

9. *Duesberg P., Rasnick D.* Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own / P. Duesberg, D. Rasnick // *Cell Motility and Cytoskeleton*.— 2000.— V.47.— P. 81–107.

10. *Evans H.J.* Cytological methods for detecting chemical mutagens. / H.J. Evans // *Chemical mutagens: principles and methods for their detection*.— 1976.— V.4.— P. 1–29.

11. *Flemiry L.* Mortality in a cohort of licenced pesticide applicators in Florida / L. Flemiry, J. Bean, M. Rudolph // *Occup. and environ. Med.*— 1999.— 56.— №1.— P. 14–21.

12. *Hungerford D.A.* Leucocytes cultured from small inoculate of whole blood and preparation metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl / D.A. Hungerford // *Stain Techn.*— 1965.— V.40.— P. 333–338.

13. *Maron D.M.* Revised methods for the Salmonella mutagenicity test / D.M. Maron, B.N. Ames // *Mutation Research*.— 1983.— V.113.— P. 173–215.

14. *Sen S.* Aneuploidy and cancer / S. Sen // *Opinion Oncology*.— 2000.— V.12.— P. 82–88.

Резюме

Исследование токсичных свойств пестицидов должно быть частью исследований мутагенной активности. Исследование следует проводить только в комплексе с применением не менее трех тестов.

Дослідження токсичних властивостей пестицидів мають бути частиною досліджень мутагенної активності. Дослідження слід проводити тільки в комплексі з застосуванням не менше трьох тестів.

Research of toxic properties of pesticides must be part of researches of mutagenicity. Research it is necessary to conduct only in a complex with application no less than three tests.

ТАЛАН О.О., ШЕМЕТУН О.В., ПЕДАН Л.Р., ПІЛІНСЬКА М.А.

ДУ “Науковий центр радіаційної медицини АМН України”,

Україна, 04050, Київ, вул. Мельнікова, 53, e-mail: okstal@ukr.net

ВПЛИВ ВІКУ НА ЧАСТОТУ СПОНТАННИХ АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ

Протягом останніх років відмічається зростання популяційних частот спонтанних аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини. Дані щодо рівня хромосомних аберацій в неекспонованих групах людей вважаються вихідними під час оцінки цитогенетичного ефекту, індукованого виробничними чи екологічними мутагенами [1]. Це обумовлює актуальність оцінки спонтанного мутаційного процесу в клітинах людини на цитогенетичному рівні в післячорнобильський період.

На спонтанний рівень аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини впливають не лише зовнішні, а й внутрішні чинники, зокрема,— вік обстежених [2]. Дані літератури з цієї проблеми на сьогодні є досить суперечливими. Це може бути зумовлено використанням в більшості цитогенетичних досліджень рівномірного забарвлення препаратів метафазних хромосом, що не дозволяє ідентифікувати весь спектр хромосомних аберацій [2, 3].

Метою нашої роботи було встановлення частоти всіх типів аберацій хромосом у осіб різного віку, які постійно проживають в умовах великого промислового міста.

Матеріали і методи

Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові 18 умовно здорових осіб середнього віку (27–48 років) та 14 умовно здорових дітей 12–16-ти років, які постійно проживали в Києві і заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією та іншими мутагенами, вели здоровий спосіб життя.

Лімфоцити периферичної крові культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом протягом 48 годин [4]. Цитогенетичний аналіз виконували з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом за методом М. Seabright [5]. Від кожного обстеженого аналізували не менше 100 диференційно забарвлених метафаз.

Хромосомний аналіз проводили на зашифрованих препаратах під мікроскопами зі збільшенням $\times 1000$. Враховували 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 [6].

Отримані дані опрацьовували з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юдентом-Фішером.

Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що рівень аберацій хромосом у дітей ($1,26 \pm 0,28$) знаходився на популяційному рівні. У дорослих цей показник був статистично вищим і дорівнював $2,51 \pm 0,34$ на 100 клітин ($p < 0,05$). У 28% обстежених дорослих донорів зареєстровано клітини з двома абераціями хромосом, тоді як у дітей цього не спостерігалось, що вказує на збільшення пошкодженості абераційної клітини з підвищенням віку обстежених осіб. Чеботарьов А.Н. пояснює подібні закономірності більш ефективним перебігом репаративних процесів у осіб молодого віку [7].

Аналіз спектру виявлених пошкоджень засвідчив різницю в абераціях хромосомного типу, зареєстрованих у дітей і осіб середнього віку: $0,66 \pm 0,21$ та $1,78 \pm 0,29$ на 100 метафаз, відповідно ($p < 0,05$) (рис. 1). У всіх обстежених осіб пошкодження хроматидного типу були представлені хроматидними розривами з частотами $0,60 \pm 0,20$ та $0,73 \pm 0,19$ на 100 метафаз у дітей і дорослих, відповідно (рис. 1).

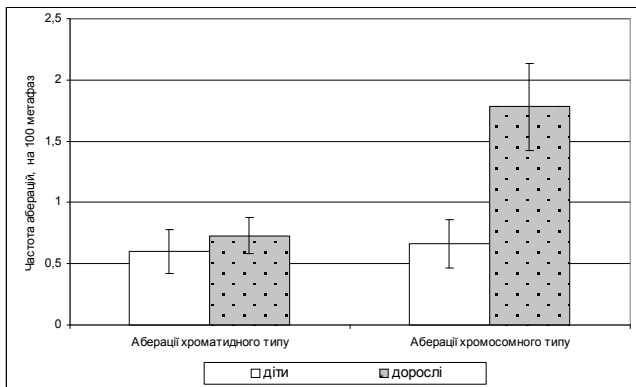


Рис. 1. Спонтанний рівень аберацій хроматидного та хромосомного типів в умовно здорових мешканців м. Києва різного віку

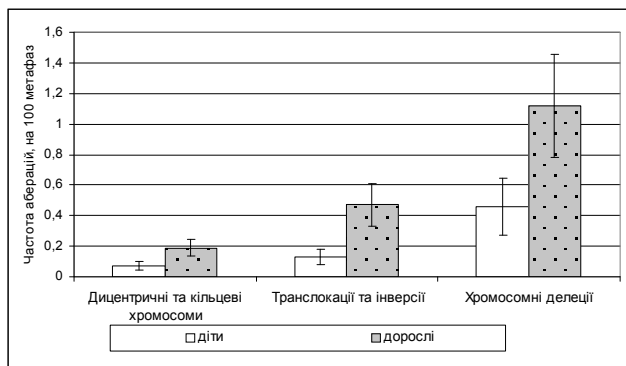


Рис. 2. Спонтанний рівень стабільних і нестабільних аберацій хромосом в умовно здорових мешканців м. Києва різного віку

Отримані нами результати узгоджуються з даними літератури, де відмічається зростання аберацій хромосомного типу зі збільшенням віку обстежених осіб [2, 3]. В обох обстежених нами групах аберації хромосомного типу були представлені термінальними та інтерстиціальними делеціями, транслокаціями, інверсіями, дицентричними і кільцевими хромосомами. Переважну більшість цих пошкоджень склали делеції, які зустрічались з частотами $0,46 \pm 0,17$ та $1,12 \pm 0,23$ на 100 метафаз в групах дітей та дорослих, відповідно (рис. 2). Більшість делецій хромосом було представлено термінальними пошкодженнями.

Рівень асиметричних хромосомних обмінів (дицентричних і кільцевих хромосом) у обстежених осіб не перевищував популяційної норми та становив $0,07 \pm 0,06$ на 100 метафаз у дітей і $0,19 \pm 0,09$ на 100 метафаз у дорослих (рис. 2). Разом з тим, частота симетричних хромосомних обмінів (транслокацій

та інверсій) в групі дорослих ($0,47 \pm 0,15$ на 100 клітин) достовірно перевищувала цей показник у обстежених дітей ($0,13 \pm 0,09$ на 100 клітин) (рис. 2).

Висновки

Цитогенетичне обстеження умовно здорових мешканців м. Києва різного віку, проведене з використанням диференційного G-забарвлення метафазних хромосом, показало, що у дітей віком від 12 до 16 років частота аберацій хромосом становила $1,26 \pm 0,28$ на 100 клітин. У осіб середнього віку (27–48 років) зафіксовано зростання середньогрупового рівня аберацій хромосом до $2,51 \pm 0,34$ на 100 клітин за рахунок збільшення частоти транслокацій і делецій хромосом, що є стабільними хромосомними перебудовами та накопичуються протягом життя.

Література

1. Пілінська М.А., Дибський С.С., Шеметун О.В., Талан О.О. Рівень спонтанних хромосомних аберацій у дітей з екологічно чистого регіону України, встановлений при цитогенетичному аналізі рівномірно та диференційно забарвлених метафазних хромосом // Цитология и генетика.— 2004.— №6.— С. 45–48.
2. Любимова Н.Е., Воробцова И.Е. Влияние возраста и низкодозового облучения на частоту хромосомных абераций в лимфоцитах человека // Радиационная биология. Радиоэкология.— 2007.— Т.47, №1.— С. 80–85.
3. Predrag Erceg, Dragoslav P. Milosevic, Nebojsa Despotovic and Mladen Davidovic. Chromosomal changes in ageing // Journal of Genetics.— 2007.— Vol.86, N3.— P. 277–278.
4. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України.— К., 2003.— 23 с.
5. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet.— 1971.— Vol.2.— P. 971–972.
6. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature.— Basel: Karger, 2005.— 130 p.
7. Чеботарёв А.Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // Вестник РАМН.— 2001.— №10.— С. 64–69.

Резюме

За допомогою G-диференційного забарвлення метафазних хромосом проведено цитогенетичне обстеження дітей віком від 12 до 16 років і дорослих віком від 27 до 48 років, які постійно проживали в м. Києві. Відмічено зростання рівня аберацій хромосом у дорослих осіб ($2,51 \pm 0,34$ на 100 метафаз) порівняно з групою дітей ($1,26 \pm 0,28$ на 100 клітин), за рахунок транслокацій і делецій хромосом.

С помощью G-дифференциального окрашивания метафазных хромосом проведено цитогенетическое обследование детей в возрасте от 12 до 16 лет и взрослых в возрасте от 27 до 48 лет, постоянно проживающих в г. Киеве. Отмечено увеличение частоты абераций хромосом у взрослых ($2,51 \pm 0,34$ на 100 метафаз) по сравнению с группой детей ($1,26 \pm 0,28$ на 100 клеток), за счет транслокаций и делеций.

Cytogenetic examination of two healthy human groups — children 12–16 years old and adults 27–48 years old constantly lived in Kiev had been carry out with the help of G-banding analysis. The increased level of chromosome aberrations in the group of adults ($2,51 \pm 0,34$ per 100 cells) has been established in comparision with the group of children ($1,26 \pm 0,28$ per 100 cells) at the expense of translocations and deletions.

ТЕЛЕГЄВ Г.Д., МІРОШНИЧЕНКО Д.О., ДИБКОВ М.В., МАЛЮТА С.С.
*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
Україна, 03680, Київ, вул. Заболотного, 150; e-mail: g.d.telegeev@imbg.org.ua*

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ДН/РН ДОМЕНІВ БІЛКА ВСR НА СУБКЛІТИННУ ЛОКАЛІЗАЦІЮ ОНКОПРОТЕЇНУ ВСR-Abl

Ген *bcr* (від англ. breakpoint cluster region) бере участь у патогенезі двох типів лейкемій, що мають філадельфійську хромосому (t 9:22). Ця хромосома детектується в 95% випадків у хворих на ХМЛ та 25–30% випадків у хворих на ГЛЛ (дорослих). Розвиток хвороби обумовлений експресією гібридного білку, що складається з доменів *Vcr* (амінокінцева частина, з 22 хромосоми) та *Abl* (карбоксыльна частина, з 9 хромосоми) [1].

Відмінність перебігу хронічної та гострої форми обумовлена наявністю різних форм гібридного білку, а саме p190 при ГЛЛ та p210 при ХМЛ. Остання відрізняється від p190 тим, що має 2 додаткові домени (ДН та РН)

Таким чином, визначення структурно-функціональної ролі цих доменів дасть змогу пояснити різні типи лейкемій, розробити нові терапевтичні підходи.

Матеріали і методи

Трансфекція клітин еукаріотів проводили згідно [2]. Для експресії білків ДН, DPN, РН було використано конструкції на основі вектора pRK5-мус. Для експресії білків p190Vcr-Abl та p210Vcr-Abl було використано вектори pSG5 та pGDE.

Імунофлуоресцентна мікроскопія. Для використання в мікроскопії клітини вирощували на скельцях для мікроскопії в 6-лунковій культуральній плащі у відповідному середовищі при +37 °С та 5% CO₂. Через 24 год. після трансфекції клітини переносили в середовище без сироватки і інкубували 16 год. Реакцію мічення антитілами проводили за [4]. Для отримання флуоресцентного сигналу різні компоненти клітини фарбували декількома способами: ядро — DAPI 1:1000, актин — TRITC-міченим фалоїдин 1:200, комплекс Гольджі — маркером GM130 1:100 і TRITC-міченими антитілами anti-mouse IgG 1:500, білки Vcr-Abl (p190, p210) — anti-Abl антитілами 1:100 і вторинними Cy2-міченими anti-rabbit IgG антитілами.

Результати та обговорення

Дослідження локалізації білків p190 і p210 Vcr-Abl. Як було зазначено, білки p190 і p210 відрізняються тим, до складу останнього додатково входять домени ДН і РН. Ми встановили, що РН домен зв'язує фосфатиділінозитол-монофосфати з високою афінністю [3]. Відомо, що в клітині існує розподіл ліпідів за компартментами, тому наявність в складі білка РН домену може впливати на його локалізацію. Клітини Cos-1 були трансфіковані конструкціями, які експресували p190 або p210 Vcr-Abl. Через 36 годин після трансфекції клітини фіксували і фарбували (рис. 1). Було показано, що білки p190 і p210 Vcr-Abl мають відмінності в локалізації. Обидва білки знаходяться в цитоплазмі, але помітно, що p190 Vcr-Abl має більш рівномірний розподіл