

УДК [612.014.48:612.014.3]+546.56:576.353

Д. Д. Гапеєнко✉

Державна установа "Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України", 53, вул. Мельникова, м. Київ, 04050

## ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННИХ ЕФЕКТІВ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ІОНІВ МІДІ

Постійне зростання масштабів використання хімічних речовин та джерел іонізуючого випромінювання в різних галузях промисловості, медицині, науці збільшує їх вплив на всі компоненти природного середовища. Тож зростає ймовірність одночасного впливу радіаційного та хімічного факторів на біологічні об'єкти, а в зв'язку з цим питання особливостей комбінованої дії різних за своєю природою факторів стає все більш актуальним.

**Метою** роботи стало дослідження особливостей окремого та комбінованого впливу іонізуючого випромінювання та солей міді на життєздатність клітин *in vitro*.

**Матеріали і методи.** Дослідження виконані на перещеплюваній культурі клітин лінії L929. Ацетат міді ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ) додавали до культури клітин через 1 годину після їх опромінення. Опромінення клітин проводили через 24 години після посадки. Проліферативну активність клітин оцінювали за кінетикою росту.

**Результати** досліджень показали, що цитотоксичність іонів міді проявляється при концентрації 1 мкмоль/л. Комбінована дія іонізуючого випромінювання в сублетальних дозах та іонів міді в концентраціях 0,001 та 1 мкмоль/л призвела до збільшення кількості атипичних полікаріоцитів.

**Висновки.** При інкубації клітин з іонами міді в різних концентраціях спостерігається як активація, так і інгібування проліферативної та мітотичної активності клітин. Вживання клітин та мітотична активність при опроміненні зменшуються з підвищенням дози, а індекс полікаріоцитів зростає. При комбінованому впливі іонізуючого випромінювання та іонів міді на клітини *in vitro* спостерігали зміни морфофункціональних властивостей клітин, які прямо пропорційно не залежали ні від дози опромінення, ні від концентрації іонів міді.

**Ключові слова:** важкі метали, іонізуюче випромінювання, культура клітин, вживання, проліферація, мітоз.

*Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2013. Вип. 18. С. 305–312.*

D. D. Hapcienko✉

State Institution "National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

## Features of cellular effects of combined exposure to ionizing radiation and copper ions

The constant increase in the scale of the use of chemicals and ionizing radiation in various industries, medicine and science increases their impact on all environmental components. Therefore, the probability of simultaneous effects of radiation and chemical factors on biological objects is growing. In this regard the issue of combined exposure to different by virtue of the nature factors is becoming more and more challenging.

The **objective** of the work was to investigate the characteristics of the individual and combined effects of ionizing radiation and copper salts on cell viability *in vitro*.

**Materials and methods.** The research involved inoculated cell culture line L929. Copper acetate ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ) was added to the cell culture 1 hour after irradiation. Irradiation of the cells was performed 24 hours after passaging. Proliferative activity of the cells was assessed by growth kinetics.

**Study results** showed the cytotoxicity of copper ions at concentration of 1  $\mu\text{mol/L}$ . A combined effect of ionizing radiation in sublethal doses and copper ions at a concentration of 0.001 and 1  $\mu\text{mol/L}$  led to the increased number of atypical polykaryocytes.

✉ Гапеєнко Дар'я Дмитрівна, e-mail: pradacafe@me.com

© Гапеєнко Д. Д., 2013

**Conclusions.** Both activation and inhibition of cell proliferation and mitotic activity occurs after the incubation of cells with copper ions at various concentrations. Cellular survival and mitotic activity decrease along with radiation dose elevation. Index of polykaryocytes at that is elevated. The altered morphological and functional properties of the cells were found in combined exposure to ionizing radiation and copper ions in vitro. They were not directly proportional either to a dose of irradiation or concentration of copper ions.

**Key words:** heavy metals, ionizing radiation, cell culture, survival, proliferation, mitosis.

*Problems of radiation medicine and radiobiology. 2013;18:305–312.*

Екологічна ситуація у великих промислових центрах характеризується постійним зростанням забруднення оточуючого середовища антропогенними чинниками. Чільне місце серед таких по праву слід відвести хімічним забрудненням – викидам та відходам підприємств, добривам, пестицидам, важким металам (ВМ) та їх сполукам [1–5]. Незважаючи на те, що після аварії на Чорнобильській АЕС минуло багато років, все одно зростає ймовірність одночасного впливу радіаційного та хімічного факторів на біологічні об'єкти.

За останні 20 років у літературі з'явилась значна кількість повідомлень про результати експериментальних досліджень комбінованої дії ВМ та іонізуючого випромінювання (ІВ) [6–10]. Найчастіше зустрічаються дані про те, що їх поєднана дія зумовлює підсилення негативного впливу цих факторів на біологічні об'єкти, у порівнянні з окремими впливами кожного з них [8, 10].

Водночас вкрай важливими є дослідження закономірностей комбінованого впливу фізичного та хімічного чинників на клітинному рівні тому, що саме тут формується основа порушень життєздатності клітин, які пізніше проявляються у вигляді різноманітних патологічних порушень органів, а інколи – появою новоутворень.

## МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідити особливості окремого та комбінованого впливу ІВ та солей міді на життєздатність клітин in vitro.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальні дослідження виконані на культурі клітин лінії L929 (фібробласти мишей С3Н трансформовані метилхолантеном). Культивування клітин здійснювали у поживному середовищі, яке складалось із середовища RPMI-1640 (90 %), ембріональної телячої сироватки (10 %) та антибіотиків згідно зі стандартними методами роботи з клітинними штамами [11]. Клітини вирощували при постійній температурі 37°C на покривних скельцях розмірами 16x8 мм, які знаходилися на дні скляних пляшечок, до конфлуентного стану моношару (1–5 діб).

Екологічна ситуація в великих промислових центрах характеризується постійним зростанням забруднення оточуючого середовища антропогенними факторами. Ведуче місце серед них повинно бути віддано хімічному забрудненню – викидам та відходам, добривам, пестицидам, важким металам (ВМ) та їх сполукам [1–5]. Незважаючи на те, що після аварії на Чорнобильській АЕС минуло багато років, все одно зростає ймовірність одночасного впливу радіаційного та хімічного факторів на біологічні об'єкти.

За останні 20 років у літературі з'явилась значна кількість повідомлень про результати експериментальних досліджень комбінованої дії ІВ та ВМ [6–10]. Найчастіше зустрічаються дані про те, що їх поєднана дія зумовлює підсилення негативного впливу цих факторів на біологічні об'єкти порівняно з окремими впливами кожного з них [8, 10].

Водночас вкрай важливими є дослідження закономірностей комбінованого впливу фізичного та хімічного чинників на клітинному рівні тому, що саме тут формується основа порушень життєздатності клітин, які пізніше проявляються у вигляді різноманітних патологічних порушень органів, а інколи – появою новоутворень.

## STUDY OBJECTIVE

The objective was to explore the features of the individual and combined effects of IR and copper salts on cell viability in vitro.

## MATERIALS AND METHODS

Experimental studies were performed on cell culture line L929 (C3H mouse fibroblasts were transformed with methylcholantrene). Cultivation of cells was carried out in the nutrient medium which consisted of RPMI-1640 (90 %), fetal calf serum (10%) and antibiotics according to standard methods of treating the cell strains [11]. Cells were growing at a constant temperature of 37°C on cover slip slides sized 16x8 mm which were left on the bottom of the glass bottles till a confluent monolayer was obtained (1–5 days).

У дослідженнях була використана водорозчинна сіль ВМ, а саме – ацетат міді ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ). Контролем на ацетат-аніон був ацетат натрію ( $\text{NaCH}_3\text{COOH}$ ). Іони міді додавали в культуральне середовище через 25 годин після посадки клітин (щоб іони ВМ не впливали на адгезію та розпластання клітин на скляній підложці) у вигляді водного розчину в концентраціях: 0,001; 0,01; 0,1 та 1,0 мкмоль/л. Культивування клітин здійснювали впродовж 5 діб в присутності іонів ВМ.

Опромінення культури клітин ІВ здійснювали на апараті “Тератрон” (джерело –  $^{60}\text{Co}$  1,2 МеВ, потужність експозиційної дози  $4,3 \cdot 10^{-4}$  Кл/(кг·с) відстань до об'єкта 80 см) в дозах 0,5; 5,0; 10,0 Гр через 24 години після посадки. Іони міді додавали до культури клітин через 1 годину після їх опромінення.

Проліферативну активність клітин оцінювали за кінетикою росту: під оптичним мікроскопом “Axioscop” (West Germany) при збільшенні у 400 разів у межах сітки площею  $0,05 \text{ mm}^2$  підраховували загальну кількість клітин, кількість мітозів і кількість гігантських багатоядерних (2 і більше ядер) клітин. Мітотичний індекс та індекс гігантських багатоядерних клітин розраховувався на 1000 клітин (%).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для вивчення впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів на життєздатність клітин *in vitro* використовували модель культури перманентно проліферуючих клітин – лінія L929. В контролі клітини утворили щільний моношар з типових фібробластоподібних клітин веретеноподібної, округлої або овальної форми. Більшість клітин мають відростки. Цитоплазмі цих клітин притаманні світлі вакуолі та маленькі гранули. Ядра клітин відносно великі, зустрічаються двоядерні клітини. У полі зору помітні клітини на різних стадіях поділу (рис. 1, А.).

Дослідження кінетики росту контрольних культур клітин (рис. 1, Б.) показали, що для них характерно збільшення проліферативної активності впродовж 1–5 діб культивування (фаза логарифмічного росту). В цей час щільність моношару клітин досить висока. Максимум мітотичної активності спостерігався на четверту добу культивування (рис. 1, В). Надалі мітотичний індекс зменшувався за рахунок контактної інгібування мітозу та конфлуентного стану культури клітин. Індекс гігантських багатоядерних клітин в контролі складав 9–24 % (рис. 1, Г).

Як відомо, мідь є одним з найважливіших незамінних та есенціальних елементів, необхідних для імунної системи в живих організмах [12–14]. Недос-

Water-soluble salt of HM, namely copper acetate ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ), was used for the studies. Acetate sodium ( $\text{NaCH}_3\text{COOH}$ ) served as a control for acetate anion. Copper ions were added to the culture medium 25 hours after passaging the cells (to avoid the effect of HM ions on adhesion and spreading cells on a glass substrate) in an aqueous solution at concentrations of 0.001, 0.01, 0.1 and  $1 \mu\text{mol/L}$ . Cultivation of cells was carried out for 5 days in the presence of HM ions.

“Teratron” device (source –  $^{60}\text{Co}$  1.2 MeV, exposure dose  $4.3 \cdot 10^{-4}$  C/(kg · s), distance to the object – 80 cm) was employed to perform irradiation of the cell culture at doses of 0.5, 5.0, 10.0 Gy delivered 24 hours after the passaging. Copper ions were added to cell cultures 1 hour after irradiation.

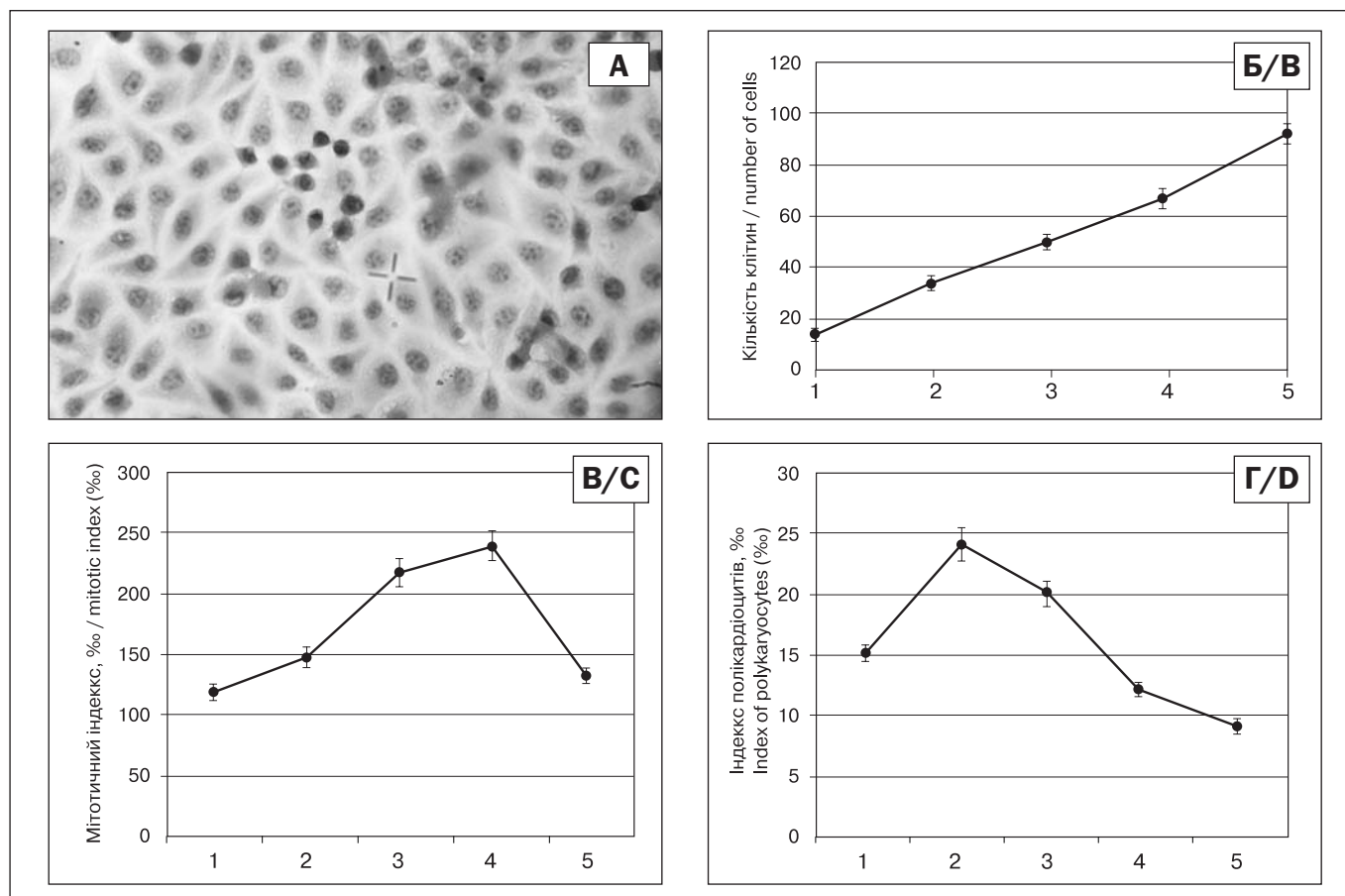
Proliferative activity of the cells was assessed by kinetics of growth: the total number of cells, number of mitoses and multinucleated (2 or more nuclei) giant cells were counted under the optical microscope “Axioscop” (West Germany) at 400x magnification within the grid area of  $0.05 \text{ mm}^2$ . The mitotic index and the index of multinucleated giant cells were calculated per 1,000 cells (%).

## RESULTS AND DISCUSSION

To study the effects of ionizing radiation and heavy metal ions on cell viability *in vitro* there was used the culture model of permanently proliferating cells – line L929. Control cells formed a dense monolayer of typical spindle-shaped, round and oval fibroblast-like cells. Most cells have processes. The cytoplasm of these cells is characterized by light vacuoles and small granules. The nuclei of the cells are relatively large, there are binuclear cells. Cells in various stages of division come in sight (Fig. 1A).

Study of the kinetics of growth of control cell cultures (Fig. 1B) showed that they were characterized by an increase in proliferative activity within 1–5 days of cultivation (logarithmic growth phase). At this time the density of a monolayer of cells is quite high. Maximum mitotic activity was observed on the fourth day of cultivation (Fig. 1B). Then the mitotic index decreased at the expense of contact inhibition of mitosis and confluent condition of the cell culture. The index of multinucleated giant cells in the control was 9–24 % (Fig. 1D).

Copper is known to be one of the most important and essential elements required for the immune system in living bodies [12, 13, 14]. Copper defi-



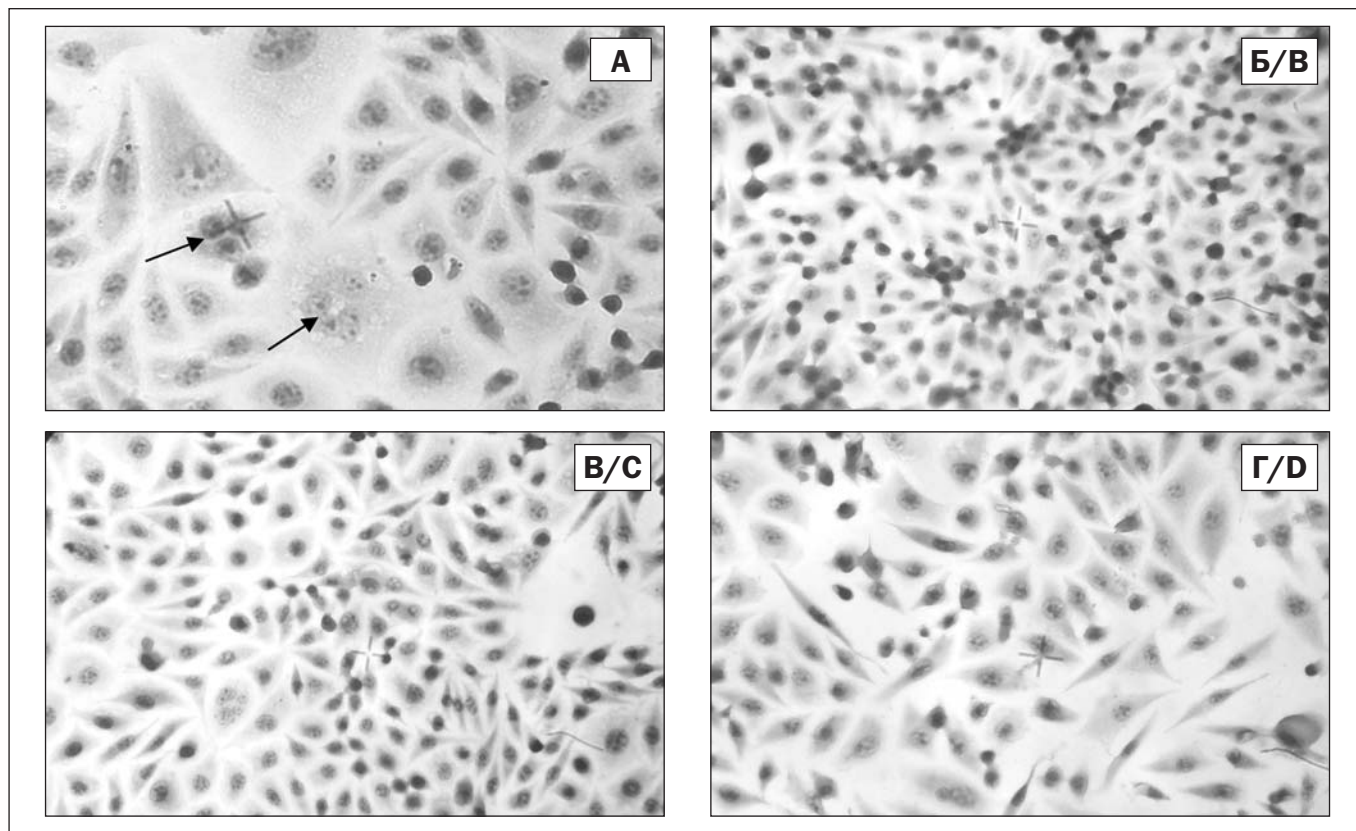
**Рисунок 1.** Культура клітин лінії L929 на 5-ту добу культивування (А) в контролі. Форма клітин веретеноподібна, овальні ядра з чіткими ядерцями, значна кількість мітотичних клітин. Забарвлення гематоксилін-еозином, збільшення  $\times 400$ . Кінетика росту клітин (Б) оцінювалась за кількістю клітин на площі препарату  $0,05 \text{ мм}^2$ , мітотична активність (В) – за мітотичним індексом (%), кількість атипосих багатоядерних клітин (Г) – за індексом полікаріоцитів (%). На осях абсцис – термін культивування клітин, доба.

**Figure 1.** Culture of L929 cells on the 5<sup>th</sup> day of cultivation (A) in control. The cells are spindle-shaped, oval nuclei are with distinct nucleoli, there is a significant number of mitotic cells. Hematoxylin-eosin staining, magnification of  $400\times$ . Kinetics of cell growth (B) was assessed by the number of cells in the area of preparation of  $0.05 \text{ mm}^2$ , mitotic activity (C) – by the mitotic index (%), and number of atypical multinucleated cells (D) – by the index of polycaryocytes (%). The abscissa axis represents the term of cells culturing in days.

татність міді здатна порушити баланс практично всіх обмінних процесів в організмі, оскільки вона бере участь у біохімічних процесах, як складова частина електронпереносних білків, які здійснюють реакції окиснення органічних субстратів молекулярним киснем та у біосинтезі гемоглобіну, еластину, каталази, пероксидази, необхідна для дозрівання ретикулоцитів до еритроцитів. Іони  $\text{Cu}^{2+}$  беруть участь у процесах транспорту амінокислот і, таким чином, впливають на швидкість білкового обміну. До появи надлишку  $\text{Cu}^{2+}$  призводять порушення видільної функції лізосом в результаті дефектів мембран або цитоскелету. Слід зазначити, що будь-яка затримка виділення міді з клітини призводить до індукції біосинтезу металотіонеїну та пошкодження мембра-

ciency can upset the balance of almost all metabolic processes in the body since it is involved in the biochemical processes as a part of electron-transferring proteins that provide oxidation of organic substrates by molecular oxygen and in the biosynthesis of hemoglobin, elastin, catalase, peroxidase required for the maturation of reticulocytes to erythrocytes.  $\text{Cu}^{2+}$  ions are involved in the processes of transport of aminoacids and thus affect the rate of protein metabolism. Violation of excretory function of lysosomes as a result of membrane and cytoskeleton defects results in excess of  $\text{Cu}^{2+}$ . It should be noted that any delay in the allocation of copper cells leads to the induction of metallothionein biosynthesis and damage to the membrane





**Рисунок 2.** Культура клітин лінії L929 на 5-ту добу культивування при інкубації з іонами міді в концентраціях 1,0 мкмоль/л (А), 0,1 мкмоль/л (Б), 0,01 мкмоль/л (В), 0,001 мкмоль/л (Г). Клітини переважно полігональної форми, рідше – веретенноподібної, ядра – овальні, стрілками позначені гігантські багатоядерні клітини. Забарвлення гематоксилином-еозином, збільшення  $\times 400$ .

**Figure 2.** Culture of L929 cells on the 5<sup>th</sup> day of cultivation during the incubation with copper ions at concentrations of 1  $\mu\text{mol/L}$  (A), 0.1  $\mu\text{mol/L}$  (B), 0.01  $\mu\text{mol/L}$  (C), 0.001  $\mu\text{mol/L}$  (D). Cells are mainly polygonal-shaped, less often – spindle-shaped, nuclei are oval; arrows label the giant multinucleated cells. Hematoxylin-eosin staining, magnification of 400 $\times$ .

ни і цитоскелета, що в свою чергу супроводжується подальшим накопиченням  $\text{Cu}^{2+}$  в клітині [15].

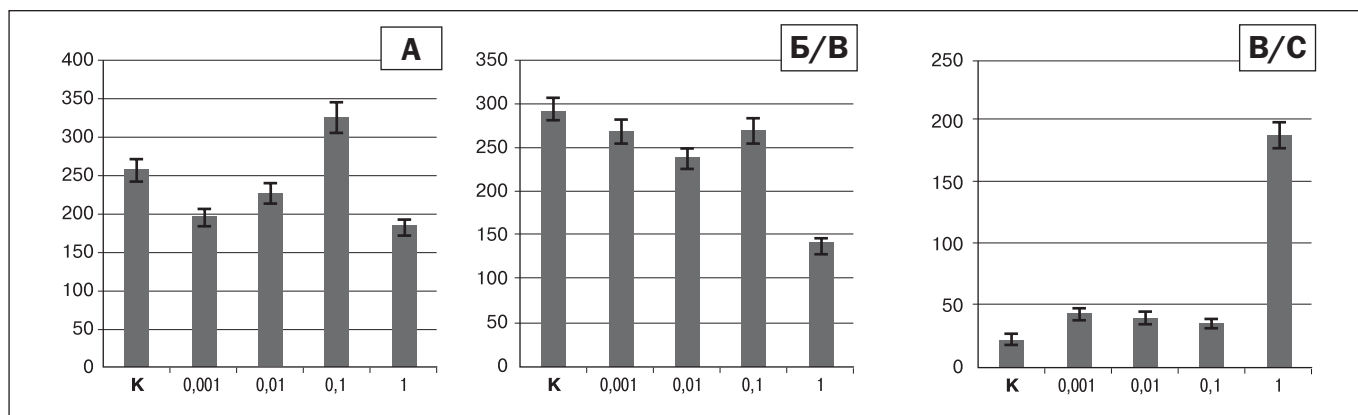
Інкубація клітин з іонами міді різної концентрації (рис. 2, А-Г) викликала різнонаправлені зміни їх морфофункціональних характеристик.

Дослідження концентраційних залежностей цитотоксичності іонів міді встановило (рис. 3, А-В) нелінійну залежність показників життєздатності клітин від концентрації катіону в поживному середовищі. Інкубація клітин з іонами міді в концентрації 0,1 мкмоль/л призводила до стимуляції росту клітинної популяції, яка збільшилась в 1,3 раза порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ). При інкубації клітин з іонами міді в концентраціях 0,001 та 1 мкмоль/л, спостерігається інгібування росту та поділу клітин в культурі. Слід відмітити значне збільшення в культурі клітин кількості полікаріоцитів (у 8,5 раза порівняно з контролем) в присутності мікроелементу в кількості 1,0 мкмоль/л, що вказує на токсичність іонів міді в цій концентрації.

and cytoskeleton, which in turn is accompanied by a further accumulation of  $\text{Cu}^{2+}$  in the cell [15].

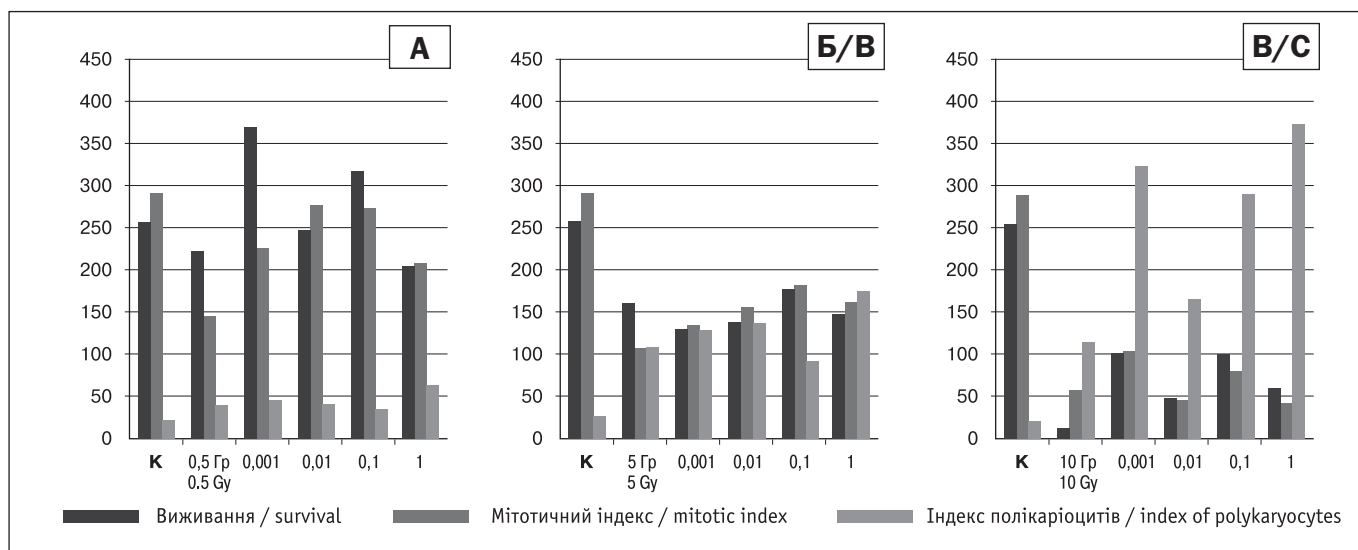
Incubation of cells at different concentrations of copper ions (Fig. 2A-D) caused discordant changes in their morphological and functional characteristics.

Studying of concentration dependence of copper ions cytotoxicity established (Fig. 3A-C) a nonlinear dependence of parameters of cell viability on the concentration of cations in the nutrient medium. Incubation of cells with copper ions at concentration of 0.1  $\mu\text{mol/L}$  resulted in stimulation of cell population growth, which increased 1.3-fold compared with controls ( $p < 0.05$ ). When incubated with copper ions at concentrations of 0.001 and 1  $\mu\text{mol/L}$  the inhibition of both growth and division of cells in culture is observed. Significant increase (8.5-fold compared to the control) in polycaryocytes in the cell culture in the presence of the trace element in quantities of 1  $\mu\text{mol/L}$  is indicative of the toxicity of copper ions at this concentration.



**Рисунок 3.** Показники життєздатності клітин лінії L929 на 5-ту добу культивування при інкубації їх з іонами міді. Вживання клітин (А) оцінювалось за кількістю клітин на площині препарату 0,05 мм<sup>2</sup>, мітотична активність (Б) – за мітотичним індексом (‰), кількість атипичних багатоядерних клітин (В) – за індексом полікаріоцитів (‰). На осях абсцис – концентрація іонів міді, мкмоль/л.

**Figure 3.** Indicators of L929 cells sustainability on the 5<sup>th</sup> day of cultivation during the incubation with copper ions. Survival of cells (A) was estimated by the number of cells in the area of the preparation of 0.05 mm<sup>2</sup>, mitotic activity (B) – by the mitotic index (‰), number of atypical of multinucleated cells (C) – by the index of polycaryocytes (‰). The abscissa axis represents concentration of copper ions, μmol /L.



**Рисунок 4.** Морфофункціональні властивості клітин лінії L929 на 5-ту добу культивування при комбінованій дії ІВ та іонів міді в різних концентраціях. А – після опромінення в дозі 0,5 Гр; Б – після опромінення в дозі 5 Гр; В – після опромінення в дозі 10 Гр. На осях абсцис – концентрація іонів міді, мкмоль/л.

**Figure 4.** Morphofunctional properties of L929 cells on the 5<sup>th</sup> day of cultivation in combined action of IR and different concentrations of copper ions. A – after irradiation at the dose of 0.5 Gy, B – after irradiation at the dose of 5 Gy; C – after irradiation at the dose of 10 Gy. The abscissa axis represents concentration of copper ions, μmol /L.

Комбінована дія опромінення в малій, середньолетальній і сублетальній дозах та іонів міді в різних концентраціях на життєздатність клітин представлено на рис. 4, А–В.

Опромінення клітин ІВ в дозі 0,5 Гр (рис. 4, А) та додавання в поживне середовище іонів міді призвело до статистично достовірного підвищення жит-

The combined effect of low, average lethal and sublethal doses of copper ions at different concentrations on the viability of the cells is shown in Figures 4A–B.

Exposure of cells to IR at the dose of 0.5 Gy (Fig. 4A) and adding the copper ions to the culture medium resulted in a statistically significant increase in

тездатності клітинних популяцій у порівнянні з окремою дією мікроелемента. Водночас слід відмітити істотне зменшення (більш ніж у три рази) індекса полікаріоцитів за цих умов.

При поєднаній дії ІВ в дозі 5 Гр та іонів міді (рис. 4, Б) спостерігали пригнічення проліферації і мітотичної активності клітин в культурі та посилення утворення багатоядерних клітин (в 4–7 разів порівняно з контролем та окремою дією мікроелемента).

Непередбачувані ефекти отримали при інкубації клітин, опромінених в сублетальній дозі 10 Гр, з іонами міді: за всіх досліджуваних концентрацій спостерігали збільшення життєздатності культури клітин у порівнянні з тільки опроміненими клітинами. Зважаючи на те, що надлишок іонів міді індукує в клітинах синтез металотіонеїнів [15], то, можливо, саме вони і сприяють підвищенню виживання клітин за умов опромінення. Водночас у 8–17 разів підвищувалась і кількість атипичних полікаріоцитів, що може свідчити про істотні порушення здатності клітин до поділу.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, експериментальні дослідження цитотоксичності іонів міді та комбінованого впливу їх з іонізуючим випромінюванням на клітини *in vitro* показали, що інкубація клітин з іонами міді в різній концентрації викликала різнонаправлені зміни їх морфофункціональних характеристик. Комбінована дія іонізуючого випромінювання та іонів міді призводила до покращення показників життєздатності клітин в культурі (проліферативної та мітотичної активності) у порівнянні з окремою дією радіації, водночас рівень полікаріоцитів залишався на досить високому рівні.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ершов Ю. А. Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю. А. Ершов. – М. : Медицина, 1989. – 272 с.
2. Трахтенберг И. М. Приоритетные аспекты проблем медицинской экологии в Украине / И. М. Трахтенберг // Современные проблемы токсикологии. – 1998. – № 1. – С. 5–8.
3. Свинец и другие тяжелые металлы во внешней среде после Чернобыльской катастрофы (к экологической ситуации в Украине) / И. М. Трахтенберг, В. М. Шестопалов, М. В. Набока, О. А. Бобылева // Междунар. мед. журн. – 1998. – № 3. – С. 94–98.
4. Ercal N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage / N. Ercal, H. Gurer-Orhan, N. Aykin-Burns // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2001. – Vol. 1, № 6. – P. 529–539.
5. Valko M. Metals, toxicity and oxidative stress / M. Valko, H. Morris, M. T. Cronin // *Curr. Med.* – 2005. – Vol. 12, № 10. – P. 1161–1208.

the viability of cell populations vs. individual action of the trace element. Simultaneously, a significant reduction (more than 3-fold) in the index of polycaryocytes should be noted under these conditions.

After a combined exposure to IR at the dose of 5 Gy and copper ions (Fig. 4B) the inhibition of proliferation and mitotic activity of cells in the culture and increased formation of multinucleated cells (4–7 times vs. control and influence of the trace element) was found.

Unanticipated effects were found after incubation of cells exposed to sublethal dose of 10 Gy with copper ions: at all investigated concentrations there was observed an increase in viability of cells in the culture compared with only irradiated cells. An excess of copper ions induces synthesis in cells metallothioneins [15] which may enhance cell survival under conditions of irradiation exposure. Simultaneous 8–17-fold rise in the number of atypical polycaryocytes may be indicative of substantial disorders in cellular reproductive ability.

## CONCLUSIONS

To sum up, the experimental studies of copper ions cytotoxicity and the combined exposure to ionizing radiation and copper ions *in vitro* showed that incubation of cells with copper ions at varying concentrations caused discordant changes in their morphological and functional characteristics. Combined effect of ionizing radiation and copper ions resulted in improvement of cell viability in the culture (proliferative and mitotic activity) compared with the findings after an individual exposure to radiation at simultaneously remained quite high level of polykaryocytes.

## REFERENCES

1. Ershov Yu.A. [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. Moskva: Meditsina; 1989. 272 p. Russian.
2. Trachtenberg IM. [Priority aspects of the problems of medical ecology in Ukraine]. *Sovremennye problemy toksikologii*. 1998; (1):5–8. Russian.
3. Trachtenberg IM, Shestopalov VM, Naboka MV, Bobileva OA. [Lead and other heavy metals in the environment after the Chernobyl catastrophe (to the ecological situation in Ukraine)]. *Mezhdunarodnyi meditsinskii zhurnal*. 1998;(3):94–8. Russian.
4. Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem*. 2001;1(6):529–39.
5. Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med*. 2005;12(10):1161–208.

6. Trakhtenberg, I. The ecologic consequences of the Chernobyl disaster: radiation and lead / I. Trakhtenberg, N. Ivanitskaya, Yu. Talakin // *Frezenius Envir. Bull.* – 1995. – Vol 4. – P. 597–602.
7. Мадонова, Ю. Б. Хромосомные нарушения, индуцированные солями тяжелых металлов in vitro у населения, проживающего на территориях с повышенной радиационной нагрузкой / Ю. Б. Мадонова, В. А. Трофимов // *Успехи совр. естествознания.* – 2006. – № 12. – С. 58–59.
8. Трахтенберг, И. М. Токсикология в реалиях времени [Электронный ресурс] / И. М. Трахтенберг, Ю. Б. Виленский. – Режим доступа : <http://health-ua.com/articles/866.html>.
9. Пчеловская С. А. Оценка синергизма комбинированного действия радионуклеидов и тяжелых металлов / С. А. Пчеловская, Ю. А. Кутлахмедов // *Радіобіологічні ефекти: ризики мінімізація, прогноз : матеріали міжнар. конф.* – К. : [б. в.], 2005. – С. 141.
10. Поеднаний вплив важких металів та іонізуючого опромінення низької інтенсивності на рівень ферментативного антиоксидантного захисту клітин / О. В. Севериновська, А. І. Дворецький, О. Г. Єгорова, О. Ю. Зайченко // *Проблеми радіаційної медицини та радіобіології.* – 2003. – Вип. 9. – С. 115–119.
11. Дьякова Л. П. Животная клетка (Методы и применение в биотехнологии) / под общ. ред. Л. П. Дьяковой. – М. : Спутник+, 2009. – 656 с.
12. Бут Г. Микроэлементы и их роль в обеспечении иммунного ответа / Г. Бут // *Новости медицины и фармации.* – 2008. – № 4 (235). – С. 13.
13. Нарушения минерального обмена у человека : методическое пособие для врачей. – Донецк : [б. и.], 2006. – 82 с.
14. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение) : практическое руководство для врачей и студентов медицинских вузов. – М. : изд-во КМК, 2001. – 96 с.
15. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова. – М. : Медицина. 1991. – 496 с.
6. Trakhtenberg I, Ivanitskaya N, Talakin Y. The ecologic consequences of the Chernobyl disaster: radiation and lead. *Frezenius Envir Bull.* 1995;4:597–602.
7. Madonova YuB, Trofimov VA. [Chromosomal disorders induced by heavy metal salts in vitro of the population living in areas with high radiation burden]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznania.* 2006;(12):58–9. Russian.
8. Trachtenberg IM, Wilensky YB. [Toxicology in the realities of the time] [Internet]. Available from: <http://health-ua.com/articles/866.html>. Russian.
9. Pchelovskaya SA, Kutlakhmedov Yu.A. [Evaluation of synergism of the combined action of radionuclides and heavy metals]. *Radiobiological effects: risk, minimization, forecast. Proceedings of the International conference; 2005; Kyiv, Ukraine.* Kyiv, 2005. p. 141. Russian.
10. Severynovska AV, Dvoretzky AI, Egorova OG, Zaychenko OYu. [Combined effects of heavy metals and ionizing radiation of low intensity at the level of enzymatic antioxidant defense of cells]. *Problemy radiatsiinoi medytsyny ta radiobiologii.* 2003;(9): 115–9. Ukrainian.
11. Dyakonov LP, editor. [Animal cell (Methods and application in biotechnology)]. Moskva: Sputnik+; 2009. 656 p. Russian.
12. Booth G. [Microelements and their role in the immune response]. *Novosti medytsyny i farmatsii.* 2008;(4(235)):13. Russian.
13. [Violations of mineral metabolism in humans: methodical manual for physicians]. Donetsk; 2006. 82 p. Russian.
14. [Human microelementoses (diagnosis and treatment): a practical guide for physicians and medical students]. Moskva: KMK Publ.; 2001. 96 p. Russian.
15. Avtsyn AP, Zhavoronkov AA, MA Risch, Strochkova LS. [Human microelementoses (etiology, classification, organopathology)]. Moskva: Meditsina; 1991. 496 p. Russian.

*Стаття надійшла до редакції 03.07.2013*

*Received: 03.07.2013*