micronuclei, whole body antigen, Borrelia garinii.*

Поступила 02.11.2017
Received 2 November 2017

Corresponding author: Ekaterina Il'inskikh, address: a/ya 808, Tomsk, 634050, Russian Federation; e-mail: infconf2009@mail.ru

For citation: Semenov A.G., Il'inskikh E.N., Il'inskikh N.N. Cytogenetic Abnormalities Induced *in vitro* in Peripheral Blood Lymphocytes of Healthy People by *Borrelia garinii* Antigen. *Journal of Medical and Biological Research*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 77–84. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2018.6.1.77