

*0101 (15%), *0301 (15%), *0102 (12,5%) та *0103 (12,5%), а у контрольній групі - *0501, *0101, *0102, *0201 та *0103. У хворих виявлено вірогідно вищу частоту лише по одній алелі DQA1*0301 порівняно з контрольною групою. Значення показника відносного ризику RR свідчить про вагому роль алелі DQA1*0301 у хворих на запальні захворювання товстої кишки як алелі-"агресора".

Ключові слова: запальні захворювання, товста кишка, алелі гена DQA1, показник відносного ризику RR.

Резюме

Терпыляк О.И., Лозинская М.Р., Лозинський Ю.С., Яремцьо О.Р. *Распределение и частота аллелей гена DQA1 у больных на воспалительные заболевания толстой кишки.*

Изучено распределение и частоту аллелей гена DQA1 в 20 больных с воспалительными заболеваниями толстой кишки и 45 лиц контрольной группы. Наиболее распространенными в группе больных были следующие аллели гена DQA1 главного комплекса гистосовместимости человека II-го класса: *0501 (35%), *0101 (15%), *0301 (15%), *0102 (12,5%) и *0103 (12,5%), а в лиц контрольной группы - *0501, *0101, *0102, *0201 и *0103 из расчета на 40 аллелей. В больных только по одной аллели DQA1*0301 выявлено достоверно высшую частоту по сравнению с контрольной группой. Значения показателя относительного риска свидетельствуют о важной роли аллели DQA1*0301 у больных с воспалительными заболеваниями толстой кишки как аллели-"агрессора".

Ключевые слова: воспалительные заболевания, толстая кишка, аллели гена DQA1, показатель относительного риска RR.

Summary

Terpyliak O.I., Lozynska M.R., Lozynskyy Y.S., Jaremtso O.R. *The distribution and frequency of DQA1 gene alleles in patients with inflammatory bowel diseases.*

It was carried out the distribution and frequency of DQA1 gene alleles in 20 patients with inflammatory bowel diseases and 45 persons of control group. The most prevalent in group of illness people were following gene alleles of human lymphocyte antigene (HLA) class II genes: *0501 (35%), *0101 (15%), *0301 (15%), *0102 (12,5%) and *0103 (12,5%), in control group - *0501, *0101, *0102, *0201 and *0103 in estimation on 40 alleles. In illness persons significantly higher frequency only for one DQA1*0301 alleles in compare to control group it was determined. The value of relative risk index (RR) evidence the importance role of DQA1*0301 gene alleles in patients with inflammatory bowel diseases if an allel-"agressor".

Key words: inflammatory diseases, large bowel, DQA1 gene alleles, relative risk RR.

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

УДК 616-008.63:575.113:612.844:575.116.4:616-001.28

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ ЕФЕКТ В КЛІТИНАХ-СВІДКАХ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ З ЛІМФОЦИТАМИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ОСІБ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ОПРОМІНЕННЯ IN VIVO

О.В. Шеметун

Науковий центр радіаційної медицини АМН України (Київ)

Вступ

Вивчення мутаційних змін в соматичних неопромінених клітинах, що виникають внаслідок індукції ефекту свідка навколо ушкоджених радіацією клітин, є важливим для оцінки та прогнозування віддалених наслідків опромінення людини. В клітинах-свідках відмічено посилення утворення вільних радикалів, активізацію експресії генів, індукцію мутацій, виникнення мікроядер і розвиток апоптозу [1-3]. За сучасними уявленнями існує прямий зв'язок між мутаційними змінами в геномі соматичних клітин та їх злоякісним переродженням [4, 5]. Хромосомні аберації можуть слугувати доклінічним маркером виникнення злоякісних утворень при розрахунках канцерогенного ризику. Популяційно-цитогенетичними дослідженнями скандинавських вчених показана достовірна кореляція між ризиком виникнення раку та частотою аберацій хромосом [6].

Враховуючи викладене та беручи до уваги масштабність наслідків аварії на Чорнобильській атомній станції, виконання роботи з вивчення цитогенетичних аспектів радіаційно-індукованого ефекту свідка є актуальним і буде сприяти розкриттю механізмів хромосомної нестабільності та індукції канцерогенезу після опромінення.

Метою представленої роботи було встановлення цитогенетичного ефекту в соматичних клітинах людини внаслідок радіаційно-індукованого ефекту свідка при опроміненні in vivo в малих дозах.

Матеріали і методи дослідження

Робота виконана з використанням моделі для виявлення радіаційно-індукованого ефекту свідка в клітинах людини на цитогенетичному рівні [7-9]. При виконанні роботи визначено цитогенетичні показники в неопромінених лімфоцитах крові (клітинах-свідках) донорів жіночої статі (популяції лімфоцитів № 7-9) при культивуванні в модельній системі з лімфоцитами, отриманими від чоловіків (популяції лімфоцитів № 1-6), які, згідно з офіційними документами, зазнали опромінення *in vivo* в дозах 0,35-0,69 Гр внаслідок ліквідації аварії на ЧАЕС.

Культивування цільної крові проводили за загальноприйнятим напівмікрометодом [10]. Для виявлення ефекту свідка використовували змішану культуру з двох різностатевих популяцій лімфоцитів (по 0,3 мл крові донорів чоловічої і жіночої статі), одна з яких була опромінена *in vivo*, а інша (неопромінена) використовувалась як свідок. Для розрізнення лімфоцитів периферичної крові, що культивувались в змішаних культурах, використовували статеві хромосоми Y та XX (як головні маркери) та морфологічні варіанти деяких соматичних хромосом (9qh++; 9qh+; 13ps+, 15cenh+) як допоміжні ознаки.

Цитогенетичний аналіз виконували з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом з використанням барвника Гімза (Merck, Німеччина) та трипсину за методом M.Seabright [11]. Це дозволило виявити весь спектр стабільних та нестабільних аберацій хромосом та коректно встановити їх рівень.

Хромосомний аналіз проводили на зашифрованих препаратах. Всі проаналізовані метафази відповідали необхідним вимогам [12]. Аналіз здійснювали за допомогою мікроскопів зі збільшенням $\times 1000$. Реєстрували аберації хроматидного (хроматидні розриви, обміни) і хромосомного (дицентричні й кільцеві хромосоми, транслокації, пара- та перичентричні інверсії, інсерції, термінальні та інтерстиціальні делеції) типів. Під час аналізу реєстрували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з міжнародною номенклатурою ISCN- 2005 [13].

При виконанні роботи проаналізовано 1840 диференційно забарвлених метафаз.

Отримані дані опрацьовували з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юdentом-Фішером [14].

Результати досліджень і їх обговорення

Цитогенетичний аналіз неопромінених лімфоцитів периферичної крові людини, що культивувались в змішаних культурах з лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС, опроміненими *in vivo*, показав, що частота абераційних клітин та рівень аберацій хромосом ($4,67 \pm 0,56$ на 100 метафаз) в клітинах-свідках статистично достовірно перевищували показники контрольних неопромінених культур ($p < 0,05$) (табл. 1).

Рівень аберацій хроматидного типу в клітинах-свідках становив $3,42 \pm 0,48$ на 100 метафаз і перевищував показники контролю ($p < 0,01$). Вони були представлені хроматидними розривами (96 % від загальної кількості) та хроматидними обмінами (4 %).

Таблиця 1
Цитогенетичні показники в неопромінених клітинах-свідках при культивуванні в змішаних культурах з лімфоцитами

Тип пошкоджень	Частота аберацій, на 100 клітин	
	контроль	клітини-свідки
Аберації хромосом	$1,73 \pm 0,65$	$4,67 \pm 0,56$
хроматидного типу	$0,25 \pm 0,25$	$3,42 \pm 0,48$
хромосомного типу	$1,48 \pm 0,60$	$1,25 \pm 0,29$
делеції	$0,74 \pm 0,43$	$1,18 \pm 0,28$
транслокації і інверсії	$0,49 \pm 0,35$	$0,07 \pm 0,07$
дицентрики і центричні кільця	$0,25 \pm 0,25$	$0,00 \pm 0,00$

З аберацій хромосомного типу в неопромінених клітинах, що культивувались в змішаних культурах з лімфоцитами ліквідаторів, зареєстровано термінальні, інтерстиціальні делеції та інверсії. Їх середня частота ($1,25 \pm 0,29$ на 100 клітин) не мала істотної різниці з рівнем в контрольних культурах лімфоцитів ($p > 0,05$).

Переважає більшість (94 %) пошкоджень хромосомного

типу була представлена делеціями. Їх частота не перевищувала контрольного показника ($p > 0,05$).

Рівень стабільних маркерів опромінення в клітинах-свідках не перевищував популяційного. Нестабільних маркерів дії радіації не виявлено. Дані щодо підвищеного рівня хромосомної нестабільності в неопромінених клітинах свідках при їх культивуванні в змішаних культурах з опроміненими *in vivo* в малих дозах лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС добре корелюють з результатами, отриманими нами в дослідженнях індукції ефекту свідка при дії рентгенівського опромінення *in vitro* в дозах 0,25 і 1,00 Гр та *in vivo* в дозах 1,01-2,37 Гр [15-17].

І. Emerit зареєструвала кластогенну активність плазми у персоналу Чорнобильської атомної електростанції [18]. Персистенцію кластогенних факторів протягом багатьох років автор пояснює зсувом прооксидантного і антиоксидантного балансу в організмі після опромінення.

Аналіз індивідуальних рівнів аберацій хромосом в неопромінених клітинах, що культивувались з опроміненими *in vivo* лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС, зареєстрував підвищений рівень аберацій хромосом в усіх поставлених культурах, що свідчить про індукцію ефекту свідка (табл. 2).

Таблиця 2

Індивідуальні частоти аберацій хромосом в неопромінених клітинах-свідках при культивуванні в змішаних культурах з лімфоцитами ліквідаторів аварії на ЧАЕС

Культура	Доза опромінення суміжної популяції лімфоцитів, Гр	Частота аберацій, на 100 клітин					
		хроматидного типу		хромосомного типу		всього	
		контроль	клітини-свідки	контроль	клітини-свідки	контроль	клітини-свідки
7+1	0,69	0,00	3,28	1,43	0,44	1,43	3,72
9+2	0,36	0,00	3,03	0,80	0,76	0,80	3,79
8+2	0,36	0,72	2,20	2,14	3,84	2,86	6,04
8+3	0,38		4,63		0,93		5,56
8+4	0,65		3,53		1,18		4,71
8+5	0,42		3,72		0,53		4,25
8+6	0,35		3,43		2,28		5,71

Частоти аберацій хромосом знаходились в межах від 3,72 до 6,04 % на 100 клітин порівняно з 0,80-2,86% в контролі. Лімфоцити донора 8 культивували з кров'ю п'яти різних ліквідаторів. Показано, що рівень пошкоджень в клітинах-свідках не залежав від дози опромінення суміжної субпопуляції лімфоцитів. Так, при культивуванні з кров'ю ліквідатора 2 (культура 8+2), опроміненого в дозі 0,36 Гр, частота аберацій в клітинах-свідках складала 6,04%, а при культивуванні з кров'ю ліквідатора 4 (культура 8+4), опроміненого в дозі 0,65 Гр, - 4,71%.

Висновки

В результаті цитогенетичного аналізу неопромінених лімфоцитів периферичної крові людини, що культивувались в змішаних культурах з лімфоцитами осіб, які зазнали опромінення в дозах 0,35-0,69 Гр внаслідок ліквідації аварії на ЧАЕС, зареєстровано радіаційно-індукований ефект свідка. Встановлено, що частота аберацій хромосом в клітинах-свідках статистично достовірно перевищувала показники контрольних культур неопромінених лімфоцитів ($p < 0,05$) за рахунок підвищеної частоти хроматидних розривів. Цитогенетичні маркери дії радіації індукувались з популяційною частотою.

Література

1. Wright E.G. Commentary on radiation-induced bystander effects / E.G. Wright // *Human and Experimental Toxicology*. - 2004. - Vol. 23. - P. 91-94.
2. Литтл Д.Б. Немишеневые эффекты ионизирующих излучений: выводы применительно к низкодозовым воздействиям / Д.Б.Литтл // *Радиационная биология. Радиоэкология*. - 2007. - Т. 47, № 3. - С. 262-272.
3. Azzam E. I. Oxidative metabolism, gap junctions and the ionizing radiation-induced bystander effect / E. I. Azzam, S. M.de Toledo, J. B.Little // *Oncogene*. - 2003. - Vol. 22. - P. 7050-7057.
4. Sorsa M., Wilbourn J., Vainio H. Mechanisms of carcinogenesis in risk identification / M.Sorsa, J.Wilbourn,

H.Vainio. - Lyon: Int. Agency for Research on Cancer, 1992. - P. 543-554.

5. Турусов В.С. Канцерогенез / В.С.Турусов. - М.: Научный Мир, 2000.- С. 251-259.

6. Hagmar L. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: result from nordic and italian cohorts / L.Hagmar, U.Stromberg, S.Bonassi [e.a.]// Cancer Research. - 2004. - Vol.64, № 3 - P. 2258-2263.

7. Шеметун Е.В. Моделирование радиационно-индуцированного "эффекта свидетеля" в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Е.В.Шеметун, М.А. Пилинская // Генетические последствия чрезвычайных радиационных ситуаций : материалы III Междунар. конф. (Дубна, 4-7 октября 2005 г.). - М., 2005. - С. 136-138.

8. Шеметун О.В. Модель для дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка з використанням лімфоцитів периферичної крові людини / О.В.Шеметун, О.О.Талан, М.А.Пілінська // Журнал АМН України. - 2006. - Т. 12, № 3. - С. 556-565.

9. Шеметун О.В. Методика цитогенетичного дослідження радіаційно-індукованого ефекту свідка : Інформац. лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 190-2007 / О.В.Шеметун, М.А.Пілінська, О.О. Талан. - Київ: Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2007. - 4 с.

10. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини : метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. - Київ, 2003. - 23 с.

11. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes / M.Seabright // Lancet.-1971.-Vol. 2.-P. 971-972.

12. Стандарти аналізу препаратів хромосом людини : метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. - К., 2003. - 52 с.

13. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) // Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. - Basel: Karger, 2005. - 130 p.

14. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях // Осипов В.П., Лук'янова Е.М., Антипкин Ю.Г. и др.] ; под ред. В.П. Осипова. - Киев: Планета людей, 2002. - 200 с.

15. Шеметун О.В. Дослідження радіаційно індукованого ефекту свідка на цитогенетичному рівні / О.В.Шеметун, О.О.Талан, М.А.Пілінська // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. - Київ: Логос, 2007. - С. 551-554.

16. Шеметун О.В., Талан О.О., Курінний Д.А. Зростання частоти аберацій хромосом в неопромінених клітинах внаслідок радіаційно-індукованого ефекту свідка / О.В.Шеметун, О.О. Тала., Д.А.Курінний // XI Конгрес світової федерації українських лікарських товариств (Полтава, 28-30 серпня 2006 р.) : тези доповідей. - Полтава, 2006. - С. 664-665.

17. Шеметун О.В. Моделювання радіаційно-індукованого ефекту свідка в лімфоцитах крові людини при опроміненні in vitro / О.В.Шеметун, О.О.Талан, М.А. Пілінська // Віддалені наслідки впливу іонізуючого випромінювання : міжнародна конф., 23-25 травня 2007р. : тези доповідей. - Київ, 2007. - С.218-219.

18. Emerit I. Transferable clastogenic activity in plasma from persons exposed as salvage personnel of the Chernobyl reactor / I.Emerit // J. Cancer Res. Clin. Oncol. - 1994. - Vol. 120. - P. 558-561.

Резюме

Шеметун О.В. Цитогенетичний ефект в клітинах-свідках при культивуванні з лімфоцитами периферичної крові осіб, які зазнали опромінення in vivo.

Наведені результати дослідження радіаційно індукованого ефекту свідка з використанням моделі з лімфоцитів крові людини. Рівень аберацій хромосом в неопромінених клітинах-свідках при культивуванні в змішаних культурах з опроміненими in vivo в дозах 0,35-0,69 Гр лімфоцитами достовірно перевищував контрольний.

Ключові слова: радіоіндукований ефект свідка, лімфоцити периферичної крові людини, опромінення in vivo.

Резюме

Шеметун Е.В. Цитогенетический эффект в клетках-свидетелях при культивировании с лимфоцитами периферической крови лиц, облученных *in vivo*.

Приведены результаты исследования радиационно индуцированного эффекта свидетеля с использованием модели из лимфоцитов крови человека. Уровень aberrаций хромосом в необлученных клетках при культивировании в смешанных культурах с облученными *in vivo* в дозах 0,35-0,69 Гр лимфоцитами достоверно превышал контрольный.

Ключевые слова: радиоиндуцированный эффект свидетеля, лимфоциты периферической крови человека, облучение *in vivo*.

Summary

Shemetun O.V. Cytogenetic effect in bystander cells cultivated jointly with human blood lymphocytes irradiated *in vivo*.

The results of cytogenetic investigation of radioinduced bystander effect with the help of human blood lymphocytes had been presented. It had been shown that the level of chromosome aberrations in bystander cells cultivated jointly with irradiated *in vivo* in dose 0,35-0,69 Gy human blood lymphocytes was significantly higher, than control level.

Key words: radioinduced bystander effect, human blood lymphocytes, *in vivo* irradiated.

Рецензент: д.біол.н., проф.С.М.Федченко

**ЕКОЛОГІЧНА І
КЛІНІЧНА
ІМУНОЛОГІЯ
ТА
ІМУНОРЕАБІЛІТАЦІЯ**