

ВАСИЛЕНКО О.П., РУШКОВСКИЙ С.Р.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Учебно-научний центр "Інститут біології", Україна, 01601, Київ, ул. Владимирская, 64,
e-mail: helga.wasilenko@gmail.com

ХРОМОСОМНА НЕСТАБИЛЬНІСТЬ В ОБЛУЧЕННИХ ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С КЛЕТКАМИ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Известно, что облучённые ионизирующим излучением клетки генерируют стрессорные сигналы, которые приводят к повреждению расположенных в непосредственной близости интактных клеток [1]. Чаще всего, ответ на облучённых клеток проявляется в виде повышения геномной нестабильности (частоты генных мутаций или уровня хромосомных aberrаций), клеточной гибели, пролиферации, образования микроядер или клеточной трансформации, и называется эффектом «свидетеля» (ЭС) [2]. Ранее мы показали, что совместное культивирование клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с лимфоцитами периферической крови (ЛПК) человека, где облучённые клетки дрожжей являлись донором ЭС сигнала, а ЛПК – клетками «свидетелями», является перспективной модельной систе-

мой для детекции и изучения ЭС [3, 4].

Исходя из самого определения эффекта «свидетеля», клетки-реципиенты ЭС сигнала должны быть интактными, то есть не подвергаться никакому мутагенному воздействию. В наших предыдущих работах мы показали, что в результате индукции эффекта «свидетеля» уровень aberrантных метафаз в ЛПК увеличивается в 3-4 раза. Однако остаётся открытым вопрос, как на ЭС сигнал реагируют повреждённые клетки? Поэтому, целью нашей работы было проверить, как будет изменяться уровень метафаз с aberrациями хромосом (aberrантные метафазы) в предварительно повреждённых лимфоцитах под воздействием облучённых дрожжей.

Материалы и методы

В исследовании был использован гаплоидный штамм дрожжей DLY 640 в стационарной фазе роста. Образцы цельной крови (1 мл) облучали рентгеновскими лучами дозой 1 Гр (аппарат РУМ-17) и культивировали при 37 С 0 48 часов в 5 мл среды RPMI-1640 с добавлением ФГА. В начале культивирования проводили экс-

периментальную контаминацию культур облучёнными (10 Гр) или не облучёнными клетками дрожжей *S. cerevisiae* (106 клеток на культуру). После культивирования, готовились препараты метафазных пластинок ЛПК, которые анализировались на наличие aberrантных метафаз (AM).

Результаты

Уровень AM в облучённых дозой 1 Гр лимфоцитах (рис. 1), как и ожидалось, был значительно выше чем в необлучённой культуре ЛПК ($2,33 \pm 0,87\%$ – контроль (необлучённая культура ЛПК), $30,00 \pm 2,65\%$ – облучённая культура ЛПК, $p < 0,05$). После совместного культивирования облучённых ЛПК с дрожжами подвергавшимися воздействию рентгеновского излучения в лимфоцитах не наблюдалось статистически значимого увеличения уровня AM по сравнению с культурой облучённых лимфоцитов $30,00 \pm 2,65\%$ – облучённая культура ЛПК, $26,50 \pm 3,12\%$ – культура ЛПК с облучёнными дрожжами, $p > 0,05$). Таким образом, можно

предположить, что ЭС сигнал, который генерируют облучённые клетки дрожжей, не приводит к появлению дополнительных хромосомных повреждений в предварительно облучённых лимфоцитах.

Однако при сокультивировании облучённых ЛПК с интактными клетками дрожжей (рис. 2) наблюдалось значительное снижение уровня aberrантных метафаз ($30,00 \pm 2,65\%$ – облучённая культура ЛПК, $18,50 \pm 2,75\%$ – культура ЛПК с не облучёнными дрожжами, $p < 0,05$). Следует отметить что подобного эффекта при совместном культивировании не облучённых лимфоцитов с не облучёнными клетками дрожжей

не наблюдалось ($2,33 \pm 0,87\%$ – культура ЛПК, $3,00 \pm 0,98\%$ – культура ЛПК с не облучёнными дрожжами, $p > 0,05$).

Подобные результаты были получены и другими исследователями [5, 6], что даёт возможность считать этот феномен стабильным и достаточно распространённым в природе. Существование подобного явления можно объяснить тем, что интактные клетки могут выделять вещества способные снижать повреждающий эффект в облучённых клетках [5]. С другой стороны, не

облучённые клетки, возможно, способны перехватывать сигнальные ЭС молекулы, которые потенциально способны вызывать повреждения ДНК, тем самым снижая количество повреждающих факторов. Подобный механизм мог выработаться эволюционно в качестве защиты от мутагенных факторов, воздействующих критически на одну группу клеток, за счёт небольшого повышения повреждений в интактной группе клеток, проявляющегося как эффект «свидетеля».

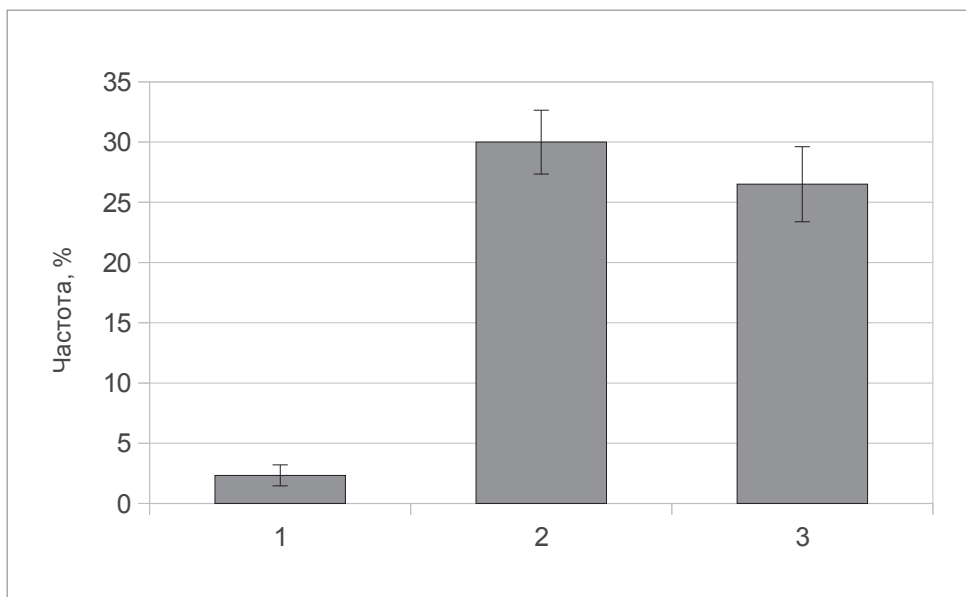


Рис. 1. Частота aberrantных метафаз (AM) в культуре лимфоцитов: 1 – негативный контроль (необлученная культура ЛПК), 2 – позитивный контроль (облучённая культура ЛПК), 3 – облучённые ЛПК с облучёнными дрожжами

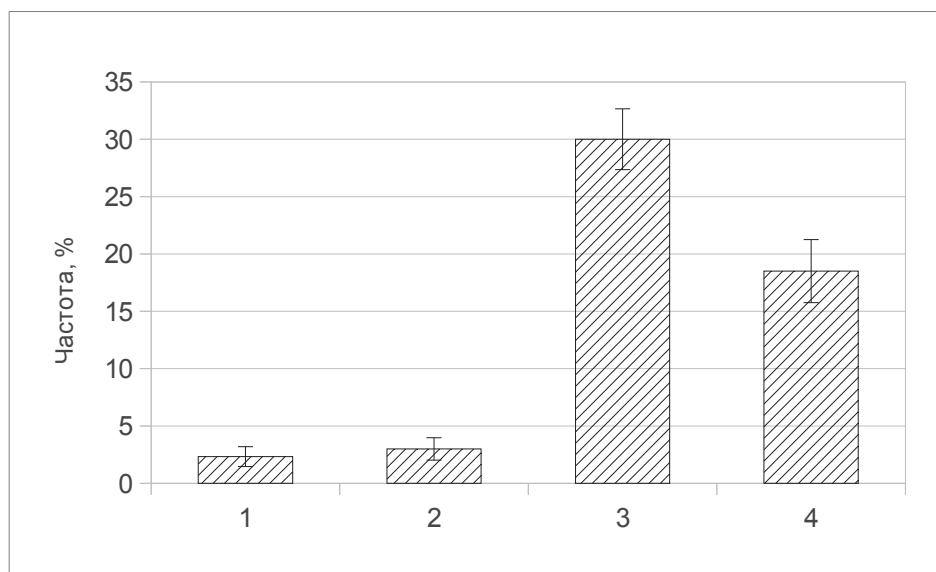


Рис. 2. Частота aberrantных метафаз (AM) в лимфоцитах: 1 – не облучённая культура ЛПК, 2 – не облучённые ЛПК с необлученными дрожжами, 3 – облучённые ЛПК, 4 – облучённые ЛПК с не облучёнными дрожжами

Выводы

Исходя из полученных нами данных следует, что облучённые клетки дрожжей не влияют на уровень aberrантных метафаз в предварительно облучённых лимфоцитах периферической крови человека. Необлученные дрожжи при

совместном культивировании с облучённой культурой ЛПК способны значительно снижать уровень aberrантных метафаз в облучённых лимфоцитах.

Литература

1. Sawant S., Zheng W., Hopkins K., Randers-Pehrson G., Lieberman H., Hall E. The radiation-induced bystander effect for clonogenic survival // *Radiat. Res.* – 2002. – Vol. 157, № 4. – P. 361-364.
2. Yang G., Wu L., Chen L., Pei B., Wang Y., Zhan F., Wu Y., Yu Z. Targeted irradiation of shoot apical meristem of *Arabidopsis* embryos induces long-distance bystander/abscopal effects // *Radiation Research* – 2007. – Vol.167, №3. – P. 298-305.
3. Василенко О.П., Пронина О.В., Рушковский С.Р. Эффект “свидетеля” при совместном культивировании дрожжей с лимфоцитами периферической крови человека // Матер. междунар. конф. “Радиация и экосистемы”. – Гомель – 2008. – С. 263-267.
4. Vasylenko O.P., Pronina O.V., Rushkovsky S.R. Bystander effect in human lymphocytes incubated with irradiated mitochondrial DNA deficient yeast cells // *Radioprot.* – 2011. – Vol. 46, № 6. – P. 555-559.
5. Widel M., Przybyszewski W., Cieslar-Pobuda A., Saenko Y., Rzeszowska-Wolny J. Bystander normal human fibroblasts reduce damage response in radiation targeted cancer cells through intercellular ROS level modulation // *Mutat. Res.* – 2011. – Vol. 731. – P. 117-124.
6. Claridge-Mackonis E., Suchoverska N., Zhang M., Ebert M., McKenzie D.R., Jackson M., Cellular response to modulated radiation fields // *Phys. Med. Biol.* – 2007. – Vol. 52. – P. 5469–5482.

VASYLENKO O.P., RUSHKOVSKY S.R.

National Taras Shevchenko University of Kyiv

Ukraine, 01033, Kyiv, Volodymyrska str: 64, e-mail: helga.wasilenko@gmail.com

CHROMOSOMAL INSTABILITY IN IRRADIATED HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES INCUBATED WITH YEAST CELLS *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Aims. In our previous studies we have shown 3-4 times increasing of the aberrant metaphases level in intact human lymphocytes as a result of bystander effect (BE) induced by irradiated yeast cells. The question remains are damaged cells more sensitive to BE signals or not? The purpose of our study was investigation how cocultivation with *S. cerevisiae* affects the level of chromosomal instability in X-ray irradiated lymphocytes. **Methods.** The cultures of X-ray irradiated (1 Gy) human peripheral blood lymphocytes were experimentally contaminated with nonirradiated or X-ray irradiated yeast cells (haploid strains of *S. cerevisiae*, 10 Gy). Well spread human metaphases were scored for aberration metaphases (AM). **Results.** It was found that irradiated yeast cells had no effect on chromosomal stability level in irradiated lymphocytes. The statistically significant decreasing of the AM level was observed in irradiated lymphocytes incubated with non-irradiated yeast cells. **Conclusions.** Our findings suggest existence of “inverse BE” when non-irradiated cells can significantly reduce the level of chromosomal damages in irradiated ones.

Key words: bystander effect, lymphocytes, aberration metaphases.

ДЕРІЙ С.І., БІЛОНОЖКО В.Я., ПЕДЧЕНКО М.О.

Черкаський національний університет імені Богдана Хмельницького

Україна, 18031, м. Черкаси, бульвар Шевченка, 81, e-mail: Bilonogko52 @yandex.ru

ЗАСТОСУВАННЯ КРЕС-САЛАТУ (*LEPIDIUM SATIVUM L.*) ДЛЯ ОЦІНКИ ВМІСТУ ЙОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У МОДЕЛЬОВАНІЙ ВОДНІЙ КУЛЬТУРІ

Нині оцінка ступеня екологічної небезпеки традиційно здійснюється шляхом визначення у навколишньому середовищі окремих потенційно шкідливих речовин або впливів і порівняння

отриманих результатів із законодавчо установленими для них граничнодопустимими величинами. У той же час такий спосіб контролю має ряд істотних недоліків. Аналітичні методи, як