

**КУРІННИЙ Д.А.**

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

Україна, 04050, м. Київ, ул. Мельникова, 53, e-mail: kurinnyi.d@gmail.com, (099) 931-57-01

## **МОДИФІКАЦІЯ АСТАКСАНТИНОМ РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНОЇ ХРОМОСОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ЛЮДИНИ *IN VITRO***

Ситуація, що склалася внаслідок Чорнобильської аварії, розширення сфери використання іонізуючого випромінювання в промисловості та медицині призвели до зростання радіаційного навантаження на великі контингенти населення України, що потребує як прогнозування медичних наслідків такого впливу, так і пошуку засобів профілактики і лікування ранніх та віддалених променевих ушкоджень за допомогою ефективних радіозахисних сполук.

До сполук природного походження, які виявляють радіозахисну дію щодо мутагенних і канцерогенних ефектів опромінення, належать каротиноїди. Астаксантин – каротиноїд, який відповідає всім вимогам, що пред'являються до антимуtagenів та радіопротекторів, – безпечність, низька токсичність, висока антиоксидантна активність [1–9]. Вказані властивості дозволили припустити спроможність астаксантину змінювати реакцію геному людини на пошкоджуючу дію іонізуючого випромінювання, що необхідно було експериментально підтвердити.

Таким чином, метою досліджень було встановлення можливості модифікації астаксантином радіаційно-індукованих цитогенетичних порушень у лімфоцитах периферичної крові людини.

### **Матеріали і методи**

Для цитогенетичних досліджень використано загальноприйнятту класичну тест-систему – культуру лімфоцитів периферичної крові, одержану від 5-ти умовно здорових волонтерів (2 жінки, 3 чоловіків) віком 20–51 років, середній вік – 41 рік, які заперечували свідомий контакт зі знаними чи потенційними мутагенами, вели здоровий спосіб життя. Провели добровільне цитогенетичне обстеження осіб зі сформованої групи, в яких встановили частоту та спектр аберацій хромосом у лімфоцитах периферичної крові людини – фонову (вихідну) та при окремих і сумісній дії астаксантину та іонізуючого випромінювання *in vitro*. Всі особи були залучені до ци-

тогенетичного обстеження за умов поінформованої згоди.

Культивування лімфоцитів периферичної крові людини проводили протягом 48 год за стандартним мікрометодом, модифікованим у лабораторії цитогенетики ННЦРМ [10, 11]. При постановці експериментів використовували астаксантин фірми Sigma (USA), який додавали до культур лімфоцитів периферичної крові людини в кінцевій концентрації 20,0 мкг/мл, визначеній під час власних попередніх досліджень. Астаксантин вводили в культуральне середовище на ранній передсинтетичній ( $G_0$ ) стадії першого мітотичного циклу – до початку інкубації лімфоцитів периферичної крові, перед опроміненням культур гамма-квантами випромінювачем IBL-237C (потужність 2,34 Гр/хв) у дозі 1 Гр.

При цитогенетичному аналізі 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 повних та неповних транслокацій, інверсій, інсерцій) типів, які вірогідно можна розпізнати при груповому каріотипуванні на рівномірно пофарбованих препаратах метафазних хромосом [11].

### **Результати та обговорення**

У результаті проведених досліджень встановлено, що фонові середньогрупові частоти аберантних метафаз у лімфоцитах периферичної крові складала  $2,52 \pm 0,34\%$  з міжіндивідуальними коливаннями від 1,67 до 3,02%. Пошкодження хромосом були представлені переважно одиначними та парними ацентричними фрагментами ( $1,60 \pm 0,28$  та  $0,97 \pm 0,22$  на 100 метафаз, відповідно).

При дії астаксантину *in vitro* середньогруповий цитогенетичний ефект за частотою аберантних клітин ( $2,36 \pm 0,38\%$ ) і рівнями та спектром аберацій хромосом не відрізнявся від аналогічних фонових показників ( $P > 0,05$ ), які відпові-

дали значенням, що характерні для спонтанного хромосомного мутагенезу в соматичних клітинах людини.

В експериментах з опроміненням виявили зростання середньогрупової частоти аберантних метафаз до  $22,53 \pm 1,67\%$  та аберацій хромосом до  $24,47 \pm 1,73$  на 100 метафаз з розкидом індивідуальних коливань у межах  $18,42$ – $25,67$  та  $21,05$ – $27,81$ , відповідно. Значно розширився спектр радіоіндукованих хромосомних порушень. Серед пошкоджень хромосом переважали аберації хромосомного типу – вільні парні фрагменти та ацентричні кільця (із сумарною частотою  $7,29 \pm 1,05$  на 100 метафаз); дицентрики, центричні кільця та аномальні моноцентрики ( $12,80 \pm 1,35$ ;  $2,75 \pm 0,66$ ;  $0,49 \pm 0,28$  на 100 метафаз, відповідно).

Дія астаксантину на опромінені лімфоцити *in vitro* привела до суттєвого (~ на 65%) зменшення середньогрупового радіоіндукованого цитогенетичного ефекту – частоти аберантних клітин (до  $8,04 \pm 0,88\%$ ) та аберацій хромосом (до  $8,40 \pm 0,90$  на 100 метафаз) ( $P < 0,001$ ) (рис.) – за рахунок вірогідного зниження рівня класичних нестабільних цитогенетичних маркерів радіаційного впливу – дицентричних та кільцевих хромосом (до  $1,90 \pm 0,44$  та  $0,42 \pm 0,21$  на 100 метафаз, відповідно), а також сумарної частоти вільних парних фрагментів і ацентричних кілець (до  $5,28 \pm 0,82$  на 100 метафаз). Частота аномальних моноцентриків ( $0,21 \pm 0,15$  на 100 метафаз), які вважаються стабільними цитогенетичними мар-

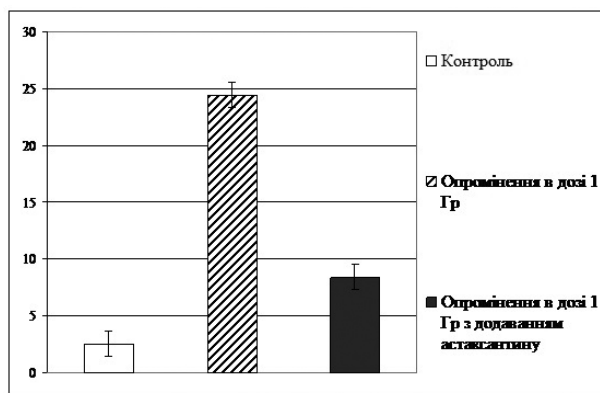


Рис. Зміна частоти аберацій хромосом під дією астаксантину в концентрації 20 мкг/мл

керами дії іонізуючого випромінювання, виявляла тенденцію до зниження, а рівень одиночних фрагментів ( $0,85 \pm 0,30$  на 100 метафаз) практично не змінився і не відрізнявся від їх фонових значень ( $1,60 \pm 0,28$  на 100 метафаз).

### Висновки

Результати досліджень вказують на спроможність астаксантину позитивно модифікувати негативний вплив іонізуючого випромінювання на генетичний апарат соматичних клітин людини, що свідчить про його потужний антимутагенний та радіопротекторний потенціал.

Автор висловлює щире подяку д. мед. наук, проф. М.А. Пілінській за наукове керівництво та цінні поради при виконанні цієї роботи.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Naguib Y. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids // *Agric Food Chem.* – 2000. – 48. – P. 1150–1154.
2. Mortensen A., Skibsted L.H. Importance of carotenoid structure in radical scavenging reactions // *J. Agric. Food Chem.* – 1997. – 45. – P. 2970–2977. Doi: 10.1021/jf970010s.
3. Guerin M., Huntley M.E., Olaiola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition // *Trends Biotechnol.* – 2003. – 21. – P. 210–216.
4. Yasuhiro N., Eiji Y., Wataru M. Quenching Activities of Common Hydrophilic and Lipophilic Antioxidants against Singlet Oxygen Using Chemiluminescence Detection System // *Carotenoid Science* – 2007. – 121. – P. 116–120.
5. Ranga 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. – 61. – P. 3842–3851.
6. 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. – 54. – P. 711–717.
7. Kamath B., Srikanta B., Dharmesh S., Sarada R., Ravishankar G. Ulcer preventive and antioxidative properties of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – 590. – P. 387–395.
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. – 70. – P. 2509–2520.
9. Goto S., Kogure K., Abe Y., Kimata E., Yamashita H., Terada K. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2001. – 1512. – P. 251–258.
10. Захаров А.Ф., Бенюш В.А., Кулешов Н.П., Барановская Л.И. Хромосомы человека: атлас. – М.: Медицина, 1982. – 263 с.
11. Педан Л.Р., Пілінська М.А. Оцінка стабільності хромосом лімфоцитів периферичної крові осіб, постраждалих від дії факторів Чорнобильської аварії, за допомогою тестуючого мутагенного навантаження *in vitro* // *Доповіди Національної академії наук України.* – 2004. – № 5. – С. 175–179.

**KURINNYI D.A.**

SI «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Ukraine, 04050, Kyiv, Melnikov str., 53, e-mail: kurinnyi.d@gmail.com

**MODIFICATION OF RADIATION-INDUCED CHROMOSOME INSTABILITY IN HUMAN SOMATIC CELLS *IN VITRO* USING ASTAXANTHIN**

**Aim.** Investigation the influence of astaxanthin on the radiation-induced cytogenetic effect in human peripheral blood lymphocytes. **Methods.** Astaxanthin in optimal concentration (20.0  $\mu\text{g/ml}$ ), established in the previous own research, added to culture of human peripheral blood lymphocytes prior to incubation before gamma irradiation in dose 1 Gy. Cultivation of peripheral blood lymphocytes received from five conditionally healthy volunteers during 48 hours; staining of metaphase chromosome slides; scoring of slides under the microscope (cytogenetic analysis); identification of the full range of chromatid and chromosome aberration types had been fulfilled. **Results.** Established that meangroup frequency of chromosome aberrations which were presented only by acentrics was  $2.57 \pm 0.35$  per 100 metaphases in intact cultures and  $2.36 \pm 0.38$  per 100 metaphases under astaxanthin exposure. After irradiation the total frequency of chromosome aberrations increased to  $24.47 \pm 1.73$  per 100 metaphases due to raising the level of simple acentrics ( $7.29 \pm 1.05$  per 100 metaphases) and induction the exchanges – dicentrics, centric rings and abnormal monocentrics ( $12.80 \pm 1.35$ ;  $2.75 \pm 0.66$ ;  $0.49 \pm 0.28$  per 100 metaphases, respectively). The treatment of irradiated human peripheral blood lymphocytes by astaxanthin led to significant decrease the frequency of chromosome aberrations ( $8.40 \pm 0.90$  per 100 metaphases) due to decline of unstable cytogenetic markers of radiation exposure – dicentrics and centric rings ( $1.90 \pm 0.44$  and  $0.42 \pm 0.21$  per 100 metaphases, respectively) and reduction the total frequency of double fragments and acentric rings ( $5.28 \pm 0.82$  per 100 metaphases). **Conclusions.** Data obtained testify about powerful genoprotective and radioprotective potential of astaxanthin in studied concentration.

**Keywords:** astaxanthin, frequency of chromosome aberrations, human peripheral blood lymphocytes, gamma irradiation.