

УДК:553.2:612.014.3:612.014.48:546.3

Д. Д. Гапеєнко✉, Г. Й. Лавренчук

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

РАДІОМОДИФІКУЮЧИЙ ТА АНТИТОКСИЧНИЙ ВПЛИВ ПОЛІМІНЕРАЛЬНИХ РЕЧОВИН ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН ЛІНІЇ L₉₂₉ ЗА КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ТА ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Мета: дослідити радіомодифікуючий та антитоксичний вплив полімінеральних речовин природного походження на життєздатність клітин *in vitro* за дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів.

Матеріали і методи. Дослідження виконані на перещеплюваній культурі проліферуючих клітин лінії L₉₂₉. Водорозчинні солі ацетатів свинцю, міді, нікелю та оксид хрому додавали до культури клітин в концентраціях 0,01–10,00 мкмоль/л за 1 год перед опроміненням в дозах 0,5 Гр, 5,0 Гр та 10,0 Гр, яке проводили через 24 год після посадки. Полімінеральні речовини “Мінерол” чи “Бента” до культури клітин додавали у вигляді надосадкового розчину у поживному середовищі через 1 год після опромінення. Клітинні відповіді оцінювали за показниками життєздатності: кількості клітин на площі 0,05 мм², мітотичному індексу та індексу полікаріоцитів.

Результати досліджень показали, що полімінеральні речовини природного походження “Мінерол” та “Бента” показали радіомодифікуючу та антитоксичну здатність у тест-системі культури проліферуючих клітин за комбінованого впливу радіації та важких металів, а саме: їх застосування підвищило виживаність клітин в моношарових культурах у 1,5–2 рази та мітотичну активність клітин в 2–6 разів при одночасному зменшенні атипових полікаріоцитів, за що їх можна рекомендувати як профілактичний засіб для зменшення негативних ефектів, які виникають за комбінованої дії радіації та ксенобіотиків.

Ключові слова: важкі метали, іонізуюче випромінювання, культура клітин, виживання, проліферація, полімінеральні речовини.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 474–489.

✉ Гапеєнко Дар'я Дмитрівна, e-mail: dorozhkina@gmail.com

D. Hapicienko✉, H. Lavrenchuk

State Institution “National Research Centre for Radiation Medicine, the National Academy of Medical Science of Ukraine”, Melnykov str., Kyiv, Ukraine, 04050

Radiomodifying and antitoxic effect of natural polymineral substances on the viability of the cell line L₉₂₉ under the combined exposure to ionizing radiation and ions of heavy metals

Objective: to study the radiomodifying and antitoxic effect of natural polymineral substances on cell viability in vitro under the combined exposure to ionizing radiation and ions of heavy metals.

Materials and methods. Research was performed on an inoculated proliferating culture of the L₉₂₉ cell line. Water-soluble salts of lead acetate, copper, nickel and chromium oxide were added to the cell line culture at concentrations of 0.01–10.00 μmol/L one hour before exposure to radiation at doses of 0.5; 5.0; 10.0 Gy, delivered 24 hours after the passing. Polymineral substances “Minerol” and “Benta” were added to the cell cultures in the form of a supernatant aqueous solution in a nutrient-rich environment one hour after the exposure. Cellular response was evaluated on the indicators of viability: the number of cells on the surface of 0.05 mm², mitotic index and the polycaryocytes index.

Results showed that natural polymineral substances “Minerol” and “Benta” demonstrated a radiomodifying and an antitoxic ability in the test-system culture of proliferating cells under the combined exposure to radiation and heavy metals; specifically: their use elevated cell vitality in monolayer cultures by 1.5–2.0 times and the mitotic cell activity by 2–6 times during a simultaneous mixing of atypical polycaryocytes. It is the quality for which they can be recommended as a prophylactic tool used to decrease negative effects that appear under the combined influence of radiation and xenobiotics.

Key words: heavy metals, ionizing radiation, cell culture, survival, proliferation, polymineral substances.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:474-489.

ВСТУП

Сучасна екологічна ситуація характеризується поєднаним впливом токсикантів фізичної та хімічної природи. За умов радіаційних аварій окрім безпосередньої дії радіаційного фактора можливий вплив присутніх одночасно з ним сполук важких металів [1–3]. Відомо [4, 5], що іони важких металів, як і радіація, активують процеси утворення активних форм кисню в різних типах клітин, провокуючи розвиток в організмі оксидативного стресу. Дослідження закономірностей впливу випромінювання в умовах поєднаної дії його з важкими металами на клітинному рівні є і на сьогодні актуальними. Разом з тим, важливе місце займає проблема пошуку і застосування засобів природного походження, які зменшують негативний вплив комплексу чинників зовнішнього середовища шляхом неспецифічної дії, спрямованої на поліпшення обміну речовин, адаптивних та саморегуляторних реакцій різних систем біологічних об'єктів [6–8]. До таких засобів відносяться біологічно активні мінеральні добавки “Мінерол” та “Бента”, що містять до 95–98 % монтморилоніту. При клініко-експериментальному дослідженні [9–13] було показано, що вони є адсор-

INTRODUCTION

The modern state of ecology is characterised by combined exposures to toxins that are both physical and chemical in nature. During radiation accidents, besides the direct effect of radiation, effects of heavy metal compounds, present in the surrounding atmosphere concurrently with the radiation, are possible [1–3]. It is well-known [4, 5] that ions of heavy metals (HM), some as radiation, initiate processes that activate forms of oxygen in various types of cells, thus provoking development of oxidative stress in an organism. Investigation of radiation exposure patterns under conditions of its combined effect with heavy metals at the cellular level is still relevant. However, an important problem is the search and application of natural substances that reduce the negative impact of a multitude of environmental factors through a non-specific action aimed at improving metabolism of various biological objects [6–8]. Such products include biologically active mineral additives “Minerol” and “Benta”, containing up-to 95–98 % of montmorillonite. Clinical and experimental studies [9–13] have shown them to be absorbents that

бентами, до складу яких входить біля 70 мікро- та мікроелементів. Лікувальні властивості глини визначаються мінеральним складом та структурою. Глина – це алюмосилікатна суміш, що вміщує кремній, алюміній, марганець, титан, калій, кальцій, берилій, залізо, галій, мідь, кобальт, молибден. Розмір часток глини – найголовніша її особливість, на якій засновані її лікувальні властивості. Маленькі розміри кожної частки глини мають велику адсорбційну поверхню. Склад і сума поглинених катіонів 100–120 мг-екв на 100 г сухої глини. Кристалічна решітка монтморилоніту рухлива. Цим пояснюється здатність глини поглинати різні шкідливі речовини: токсини, радіонукліди, важкі метали.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідити радіомодифікуючий та антитоксичний вплив полімінеральних речовин природного походження на життєздатність клітин *in vitro* за дії іонізуючого випромінювання та іонів важких металів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження виконані на асинхронній перещеплюваній культурі клітин – лінія L₉₂₉ (інша назва NCTC-clone 929, Clone of strain L), яка була виділена в 1948 році з родинного штаму L, який в свою чергу є одним з перших штамів підтримуваної культури та найбільш досліджуваним штамом. Первинний штам був отриманий з нормальної підшкірної ареолярної та жирової тканини 100-денної миші C3H/An чоловічої статі [14]. Морфологічно культура клітин L₉₂₉ є фібробластоподібною. Культивування здійснювали в повному поживному середовищі RPMI-1640, що містило 4 ммоль/л L-глютаміну, 10% ембріональної сироватки теляти та 40 мкг/мл гентаміцину згідно зі стандартними методами роботи з клітинними штамми [15]. Клітини вирощували при постійній температурі 37°C на покритих скельцях розмірами (16×8) мм, які знаходилися на дні скляних пляшечок, до конфлуентного стану моношару.

У дослідженнях були використані водорозчинні солі ВМ: ацетати свинцю, міді, нікелю (Pb(CH₃COO)₂, Cu(CH₃COO)₂, Ni(CH₃COO)₂) та оксид хрому (Cr₂O₃). Контролем на ацетат-аніон був ацетат натрію (NaCH₃COO).

ВМ додавали в культуральне середовище через 24 години після посадки клітин у вигляді розчину в кінцевих концентраціях: 10,00; 1,00; 0,10; 0,01 мкмоль/л. Культивування клітин здійснювали упродовж 5 діб в присутності іонів ВМ.

contain about 70 micro- and trace elements. Medical properties of clay are determined by its mineral composition and structure. Clay is a mixture of silica-alumina containing silicon, aluminium, manganese, titanium, potassium, calcium, beryllium, iron, gallium, copper, cobalt and molybdenum. The size of clay particles is its main feature, on which its healing properties are based. Small size of each clay particle has a large absorbent surface. The composition and amount of absorbed cations is 100–120 mEq per 100 g of dry clay. The crystal lattice of montmorillonite is mobile. This explains the ability of clay to absorb various harmful substances: toxins, radionuclides, heavy metals.

OBJECTIVE

Research radiomodifying and antitoxic effect of natural polymineral substances on cell viability *in vitro* under ionizing radiation and ions of heavy metals.

MATERIALS AND METHODS

Experimental studies performed on an asynchronous inoculated cell culture – L₉₂₉ line (also known as the NCTC-clone 929, Clone of strain L), isolated in 1948 from the family strain L, which in turn is one of the first strains of supported cultures and is the most analysed strain among others. The original strain was obtained from normal subcutaneous areolar and fat tissue of a 100-day-old male mouse C3H/An [14]. Morphologically the cell culture L₉₂₉ is a fibroblast-like one. Cultivation was carried out in a full nutrient medium composition RPMI-1640, that contained 4 mmol/L L-glutamine, 10 % of fetal bovine serum, and 40 µg/mL gentamicine according to standard methods of working with cell strains [15]. Cells were grown to confluent monolayer state at a constant temperature of 37°C on coating glass slides size 16×8 mm placed at the bottom of the glass bottles.

The study used water-soluble salts of HM: acetate of lead, copper, nickel (Pb(CH₃COO)₂, Cu(CH₃COO)₂, Ni(CH₃COO)₂) and chromium oxide (Cr₂O₃). Sodium acetate (NaCH₃COO) served as the control for acetate anion.

HM was added to the culture medium 24 hours after cell passaging as an aqueous solution at concentrations: 10.00; 1.00; 0.10; 0.01 µmol/L. The cells were cultured for 5 days in the presence of HM ions.

Опромінення клітин проводили на апараті “Тератрон” (Канада) (джерело – ^{60}Co з енергією γ -квантів 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 та 10,0 Гр через 1 год після додавання ВМ.

Полімінеральними речовинами (ПМР) слугували надосадкові розчини біологічно активних мінеральних добавок – “Мінерол®” (ТУ У 21540172-1 –2001), та “Бента™” (№ 05.03.02-04/31097) у поживному середовищі в наступних розведеннях: 1,0000%; 0,1000%; 0,0100%; 0,0010%; 0,0001%. Експериментальні дослідження впливу різних концентрацій ПМР “Мінерол” та “Бента” на морфофункціональні характеристики культури проліферуючих клітин лінії L₉₂₉ показали, що концентрація 0,001% не змінює показників життєздатності клітин тест-системи культури клітин лінії L₉₂₉ у порівнянні з контролем. Цю концентрацію і використовували у подальших дослідженнях. ПМР додавали в культуру клітин через 1 год після опромінення.

Клітинні відповіді оцінювали за показниками життєздатності у термінальний термін культивування (на 5-ту добу), а саме: загальну кількість клітин, яку підраховували під оптичним мікроскопом “Axioscop” (West Germany) при збільшенні у 1000 разів у межах сітки, площею 0,05 мм² методом випадкових полів по С. Б. Стефанову, кількість мітозів і кількість полікаріоцитів (2 і більше ядер) клітин. Мітотичний індекс та індекс полікаріоцитів розраховували на 1000 клітин (%).

Статистичний аналіз вірогідності отриманих даних проводили за допомогою t-критерію Стьюдента, використовуючи комп’ютерні програми Microsoft Excel та Biostat з попередньою перевіркою гіпотези про нормальний закон розподілу випадкової величини за критерієм Колмогорова-Смірнова.

Опрацьовано 874 препарати.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Про зростаюче забруднення навколишнього середовища свинцем свідчать роботи багатьох дослідників [2, 3, 6, 7]. Велику небезпеку являє собою поступове хронічне свинцеве отруєння. На субклітинному рівні свинець викликає ряд ушкоджень, ступінь яких визначається розподілом його по різних органелах. Більше 85% свинцю (1,5 нмоль/мг білка) пов’язано з мітохондріями. Крім цього, іони свинцю зв’язуються з сульфгідрильних, фосфатними та карбоксильними групами мембрани, збільшують її жорсткість і знижують стійкість до осмотичного шоку [1]. На молекулярному рівні токсикація відбувається в резуль-

Cell irradiation was carried out on the “Theratron” (Canada) unit (source – ^{60}Co with γ -quantum energy of 1.2 MeV, exposure dose: $4.3 \cdot 10^{-4}$ C / (kg·sec), distance to the object: 80 cm) at 0.5, 5.0, and 10.0 Gy doses one hour after adding the HM.

Supernatant aqueous solution of biologically active additives (BAA) including Minerol® (TU 21540172-1 –2001) and Benta™ (№ 05.03.02-04 / 31097) at the dilutions of 1.0000; 0.1000; 0.0100; 0.0010 and 0.0001 % served as polymineral substances (PMS). Experimental studies of the effect of different concentrations of PMS “Minerol” and “Benta” on morphological characteristics of the culture of proliferating cells of the L₉₂₉ line revealed that a concentration of 0.001 % does not change the performance of cell viability of the test-system culture of the L₉₂₉ cell line in comparison with the control. This concentration was used in subsequent studies. PMS was added to the cell culture 1 hour after irradiation.

Cellular responses were evaluated in term of viability in a terminal cultivation period (on the fifth day), namely: the total number of cells counted under the optical microscope “Axioscop” (West Germany) under a 1000-fold increase within a grid area of 0.05 mm², using the random fields method devised by S. Stefanov, the number of mitosis and the amount of polycaryocytes (2 or more nuclei) in the cells. The mitotic and polycaryocyte indices were calculated per 1000 cells (%).

Statistical analysis of the likelihood of the received data was performed with the help of the Student’s t-criterion, using computer programs Microsoft Excel and Biostat with previous confirmation of the hypothesis of normal distribution of the random variable by the Kolmogorov-Smirnov criterion.

In total 874 examples were processed.

RESULTS AND DISCUSSION

Increasing pollution of the environment by lead finds evidence in works of many researchers [2, 3, 6, 7]. A considerable threat comes from a gradual chronic lead poisoning. At the subcellular level lead causes a number of injuries, the extent of which is determined by its distribution within various organelles. More than 85 % of lead (1.5 nmol/mg of protein) is associated with the mitochondria. Additionally, ions of lead bind to sulfhydryl, phosphate and carboxyl groups of the membrane, increase its stiffness and reduce resistance to osmotic shock [1]. At the molecular level,

таті зв'язування іонами свинцю SH-груп. З тієї ж причини знижуються активність інших SH-вмісних ферментів, лактатдегідрогенази, а також концентрація відновленого глутатіону [16]. Ці ефекти в свою чергу викликають різні аномалії функціонуванні клітин.

В проведених нами дослідженнях, був показаний істотний токсичний вплив цього елемента (рис. 1, А): у 3–5 разів зменшувалась кількість клітин в культурі і практично повністю блокувалась мітотична активність клітин. Додавання в поживне середовище ПМР (рис. 1, Б, В) істотно зменшувало токсичну дію ВМ. Щільність клітинної популяції в моношарових культурах статистично достовірно ($p \leq 0,05$) зростає від 2 (для концентрацій 0,01–0,10 мкмоль/л) до 6 разів – за дії концентрацій 1,00 та 10,00 мкмоль/л у порівнянні з дією тільки одного свинцю. Мітотична активність клітин в культурі в 2–3 рази була вищою порівняно з дією тільки іонів свинцю. На препаратах дослідних культур клітин при інкубації з ПМР спостерігали значно менше клітин з вакуолізованою цитоплазмою та ознаками дегенеративно-дистрофічних змін.

Відомо, що нікель є кофактором біля восьми клітинних ферментів, іони Ni^{2+} стабілізують структуру нуклеїнових кислот та рибосом [1, 17, 18], однак їх

intoxication occurs as a result of binding SH-groups by ions of lead. The same reason explains the decreased activity of other SH-containing enzymes, lactate dehydrogenase and the glutathione concentration [16]. These effects, in turn, cause various anomalies in the functioning of cells.

Our research demonstrated a substantial toxic effect of this element (Figure 1, A): by 3–5 times reduced the number of cells in the culture and the mitotic cell activity was almost completely blocked. An addition of the PMS into the nutrient medium (Figure 1, B, C) considerably decreased the toxic effect of HM. The density of the cellular population in monolayer cultures is statistically significant ($p \leq 0.05$), increased from 2 (for the concentrations of 0.01–0.10 $\mu\text{mol/L}$) and up to 6 times – under concentrations of 1.00 and 10.00 $\mu\text{mol/L}$ in comparison to the use of lead only. Mitotic cell activity in the culture was 2–3 times higher compared to when only ions of lead were used. When incubated with PMS, considerably fewer cells with vacuolated cytoplasm and signs of degenerative and dystrophic changes were seen in cell cultures under study.

Nickel is known as a co-factor in about 8 cellular enzymes, Ni^{2+} ions stabilize the structure of nucleic acids and ribosomes [1, 17, 18]; however, their abun-

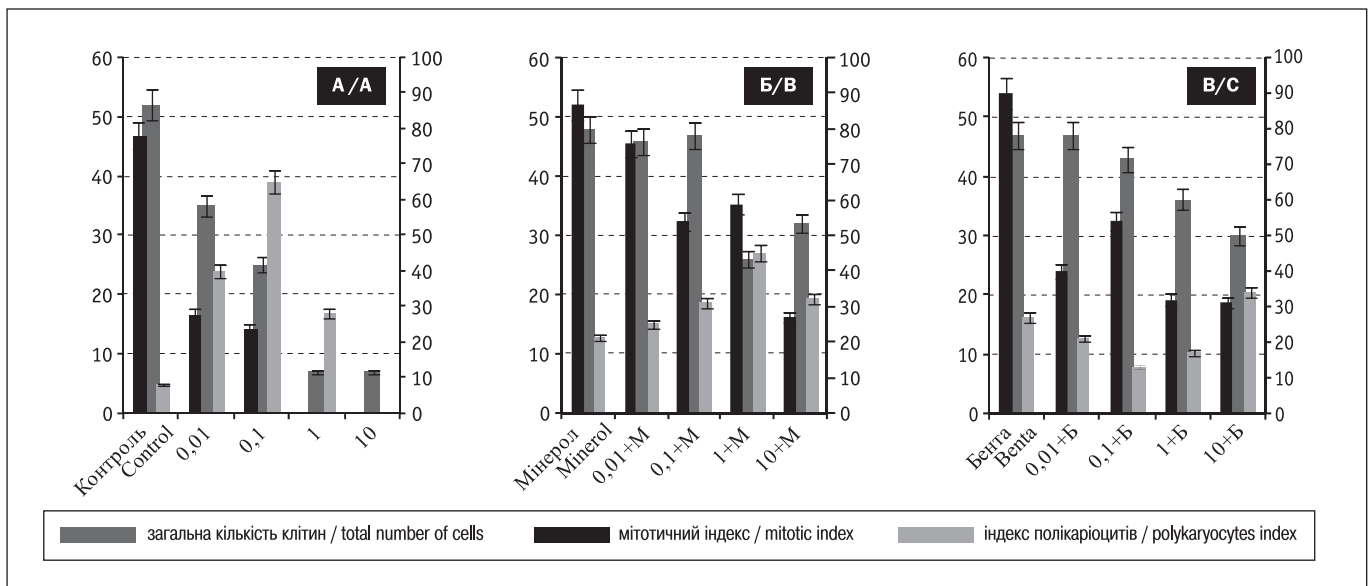


Рисунок 1. Показники життєздатності культури клітин лінії L_{929} на 5-ту добу культивування за умов інкубації з іонами свинцю у різних концентраціях (А) та полімінеральними комплексами “Мінерол” (Б) та “Бента” (В).

Примітка. На осях ординат: основній – кількість клітин на площі $0,05 \text{ mm}^2$ препарату, на додатковій – мітотичний індекс та індекс полікаріоцитів, $\%$. На осях абсцис – концентрація іонів свинцю, $\mu\text{mol/L}$.

Figure 1. Indicators viability line L_{929} cell culture on the 5th day of cultivation after incubation with lead ions in different concentrations (A) and polymineral complexes “Minerol” (B) and “Benta” (C).

Notes. On the axis of ordinates: main - number of cells per 0.05 mm^2 , the optional - mitotic index and index polykaryocytes, $\%$. On the abscissa axes there are shown concentrations of lead ions, $\mu\text{mol/L}$.

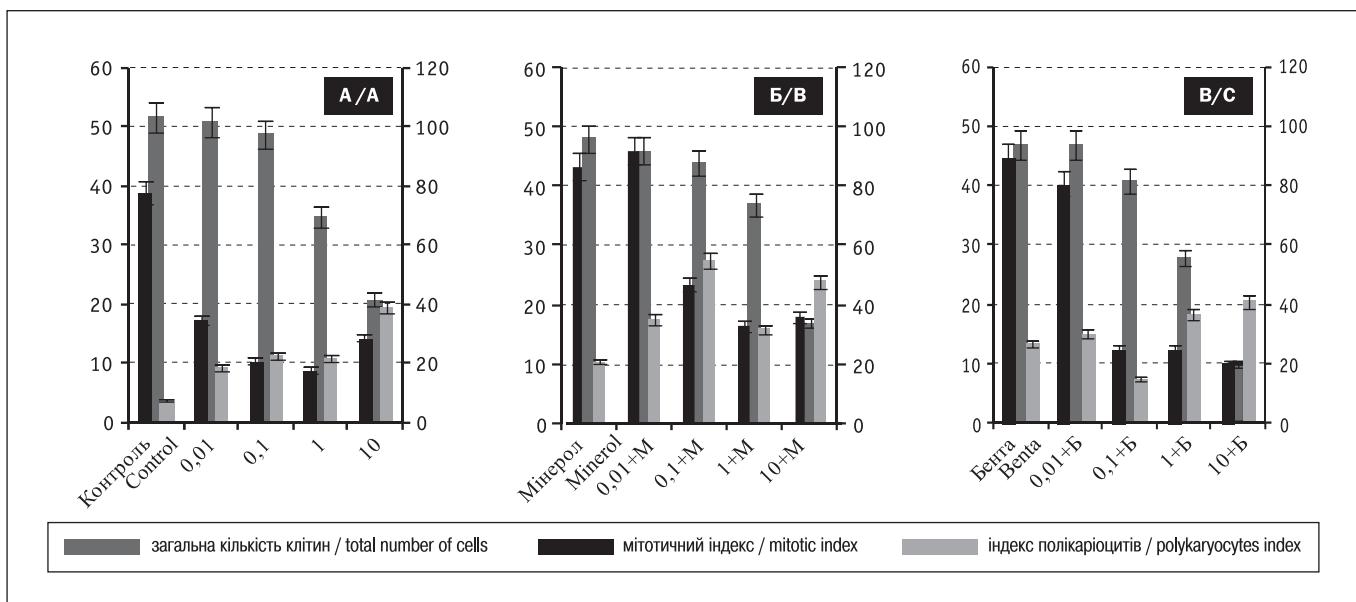


Рисунок 2. Показники життєздатності культури клітин лінії L_{929} на 5-ту добу культивування за умов інкубації з іонами нікелю у різних концентраціях (А) та полімінеральними комплексами “Мінерол” (Б) та “Бента” (В).

Примітка. Позначення на осях такі ж як на рис. 1.

Figure 2. Indicators viability line L_{929} cell culture on the 5th day of cultivation after incubation with nickel ions in different concentrations (A) and polymineral complexes “Minerol” (B) and “Benta” (C).

Notes. Marks on the axes are the same as in Figure 1.

надлишок змінює протікання процесу біосинтезу білка внаслідок гідролізу тРНК. За даними [19, 20] одногодинна інкубація клітин з іонами нікелю в концентрації 10 мкг/мл спричиняє затримку їх в лаг-фазі та пригнічення виживання на 5-у добу культивування до 27% від інтактного контролю. Експериментальні дослідження показали, що цитотоксичність іонів нікелю у культурі клітин лінії L_{929} починає спостерігатись за концентрацій 1 та 10 мкмоль/л (рис. 2, А). Причому, мітотичний індекс у культурі клітин зменшувався більш, ніж удвічі вже за концентрації іонів нікелю 0,01 мкмоль/л. Інкубація клітин з ПМР та іонами нікелю (рис. 2 Б, В) не призвела до істотних змін життєздатності клітин: щільність клітинної популяції в моношарових культурах майже не змінилась у порівнянні з дією тільки іонів нікелю, однак зросла мітотична активність при застосуванні низьких концентрацій нікелю. Водночас помітно (у 2,0–2,5 раза) підвищилась кількість атипичних багатоядерних клітин – полікаріоцитів, що може свідчити про порушення біосинтетичних процесів у клітинах за таких умов.

Загальновідомо, що іони міді та хрому є необхідними мікроелементами, що беруть участь у життєдіяльності клітин [1]. Іони міді є одними з найважливіших незамінних та есенціальних елементів, необхідних для імунної системи в живих організмах [1, 21].

dance alters protein biosynthesis as the result of tRNA hydrolysis. A 1-hour cell incubation with nickel ions 10 mg/mL causes a delay of the lag-phase and survival inhibition by 27 % at the 5th day of cultivation vs. intact control [19, 20]. Experimental studies demonstrated that cytotoxicity of nickel ions in the culture of the L_{929} cell line can be observed under the concentrations of 1 and 10 $\mu\text{mol/L}$ (Figure 2, A). Moreover, the mitotic index in the cell culture decreased 2-fold already at the nickel ions concentration of 0.01 $\mu\text{mol/L}$. Incubation of cells with the PMS and nickel ions (Figure 2 B, C) did not result in any significant alterations of cell viability: the density of the cellular population in the monolayer cultures remained almost unchanged compared to when ions of nickel only were used, but there was an increase in mitotic activity when low concentrations of nickel were used. At the same time, it is noticeable that the number of atypical multi-nucleated cells – polycaryocytes – has grown (2.0–2.5-fold), that can be indicative of an alteration in the biosynthetic processes in cells under those conditions.

It is well-known that copper and chromium ions are involved in cellular activity [1]. Ions of copper are among the most important essential elements necessary for the immune system of the living organisms [1, 21]. Their deficiency may violate the bal-

Їх недостатність здатна порушити баланс практично всіх обмінних процесів в організмі, так як вони беруть участь у біохімічних процесах, зокрема, у біосинтезі гемоглобіну, еластину, каталази, пероксидази та здійснюють реакції окиснення органічних субстратів молекулярним киснем. До появи надлишку іонів міді призводять порушення видільної функції лізосом в результаті дефектів мембран або цитоскелету. Слід зазначити, що будь-яка затримка виведення міді з клітини призводить до індукції біосинтезу металотіонеїну та пошкодження мембрани і цитоскелета, що в свою чергу супроводжується подальшим накопиченням міді в клітині [22].

Експериментальне дослідження клітинних реакцій у тест-системі культури клітин лінії L₉₂₉ в залежності від концентрації іонів міді в поживному середовищі (рис. 3, А) показало, що при збільшенні концентрації іонів міді (за винятком концентрації 1 мкмоль/л) щільність клітинної популяції та мітотичний індекс зменшувались, а кількість гігантських полікаріоцитів статистично достовірно ($p \leq 0,05$) збільшувалась до 195 % у порівнянні з контрольними показниками (17 %). Збільшення кількості клітин за концентрації міді в поживному середовищі до 1 мкмоль/л може свідчити про особливість впливу цієї концентрації на мітотичну активність та метаболізм клітин.

ance of virtually all metabolic processes in an organism, as they participate in biochemical processes, particularly in the biosynthesis of haemoglobin, elastin, catalase, peroxidase and enabling the oxidation of the organic substrates with molecular oxygen. Excess of copper ions results from defects in the membrane or cytoskeleton causing violation of excretory function of lysosomes. It should be noted that any delay in the release of copper from cells results in the induction of metallothioneins biosynthesis, damage to the membrane and cytoskeleton, which, in turn, is accompanied by accumulation of copper in cells [22].

Experimental studies of cellular reactions in the test-system culture of the L₉₂₉ cell line, depending on the concentration of copper ions in the nutrient medium (Figure 3, A) revealed that with the increase of concentration of copper ions (with the exception of 1 $\mu\text{mol/L}$ concentration), the density of cellular population and the mitotic index decreased and the amount of gigantic polycaryocytes statistically significantly ($p \leq 0.05$) increased to 195 % compared to the control (17 %). An increase in the amount of cells with copper concentration in the nutrient medium up to 1 $\mu\text{mol/L}$ may indicate a specificity of impact of this concentration level on the mitotic activity and the cell metabolism.

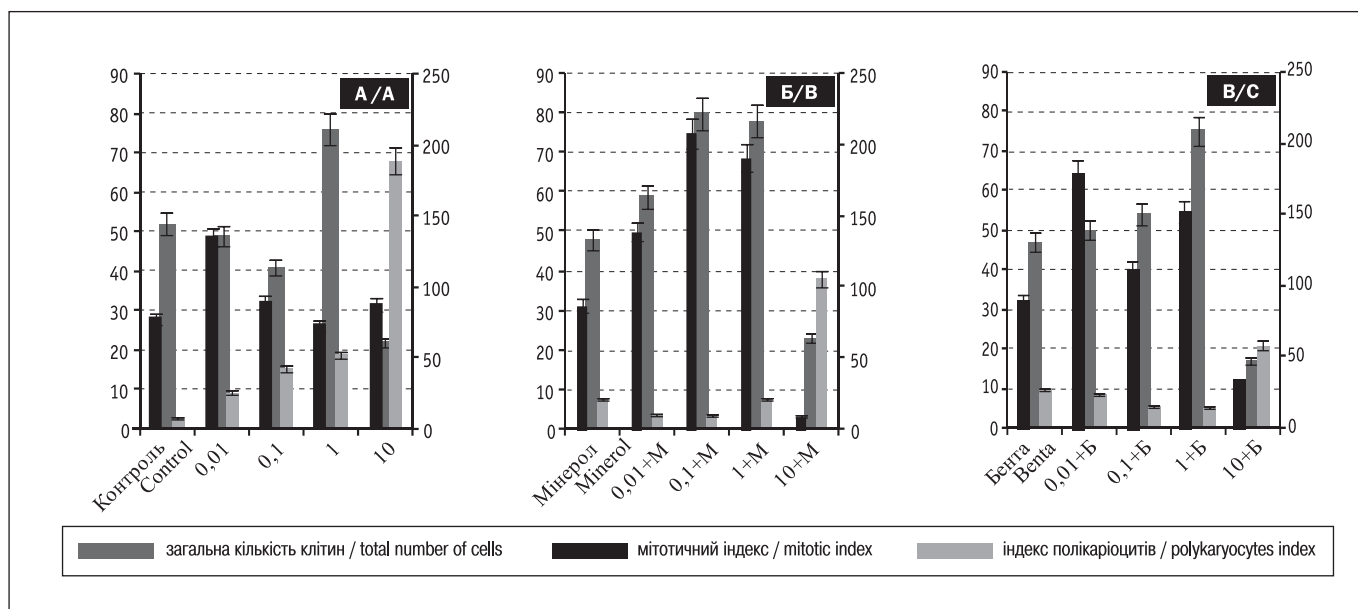


Рисунок 3. Показники життєздатності культури клітин лінії L₉₂₉ на 5-ту добу культивування за умов інкубації з іонами міді у різних концентраціях (А) та полімінеральними комплексами “Мінерол” (Б) та “Бента” (В).

Примітка. Позначення на осях такі ж як на рис. 1.

Figure 3. Indicators viability line L₉₂₉ cell culture on the 5th day of cultivation after incubation with copper ions in different concentrations (A) and polymineral complexes “Minerol” (B) and “Benta” (C).

Notes. Marks on the axes are the same as in Figure 1.

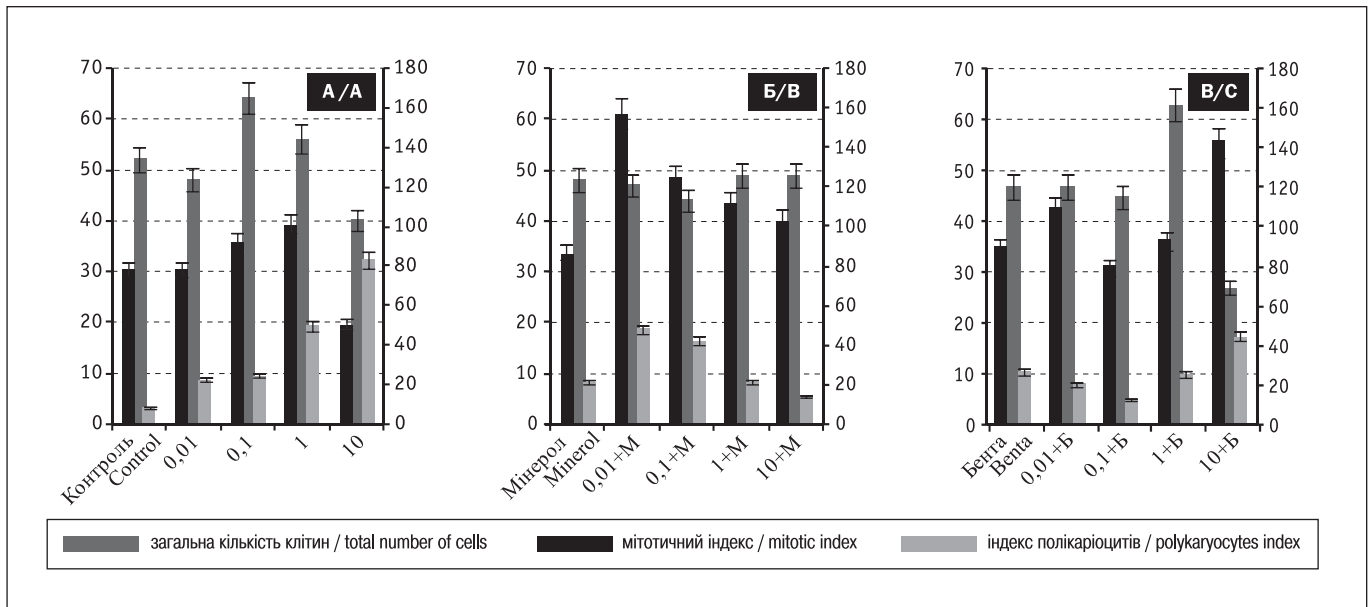


Рисунок 4. Показники життєздатності культури клітин лінії L_{929} на 5-ту добу культивування за умов інкубації з іонами хрому у різних концентраціях (А) та полімінеральними комплексами “Мінерол” (Б) та “Бента” (В).

Примітка. Позначення на осях такі ж як на рис. 1.

Figure 4. Indicators viability line L_{929} cell culture on the 5th day of cultivation after incubation with chromium ions in different concentrations (A) and polymineral complexes “Minerol” (B) and “Benta” (C).

Notes. Marks on the axes are the same as in Figure 1.

Інкубація культур клітин з ПМР “Мінерол” та “Бента” в присутності іонів міді (рис. 3 Б, В) істотно змінила проліферативну та мітотичну активність клітин в культурі. За низьких та середніх концентрацій мікроелемента спостерігали статистично достовірне ($p \leq 0,05$) підвищення або тенденцію до підвищення щільності клітинної популяції та мітотичної активності. Слід відмітити істотне зменшення кількості полікаріоцитів в культурах з ПМР за високих концентрацій іонів міді.

За літературними даними [23, 24] іони хрому беруть участь у вуглеводному обміні шляхом потенціювання дії інсуліну на периферичні клітини та входять до складу низькомолекулярного органічного комплексу – фактору толерантності до глюкози. У дослідженнях показано, що хром сприяє збереженню структурної цілісності молекул нуклеїнових кислот, стимулює ліполіз, знижує рівень кортикостероїдів, холестерину та ліпопротеїнів низької щільності, сприяє включенню гліцину, серину, метіоніну та γ -аміноізомаєсної кислоти до кардіоміоцитів, чим покращує функціонування серцево-судинної системи.

Результати експериментальних досліджень (рис. 4, А) свідчать, що іони хрому в концентраціях 0,01–1,00 мкмоль/мл не справляли на клітини цитотоксичну дію і тільки за концентрації 10 мкмоль/мл

Incubation of cell cultures with PMS “Minerol” and “Benta” in the presence of copper ions (Figure 3 B, C) significantly altered proliferative and mitotic activity of cells in the culture. At low and medium concentrations of microelement we observed a statistically significant ($p \leq 0.05$) elevation or a trend of elevation of cellular population density and mitotic activity. A significant reduction in the amount of polycaryocytes in cultures with PMS with high concentrations of copper ions should also be noted.

According to [23, 24], ions of chromium are involved in the metabolism of carbohydrates by potentiating the effect of insulin on the peripheral cells and are part of the low molecular weight organic complex which is the factor in glucose tolerance. Research demonstrates that chromium contributes to the preservation of structural integrity of nucleic acid molecules, stimulates lipolysis, reduces the corticosteroids level, cholesterol and low-density lipoproteins, promotes the inclusion of glycine, serine, methionine and the γ -aminoizobutyric acid to cardiomyocytes, thus improving the functioning of the cardiovascular system.

Results of experimental studies (Figure 4, A) indicate that ions of chromium at concentrations of 0.01–1.00 $\mu\text{mol/mL}$ have no cytotoxic effect and only at concentrations of 10.00 $\mu\text{mol/mL}$ the inhi-

спостерігали пригнічення поділу клітин і відповідно зменшення їх кількості та статистично достовірне збільшення ($p \leq 0,05$) кількості полікаріоцитів у порівнянні з контролем. Щодо поєднаної дії ПМР та іонів хрому (рис. 4 Б, В), то слід відмітити наступне: за цих умов кількість клітин в моношарових культурах статистично достовірно не відрізняється від показників контролю на тлі підвищення мітотичної активності клітин, водночас кількість атипичних полікаріоцитів зменшилась у порівнянні з дією тільки одного хрому.

Таким чином, в результаті експериментальних досліджень було показано, що в присутності ПМР природного походження “Мінерол” та “Бента” зменшувалась цитотоксичність іонів важких металів в широкому діапазоні концентрацій.

Відомо, що опромінення впливає, головним чином, на регуляцію життєвих процесів у клітинах, тканинах, органах, організмі і діє як фактор дизрегуляції і дизадаптації. Вплив радіації в організмі призводить до активізації вільнорадикальних процесів в біосередовищах, які на тлі зниження активності антиоксидантної системи детермінують ураження біологічних молекул, накопичення токсичних продуктів аутолізу, порушення синтезу ДНК, ушкодження мембран і руйнування їх структури [6, 7].

Дослідження модифікуючого впливу ПМР на радіогенні та цитотоксичні ефекти у клітинах виявило зменшення негативного впливу зазначених чинників. Додавання ПМР до клітин, опромінених в дозі 0,5 Гр, при свинцевій інтоксикації показало істотну ефективність обох ПМР: при застосуванні низьких концентрацій свинцю (0,01-0,10 мкмоль/л) щільність клітинної популяції не відрізнялася від контролю (табл. 1) на тлі підвищеного мітотичного індексу та малої кількості полікаріоцитів. При збільшенні концентрації елемента (1,00 та 10,00 мкмоль/л) спостерігали пригнічення показників життєздатності клітин, що вказує на домінуючий вплив іонів свинцю при одночасному застосуванні цих трьох чинників. Додавання ПМР у середовище культивування призвело до збільшення щільності клітинної популяції в моношарових культурах, опромінених в середньо- та сублетальній дозах 5,0 і 10,0 Гр та невисоких концентраціях елемента – 0,01 мкмоль/л (табл. 1). Застосування ПМР за цих умов призводило до статистично достовірного ($p \leq 0,05$) збільшення мітотичного індексу та зменшення кількості багатоядерних клітин.

Водночас слід відмітити, що застосування ПМР природного походження в діапазоні високих концен-

tration of cell division was observed and the relative decrease in their amount and the statistically significant increase ($p \leq 0.05$) of the amount of polycaryocytes vs. control. As for the combined effects of PMS and chromium ions (Figure 4 B, C) just under these conditions the number of cells within the monolayer cultures is statistically significantly similar to the control values against the backdrop of increased mitotic activity of cells, while the amount of atypical polycaryocytes decreased in comparison with the effect of exposure to chromium only.

Thus, as a result of experimental studies, it was demonstrated that in the presence of natural PMS “Minerol” and “Benta” the cytotoxicity of HM ions was reduced in the wide range of concentrations.

It is known that irradiation mainly affects the regulation of vital processes in cell, tissues, organs and acts as a disregulation and dysadaptation factor. Radiation impact on organism results in an increase of free radical process in biological media that, against the backdrop of decreased activity of antioxidant system, determine the damage of biological molecules, accumulation of toxic products of autolysis, impaired DNA synthesis, inhibition of membranes and the destruction of its structure [6, 7].

Studies of modifying influence of PMS on radiogenic and cytotoxic effects in cells revealed a reduction of the negative impact of the factors mentioned. An addition of PMS to cells, irradiated at the dose of 0.5 Gy, under lead intoxication revealed a significant effectiveness of both PMS: when low concentrations of lead (0.01-0.10 $\mu\text{mol/L}$) were used, the density of the cellular population did not differ from the control (Table 1) against the elevated mitotic index and a small amounts of polycaryocytes. With an increasing concentration of the element (1.00 and 10.00 μmol) were observed an inhibition of cell viability indices, indicating the dominant effect of lead ions during the simultaneous application of these three factors. Adding of PMS to the culture medium led to an increase of cell culture population in monolayer cultures irradiated in medium- and sub-lethal doses of 5.0 and 10.0 Gy and low concentration of the element – 0.01 $\mu\text{mol/L}$ (Table 1). Application of PMS under these conditions led to a statistically significant ($p \leq 0.05$) increase of the mitotic index and the decrease of the multinucleic cells.

At the same time, it should be noted, that the use of natural PMS at high concentration ranges of

Таблиця 1

Показники життєдіяльності культури клітин лінії L₉₂₉ при комбінованій дії іонізуючого випромінювання в різних дозах та іонів свинцю у різних концентраціях в присутності ПМР на 5-ту добу культивування

Table 1

Indicators viability of the cells culture line L₉₂₉ combined action of ionizing radiation in different doses and lead ions in different concentrations in the presence of 5th day PMS cultivation

Показники життєздатності	ПМР	Концентрація ВМ, мкмоль/л				
		0,01	0,10	1,00	10,00	
Viability parameters	PMS	Concentration of HM, μmol/L				
		0.01	0.10	1.00	10.00	
Доза радіації / radiation dose		0,5 Гр / 0.5 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	47±1,8	46±2,9*	43±1,9*	19±2,3* ^{#,**,*}	10±1,9* ^{#,**,*}
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		41±1,9* ^{#,**,*}	39±1,2* ^{#,**,*}	14±1,1* ^{#,**,*}	15±2,3* ^{#,**,*}
Мітотичний індекс, ‰	М	121	183	213	82	63
Mitotic index, ‰	Б / В		104	98	29	13
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	9	23	47	41	21
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		19	89	44	26
Доза радіації / radiation dose		5,0 Гр / 5.0 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	24±0,9	37±2,2 ^{#,**,*}	25±2,5 [#]	20±1,1* ^{#,**,*}	12±2,3* ^{#,**,*}
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		35±1,5 ^{#,**,*}	21±0,8* ^{#,**,*}	12±2,3* ^{#,**,*}	10±2,9* ^{#,**,*}
Мітотичний індекс, ‰	М	51	107	151	58	16
Mitotic index, ‰	Б / В		30	54	113	19
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	68	24	41	14	32
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		61	107	48	38
Доза радіації / radiation dose		10,0 Гр / 10 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	10±2,7	21±0,6* ^{#,**,*}	20±1,4* ^{#,**,*}	9±0,84* ^{#,**,*}	10±1,2* [#]
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		22±1,7* ^{#,**,*}	12±1,5* ^{#,**,*}	11±1,0* [#]	12±2,1* [#]
Мітотичний індекс, ‰	М	27	151	140	91	108
Mitotic index, ‰	Б / В		113	69	55	17
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	135	38	140	91	20
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		97	155	73	52

Примітки. **М** – “Мінерол”, **Б** – “Бента”;

* – відмінності достовірні у порівнянні з дією іонів свинцю, p≤0,05;

– відмінності достовірні у порівнянні з комбінованою дією іонів свинцю та ПМР, p≤0,05

** – відмінності достовірні у порівнянні з іонізуючим випромінюванням, p≤0,05.

Notes. **M** – “Minerol”, **B** – “Benta”;

* – reliable differences compared with the effect of lead ions, p ≤ 0.05;

– reliable differences compared with the combined effect of lead ions and PMS, p ≤ 0.05;

** – reliable differences compared with the ionizing radiation, p ≤ 0.05.

трацій іонів свинцю та опромінення в сублетальних дозах не ефективне, про що свідчать значні ушкодження клітин, які призводили до їх загибелі. Клітини характеризувалися двоядерністю, містили ядра з хвостами, що вказувало на порушення в механізмі розбіжності хромосом.

Аналогічні дослідження модифікуючого впливу ПМР “Мінерол” та “Бента” на радіогенні зміни в клітинах були проведені за умов комбінованого впливу іонізуючого випромінювання та іонів нікелю, міді та хрому (табл. 2–4).

В табл. 2 представлені результати експериментальних досліджень із застосування ПМР на опромінені клітини при поєднанні з іонами нікелю, який, як і свинець, є безумовними токсикантом.

lead ions and irradiation in sub-lethal doses is not effective, evident by significant damage to the cell, resulting in its death. The cells were characterised as dual-nucleic, contained nuclei with tails, that indicated an inhibition in the differencing mechanism of the chromosomes.

Similar studies of the modifying effect of PMS “Minerol” and “Benta” on radiogenic changes in cells were carried out under the conditions of combined exposure to ionizing radiation and ions of nickel, copper and chromium (Tables 2–4).

Table 2 shows the experimental results of applying PMS to irradiated cells when combined with ions of nickel, that just as lead, are an unconditional toxicant.

Таблиця 2

Показники життєдіяльності культури клітин лінії L₉₂₉ при комбінованій дії іонізуючого випромінювання в різних дозах та іонів нікелю у різних концентраціях в присутності ПМР на 5-ту добу культивування

Table 2

Indicators viability of the cells culture line L₉₂₉ combined action of ionizing radiation in different doses and nickel ions in different concentrations in the presence of 5th day PMS cultivation

Показники життєздатності	ПМР	Концентрація ВМ, мкмоль/л				
		0,01	0,10	1,00	10,00	
Viability parameters	PMS	Concentration of HM, μmol/L				
		0.01	0.10	1.00	10.00	
Доза радіації / radiation dose		0,5 Гр / 0.5 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	47±2,7*	42±2,3*,**	28±2,4*,#,**	9±1,6*,#,**	
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В	48±1,9*	40±2,3*,**	15±2,6*,#,**	11±1,1*,**	
Мітотичний індекс, ‰	М	203	265	220	65	
Mitotic index, ‰	Б / В	310	196	135	75	
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	23	12	21	65	
Index polycaryocytes, ‰	Б / В	17	20	27	38	
Доза радіації / radiation dose		5,0 Гр / 5.0 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	24±0,9	26±1,6*,#	28±1,7*,#,**	19±2,1*,#,**	13±0,9*,#,**
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		23±1,5*,#	24±1,7#	18±1,5*,#,**	15±2,4*,#,**
Мітотичний індекс, ‰	М	51	221	185	278	79
Mitotic index, ‰	Б / В		48	167	196	80
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	68	58	98	72	111
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		32	69	22	120
Доза радіації / radiation dose		10,0 Гр / 10 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	10±2,7	13±1,1*,#,**	14±1,8*,#,**	14±1,8*,#,**	5±0,8*,#,**
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		11±0,8*,#	14±1,9*,#,**	14±1,3*,#,**	8±0,9*,#,**
Мітотичний індекс, ‰	М	27	134	153	147	38
Mitotic index, ‰	Б / В		71	85	127	48
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	135	104	97	74	77
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		89	77	41	242

Примітки. **М** – “Мінерол”, **Б** – “Бента”;

* – відмінності достовірні у порівнянні з дією іонів нікелю, p≤0,05;

– відмінності достовірні у порівнянні з комбінованою дією іонів нікелю та ПМР, p≤0,05

** – відмінності достовірні у порівнянні з іонізуючим випромінюванням, p≤0,05.

Notes. **М** – “Minerol”, **В** – “Benta”;

* – reliable differences compared with the effect of nickel ions, p ≤ 0.05;

– reliable differences compared with the combined effect of nickel ions and PMS, p ≤ 0.05;

** – reliable differences compared with the ionizing radiation, p ≤ 0.05.

При додаванні ПМР в поживне середовище, яке вже містило іони нікелю та клітини, опроміненні в дозі 0,5 Гр, щільність клітинної популяції в моношарових культурах клітин на 5-ту добу культивування залишилась на рівні контрольних значень при низьких концентраціях іонів нікелю (0,01–0,10 мкмоль/л). Підвищення концентрації елемента призвело до зменшення кількості клітин. Використання ПМР у випадку комбінованого впливу опромінення в дозі 5,0 Гр та іонів нікелю практично не вплинуло на кількість клітин у порівнянні з контролем (табл. 2). Підвищення кількості полікаріоцитів у цих культурах клітин свідчило про їх репродуктивну загибель, яка більш характерна для сублетальних доз радіації. Аналогічні результати були отримані після опромінення в дозі 10,0 Гр.

Adding PMS to nutritive medium just containing nickel ions and cells irradiated at the dose of 0.5 Gy, resulted in a density of cellular population in mono-layer cultures of cells, on the 5th day of cultivation remaining at the control levels under low concentrations of nickel ions (0.01–0.10 μmol/L). Elevating the element concentration resulted in a decrease of cell number. Use of PMS under a combined exposure to radiation (5.0 Gy) and nickel ions had virtually no effect on the number of cells vs. control (see Table 2). An increase in the amount of polycaryocytes in these cell cultures indicated a cessation of their reproductive activity that is more characteristic of the sub-lethal doses of radiation. Similar results were obtained after irradiation at the dose of 10.0 Gy.

Таблиця 3

Показники життєдіяльності культури клітин лінії L₉₂₉ при комбінованій дії іонізуючого випромінювання в різних дозах та іонів міді у різних концентраціях в присутності ПМР на 5-ту добу культивування

Table 3

Indicators viability of the cells culture line L₉₂₉ combined action of ionizing radiation in different doses and copper ions in different concentrations in the presence of 5th day PMS cultivation

Показники життєздатності	ПМР	Концентрація ВМ, мкмоль/л				
		0,01	0,10	1,00	10,00	
Viability parameters	PMS	Concentration of HM, μmol/L				
		0.01	0.10	1.00	10.00	
Доза радіації / radiation dose		0,5 Гр / 0.5 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	47±1,8	55±3,4*,**	45±2,9#	18±2,7*,#,**	13±1,6*,#,**
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		42±1,9*,#,**	41±0,7*,**	17±1,9*,#,**	7±0,9*,#,**
Мітотичний індекс, ‰	М	121	209	286	168	104
Mitotic index, ‰	Б / В		83	91	66	29
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	9	11	19	111	30
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		67	55	91	59
Доза радіації / radiation dose		5,0 Гр / 5.0 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	24±0,9	27±3,5*,#,**	22±2,9*,#	24±2,6*,#	12±0,9*,#,**
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		17±2,3*,#,**	16±1,1*,#,**	13±1,8*,#,**	9±1,8*,#,**
Мітотичний індекс, ‰	М	51	289	179	172	49
Mitotic index, ‰	Б / В		181	63	79	47
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	68	67	63	42	16
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		36	94	79	23
Доза радіації / radiation dose		10,0 Гр / 10 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	10±2,7	14±0,8*,#,**	18±2,3*,#,**	11±2,4*,#	10±2,1*,#
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		11±1,1*,#	9±0,6*,#,**	11±0,8*,#	10±1,6*,#
Мітотичний індекс, ‰	М	27	42	174	88	63
Mitotic index, ‰	Б / В		94	70	88	42
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	135	32	104	100	146
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		170	93	18	83

Примітки. **М** – “Мінерол”, **Б** – “Бента”;

* – відмінності достовірні у порівнянні з дією іонів міді, p≤0,05;

– відмінності достовірні у порівнянні з комбінованою дією іонів міді та ПМР, p≤0,05

** – відмінності достовірні у порівнянні з іонізуючим випромінюванням, p≤0,05.

Notes. **M** – “Minerol”, **B** – “Benta”;

* – reliable differences compared with the effect of copper ions, p ≤ 0.05;

– reliable differences compared with the combined effect of copper ions and PMS, p ≤ 0.05;

** – reliable differences compared with the ionizing radiation, p ≤ 0.05.

Подібні клітинні реакції одержали і в дослідженнях при інкубації клітин з іонами міді. При дії ПМР на опромінені клітини в дозі 0,5 Гр (табл. 3), щільність клітинної популяції в культурах з низькими концентраціями міді була такою ж, як і в контролі, мітотичний індекс – підвищений у 2–3 рази порівняно з культурами без ПМР.

Слід відмітити появу значної кількості полікаріоцитів в культурах при інкубації з іонами міді в концентрації 1,0 мкмоль/л. Додавання ПМР “Мінерол” та “Бента” до опромінених в середньо- та сублетальній дозах (5,0 та 10,0 Гр) культур клітин в присутності іонів міді призводить до підвищення мітотичної активності клітин на тлі низької кількості клітин та значної кількості полікаріоцитів, що вказує на

There were similar cell responses during cell inoculation with copper ions. Impact of PMS on irradiated cells at the dose of 0.5 Gy (see Table 3) resulted in the density of cellular population in cultures at low concentrations of copper remaining the same as in control; mitotic index was elevated 2–3-fold vs. with cultures without PMS.

Appearance of substantial amounts of polycaryocytes in cultures under incubation with ions of copper at the concentration of 1.0 μmol/L should also be mentioned. Addition of PMS “Minerol” and “Benta” to irradiated cell cultures at medium and sub-lethal doses (5.0 and 10.0 Gy) in the presence of copper ions results in an elevated mitotic cell activity against the backdrop of low cell count and a sig-

Таблиця 4

Показники життєдіяльності культури клітин лінії L₉₂₉ при комбінованій дії іонізуючого випромінювання в різних дозах та іонів хрому у різних концентраціях в присутності ПМР на 5-ту добу культивування

Table 4

Indicators viability of the cells culture line L₉₂₉ combined action of ionizing radiation in different doses and chromium ions in different concentrations in the presence of 5th day PMS cultivation

Показники життєздатності	ПМР	Концентрація ВМ, мкмоль/л				
		0,01	0,10	1,00	10,00	
Viability parameters	PMS	Concentration of HM, μmol/L				
		0.01	0.10	1.00	10.00	
Доза радіації / radiation dose		0,5 Гр / 0.5 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	47±1,8	45±1,9	43±3,4*	49±1,3*	44±1,9 [#]
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		48±2,2	49±1,9*	47±1,9*, [#]	41±3,3 ^{#,**}
Мітотичний індекс, ‰	М	121	141	248	198	128
Mitotic index, ‰	Б / В		111	223	265	217
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	9	14	17	21	14
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		44	53	37	47
Доза радіації / radiation dose		5,0 Гр / 5.0 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	24±0,9	32±1,6*, ^{#,**}	28±2,0*, ^{#,**}	20±1,9*, ^{#,**}	18±1,1*, ^{#,**}
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		26±2,2*, [#]	30±0,8*, ^{#,**}	30±0,6*, ^{#,**}	29±1,3*, ^{**}
Мітотичний індекс, ‰	М	51	103	78	40	48
Mitotic index, ‰	Б / В		177	118	154	64
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	68	17	56	60	48
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		74	118	58	43
Доза радіації / radiation dose		10,0 Гр / 10 Gy				
Кількість клітин на площі препарату 0,05 мм ²	М	10±2,7	21±1,4*, ^{#,**}	18±0,8*, ^{#,**}	21±2,3*, ^{#,**}	16±1,1*, ^{#,**}
Number of cells in the area of preparation of 0.05 mm ²	Б / В		24±1,6*, ^{#,**}	21±0,8*, ^{#,**}	21±1,8*, ^{#,**}	21±2,5*, ^{#,**}
Мітотичний індекс, ‰	М	27	71	49	71	36
Mitotic index, ‰	Б / В		100	125	143	170
Індекс полікаріоцитів, ‰	М	135	18	24	97	71
Index polycaryocytes, ‰	Б / В		114	89	54	113

Примітки. **М** – “Мінерол”, **Б** – “Бента”;

* – відмінності достовірні у порівнянні з дією іонів хрому, p≤0,05;

– відмінності достовірні у порівнянні з комбінованою дією іонів хрому та ПМР, p≤0,05

** – відмінності достовірні у порівнянні з іонізуючим випромінюванням, p≤0,05.

Notes. **M** – “Minerol”, **B** – “Benta”;

* – reliable differences compared with the effect of chromium ions, p ≤ 0.05;

– reliable differences compared with the combined effect of chromium ions and PMS, p ≤ 0.05;

** – reliable differences compared with the ionizing radiation, p ≤ 0.05.

домінуючий вплив на клітини іонізуючого випромінювання.

В дослідженнях комбінованого впливу опромінення та іонів хрому при додаванні до клітин ПМР “Мінерол” і “Бента” життєздатність клітин та кількість полікаріоцитів в культурах, опромінених в дозі 0,5 Гр, не відрізнялася від контролю на тлі високої мітотичної активності (табл. 4).

За комбінованого впливу радіації в дозах 5,0 і 10,0 Гр та іонів хрому спостерігали істотний радіомодифікуючий та антитоксичний ефект при додаванні ПМР до культури клітин, а саме: щільність клітинної популяції в дослідних культурах статистично достовірно (p≤0,05) була вищою, ніж за окремої дії опромінення чи іонів хрому. Проте слід відмітити, що

significant amount of polycaryocytes indicating the dominant effect of ionizing radiation on cells.

Studies of the combined exposure to radiation and ions of chromium, when PMS “Minerol” and “Benta” were added to cells, cell viability and the number of polycaryocytes in cultures irradiated at the dose of 0.5 Gy did not differ from the control against high mitotic activity (Table 4).

Combined effect of radiation at doses of 5.0 and 10.0 Gy and ions of chromium resulted in a significant radiomodifying and antitoxic effect when PMS was added to the cell culture, namely density of cellular population in cultures was statistically significantly (p ≤ 0.05) higher vs. separate application of irradiation or ions of chromium. But noteworthy the

іони хрому найменш шкідливі з усіх вивчених нами важких металів. Важливим є те, що застосування ПМР виявилось досить ефективним у дослідях з високими концентраціями мікроелемента та опроміненням у сублетальних дозах.

Аналіз літературних даних [8–13] та результатів власних досліджень у тест-системі культури проліферуючих клітин показав, що полімінеральні речовини природного походження зменшують негативні наслідки дії іонізуючого випромінювання та важких металів, що може бути підґрунтям для подальшого вивчення і застосування їх радіомодифікуючої та антитоксичної властивостей не тільки при зовнішньому опроміненні, а й при контамінації біологічних об'єктів радіонуклідами.

ВИСНОВКИ

1. Проведено комплексне експериментальне дослідження комбінованого впливу іонізуючого випромінювання в дозах 0,5 Гр, 5,0 Гр та 10,0 Гр, іонів важких металів (Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} та Cr^{2+}) в концентраціях 0,01–10 мкмоль/л у тест-системі культури клітин, встановлено характер та особливості поєднаної їх дії та виявлено можливість мінімізації негативних ефектів полімінеральними комплексами природного походження.
2. Інкубація клітин з полімінеральними речовинами природного походження призвела до істотного зменшення цитотоксичності іонів свинцю, хрому, міді та нікелю в концентраціях (0,01–1 мкмоль/л).
3. Комбінована дія опромінення в діапазоні доз 0,5–10,0 Гр та іонів важких металів виявила полімодальний характер змін показників життєздатності клітин в культурі: іони свинцю посилюють променеве ушкодження, призводять до дозозалежних дистрофічно-деструктивних змін у культурі клітин; іони нікелю через свої генотоксичні властивості істотно зменшують мітотичну активність, проте в області 10,0 Гр проявляють протекторний вплив на життєздатність клітин; нутриєнтні мікроелементи хром та мідь в області концентрацій 0,01–10,00 мкмоль/л не проявляють цитотоксичність при опроміненні в дозах 0,5 та 5,0 Гр, проте ушкоджуючий ефект сублетальної дози 10,0 Гр не залежить від концентрації цих мікроелементів: кількість полікаріоцитів зростає у 25 (Cu^{2+}) – 40 (Cr^{3+}) разів у порівнянні з контролем.
4. Застосування полімінеральних комплексів природного походження “Мінерол” та “Бента” за комбінованого впливу іонізуючого випромінювання та іонів важких металів призвело до підвищення щіль-

іонів хрому є найменш шкідливими з усіх відомих важких металів. Важливо, що застосування ПМР виявилось досить ефективним у дослідях з високими концентраціями мікроелемента та опроміненням у сублетальних дозах.

Перегляд літературних даних [8–13] та аналіз результатів власних досліджень у тест-системі проліферуючої клітинної культури виявив, що полімінеральні речовини природного походження зменшують негативні ефекти іонізуючої радіації та важких металів, що може слугувати підґрунтям для подальшого дослідження та застосування їх радіомодифікуючих та антитоксичних властивостей не тільки при зовнішній радіації, а й при контамінації біологічних об'єктів радіонуклідами.

CONCLUSIONS

1. A complex experimental study of the combined exposure to ionizing radiation at doses 0.5 Gy, 5.0 Gy and 10.0 Gy, ions of heavy metals (Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} та Cr^{2+}) in concentrations of 0.01–10.00 $\mu\text{mol/L}$ in the test-system of a cell-culture was carried out. The character and specifics of their combined effects were determined and the ability to minimise negative effects of natural polymineral complexes were discovered.
2. Incubation of cells with natural polymineral substances led to a significant decrease in cytotoxic ions of lead, chromium and nickel at concentrations of 0.01–1.00 $\mu\text{mol/L}$.
3. The combined effect of radiation at doses ranging from 0.5 to 10.0 Gy and heavy metal ions revealed a polymodal character of changes in cell viability indexes in a culture: ions of lead increase radiation damage, lead to dose-dependent dystrophic and destructive changes in a cell culture; ions of nickel, due to its genotoxic properties, significantly reduces the mitotic activity (however, at around 10.0 Gy a protective effect on cell viability is revealed); nutrient microelements, chromium and copper, at approximate concentrations of 0.01–10.00 $\mu\text{mol/L}$ do not reveal cytotoxicity under irradiation at doses of 0.5 and 5.0 Gy (however, the damaging effect of the sub-lethal dose of 10.0 Gy does not depend on concentrations of these microelements: the amount of polycaryocytes increase by 25 (Cu^{2+}) – 40 (Cr^{3+}) - fold in comparison with the control).
4. Application of natural polymineral complexes “Minerol” and “Benta” at the combined exposure to ionizing radiation and ions of heavy metals resulted in an elevated density of cellular population

ності клітинної популяції в моношарових культурах (у 1,5–2 рази) та мітотичної активності (в 2–6 разів) при одночасному зменшенні атипичних багатоядерних клітин – полікаріоцитів. Більшу ефективність ПМР проявляли в діапазоні низьких концентрацій елементів та малої дози радіації.

5. За літературними даними та результатами експериментальних досліджень радіомодифікуючого і антитоксичного впливу полімінеральних речовин природного походження можна рекомендувати їх як профілактичний засіб для зменшення негативних ефектів, які виникають за комбінованої дії радіації та ксенобіотиків.

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 [и др.] // 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.
6. Віддалені радіобіологічні ефекти у лабораторних тварин та їх нащадків за тривалого їх перебування в зоні відчуження Чорнобильської АЕС / Я. І. Серкіз [та ін.] // Медичні наслідки аварії на ЧАЕС / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешка, Д. А. Базики. – Київ : ДІА, 2007. – С. 644–677.
7. Особливості радіаційно-індукованих ефектів в організмі експериментальних тварин в умовах поєданого зовнішнього і внутрішнього опромінення в малих дозах / В. В. Талько [та ін.] // Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи: 1986–2011 / за ред. А.М. Сердюка, В.Г. Бебешка, Д.А. Базики. – Тернопіль : ТДМУ, 2011. – С. 899–915.
8. Тарькин Д. Н. Современные технологии переработки уникальных бентонитовых глин Кудринского месторождения (Крым) при производстве полиминерального энтеросорбента “бента” (БЕНТОНИТ) // Сборник докладов I, II и III научно-практических конференций “Здоровье нации и программа “Экоэволюция”, 2007. – С. 8–13.
9. Клініко-експериментальне обґрунтування застосування біологічно активної мінеральної добавки “Мінерол” при лікуванні соматичних захворювань в умовах впливу іонізуючої радіації / Г. М. Чоботько, Є. І. Степанова, І. Є. Колпаков [та ін.] // Сборник докладов I, II и III научно-практических конференций “Здоровье нации и программа “Экоэволюция”, 2007. – С. 61–81.
10. Застосування біологічно активної мінеральної добавки “Мінерол” при лікуванні соматичних захворювань у дітей в умовах впливу іонізуючого випромінювання : методичні рекомендації / Г. М. Чоботько, Є.

within the monolayer cultures (1.5–2.0-fold) and of the mitotic activity (2–6-fold) under the simultaneous mixing of atypical multinucleic cells – polycaryocytes. A greater effectiveness PMS revealed at the range of low concentrations of the elements and the low dose of radiation.

5. Following the data from literature and results of experimental studies of the radiomodifying and antitoxic effect of natural polymineral substances, they can be recommended as a prophylactic tool for decreasing the negative effects that appear at the combined exposure to radiation and xenobiotics.

REFERENCES

1. Ershov YuA. [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. Moskva: Meditsina; 1989. 272 p. Russian.
2. Trakhtenberg I. [Priority aspects of the problems of medical ecology in Ukraine]. Sovremennyye problemy toksikologii. 1998;(1):5-8. Russian.
3. Trakhtenberg IM, Shestopalov VM, Naboka MV, Bobyleva OA. [Lead and other heavy metals in the environment after the Chernobyl catastrophe (to the ecological situation in Ukraine)]. Mezhdunarodnyi meditsinskiy 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. Serkiz Yal, et al. [Remote radiobiological effects in laboratory animals and their offspring for their prolonged stay in the exclusion zone of Chernobyl NPP]. In: Vozianov OF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Health Effects of the Chernobyl accident]. Kyiv: DIA; 2007. p. 644-77. Ukrainian.
7. Talko W. [Features of radiation-induced effects in the organism of experimental animals in combined external and internal irradiation in small doses]. In: Serdyuk AM, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the Chornobyl catastrophe: 1986-2011]. Ternopil: TDMU, Ukrmedknyha; 2011. p. 899-915. Ukrainian.
8. Tarykin DN. [Modern processing technology unique bentonite clay deposit Kudrino (Crimea) in the production of polymineral enterosorbent “Bent” (BENTONIT)]. In: Sbornik докладov I, II i III nauchno-prakticheskikh konferentsiy “Zdorovye natsii i programma “Evolutsiya”; 2007. p. 8-13. Russian.
9. Chobotko HM, Stepanova Yel, Kolpakov IYe. [Clinical and experimental ground of application biologically active “Minerol” in treatment of somatic disease under the impact of ionizing radiation]. In: Sbornik докладov I, II i III nauchno-prakticheskikh konferentsiy “Zdorovye natsii i programma “Evolutsiya”; 2007. p. 61-81. Ukrainian.
10. Chobotko HM, Stepanova Yel, Kolpakov IYe, Lavrenchuk HI, Vdovenko VYu, Yanina AM. [The use of dietary mineral supple-

- І. Степанова, І. Є. Колпаков, Г. Й. Лавренчук, В. Ю. Вдовенко, А. М. Яніна; НЦРМ АМН України – К.: НЦРМ АМН України, 2005. – 21 с.
11. Мінерол як засіб підтримання метаболічного гомеостазу при деяких патологічних станах / Л. М. Борисенко, Т. В. Любецька, Л. С. Мхітарян [та ін.] // Інформаційна та ентропійна терапія. – 2000. – № 1. – С. 7–8.
 12. Возможность использования природного адсорбента “Бента” (Бентонит) в лечении и профилактике хронических интоксикаций ионами тяжелых металлов / Н. П. Буглак, В. С. Тарасенко, Н. В. Мирошниченко // Сборник докладов I, II и III научно-практических конференций “Здоровье нации и программа “Экоэволюция”, 2007. – С. 24–28.
 13. Застосування полімінерального засобу природного походження “Бента™ (БЕНТОНІТ)” при хронічних інтоксикаціях та метаболічних розладах: методичні рекомендації / М. П. Буглак, Г. М. Чоботько, М. М. Богданов, Д. Н. Тарикін, Н. В. Мірошниченко, М. М. Каладзе, О. М. Коваленко, О. В. Копилова, Г. Й. Лавренчук; Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського МОЗ України; НЦРМ АМН України; НМВО “БЕНТА”. – К., 2008. – 27 с.
 14. L-929 (NCTC-clone929, CloneofstrainL) (Connective tissue, mouse) (21 грудня) 2009 [Electronic resource]. – Режим доступу: <http://www.viomed.com/services/product/1929.htm>.
 15. Дьяконов Л. П. Животная клетка (Методы и применение в биотехнологии) / под. общ. ред. Л. П. Дьяконова. – М.: “Спутник+”, 2009. – 656 с.
 16. Деякі ланки енергетичного обміну в лімфоцитах білих щурів при дії ацетату свинцю / О. І. Першин, З. Д. Воробець, Г. Л. Антоняк // Медична хімія. – 2008. – № 1. – С. 49–53.
 17. Analysis of the signal transduction pathway of nickel-induced matrix metalloproteinase-2 expression in the human keratinocytes in vitro: preliminary findings / Brunella Perfetto, Monica Lamberti, Maria Teresa Giuliano [et al.] // J. Cutan. Pathol. – 2006. – Vol. 34(6). – P. 441–447.
 18. Specific amino acids moderate the effects on Ni²⁺ on the testosterone production of mouse leydig cells in vitro / Z. Forgacs [et al.] // Toxicol. Environ. Health A. – 2001. – Vol. 62(5). – P. 349–358.
 19. Життєздатність клітин у культурі при спільній дії важких металів та радіації / Т. М. Дудченко, Г. Й. Лавренчук, Я. І. Серкіз, В. А. Зінченко // Биополимеры и клетка. – 2000. – Т. 16, № 5. – С. 409–412.
 20. Дудченко Т. М. Сумісна дія іонізуючої радіації та важких металів на фібробласти мишей в культурі: дис. ... канд. біол. наук: 03.00.01 / Дудченко Тарас Миколайович. – К., 2001. – 144 с.
 21. Штапенко О. В. Проліферативний ріст фідерних клітин яйцепроводів у культурі при дії хлоридів кадмію, міді та нікелю // Аграрний вісник Причорномор'я – 2010. – № 52. – С. 1–5.
 22. Tapia L. Metallothionein is crucial for safe intracellular copper storage and cell survival at normal and supra-physiological exposure levels / L. Tapia [et al.] // Biochem. J. – 2004. – Vol. 378. – P. 617–624.
 23. Скальный А. В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение): Практическое руководство для врачей и студентов медицинских вузов. – М.: изд-во КМК, 2001. – 96 с.
 24. Башкірова Л. Біологічна роль деяких есенційних макро-та мікроелементів (огляд) / Л. Башкірова, А. Руденко // Ліки України. – 2004. – № 10. – С. 59–65.
 - ments “Minerol” in the treatment of somatic diseases in children under the influence of ionizing radiation: guidelines]. Kyiv: RCRM; 2005. 21 p. Ukrainian.
 11. Borisenko LM, Lyubetska TV, Mhitaryan LS. [Minerol as a means of maintaining metabolic homeostasis in certain pathological conditions]. Informatsiyna ta entropiyna terapiya. 2000;(1):7-8. Ukrainian.
 12. Buglak NP, Tarasenko VS, Miroshnichenko NV. [The ability to use natural sorbent “Bent” (bentonite) in the treatment and prevention of chronic intoxication with heavy metal ions]. In: Sbornik dokladov I, II i III nauchno-prakticheskikh konferentsiy “Zdorovyie natsii i programma “Evolyutsiya”; 2007. p. 24-8. Russian.
 13. Buhlak MP, Chobotko HM, Bohdanov MM, Tarykin DN, Miroshnychenko NV, Kaladze MM, Kovalenko OM, Kopylova OV, Lavrenchuk HI. [Application polymineral of natural origin “Bent™ (bentonite)” chronic intoxications and metabolic disorders: guidelines]. Kyiv: Krymskyi derzhavnyi medychnyi universytet im. S. I. Heorhiyevskoho MOZ Ukrayiny, NTSRM AMN Ukrayiny, NMVO “BENTA”; 2008. 27 p. Ukrainian.
 14. L-929 (NCTC-clone 929, Clone of strain L) (Connective tissue, mouse) [Internet]. Available from: <http://www.viomed.com/services/product/1929.htm>.
 15. Dyakonov LP, editor. [Animal cell (Method and application in Biotechnology)]. Moskva: Sputnik+; 2009. 656 p. Russian.
 16. Pershyn IO, Vorobec ZD, Antonyak GL. [Some level of energy metabolism in lymphocytes of rats under the action of lead acetate]. Medychna khimiya. 2008;(1):49-53.
 17. Perfetto Brunella, Lamberti Monica, Giuliano Maria Teresa. Analysis of the signal transduction pathway of nickel-induced matrix metalloproteinase-2 expression in the human keratinocytes in vitro: preliminary findings. J Cutan Pathol. 2006;34(6):441-7.
 18. Forgacs Z. Specific amino acids moderate the effects on Ni²⁺ on the testosterone production of mouse leydig cells in vitro. Toxicol Environ Health A. 2001; 62(5):349-58.
 19. Dudchenko TM, Lavrenchuk HI, Serkiz Yal, Zinchenko VA. [The viability of culture in the joint action of heavy metals and radiation]. Biopolimery i kletka. 2000;16(5):409-12.
 20. Dudchenko TM. [Joint action of radiation and heavy metals on mice fibroblasts in culture] [dysertation]. Kyiv; 2001. 144 p. Ukrainian.
 21. Shtapenko OV. [Proliferative growth oviduct feeder cells in the culture under the influence of chloride of cadmium, copper and nickel]. Agrarnyy visnyk Prychornomoriya. 2010;(52):1-5. Ukrainian.
 22. Tapia L. Metallothionein is crucial for safe intracellular copper storage and cell survival at normal and supra-physiological exposure levels. Biochem J. 2004;378:617-24.
 23. Skalny AV. [Microelementoses of human: hygienic diagnosis and correction]. 2001;96. Russian.
 24. Bashkirova L, Rudenko A. [The biological role of some essential macro and microelements]. Liky Ukrayiny. 2004;(10):59-65. Ukrainian.