

УДК 579.253.2: 614.876: 616-008.841.5: 678.048

ДІЯ АСТАКСАНТИНУ НА РІВЕНЬ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНИХ АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ *IN VITRO*

М.А. ПІЛІНСЬКА¹, Д.А. КУРІННИЙ¹, С.Р. РУШКОВСЬКИЙ², О.Б. ДИБСЬКА¹

¹Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини
Національної академії медичних наук України»

Україна, 04050, м. Київ, вул. Мельникова, 53

²Навчально-науковий центр «Інститут біології»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Україна, 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13

e-mail: pww@ukr.net

Мета. Встановлення можливості модифікації астаксантином (каротиноїд з групи ксантофілів) радіаційно-індукованого цитогенетичного ефекту в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) людини *in vitro*. **Методи.** Культивування ЛПК чотирьох умовно здорових волонтерів, приготування та аналіз рівномірно забарвлених препаратів метафазних хромосом. Астаксантин у кінцевих концентраціях 2, 10 та 20 мкг/мл додавали в культуру ЛПК до початку інкубації, перед опроміненням γ -квантами в дозі 1 Гр. **Результати.** Астаксантин не впливав на рівень і спектр пошкоджень хромосом в неопромінені ЛПК як у окремих індивідів, так і по групі в середньому ($P>0,05$), що свідчить про відсутність у нього мутагенної активності. Дія астаксантину в концентрації 20 мкг/мл на опромінені ЛПК призвела до суттєвого зменшення радіоіндукованого цитогенетичного ефекту в усіх донорів. Середньогруповий рівень аберацій хромосом знизився майже в 3 рази та характеризувався статистично вірогідним ($P<0,001$) зменшенням частоти аберацій хромосомного типу за рахунок класичних нестабільних цитогенетичних маркерів радіаційного впливу – дицентричних та кільцевих хромосом. **Висновки.** Астаксантин у концентрації 20 мкг/мл знижує мутагенну дію іонізуючого випромінювання, що свідчить про його потужний радіопротекторний потенціал.

Ключові слова: астаксантин, культура лімфоцитів периферичної крові людини, радіаційний мутагенез, аберації хромосом, радіопротекторний ефект.

Вступ. У сучасному світі вплив мутагенних факторів навколишнього та професійного середовища на організм людини є практично невідворотним. До одного із таких факторів належить іонізуюче випромінювання (ІВ) – найпотужніший універсальний мутаген, який індукує пошкодження геному в соматичних та статевих клітинах людини, що призводить до несприятливих медичних наслідків у різні строки після опромінення. Тому захист геному осіб, що піддаються дії ІВ, залишається однією із актуальних проблем радіаційної генетики та радіаційної медицини.

Несприятлива радіоекологічна ситуація, що протягом 30 років зберігається внаслідок Чорнобильської аварії; постійне розширення сфери використання ІВ в промисловості та медицині; радіаційні аварійні ситуації різного масштабу; загроза ядерного тероризму, яка загострилася в останні роки, потребують пошуку нових засобів профілактики і корекції ранніх та віддалених променевих уражень геному людини.

Астаксантин – каротиноїд з групи ксантофілів – має низьку токсичність [1], високу антиоксидантну активність [2–5]. Привертають увагу антиканцерогенні властивості астаксантину. В модельних експериментах було показано ефективне інгібування астаксантином індукованого раку шкіри у щурів [5] та здатність пригнічувати ріст патогенних клітин лінії НСТ-116 раку

© М.А. ПІЛІНСЬКА, Д.А. КУРІННИЙ, С.Р. РУШКОВСЬКИЙ, О.Б. ДИБСЬКА, 2016

товстої кишки людини [6]. Анतिकанцерогенні властивості астаксантину пов'язують з його здатністю проходити крізь клітинну мембрану [7].

Вказані дані дозволяють припустити наявність у астаксантину антимутагенної активності та радіозахисної дії на геном людини. Проте, незважаючи на численні наукові дослідження механізмів дії астаксантину як на клітинні культури *in vitro*, так і на організми експериментальних тварин *in vivo* [1–8], дані щодо його генопротекторних властивостей відсутні.

Критеріями генопротекторної дії є показники ослаблення радіаційно-індукованих пошкоджень геному на різних рівнях його організації. На цитогенетичному рівні визнаним кількісним показником інтенсивності радіаційного мутагенезу вважається дозозалежна частота специфічних для дії ІВ типів аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) людини, що широко використовується для біологічної дозиметрії аварійного опромінення [9]. Метою нашої роботи було визначення впливу астаксантину на рівень хромосомних аномалій в інтактних та опроміненних ЛПК людини *in vitro*.

Матеріали і методи

Для цитогенетичних досліджень використано загальноприйнятую класичну тест-систему – культуру ЛПК, одержану від чотирьох умовно здорових волонтерів (одна жінка, троє чоловіків) віком 43 – 51 рік, середній вік – 46 років, які заперечували свідомий контакт зі знаними чи потенційними мутагенами та вели здоровий спосіб життя. Всі особи були залучені до добровільного цитогенетичного обстеження за умов поінформованої згоди. В осіб

із сформованої групи були встановлені частоти та спектри аберацій хромосом в ЛПК: вихідні рівні та при окремії і сумісній дії астаксантину та ІВ *in vitro*.

Культивування ЛПК проводили протягом 48 г. за стандартним мікрометодом, модифікованим в лабораторії цитогенетики ННЦРМ [10,11]. При постановці експериментів використовували астаксантин фірми Sigma (USA), який додавали до культур ЛПК в кінцевих концентраціях 2, 10 та 20 мкг/мл на G₀ стадії клітинного циклу, до початку інкубації ЛПК, перед опроміненням. Опромінення культур ЛПК гамма-квантами проводили випромінювачем ІВЛ-237С (потужність 2,34 Гр/хв) у дозі 1 Гр. Фіксацію культур та приготування препаратів хромосом людини проводили за стандартною методикою [10]. Препарати фарбували 2 % барвником Гімза та аналізували під світловим мікроскопом. При цитогенетичному аналізі рівномірно пофарбованих хромосом враховували всі аберації хроматидного (одиначні фрагменти, хроматидні обміни) та хромосомного (вільні парні фрагменти, ацентричні кільця, дицентричні та кільцеві хромосоми, аномальні моноцентрики, які формуються за рахунок транслокацій, інверсій, інсерцій) типів [10,11]. У кожному варіанті аналізували не менше, ніж 220 метафаз; всього проаналізували 8029 метафаз.

Результати та обговорення

Вихідні рівні аберацій хромосом в неопроміненних лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів наведені в таблиці 1.

Середньогрупова частота абераційних метафаз в ЛПК волонтерів складала 2,67±0,38 % з міжін-

Таблиця 1. Основні цитогенетичні показники в неопроміненних лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів

| Шифр індивіда | Частота метафаз з абераціями, % | | Рівень хромосомних аберацій, на 100 клітин | | Частота аберацій хроматидного типу, на 100 клітин | | | Частота аберацій хромосомного типу, на 100 клітин | | | | | | |
|---------------|---------------------------------|------|--|------|---|--------|------|---|------------|------------------|------------------------|-------------------|------|------|
| | | | | | одиначні фрагменти | обміни | сума | парні фрагменти | дицентрики | центричні кільця | аномальні моноцентрики | ацентричні кільця | сума | |
| | М | ± m | М | ± m | | | | | | | | | | |
| I | 3,02 | 0,82 | 3,02 | 0,82 | 1,86 | 0 | 1,86 | 1,16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,16 |
| II | 2,89 | 0,86 | 2,89 | 0,86 | 1,31 | 0 | 1,31 | 1,57 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,57 |
| III | 2,22 | 0,66 | 2,44 | 0,67 | 1,40 | 0 | 1,40 | 0,80 | 0 | 0 | 0,20 | 0 | 0 | 1,00 |
| IV | 2,66 | 0,74 | 2,66 | 0,74 | 2,00 | 0 | 2,00 | 0,67 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,67 |
| X | 2,67 | | 2,73 | | 1,65 | 0 | 1,65 | 1,02 | 0 | 0 | 0,06 | 0 | 0 | 1,08 |
| ± x | 0,38 | | 0,39 | | 0,30 | | 0,30 | 0,24 | | | 0,06 | | | 0,25 |

Примітки: М – індивідуальне середнє значення відповідного параметру, ± m – помилка індивідуального середнього значення; X – середньогрупове значення відповідного параметру, ± x – помилка середньогрупового значення

дивідуальними коливаннями від 2,22 % до 3,02 %, що дещо перевищувало як середньопопуляційний рівень (1,50 %, який варіює в межах від 1,00 % до 3,00 %) [12, 13], так і показники нашого власного історичного контролю (1,12±0,19 %, варіює від 0 % до 2,00 %), можливо, за рахунок переважання в групі осіб старших 40 років [11, 14]. Оскільки у волонтера III спостерігали більше однієї аберації в абераційній клітині, середньогрупова частота аберацій хромосом незначно перевищувала частоту абераційних клітин і складала 2,73±0,39 на 100 метафаз, а середньогрупова частота аберацій на одну абераційну клітину дорівнювала 1,02. Серед пошкоджень хромосом домінували прості аберації переважно хроматидного типу – одиночні фрагменти, які зустрічались із середньою частотою 1,65±0,30 на 100 метафаз. Аберації хромосомного типу по групі в середньому (1,08±0,25 на 100 метафаз) в основному вони були представлені простими ацентриками (вільними парними фрагментами) з частотою 1,02±0,24 на 100 метафаз. Співвідношення між одиночними та парними ацентричними фрагментами наближалось до 1,6 : 1. В одному випадку (III) було зареєстровано аномальний моноцентрик, індивідуальна частота якого складала 0,20 на 100 метафаз, а середньогруповий рівень становив 0,06±0,06 на 100 метафаз, що було нижче значення популяційного контролю (0,1–0,2 на 100 метафаз)

і свідчило про відсутність радіаційного впливу на обстежених осіб в досліджуваних дозах.

Таким чином, одержані результати показали, що частоти абераційних клітин і всіх типів аберацій хромосом в неопромінених лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів відповідали популяційним віковим даним, які характерні для спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини [11 – 14]. Це дозволило вважати сформовану групу придатною щодо проведення як пошукових модельних експериментів *in vitro* з визначення оптимальної робочої концентрації атаксантину, так і для подальшого дослідження його спроможності до модифікації радіаційно-індукованого цитогенетичного ефекту.

Результати цитогенетичного аналізу неопромінених лімфоцитів периферичної крові умовно здорових волонтерів при дії атаксантину *in vitro* в концентраціях 2, 10 та 20 мкг/мл наведені в табл. 2 (індивідуальні дані) та 3 (середньогрупові частоти аберацій хроматидного і хромосомного типів).

Результати, представлені в табл. 2, свідчать про відсутність міжіндивідуальних відмінностей в чутливості хромосом лімфоцитів периферичної крові всіх обстежених осіб до дії атаксантину в застосованих концентраціях ($P > 0,05$).

Частоти абераційних клітин та рівні аберацій хромосом при дії атаксантину *in vitro* в усіх протестованих концентраціях не відрізнялись ($P > 0,05$)

Таблиця 2. Рівні аберацій хромосом в неопромінених лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів при дії атаксантину *in vitro*

| Концентрація атаксантину, мкг/мл | Індивідуальні рівні аберацій хромосом, на 100 метафаз | | | | середньогрупові рівні аберацій хромосом, на 100 метафаз |
|----------------------------------|---|-----------|-----------|------------|---|
| | I | II | III | IV | |
| 0 (контроль) | 3,02±0,82 | 2,89±0,86 | 2,44±0,67 | 2,66 ±0,74 | 2,73±0,39 |
| 2 | 3,00±0,98 | 2,82±0,88 | 2,75±0,82 | 2,50±0,87 | 2,76±0,44 |
| 10 | 2,75±0,82 | 3,00±0,98 | 2,25±0,74 | 2,57±0,85 | 2,62±0,42 |
| 20 | 2,94±0,92 | 2,42±0,85 | 2,33±0,87 | 2,33±0,87 | 2,52±0,44 |

Таблиця 3. Середньогрупові частоти аберацій хроматидного і хромосомного типів в неопромінених лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів при дії атаксантину *in vitro*

| Концентрація атаксантину, мкг/мл | Середня частота аберацій хромосом, на 100 клітин | | |
|----------------------------------|--|-------------------------------------|-----------------|
| | хроматидного типу (одиночні фрагменти) | хромосомного типу (парні фрагменти) | всього аберацій |
| 0 (контроль) | 1,65±0,30 | 1,02±0,24 | 2,67±0,36 |
| 2 | 1,82±0,32 | 0,94±0,22 | 2,76±0,44 |
| 10 | 1,93±0,36 | 0,69±0,22 | 2,62±0,42 |
| 20 | 1,50±0,34 | 1,02±0,28 | 2,52±0,44 |

від відповідних фонових цитогенетичних показників як у окремих індивідів, так і по групі в середньому (табл. 3). При дії атаксантину не змінився і спектр аберацій – в усіх випадках пошкодження хромосом були представлені тільки одиночними та парними ацентричними фрагментами. Не відмічено також суттєвого впливу атаксантину на співвідношення між абераціями хроматидного та хромосомного типів – при всіх концентраціях препарату переважали хроматидні аберації.

Таким чином, досліджені концентрації атаксантину істотно не впливали на рівень і спектр спонтанних пошкоджень хромосом в ЛПК, що свідчить про відсутність у нього мутагенної активності. Для подальших досліджень радіомодифікувальної дії атаксантину на цитогенетичному рівні було обрано максимальну з протестованих концентрацій препарату – 20 мкг/мл, яка майже не знижувала мітотичну активність культури лімфоцитів і не індукувала цитогенетичного ефекту.

Результати цитогенетичного аналізу при окремій дії ІВ та сумісній дії ІВ з атаксантином наведені в табл. 4, 5; порівняння цих результатів – в табл. 6, відповідно.

Опромінення культур ЛПК в дозі 1 Гр на стадії G₀ мітотичного циклу призвело до очікуваного підвищення частот абераційних метафаз та аберацій хромосом у всіх волонтерів, які не відрізнялись поміж собою за індивідуальною радіочутливістю (P>0,05) (табл. 4); в середньому по групі ці показники склали 22,93±1,19 % та 24,55±1,22 на 100 клітин, відповідно. Радіоіндуковані пошкодження хромосом в основному були представлені нестабільними абераціями

хромосомного типу – простими ацентриками (вільними парними фрагментами та ацентричними кільцями із сумарною середньогруповою частотою 6,96±0,72 на 100 клітин) та асиметричними хромосомними обмінами (дицентричними і кільцевими хромосомами із сумарною середньогруповою частотою 15,56±1,03 на 100 клітин). У двох донорів з'явилися також стабільні радіогенні маркери – аномальні моноцентрики з індивідуальними частотами 1,07 та 0,97 на 100 метафаз, що на порядок перевищувало фонові значення.

Як видно з даних, наведених в табл. 5, 6, дія атаксантину на опромінені ЛПК призвела до суттєвого зменшення радіоіндукованого цитогенетичного ефекту в усіх донорів, завдяки чому майже в 3 рази знизилась середньогрупова частота абераційних метафаз та рівень аберацій хромосом (до 7,82±0,72 % та 8,48±0,75 на 100 клітин відповідно). Антимутагенна активність атаксантину характеризувалась вірогідним (P<0,001) зниженням частоти класичних нестабільних цитогенетичних маркерів радіаційного впливу – дицентричних та кільцевих хромосом (до 2,37±0,41 та 0,42±0,21 на 100 метафаз, відповідно). Дещо зменшилась середньогрупова сумарна частота простих ацентриків (до 5,74±0,62 на 100 метафаз) та стабільних цитогенетичних маркерів дії ІВ – аномальних моноцентриків (до 0,22±0,13 на 100 клітин). Рівень одиночних фрагментів (0,72±0,23 на 100 метафаз) практично не змінився і не відрізнявся ні від фонових значень, ні від їх частот при окремій дії ІВ та атаксантину. Цитогенетичний відгук опроміненних ЛПК на дію атаксантину у різних осіб був односпрямованим.

Таблиця 4. Основні цитогенетичні показники в лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів при дії гамма-опромінення *in vitro* в дозі 1,0 Гр

| Шифр індивіда | Абераційні клітини, % | | Хромосомні аберації, на 100 клітин | | Частота аберацій хроматидного типу, на 100 клітин | | | Частота аберацій хромосомного типу, на 100 клітин | | | | | |
|---------------|-----------------------|------|------------------------------------|------|---|--------|------|---|------------|------------------|------------------------|-------------------|-------|
| | | | | | одиночні фрагменти | обміни | сума | парні фрагменти | дицентрики | центрічні кільця | аномальні моноцентрики | ацентричні кільця | сума |
| | M | ± m | M | ± m | | | | | | | | | |
| I | 20,26 | 2,06 | 22,11 | 2,13 | 1,05 | 0 | 1,05 | 4,21 | 14,74 | 2,11 | 0 | 0 | 21,06 |
| II | 25,13 | 2,24 | 26,47 | 2,28 | 2,41 | 0 | 2,41 | 6,42 | 11,76 | 3,74 | 1,07 | 1,07 | 24,06 |
| III | 22,72 | 2,82 | 23,64 | 2,86 | 1,82 | 0 | 1,82 | 7,27 | 11,82 | 1,82 | 0,91 | 0 | 21,82 |
| IV | 23,85 | 2,64 | 25,38 | 2,70 | 0,77 | 0 | 0,77 | 8,46 | 12,31 | 3,08 | 0 | 0,77 | 24,62 |
| X | 22,93 | | 24,55 | | 1,54 | 0 | 1,54 | 6,47 | 12,80 | 2,76 | 0,49 | 0,49 | 23,02 |
| ± x | 1,19 | | 1,22 | | 0,35 | 0 | 0,35 | 0,70 | 0,95 | 0,47 | 0,20 | 0,20 | 1,20 |

Примітки: М – індивідуальне середнє значення відповідного параметру, ± m – помилка індивідуального середнього значення; X – середньогрупове значення відповідного параметру, ± x – помилка середньогрупового значення

Таблиця 5. Основні цитогенетичні показники в лімфоцитах периферичної крові умовно здорових волонтерів при сумісній дії *in vitro* гамма-опромінення в дозі 1 Гр та астаксантину в концентрації 20 мкг/мл

| Шифр індивіда | Аберантні клітини, % | | Хромосомні аберации, на 100 клітин | | Частота абераций хроматидного типу, на 100 клітин | | | Частота абераций хромосомного типу, на 100 клітин | | | | | |
|---------------|----------------------|------|------------------------------------|------|---|--------|------|---|------------|------------------|------------------------|-------------------|------|
| | | | M | ± m | одиночні фрагменти | обміни | сума | парні фрагменти | дицентрики | центричні кільця | аномальні моноцентрики | ацентричні кільця | сума |
| I | 7,69 | 1,74 | 7,69 | 1,74 | 0,85 | 0 | 0,85 | 3,42 | 3,42 | 0,00 | 0 | 0 | 6,84 |
| II | 6,50 | 1,23 | 8,00 | 1,36 | 0,00 | 0 | 0,00 | 4,00 | 3,00 | 1,00 | 0 | 0 | 8,00 |
| III | 8,46 | 1,73 | 8,46 | 1,73 | 0,77 | 0 | 0,77 | 3,08 | 3,85 | 0,00 | 0,77 | 0 | 7,71 |
| IV | 8,63 | 1,26 | 9,24 | 1,31 | 1,20 | 0 | 1,20 | 6,63 | 0,60 | 0,40 | 0,20 | 0,20 | 8,03 |
| X | 7,82 | | 8,48 | | 0,72 | 0 | 0,72 | 4,67 | 2,37 | 0,43 | 0,22 | 0,07 | 7,76 |
| ± x | 0,72 | | 0,75 | | 0,23 | 0 | 0,23 | 0,57 | 0,41 | 0,18 | 0,13 | 0,07 | 0,71 |

Примітки: М – індивідуальне середнє значення відповідного параметру, ± m – помилка індивідуального середнього значення; X – середньогрупове значення відповідного параметру, ± x – помилка середньогрупового значення

Таблиця 6. Порівняння середньогрупових значень цитогенетичних показників в неопромінених ЛПК людини при окремій дії ІВ та сумісній дії ІВ з астаксантином

| | Аберантні клітини, % | Хромосомні аберации, на 100 клітин | Частота абераций хромосом, на 100 клітин | | | | | | | | | |
|--|----------------------|------------------------------------|--|--------|------|-------------------|------------|------------------|------------------------|-------------------|-------|--|
| | | | хроматидного типу | | | хромосомного типу | | | | | | |
| | | | одиночні фрагменти | обміни | сума | парні фрагменти | дицентрики | центричні кільця | аномальні моноцентрики | ацентричні кільця | сума | |
| Неопромінені ЛПК | | | | | | | | | | | | |
| X | 2,52 | 2,57 | 1,60 | 0,00 | 1,60 | 0,96 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,97 | |
| ± x | 0,34 | 0,35 | 0,28 | 0,00 | 0,28 | 0,21 | 0,00 | 0,00 | 0,01 | 0,00 | 0,22 | |
| ЛПК, опромінені в дозі 1 Гр | | | | | | | | | | | | |
| X | 22,93 | 24,55 | 1,54 | 0,00 | 1,54 | 6,47 | 12,80 | 2,76 | 0,49 | 0,49 | 23,02 | |
| ± x | 1,19 | 1,22 | 0,35 | 0,00 | 0,35 | 0,70 | 0,95 | 0,47 | 0,20 | 0,20 | 1,20 | |
| ЛПК, опромінені в дозі 1 Гр + астаксантин в концентрації 20,0 мкг/мл | | | | | | | | | | | | |
| X | 7,82 | 8,48 | 0,72 | 0,00 | 0,72 | 4,67 | 2,37 | 0,43 | 0,22 | 0,07 | 7,76 | |
| ± x | 0,72 | 0,75 | 0,23 | 0,00 | 0,23 | 0,57 | 0,41 | 0,18 | 0,13 | 0,07 | 0,71 | |

Висновки

Отримані результати показали, що астаксантин у концентрації 20 мкг/мл статистично вірогідно знижує за цитогенетичними критеріями мутагенну дію ІВ, що свідчить про його потужний радіопротекторний потенціал.

Перелік літератури

- Stewart J., Lignell A., Pettersson A., Elfving E., Soni G. Safety assessment of astaxanthin – rich microalgae biomass: Acute and subchronic toxicity studies in rats // *Food Chem. Toxicol.* – 2008. – Vol. 46. – P. 3030–3036.
- Yasuhiro, N., Eiji Y., Wataru M. Quenching activities of common hydrophilic and lipophilic antioxidants against singlet oxygen using chemiluminescence detection system// *Carotenoid Science* – 2007. – Vol. 121. – P. 116–120.
- Ranga Rao A., Baskaran V., Sarada R., Ravishankar G. *In vivo* bioavailability and antioxidant activity of carotenoids from micro

algal biomass – a repeated dose study // *Food Res. Int.* – 2013. – Vol. 54. – P. 711–717.

- Ranga Rao A., Reddy R., Baskaran V., Sarada R., Ravishankar G. Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model // *J. Agric. Food Chem.* – 2010. – Vol. 58. – P. 8553–8559.
- Rao Rao A., Sindhuja H., Dharmesh S., Sankar K., Sarada R., Ravishankar G. Effective inhibition of skin cancer, tyrosinase, and antioxidative properties by astaxanthin and astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis* // *J. Agric. Food Chem.* – 2013. – Vol. 61. – P. 3842–3851.
- Palozza P., Torelli C., Boninsegna A., Simone R., Catalano A. Growth-inhibitory effects of the astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* in human colon cancer cells.// *Cancer Lett.* – 2009. – Vol. 283. – P. 108–117.
- Briviba K., Bornemann R., Lemmer U. Visualization of astaxanthin localization in HT29 human colon adenocarcinoma cells by combined confocal resonance and fluorescence microspectroscopy // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2006. – Vol. 50. – P. 991–995.

8. Kurihara H., Koda H., Asami S., Kiso Y., Tanaka T. Contribution of the antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with restraint stress // *Life Sci.* – 2002. – Vol. 70. – P. 2509–2520.
9. *Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies.* International atomic energy agency. – Vienna, 2011. – 229 p.
10. *Хромосомы человека: атлас* / А.Ф. Захаров, В.А. Бенюш, Н.П. Кулешов, Л.И. Барановская. – М.: Медицина, 1982. – 263 с.
11. Пилинська М.А., Дибський С.С. Спонтанний рівень аберацій хромосом, встановлений в лімфоцитах периферичної крові осіб різного віку за допомогою методу FISH // *Цитология и генетика.* – 2004. – Т. 40, № 4. – С. 61–66.
12. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н., Катосова Л.Д., Платонова В.И. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных абераций в культуре лимфоцитов периферической крови человека // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2001. – № 2. – С. 21–29.
13. Чеботарев А.Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* – 2001. – № 10. – С. 64–69.
14. Талан О.А. Цитогенетичні показники при спонтанному та радіаційно-індукованому соматичному хромосомному мутагенезі в осіб різного віку: автореф. дис. ... на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.15. – К. – 2012. – 20 с.

Представлено Л.Л. Лукаш
Надійшла 10.03.2016

ДЕЙСТВИЕ АСТАКСАНТИНА НА УРОВЕНЬ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ АБЕРАЦИЙ ХРОМОСОМ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*

М.А. Пилинская¹, Д.А. Куринный¹, С.Р. Рушковский²,
Е.Б. Дыбская¹

¹ Государственное учреждение «Национальный научный центр радиационной медицины Национальной академии медицинских наук Украины»

Украина, 04050, Киев, ул. Мельникова, 53

² Учебно-научный центр «Институт биологии» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко
Украина, 01601, Киев, ул. Владимирская, 64/13

e-mail: pww@ukr.net

Цель. Цель исследований – установление возможности модификации астаксантином (каротиноид из группы ксантофиллов) радиационно-индуцированного цитогенетического эффекта в лимфоцитах периферической крови человека (ЛПК) *in vitro*. **Методы.** Культивирование ЛПК 4-х условно здоровых волонтеров, приготовление и анализ равномерного окрашенных препаратов метафазных хромосом. Астаксантин в конечных концентрациях 2, 10 и 20 мкг / мл добавляли в культуру ЛПК до начала инкубации, перед облучением. Культуры ЛПК облучали γ -квантами в дозе 1 Гр. **Результаты.** Астаксантин во всех протестированных концентрациях не влиял на уровень и спектр повреждений хромосом в интактных ЛПК как у отдельных индивидов, так и по группе в среднем ($P>0,05$), что свидетельствует об отсутствии у него мутагенной активности. Воздействие астаксантина в концентрации 20 мкг/мл на облученные ЛПК

привело к уменьшению цитогенетического эффекта у всех доноров. Среднегрупповой уровень абераций хромосом снизился почти в 3 раза и характеризовался статистически значимым ($P<0,001$) уменьшением частоты абераций хромосомного типа за счет классических нестабильных цитогенетических маркеров радиационного воздействия – дицентрических и кольцевых хромосом. **Выводы.** Астаксантин в концентрации 20 мкг/мл снижает мутагенное действие ионизирующего излучения, что свидетельствует о его мощном радиопротекторном потенциале.

Ключевые слова: астаксантин, культура лимфоцитов периферической крови человека, радиационный мутагенез, аберации хромосом, радиопротекторный эффект.

THE IMPACT OF ASTAXANTHIN ON RADIATION-INDUCED CHROMOSOME ABERRATIONS IN HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES *IN VITRO*

M. A. Pilinska¹, D.A. Kurinnyi¹, S.R. Rushkovsky²,
O.B. Dybska¹

¹ State institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Ukraine, 04050, Kyiv, str. Melnikova, 53

² Institute of Biology of Taras Shevchenko National University of Kyiv

Ukraine, 01601, Kyiv, str. Vladimirska, 64/13

e-mail: pww@ukr.net

Aim. Research objective is to establish the possibility of modifying the astaxanthin (a carotenoid from a xanthophyll group) radiation-induced cytogenetic effects in human peripheral blood lymphocytes (PBLs) *in vitro*. **Methods.** The cultivation of PBLs from four conventionally healthy volunteers, the preparation and analysis of uniformly stained slides of metaphase chromosomes. Astaxanthin in final concentrations of 2, 10 and 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was added into the culture of PBL prior to the incubation before irradiation with γ -quanta in a dose of 1 Gy. **Results.** Astaxanthin did not affect the level and spectrum of chromosome damage in non-irradiated PBLs both in individual persons, and along the group on average ($P>0.05$), indicating a lack of mutagenic activity. The effect of astaxanthin at a concentration of 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ on irradiated PBLs resulted in a significant reduction of radioinduced cytogenetic effect in all donors. Mean-group level of chromosome aberrations decreased almost 3 times and was characterized by statistically significant ($P<0.001$) decrease in frequency of chromosomal type aberrations due to the classical unstable cytogenetic markers of radiation effect, dicentrics and ring chromosomes. **Conclusions.** Astaxanthin at a concentration of 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was found to reduce the mutagenic effect of ionizing radiation, thus suggesting its powerful radioprotective potential.

Keywords: astaxanthin, culture of human peripheral blood lymphocytes, radiation mutagenesis, chromosome aberrations, radioprotective effect.