18. Schulman H. M. The Labilization of Hemoglobin by Cobalt. Its Effect on Globin Synthesis in Reticulocytes / H. M.Schulman, R.Sidloi, J.Martinez-Medellin //Eur.J.of Biochem. - 2004. - V.37. Is.1. - P.178-184.

19. Schuster G.S. Alterations of cell lipids by metal salts / G.S.Schuster, G.B.Caughman // J. Biomed. Mater. Res. A. - 2004. - V.70, № 2. - P.347-353.

20. Toxycological profile for cobalt. - U.S. : Department of health and human servise, 2004. - 417 p.

21. Wang R. Matrix metalloproteinase-2 and -9 are induced differently by metal nanoparticles in human monocytes: The role of oxidative stress and protein tyrosine kinase activation / R.Wang, Y.Mo, X.Zhang [e.a.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. - 2008. - V.233, № 2. - P. 276-285.

Резюме

Белінська І.В. *Гематологічні ефекти хлориду кобальта стосовно цитологічного складу крові щурів.*

Вплив кобальту на кровотворну систему проявляється з боку еритроїдної ланки гемопоезу еритроцитозом, збільшенням об'єму еритроцитів, гемоглобіну, вмісту гемоглобіну в еритроцитах. Аналіз розподілу лейкоцитів показав зменшення відсотка нейтрофільних гранулоцитів на тлі збільшення відсотка лімфоцитів крові. Вміст тромбоцитів не змінюється.

Ключові слова: хлорид кобальта, еритроцити, лейкоцити,тромбоцити.

Резюме

Белинская И.В. *Гематологические эффекты хлорида кобальта относительно цитологического состава крови крыс.*

Влияние кобальта на кроветворную систему проявляется со стороны эритроидной линии кроветворения эритроцитозом, увеличением об'ема эритроцитов, гемоглобина, содержания гемоглобина в эритроцитах. Анализ распределения лейкоцитов показал уменьшение процентного содержания нейтрофильных гранулоцитов на фоне увеличения процентного содержания лимфоцитов крови. Количество тромбоцитов не изменяется.

Ключевые слова: хлорид кобальта, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты.

Summary

Byelinska I.V. *Haematological effects cobalt chloride in relation to cytological composition of blood of rats.*

It was shown polycytemia, increased in haematocrit, mean corpuscular volume, haemoglobin, mean corpuscular haemoglobin after cobalt chloride administration. Leukocytes distribution analysis demonstrates decreased in neutrophilic granulocytes percent and simultaneous increased in lymphocytes percent. Platelets number does not change.

Key words: cobalt chloride, erythrocytes, leukocytes, platelets.

Рецензент д.біол.н., проф.Б.П.Романюк

УДК 599:539.1.047

ІНДУКЦІЯ ГЕНЕТИЧНИХ ПОШКОДЖЕНЬ В КУЛЬТУРІ ЛІМФОЦИТІВ ЛЮДИНИ ЗА ДІЇ МАЛИХ ДОЗ ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

О. М.Демченко, Е. А.Дьоміна, Ю. І. Петунін, М. Ю.Савкіна

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України (Київ)
Київський національний університет ім.Т. Шевченка (Київ)
Інститут математики НАН України (Київ)

Вступ

Дослідження впливу малих доз радіації на організм людини привернули до себе увагу близько півстоліття тому. Виникнення даної проблеми зумовили створення і застосування атомної зброї, широке впровадження ядерних технологій в промисловості, медицині, науці, що призвело до значного збільшення радіаційного фону землі. В свою чергу це зумовило забруднення радіонуклідами значних населених територій, збільшення контингенту професійних працівників, що безпосередньо контактують із іонізуючим випромінюванням, суттєве збільшення радіаційних навантажень на організм людини порівняно з природним фоном (за рахунок медичних обстежень із використанням джерел іонізуючого випромінювання) тощо. Але особливої гостроти дана проблема набула у зв'язку з необхідністю оцінки та прогнозування несприятливих наслідків на здоров'я населення в результаті Чорнобильської катастрофи та інших радіаційних інцидентів [1].

Малі дози поглиненої радіації є статистично значущими факторами ризику виникнення злоякісних новоутворень [2]. Але їх вплив на організм має різний характер прояву, спостерігається невизначеність ефекту від дози опромінення у деяких діапазонах доз, що зумовлено недостатністю грунтовних робіт у цьому напрямку. Це сприяло створенню різних гіпотез щодо механізму дії малих доз радіації [3, 4]. Кількісна оцінка ефектів

малих доз може підвищуватися за рахунок епігенетичних механізмів - впливу опроміненних клітин на інтактні, тому при опроміненні в цьому інтервалі вихід пошкоджень на одиницю дози може бути вищим, ніж при дії великих доз [5].

Найважливішим етапом оцінки негативних наслідків опромінення біологічних об'єктів в діапазоні малих доз є визначення характеру залежності кривих "доза-ефект" для різних біологічних показників, що є необхідною умовою для прогнозування генетичного та канцерогенного ризиків опромінення людини [6, 7].

На даний час в результаті виконаних радіобіологічних досліджень, розроблені і успішно застосовуються чисельні методи біологічної індикації/дозиметрії радіаційно-індукованих пошкоджень. Але основним безальтернативним методом оцінки величини поглиненої дози визнано використання дозових залежностей виходу радіаційно-індукованих структурних пошкоджень хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини [8]. Відомо, що лімфоцити периферичної крові - це унікальний об'єкт для проведення радіаційно-цитогенетичних досліджень завдяки своїм особливостям:

- використання культури лімфоцитів периферичної крові надає унікальну можливість проводити дослідження безпосередньо на клітинах людини, а не вдаватися до вимушеної екстраполяції ефектів з модельних біологічних об'єктів, що часто супроводжуються певними похибками;
- у культурі лімфоцитів периферичної крові умовно здорових донорів спонтанний рівень хромосомних аберацій невисокий і становить в середньому 1,0-1,5% (при верхній межі 3%); лімфоцити є досить радіочутливими клітинами при опроміненні, як в умовах in vivo так і in vitro, що надає нам можливості достовірно реєструвати індукований із спонтанним рівнем аберацій при достатньо низьких дозах радіації.
- висока мобільність лімфоцитів у кровообігу та здатність акумулювати аберації хромосом дозволяють оцінити радіочутливість організму в цілому [9].

Метою роботи було дослідження характеру калібрувальних дозових кривих для різних цитогенетичних показників при тестуючому опроміненні лімфоцитів крові людини в діапазоні малих доз.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконано з використанням тест-культури лімфоцитів периферичної крові двох умовно здорових донорів з подальшим аналізом аберацій хромосом та деякими модифікаціями, описаними нами раніше [11]. Культивування клітин проводили протягом 52 годин. Для оцінки рівня і спектру структурних перебудов хромосом та визначення їх калібрувальних кривих "доза-ефект" культуру лімфоцитів периферичної крові опромінювали γ-променями на терапевтичному апараті "Рокус", джерелом якого є ^{60}Co, з потужністю дози 0,9 Гр/хв, в діапазоні доз 0,1-1,0 Гр. Метафазний аналіз аберацій хромосом виконували з елементами каріотипування. Всього досліджено 14 експериментальних точок. З метою визначення індивідуальної радіочутливості (ІР) донорів культуру лімфоцитів периферичної крові опромінювали на G_2 стадії клітинного циклу [11].

Для апроксимації залежностей цитогенетичних ефектів, радіаційно-індукованих опроміненням були використанні три моделі регресії:

лінійна $y=aD+b$;

лінійно-квадратична $y=aD^2+bD+c$;

сплайнова $y = \begin{cases} a_1 D + b_1, & \text{якщо } D \le D_0 \\ a_2 D + b_2, & \text{якщо } D > D_0, \end{cases}$

або $y = ax + b(x-c)_+$ де $(x-c)_+$ - зрізана степенева функція

$$(x-c)+ = \begin{cases} x - c, & \text{якщо } x > c \\ 0, & \text{якщо } x < c, \end{cases}$$

де y - кількість аберацій хромосом на кожні 100 проаналізовані метафази; a, b, c, a_1, a_2 , b_1, b_2 - коефіцієнти (параметри) моделей, D_0 - точка переходу у моделі сплайнової регресії.

Отримані результати та їх обговорення

За результатами проведених цитогенетичних досліджень (табл.1), використовуючи методи обчислення коефіцієнтів лінійної, лінійно-квадратичної та сплайнової регресії отримали наступні значення параметрів моделей:

залежність частоти аберантних клітин (y) від дози опромінення для першого донора (y_1), другого - (y_2)

а) лінійна модель y_1=14,465x+1,845, похибка моделі S^2=1,142; y_2=1,42x+3,45, похибка моделі S^2=4,492;

б) лінійно-квадратична модель y_1 = - 5,449x^2+20,655x+0,759, похибка моделі S^2=0,25; y_2=1,12x^2+1,598x-0,043, похибка моделі S^2=4,256;

в) сплайнова модель y_1=26,855x - 1,855-13,224$(x-0,2)_+$, похибка моделі S^2=0,096 ; y_2=1,558x-1,047-4,539$(x-1)_+$, похибка моделі S^2=3,019 ;

залежність частоти аберацій хромосом (y) від дози опромінення для першого донора (y_1) другого - (y_2)

а) лінійна модель y_1=16,906x+1,42, похибка моделі S^2=0,923; y_2=16,09x+0,043, похибка моделі S^2=2,827;

б) лінійно-квадратична модель y_1=-5,213x2+22,828x-0,382, похибка моделі S^2=0,107; y_2=0,771x^2 + 14,87x+0,311, похибка моделі S^2=2,715;

в) сплайнова модель y_1=19,6x+0,76-4,72(x-0,5), похибка моделі S^2=0,156; y_2=9,301x+1,493+7,503$(x-0,3)_+$, похибка моделі S^2=1,602;

залежність частоти дицентричних хромосом від дози опромінення для першого донора (y_1), другого - (y_2)

а) лінійна модель y_1=6,789x-1,07, похибка моделі S^2=0,911; y_2=6,538X-1,59, похибка моделі S^2=0,051;

б) лінійно-квадратична модель y_1=7,268x^2 - 2,2x+0,917, похибка моделі S^2=0,13; y_2=2,857x^2+2,714X-0,571, похибка моделі S^2=0;

в) сплайнова модель y_1= 2,786x+0,171+6,086(x-0,5), похибка моделі S^2=0,058; y_2=5x-1+2 $(x-0,5)_+$, похибка моделі S^2 =0.

Таблиця 1

Індивідуальна частота аберацій хромосом при опроміненні лімфоцитів in vitro в діапазоні доз 0,1-1,0 Гр

№	Доза, Гр	Частота аберантних клітин	Частота аберацій хромосом	Частота дицентриків
Донор 1	0,1	2,5	2,5	0
	0,2	5	5	0,6
	0,3	6,6	6,6	1,2
	0,5	9,5	10,5	1,5
	1,0	16	18	6
Донор 2	0,1	2,5	2,5	0
	0,2	3,2	3,2	0
	0,3	3,5	4,5	0,5
	0,5	7	7	1,5
	1,0	16	17	5

На рис 1-6 представлені графіки залежності виходу радіаційно-індукованих аберацій хромосом в діапазоні доз 0,1-1,0 Гр, де x - доза опромінення, y - цитогенетичний показник, S2 - залишкова сума квадратів (похибка моделі).

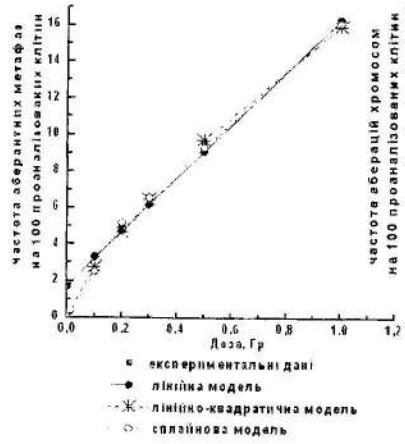

Рис 1. Залежність частоти аберантних клітин від дози опромінення для донора 1.

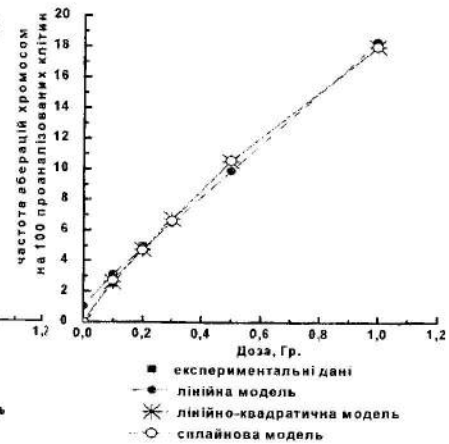

Рис.2.Залежність частоти аберацій хромосом від дози опромінення для донора 1.

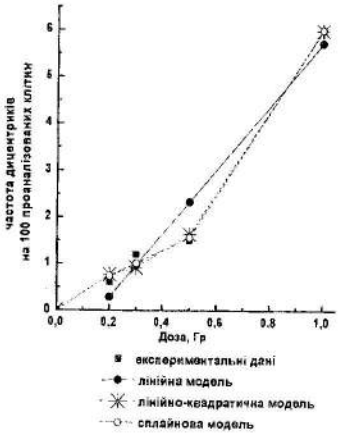

Рис.3. Залежність утворення дицентричних хромосом від дози для опромінення донора 1.

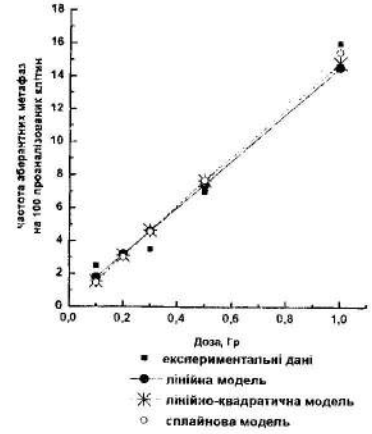

Рис. 4. Залежність частоти аберантних клітин від дози опромінення для донора 2.

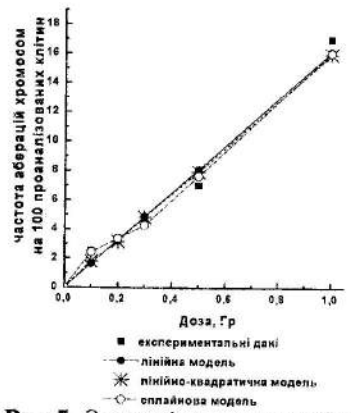

Рис.5. Залежність частоти аберацій хромосом від дози опромінення для донора 2.

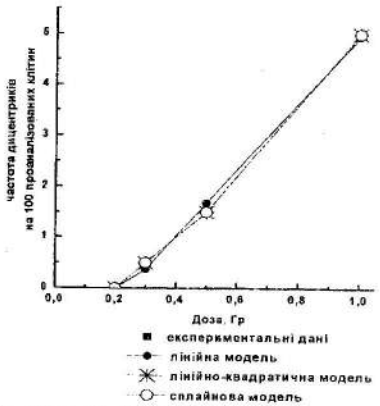

Рис. 6. Залежність утворення дицентричних хромосом від дози опромінення для донора 2.

Аналіз характеру калібрувальних кривих "доза-ефект", отриманих для двох донорів, які побудовані за допомогою вказаних вище моделей показав, що їх характер ідентичний. Це підтверджується результатами виконаного G_2-assay у обох донорів при тестуючому γ-опроміненні у G_2-періоді мітотичного циклу в дозі 1,5 Гр - вихід делецій складає 24/100 проаналізованих клітин, що свідчить про схожу індивідуальну радіочутливість обстежених донорів. Для кривих виходу радіаційно-індукованих аберантних клітин та загальної кількості аберацій хромосом характерна перевага лінійної компоненти, про що свідчить перевага лінійного коефіцієнта моделі лінійної регресії над вільним членом. Вихід обмінних аберацій - дицентричних хромосом, які, як відомо, є маркерами променевої дії на організм людини, апроксимується лінійно-квадратичною залежністю, що пов'язано з двохударним механізмом їх утворення. В діапазоні 0,1-0,3 Гр крива для дицентричних хромосом має плато - дозонезалежну ділянку, але з подальшим підвищенням дози до 1,0 Гр рівень дицентричних хромосом закономірно зростає, тобто можна стверджувати про те, що в інтервалі доз 0,1-0,3 Гр опромінення за такими показниками, як

дицентричні хромосоми, які визначенні найбільш об'єктивними променевими маркерами, неможливо коректно визначити величину поглиненої дози. Такий висновок співпадає з результатами дослідженнь [12-18], але ми його підтвердили, удосконаливши біологічну дозиметрію на основі використання моделі сплайнової регресії.

Проведений аналіз калібрувальних кривих "доза-ефект" які побудовані за допомогою моделі сплайнової регресії в зпівставлені з лінійною та лінійно-квадратичною показав, що дозові залежності мають подібну форму, але калібрувальні криві з найбільшою точністю апроксимуються за допомогою моделі сплайнової регресії, так як похибка цієї моделі має найменьше значення для всіх цитогенетичних показників обстежених донорів. Похибка визначається остаточною сумою квадратів отриманих в результаті порівняння експериментальних та розрахункових даних: чим меньша остаточна сума квадратів, тим більш точна модель [19]. Наприклад, для донора 1 (рис.1) похибка S^2 частоти аберантних клітин для лінійної моделі становить S^2 =1,142; для лінійно-квадратичної моделі S^2=0,25 та для моделі сплайнової регресії S^2=0,096; а для дицентриків (рис.3) - 0,911; 0,13 и 0,058, відповідно. Отже, для біологічної (цитогенетичної) дозиметрії модель сплайнової регресії має більшу перевагу в порівнянні з традиційними моделями, які використовуються в радіобіології (лінійною та лінійно-квадратичною).

Висновок

З метою подальшого удосконалення біологічної (цитогенетичної) дозиметрії променевих уражень рекомендовано побудову калібрувальних дозових кривих здійснювати за допомогою моделі сплайнової регресії та враховувати індивідуальну радіаційну чутливість людини.

Література

І. Бариляк І. Р., Дьоміна Е. А. Біологічна індикація та дозиметрія за частотою нестабільних аберацій хромосом у лімфоцитах людини / І. Р.Бариляк, Е. А. Дьоміна // Цитология и генетика. - 2004. - № 4. - С. 72-85.

2. Демина Э. А. Кривые доза - эффект при гамма-воздействии в различных стадиях митотического цикла культуры лимфоцитов человека / Э. А. Демина // Радиобиология. - 1987. - Т.27, № 3. - С. 428.

3. Кузин А. М. Проблема малых доз и идеи гормезиса в радиобиологии / А. М. Кузин // Радиобиология. - 1991.- Т.31, № 1. - С 16 - 21.

4. Некоторые аспекты биологического действия малых доз радиации / В. Я.Готлиб, И. И.Пелевина, Е. Ф.Конопля [и др.] // Радиобиология. - 1991.- 31, № 3. - С. 318-325.

5. Радиация и патология : учебное пособие / А.Ф.Цыб, Р.С.Будагов [и др.]. - М.: Высшая школа, 2005. - 341 с.

6. Гераськин С. А. Цитогенетические эффекты малых доз: результаты Н. В. Лучника и современное состояние вопроса / С.А.Гераськин, А.В.Севанькаев // Радиобиология. - 1996. - Т. 36, № 6. - С. 860 - 864.

7. Шмакова Н. Л. Действие малых доз облучения на клетки китайского хомячка / Н. Л.Шмакова, Т. А.Фадеева, Е. А.Красавин // Радиобиология. - 1998. - Т. 38, № 6. - С. 841-847.

8. Пикалова Л. В. Применение цитогенетических методов исследования хромосом в радиобиологии / Л. В. Пикалова // Молекулярная биология. - 2007. - № 9. - С. 160 -168.

9. Севанькаев А. В. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле / А. В.Севанькаев. - М.: Энергоатомиздат, 1987. - 160 с.

10. Дьоміна Е. А. Індивідуальна радіочутливість людини / Е.А.Дьоміна, М.О.Дружина, Н.М.Рябченко. - Київ, 2006. - 125 с.

11. Цитогенетичний спосіб (G_2assay) визначення індивідуальної радіочутливості людини з метою первинної профілактики радіогенного раку : методичні рекомендації / Е.А.Дьоміна, Н.М.Рябченко, М.О.Дружина, В.Ф.Чехун. - Київ : Логос, 2007. - 28 с.

12. Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов : методичні рекомендації / Г.П.Снигирева, А.Н.-Богомазова, Н.Н.Новицкая [и др.]. - 2007. - 32 с.

13. Завитаева Т.А. Особенности действия малых доз ионизирующего излучения / Т. А.Завитаева, А. В.Севанькаев, Г. Ф. Палыга // Радиобиология. - 1991. - С. 711 - 713.

14. Спитковский Д. М. Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий / Д. М. Спитковский // Радиобиология. - 1992. - Т. 32. - С. 382 - 400.

15. Сравнительное исследование частоты стабильных и нестабильных аберраций хромосом при γ-облучении лимфоцитов периферической крови человека in vitro / А. В.Севанькаев, М. А.Анкина, А. А.Завитаева [и др.] // Радиобиология. - 1995. - Т. 35. - С. 611 - 617.

16. Гераськин С. А. Критический анализ современных концепций и подходов к оценке биологического действия малых доз ионизирующего излучения / С. А. Гераськин // Радиобиология. - 1995. - Т. 35. - С. 563 -580.

17. Luchnik N.V. Radiation - induced chromosomal aberration in human lymphocytes. I. Dependence on the dose of gamma-rays and an anomaly at low doses / N. V.Luchnik, A. V. Sevankaev // Mutat. Res. - 1976. - V. 36. - P. 363 - 368.

18. Lloyd D.C. Doses in radiation accident investigated by chromosome aberration analyses. A review of cases investigated / D. C.Lloyd, A. A.Edwards, J. S.Prosser // National radioprotection board report NRPB. - Chilton., 1986. - P. 27 - 34.

19. Клюшин Д. А. Доказательная медицина : применение статистических методов / Д. А.Клюшин, Ю. И. Петунин. - М: Диалектика, 2008. - 315 с.

Резюме

Демченко О. М., Дьоміна Е. А., Петунін Ю. І., Савкіна М. Ю. *Індукція генетичних пошкоджень в культурі лімфоцитів людини за дії малих доз іонізуючої радіації.*

Дослідження присвячено вивченню впливу γ-променів в діапазоні малих доз на генетичний апарат. В даній роботі підтверджується наявність плато в області 0,1-0,3 Гр для променевих маркерів - дицентричних хромосом. Показано, що радіаційно-індуковані цитогенетичні ефекти найкраще всього апроксимуються за допомогою моделі сплайнової регресії. З метою інтерпретації характеру дозових кривих за цитогенетичними показниками доцільно враховувати індивідуальну радіочутливість людини (G_2 assay).

Ключові слова: іонізуюча радіація, лімфоцити, генетичні пошкодження.

Резюме

Демченко Е. Н., Демина Э. А., Петунин Ю. И., Савкина М.Ю.
Индукция генетических повреждений в культуре лимфоцитов человека при действии малых доз ионизирующей радиации.

В исследовании изучали влияние γ-лучей в диапазоне малых доз на генетический аппарат. В работе подтвержается наличие плато в области 0,1-0,3 Гр для лучевых маркеров - дицентрических хромосом. Показано, что радиационно-индуцированые цитогенетические эффекты наилучше аппроксимируются с помощью модели сплайновой регрессии. С целью интерпретации характера дозовых кривых за цитогенетическими показателями целесообразно учитывать индивидуальную радиочувствительность человека (G_2 assay).

Ключевые слова: ионизирующая радиация, лимфоциты, генетические повреждения.

Summary

Demchenko E.N., Dyomina E.A., Petunin Yu. I., Savkina M.Yu.
Genetic injuiries in human lymphocytes induced by the effects of low doses of ionizing radiation.

The investigation is devoted to the effect of γ-rays in low dose range on the genetic apparatus. Presence of the plateau in the dose range of 0,1 -0,3 Gy for radiation markers - dicentric chromosomes, is confirmed. It is shown that the best approximation of radiation induced cytogenetic effect is reached by the application of the regression spline model. With the aim of the of dose curves character interpretation according to the obtained cytogenetic parameters it is expedient to take into account human individual radiation sensitivity (G_2 assay).

Key words: ionizing radiation, lymphocytes, genetic injuiries.

Рецензент: д.біол.н., проф.Б.П.Романюк

УДК 575.224.056.3.345.857-02

РЕКОМБІНАЦІЙНІ ПОДІЇ У НАЩАДКІВ ПРЕДСТАВНИКІВ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ DROSOPHILA MELANOGASTER УКРАЇНИ

І.А. Козерецька, О.В. Проценко, С.В. Демидов
Київський національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

Відомо, що рекомбінація є основним джерелом генетичної мінливості у вищих організмів. Реципрокні обміни між генетичними комплексами відіграють ключову роль в проходженні генетичних процесів в природних популяціях, обумовлюючи формування нових комбінацій генів, які мають різну селективну цінність. Крім того відомо, що різноманітні фактори як зовнішнього так і внутрішнього середовища здатні впливати на частоти рекомбінації. Отже, кожен конкретний представник даної популяції характеризується певними показниками рекомбінаційних процесів та вносить свій вклад в проходження цих процесів в популяції загалом.

Метою даної роботи було вивчення частоти гомологічної рекомбінації в особин Drosophila melanogaster, гетерозиготних по генах w (white: 1-1.5) і ct (cut: 1-20.0), один з гомологічних наборів хромосом яких походить від лабораторної лінії, інший від самців з природних популяцій дрозофіл України.

Матеріали та методи дослідження

В якості матеріалу для досліджень були використані особини з природних популяцій різних міст України, а саме: Києва, Одеси, Лубен, Пирятину, Умані, Варви, Магарача і Чорнобиля. Збір мух проводили в серпні - вересні 2005-2008 років. В Усіх містах крім Чорнобиля відлов дрозофіл проводився в одній точці. В районі Чорнобиля були зібрані представники трьох популяцій з місць які різнилися по рівню радіоактивного забруднення (Поліське - 50 мкР/час, Чорнобиль - 100 мкР/час, Водойма охолоджувач - 2100 мкР/час). Для визначення частоти рекомбінаційних подій в статевій хромосомі між генами white (w, 1-1,5) і cut (ct, 1-20) у самок, один з хромосомних наборів яких походить від