

**ШЕМЕТУН О.В., ТАЛАН О.О.**

*ДУ „Науковий Центр радіаційної медицини АМН України”*

*Україна, 040050, Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: lshem@ukr.net*

## **ІНДУКЦІЯ ЕФЕКТУ СВІДКА ЛІМФОЦИТАМИ КРОВІ ЛІКВІДАТОРІВ АВАРІЇ НА ЧАЕС, ОПРОМІНЕНИМИ В МАЛИХ ДОЗАХ**

Широкий спектр соматичної патології в осіб, які зазнали дії радіації, може бути обумовлений не лише прямим радіаційним ушкодженням клітин-мішеней, а й вторинними змінами в неопромінених клітинах – ефектом свідка. Внаслідок його індукції підсилюється біологічна ефективність отриманої дози радіації та виникає можливість дестабілізації геному неопромінених клітин. Тому дослідження цитогенетичних аспектів цього явища є актуальним і дозволить підійти до розкриття механізмів хромосомної нестабільності та канцерогенезу в організмі, який зазнав дії радіації.

До теперішнього часу немає точних даних стосовно тривалості ефекту свідка і його здатності передаватись наступним поколінням клітин [1]. Проте показано, що персистенція геномної нестабільності може індукувати ефект свідка. І. Emerit зареєструвала кластогенну активність плазми крові у персоналу Чорнобильської атомної електростанції, що була спричинена утворенням продуктів перекисного окислення ліпідів, супероксидів та зсувом прооксидантного і антиоксидантного балансу в опроміненому організмі [2]. В наших попередніх дослідженнях з використанням власної моделі для виявлення радіаційно індукованого ефекту свідка на цитогенетичному рівні (зі змішаної культури опромінених та неопромінених лімфоцитів крові людини, що розрізнялись маркерами статі) було показано підвищення хромосомної нестабільності в неопромінених клітинах-свідках, що культивувались з лімфоцитами ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, опромінених у дозах від 1,01 до 2,37 Гр [3-5].

Враховуючи викладене, метою представленої роботи було встановлення можливості індукції ефекту свідка в неопромінених лімфоцитах крові людини при їх сумісному культивуванні в змішаних культурах з лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС, опромінених в малих дозах.

### **Матеріали і методи**

При виконанні роботи проведено дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка в неопромінених лімфоцитах трьох донорів жіночої статі при культивуванні в змішаних культурах з лімфоцитами шести ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС, які зазнали опромінення в дозах 0,35-0,69 Гр.

Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові.

Кров культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом D.A. Hungerford. При постановці змішаних культур до культуральної суміші в пробірку додавали по 0,3 мл крові від двох осіб різної статі, що розрізнялись за наявністю опромінення *in vivo*.

Цитогенетичний аналіз виконували з застосуванням диференційного G-збарвлення метафазних хромосом з використанням барвника Гімза та трипсину за методом M.Seabright.

Хромосомний аналіз проводили на зашифрованих препаратах. Для розрізнення лімфоцитів периферичної крові, що культивувались в змішаних культурах, використовували статеві хромосоми Y та XX (як головні маркери) та морфологічні варіанти деяких соматичних хромосом (9qh<sup>++</sup>; 9qh<sup>+</sup>; 13ps<sup>+</sup>, 15cenh<sup>+</sup>) як допоміжні ознаки. Реєстрували аберації хроматидного (хроматидні розриви, обміни) і хромосомного (дицентричні, кільцеві хромосоми, транслокації, пара- та перичентричні інверсії, інсерції, термінальні та інтерстиціальні делеції) типів. Під час аналізу

реєстрували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з міжнародною номенклатурою ISCN- 2005 [6].

Отримані дані опрацьовували з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юдентом-Фішером.

#### Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що рівень аберацій хромосом ( $1,73 \pm 0,65$  на 100 метафаз) в неопромінених лімфоцитах донорів (контроль) знаходився на популяційному рівні.

Цитогенетичне обстеження ліквідаторів аварії на ЧАЕС показало, що у віддалені терміни після дії радіації рівень аберацій хромосом в їх лімфоцитах (клітинах-мішенях) статистично достовірно перевищував показники неопроміненого контролю і становив  $4,11 \pm 0,66$  на 100 метафаз ( $p < 0,01$ ) (рис.1).

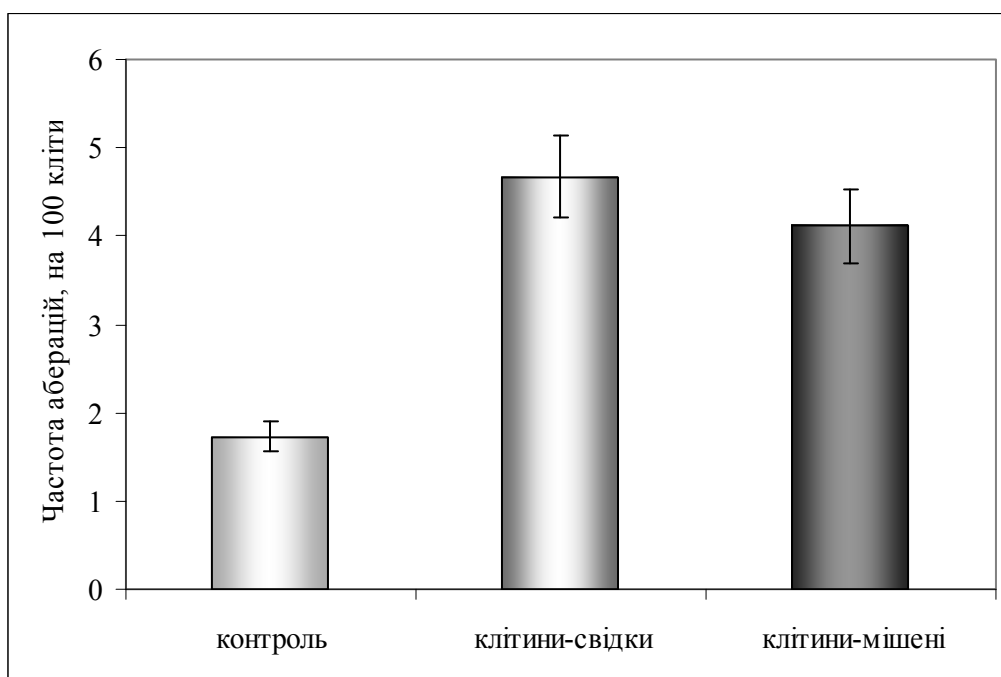


Рис. 1 Частота аберацій хромосом в неопромінених клітинах-свідках та опромінених *in vivo* клітинах-мішенях

В неопромінених лімфоцитах, що культивувались в змішаних культурах з кров'ю ліквідаторів аварії на ЧАЕС (клітинах-свідках), частота аберацій хромосом складала  $4,67 \pm 0,56$  на 100 метафаз і статистично перевищувала рівень аберацій в контрольних культурах неопромінених лімфоцитів ( $p < 0,01$ ) та не мала істотної різниці з частотою пошкоджених хромосом в клітинах-мішенях ( $p > 0,05$ ).

Разом з тим, аналіз спектру виявлених пошкоджень засвідчив різницю в типах аберацій, зареєстрованих в клітинах-свідках та клітинах мішенях. В неопромінених клітинах, що культивувались з опроміненими, 73% всіх пошкоджень склали аберації хроматидного типу. Вони зустрічались з частотою  $3,42 \pm 0,48$  на 100 клітин, що статистично перевищувала їх рівень як в контролі ( $0,25\% \pm 0,25$  на 100 метафаз), так і в клітинах-мішенях ( $1,89 \pm 0,45$  на 100 клітин) ( $p < 0,01$ ) (рис. 2). Вони були представлені хроматидними розривами (96 % від загальної кількості) та хроматидними обмінами (4 %). Рівень аберацій хромосомного типу в клітинах-свідках істотно не відрізнявся від контрольного ( $p > 0,05$ ).

У ліквідаторів аварії на ЧАЕС частка аберацій хромосомного типу становила 54 % від зареєстрованих у них пошкоджень хромосом. Їх частота також не мала

істотної різниці з контролем ( $p > 0,05$ ). В клітинах-мішенях спостерігали нормалізацію рівня маркерів дії радіації за час, що минув після аварії.

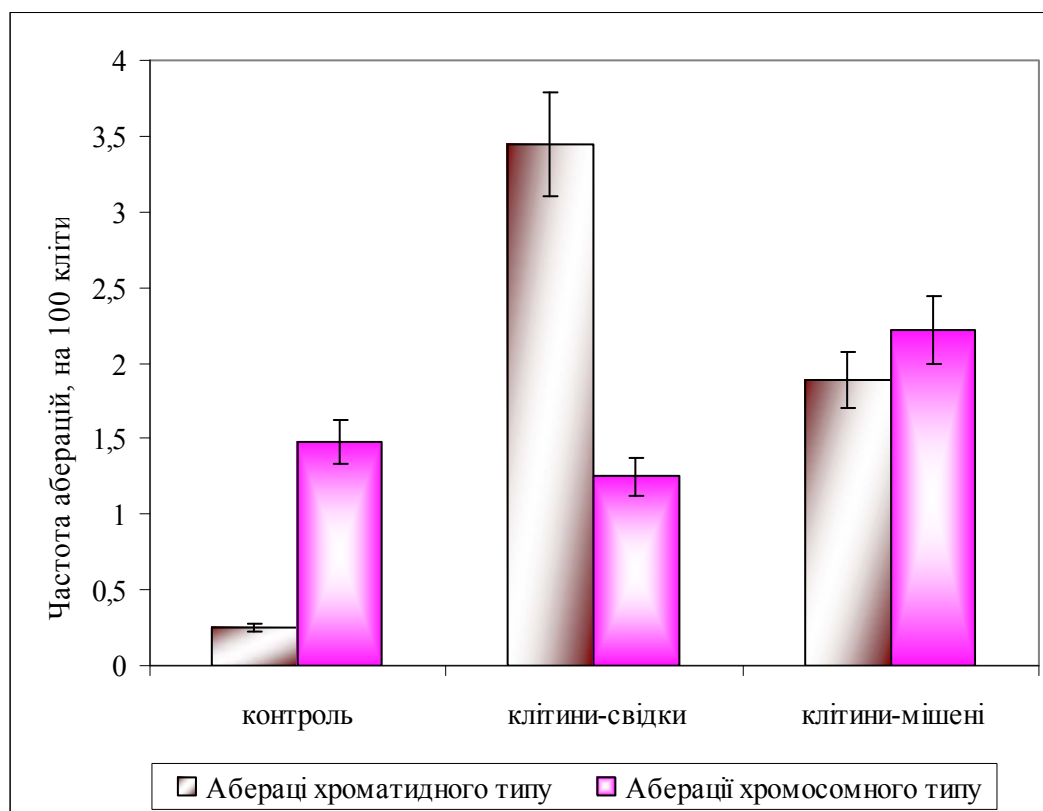


Рис. 2 Частота аберацій хроматидного та хромосомного типів в неопромінених клітинах-свідках та опромінених *in vivo* клітинах-мішенях

Наведені дані щодо рівня і спектру аберацій хромосом в клітинах-свідках (зростання частоти пошкоджень хроматидного типу) узгоджуються з результатами наших попередніх дослідів, отриманих при моделюванні ефекту свідка з використанням лімфоцитів крові, опромінених *in vitro* та дослідженнях індукції ефекту свідка при культивуванні з лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС, опромінених у високих дозах [4, 5, 7].

**Висновки.** Проведеними дослідженнями встановлено можливість індукції ефекту свідка в неопромінених лімфоцитах крові людини при їх сумісному культивуванні в змішаних культурах з лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС, опромінених в дозах 0,35-0,69 Гр.

#### Література

1. Литтл Д.Б. Немишеневые эффекты ионизирующих излучений: выводы применительно к низкодозовым воздействиям // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – Т. 47, № 3. – С. 262-272.
2. Emerit I. Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor // J. Cancer Res. Clin. Oncol. – 1994. – Vol. 120. – P. 558–561.
3. Шеметун О.В., Пілінська М.А., Талан О.О. Підходи до виявлення радіаційно індукованого „ефекту свідка” в соматичних клітинах людини на цитогенетичному рівні // Українські медичні вісті. – 2005. – Т. 6, № 1-2. – С. 427.
4. Шеметун О.В., Талан О.О., Пілінська М.А. Дослідження радіаційно індукваного ефекту свідка на цитогенетичному рівні // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. – К.: Логос, 2007. – С. 551-554.

5. Шеметун О.В., Талан О.О. Моделирование радиационно индуцированного эффекта свидетеля в условиях *in vitro* // Факторы экспериментальной эволюции организмов. – 2008.- Т. 5. –С. 450-454.
6. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) // Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. – Basel: Karger, 2005. – 130 p.
7. Шеметун О.В., Талан О.О., Пілінська М.А. Дослідження радіаційно-індукованого «ефекту свидетеля» з використанням моделі з лімфоцитів крові людини при опроміненні *in vitro* // Журнал АМН України”. – 2007. - Т.13, № 3. - С. 592-599.

Приведены результаты исследования радиационно индуцированного эффекта свидетеля с использованием модели из лимфоцитов крови человека. Показано, что в результате этого феномена уровень аберраций хромосом в необлученных клетках при культивировании в смешанных культурах с облученными *in vivo* в дозах 0,35-0,69 Гр лимфоцитами достоверно превышал контрольный.

Наведені результати дослідження радіаційно індукованого ефекту свидетеля з використанням моделі з лімфоцитів крові людини. Показано, що внаслідок цього феномену рівень аберацій хромосом в неопромінених клітинах при культивуванні в змішаних культурах з опроміненими *in vivo* в дозах 0,35-0,69 Гр лімфоцитами достовірно перевищував контрольний.

The results of cytogenetic investigation of radioinduced bystander effect with the help of human blood lymphocytes had been presented. It had been shown that as the result of this phenomenon the level of chromosome aberrations in bystander cells cultivated jointly with irradiated *in vivo* in dose 0,35-0,69 Gy was significantly higher, than control level.

#### **ШТАНДЕЛЬ С.А.**

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я.Данилевского АМН Украины», Украина, 61002, г. Харьков, ул. Артема, 10, e-mail: [shtandel@mail.ru](mailto:shtandel@mail.ru)

### **ПОДВЕРЖЕННОСТЬ УЗЛОВОМУ НЕТОКСИЧЕСКОМУ ЗОБУ ЖИТЕЛЕЙ ГОРОДА ХАРЬКОВА**

Известно, что структура популяции влияет на распространенность наследственных заболеваний [1, 2]. Во многом благодаря увеличению "генетического груза популяции" возрастает и распространенность множества хронических заболеваний человека [3]. Это то, чем популяция платит за адаптацию к окружающей среде. Генетический груз состоит из двух компонент. Одна из них - мутационный груз, открытый Г.Меллером. Вторая компонента - так называемый сегрегационный груз (от лат. *segregation* - расщепление) - связан с полиморфизмом генов. При оптимальной среде разные генотипы не отличаются по жизнеспособности по полиморфной части генома (они как бы равновелики). При субоптимальной, стрессирующей среде разные генотипы начинают вести себя по-разному. Гетерозиготы, у которых ген представлен разными аллелями, лучше приспособляются к изменениям окружающей среды, чем гомозиготы, поэтому гетерозиготность популяции возрастает, сегрегационный груз накапливается. И этот груз может быть ощутимо велик. Сегрегационный груз способствует увеличению распространенности хронических заболеваний и, таким образом влияет на изменения смертности в популяции [1]. К факторам, изменяющим генные частоты в популяции относят наряду с вновь возникающими мутациями и отбором миграцию, изоляцию и аутбридинг [4]. Под аутбридингом в современных популяциях человека подразумевается расширение круга брачных связей (увеличение