

6. *Макаренко А.Н., Григорьева Т.И., Гасуль Е.Р. и др.* Адемент – новое и эффективное средство для лечения болезни Альцгеймера // Стресс и поведения. Материалы 7-й Междунар. конф. по биол. психиатрии. – М., 2003. – С.60.
7. *Самосюк И.З., Карабень И.Н., Березецкая Н.М., Гаркавенко В.В.* Эффективность магнитолазерной терапии у пациентов с болезнью Паркинсона: результаты клинкоэлектрэнцефалографического исследования // Український медичний часопис. – 2004, – № 5 (43) – IX/X. – С. 54–60.
8. *Щербата И.Р., Матийцив Н.П., Черник Я.И.* Генетический анализ нейродегенеративных мутантов *Drosophila melanogaster* по X – хромосоме, индуцированных этилметансульфаном и нитрозэтилмочевинной // Генетика, 2004. – Т. 40, № 9. – С. 1280–1285.
9. *Greenspan R. J.* Fly puhsing. The Theory and practice of *Drosophila* genetics // Gold Spring harbor Lab. Press., NY, USA. – 1997. – P. 23–46.
10. *Heisenberg M., Bohl K.* Isolation of anatomical brain mutants of *Drosophila* by histological means. *Z. Naturforsch [C]*. – 1979. – vol. 34.
11. *Paul A., Hardy I.* Genetic aspects of nervous system development // *J. neurogenetics*. – 1990. – vol. 6. – P. 115–131.

Резюме

У проведених дослідях вивчалась дія лазерного випромінення та фармакологічного препарату церебралу на дегенеративні та регенеративні процеси у структурі головного мозку нейродегенеративних мутантів *D. melanogaster*. Церебрал призводив до відтермінування появи змін у тканині мозку на 6 – 7 днів у мутантів з ранньою дегенерацією; дія лазерного випромінювання такого результату не виявила. Регенеративні процеси після прояву мутантного фенотипу не спостерігалися.

В проведених опытах изучалось действие лазерного излучения и фармакологического препарата церебралу на дегенеративные и регенеративные процессы в структуре головного мозга нейродегенеративных мутантов *D. melanogaster*. Церебрал приводил к отсрачиванию появления изменений в ткани мозга на 6 – 7 дней у мутантов с ранней дегенерацией; действие лазерного излучения такого результата не обнаружило. Регенеративные процессы после проявления мутантного фенотипу не наблюдались.

The influence of laser radiation and pharmacological preparation cerebral was studied on degenerative and regenerative processes in the brain structure of neurodegenerative mutants of *D. melanogaster*. Cerebral causes delaying of changes into brain tissues of mutant with early degeneration for 6 - 7 days; the influence of laser radiation doesn't cause the same results. The regenerative processes after appearance of mutant phenotype weren't observed.

БАГАЦКАЯ Н.В., НЕФИДОВА В.Е.

*ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины»,
Украина, 61153, Харьков, пр. 50-лет ВЛКСМ, 52-А, e-mail: iozdp@ukrpost.ua*

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ХРОМОСОМНОГО АППАРАТА ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ, ДО И ПОСЛЕ МУТАГЕННОЙ НАГРУЗКИ МИТОМИЦИНОМ С IN VITRO

Изучение стабильности функционирования генетического аппарата у человека является одним из фундаментальных вопросов современной цитогенетики, в связи с тем, что повреждения генома могут составлять основу нарушений иммунной системы, развития канцерогенеза, снижения продолжительности жизни. Развитие методов современной генетики показало наличие большого количества спонтанных повреждений ДНК, возникающих под влиянием эндогенных причин, и только небольшая часть этих повреждений реализуется в конечные цитогенетические аномалии. Известно, что

спонтанные уровни aberrаций хроматидного, хромосомного и, особенно, геномного спектра в организме здоровых людей крайне низкие: 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-5} на клетку соответственно. Поэтому, выявление индуцированных хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови может использоваться не только для определения наличия ионизирующего излучения, поглощенного организмом, но и в качестве биоиндикаторов при оценке радионуклидно-токсикогенно-геномного риска (RTG-risk) для здоровья людей и экологического здоровья в целом [7].

Спонтанный уровень мутагенеза является количественной характеристикой мутационного процесса, и подходить к его оценке следует с учетом всех вариаций. Для оценки показателя спонтанного мутагенеза у человека на хромосомном уровне используют лимфоциты периферической крови. Они равномерно распределены и находятся в одной фазе клеточного цикла (G_0), долгое время не делятся, сохраняя все перестройки, которые могли возникнуть во время действия различных факторов. Кроме того, не следует забывать, что контроль специфических структурных характеристик внутренней среды осуществляется именно иммунной системой, которая, при взаимодействии с другими системами организма, обеспечивает его гомеостаз [8].

Единая структурная основа наследственности определяет универсальный характер действия мутагенов на все виды живых организмов. В процессе индуцированного мутагенеза между ними есть позитивная корреляция, поскольку мутации являются результатом сложных взаимодействий между репликацией, рекомбинацией и случайными ошибками в работе репарационных систем. Следовательно, нестабильность хромосом в определенной мере отражает мутагенные процессы под воздействием факторов внешней среды.

Особый интерес представляют «дисгеномные эффекты», в частности, скрытая генетическая нестабильность, которая проявляется повышением чувствительности генома к дальнейшему действию различных мутагенов. Феномен геномной нестабильности характеризуется предрасположенностью к мультифакториальным заболеваниям, формированием вариантов с множественными аномалиями, повышением частоты возникновения хромосомных aberrаций и мутаций микросателлитассоциированных фракций ДНК [7].

В последние годы появились исследования, направленные на изучение роли генетических факторов в формировании многих заболеваний, в частности ревматических болезней суставов. Одним из таких заболеваний является остеоартроз (ОА) - наиболее частая форма поражения суставов, распространенность которого в популяции зависит от возраста, достигая максимальных значений в более зрелом возрасте [2, 4].

Согласно современным представлениям ОА - мультифакториальное заболевание со многими признанными факторами риска, в качестве которых рассматриваются возраст, пол, наследственная предрасположенность, избыточный вес и другие [3].

Поскольку кардинальным признаком ОА является прогрессирующая деструкция хряща, в котором коллаген тип II является наиболее распространенным компонентом, в ряде работ исследовался ген, кодирующий проколлаген тип II (COL2A1), локализованный на 12-й хромосоме, который действительно оказался сцепленным с ранним развитием ОА в семьях с частым обнаружением последнего в нескольких поколениях [5, 6]. Эти находки позволили высказать предположения, что и другие генетические дефекты при ОА локализируются вблизи этого маркера, а снижение прочности хряща может быть связано с мутациями в молекулах гена коллагена. В последние годы также были выявлены гены, которые оказывают влияние на формирование ОА, в частности ген кластера ИЛ-1, локализованный на хромосоме 2q13 [8]. Японскими учеными были идентифицированы 2 локуса, связанные с ОА - COL 9A3 связан с развитием ОА коленных суставов, COL 2A1 – с развитием коксартроза [10].

Таким образом, факторами риска ОА могут быть как внешнесредовые воздействия, так и семейно-генетические, но особенно очевиден комплексный характер этих воздействий на формирование данного заболевания.

В ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины» проводятся комплексные исследования, посвященные особенностям формирования ОА у детей и подростков. Одним из направлений изучения данного заболевания является изучение факторов наследственности в формировании ОА у подростков. Установлено семейное накопления заболеваний суставов, а также повышенный уровень хромосомных aberrаций (до 5,87%) у подростков, больных ОА [1].

Вполне закономерно, что выяснения вопроса о том, связано ли появление цитогенетических аномалий собственно с их индукцией или является показателем общей дестабилизации генетического материала, требует глубокого изучения индивидуальной, внутригрупповой изменчивости по комплексу цитогенетических характеристик. В связи с этим, проведение комплексного генетического мониторинга у подростков, больных ОА, является чрезвычайно важной и актуальной проблемой, что и определило необходимость проведения данного исследования.

Материалы и методы

Цитогенетическое исследование выполнено у 11 подростков обоего пола, больных ОА (основная группа), 16 практически здоровых сверстников (контрольная группа) 13-17 лет, которые обследовались в лаборатории медицинской генетики ГУ «ИОЗДП АМНУ». У всех обследованных пробандов проводили цитогенетическое исследование двух клонов лимфоцитов периферической крови. В одном флаконе культивировали клетки крови по стандартной схеме [9], в другом – с мутагенной нагрузкой (митомицином С).

Для оценки влияния мутагена на стабильность хромосомного аппарата у больных ОА на 67–м часу инкубации в культуру вносили митомицин С в конечной концентрации 3 мкг/мл на 5 часов. За 3 ч. до фиксации в культуру клеток добавляли колхицин в конечной концентрации 7,5 мкг/мл.

Окрашивание препаратов хромосом проводили рутинным методом, в случае выявления сложных хромосомных перестроек у пробандов осуществляли дифференциальное G-окрашивание. У всех обследованных анализировали от 50 до 100 метафаз до воздействия мутагеном, от 50 до 100 – после воздействия мутагеном. Всего у пробандов основной группы проанализировано 964 метафазные пластинки до воздействия мутагеном и 950 - после; в контрольной группе - 1468 метафазы до - и 1264 – после мутагенной нагрузки.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ Excel, “SPSS Statistics 17,0”.

Результаты и их обсуждение

Результаты цитогенетических исследований показали, что хромосомные aberrации (ХА) присутствовали как в клетках здоровых подростков, так и в клетках пробандов с ОА. У подростков основной группы спонтанный уровень aberrаций находился в пределах $5,91 \pm 0,06\%$, а у детей контрольной группы - $1,98 \pm 0,02\%$, что превышало частоту ХА в контроле ($p < 0,001$) почти в 3 раза.

У пробандов основной группы до проведения мутагенной нагрузки регистрировались aberrации нескольких типов – одиночные ($0,62 \pm 0,25\%$) и парные ($3,32 \pm 0,58\%$) фрагменты, нерасхождение ($0,10 \pm 0,10\%$) и преждевременное расхождение ($0,31 \pm 0,18\%$) сестринских хроматид, кольцевые хромосомы ($0,10 \pm 0,10\%$), полиплоидные клетки ($1,35 \pm 0,37\%$), тотальное повреждение хромосом ($0,10 \pm 0,10\%$). Наибольшая частота встречаемости мутаций в этой группе была зафиксирована только для aberrаций хромосомного типа: парных фрагментов и полиплоидных клеток.

В контрольной группе до мутагенной нагрузки встречались aberrации двух типов: одиночные и парные фрагменты, с частотой $0,61 \pm 0,20\%$ и $1,23 \pm 0,29\%$ aberrаций на клетку соответственно, а также полиплоидные клетки ($0,14 \pm 0,09\%$).

Сравнивая частоту ХА в группах пробандов до мутагенной нагрузки, мы установили достоверное увеличение частоты парных фрагментов ($p < 0,001$) и полиплоидных клеток ($p < 0,001$) у подростков с ОА. Высказывается предположение, что возникновение полиплоидных клеток, которые являются проявлением геномных нарушений в организме человека, обусловлено эндоредупликацией хромосом в клетках-предшественниках и может возникать вследствие формирования анафазных дицентрических мостов с последующим соединением митотически заблокированных дочерних ядер и удвоением хромосомного набора со всеми абберациями хромосомного набора в следующем митозе. Возможно, что при нормальном течении последующих митозов лимфоцитпрекурсоров с эндореплицированными хромосомами этот вид геномных нарушений будет трансформироваться в полиплоидию в зрелых первичных лимфоцитах.

Следовательно, изучение спонтанного уровня ХА до воздействия мутагеном у больных ОА, а также у подростков контрольной группы свидетельствовало о достоверном увеличении частоты ХА у пробандов с ОА. Вероятно, что причины формирования хромосомных перестроек в лимфоцитах периферической крови в группе больных ОА могут состоять в самом патогенезе болезни и зависеть от применяемой противовоспалительной нестероидной терапии.

Анализируя состояние хромосомного аппарата в изучаемых группах после мутагенной нагрузки митомицином С, мы выявили, что уровень хромосомных аббераций у больных ОА имел меньшие значения, чем у здоровых сверстников ($13,89 \pm 1,12\%$ и $17,79 \pm 1,08\%$ соответственно, $p < 0,05$). Следует отметить, что парные фрагменты и тотальное повреждение хромосом у больных ОА также регистрировались реже, чем у здоровых сверстников ($p < 0,01$ - $p < 0,001$). Одиночные фрагменты регистрировались с одинаковой частотой ($6,95 \pm 0,83\%$ у подростков с ОА и $6,96 \pm 0,72\%$ у здоровых сверстников).

Таким образом, сравнение реакции хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови на тестирующее мутагенное воздействие *in vitro* позволило установить, что подростки с ОА и здоровые сверстники оказались менее чувствительными к дополнительному мутагенному воздействию. Заключительный ответ на данный вопрос будет получен в результате более глубоких цитогенетических исследований.

Выводы

1. Уровень хромосомных аббераций у больных ОА составляет 5,91%, что превышает частоту ХА у здоровых сверстников в 3 раза (1,98%, $p < 0,001$).

2. У подростков основной группы уровень ХА после мутагенной нагрузки митомицином С не превышал частоту ХА у здоровых детей ($13,89 \pm 1,12\%$ и $17,79 \pm 1,08\%$, $p < 0,05$), что свидетельствует о генетической нестабильности генома подростков обеих групп.

Литература

1. Багацька Н.В., Нефідова В.Є. Цитогенетичні особливості у дітей та підлітків, хворих на остеоартроз // Вісник ХНУ ім. В.Н. Каразіна. Серія Біологія. – 2007. - Вип. 5, № 749. – С.40-45.

2. Коваленко В.М., Шуба Н.М. Ревматичні хвороби суглобів: медико-соціальні проблеми в Україні та шляхи їх вирішення // Укр. ревм. журн. – 2003. – №3 (13). – С. 3–6.

3. Колесник Т. В. Вариабельность минеральной плотности костной ткани и некоторых генетических маркеров при остеоартрозе коленных суставов // Автореф. дис.... канд. мед. наук. – М, 2006. – 29с.

4. Лебець І.С., Матвієнко О.В., Шевченко Н.С. Особливості суглобового синдрому у підлітків із початковими проявами остеоартрозу // Укр. ревматол. журнал. – 2006. – Т.23, №1. – С.69-72.

5. Насонова В.А. Проблема ОА в начале XI века // Consilium Medicum. – 2000. – Т.2, №6. – С. 244–248.

6. Насонова В.А. Остеоартроз колінного сугава: причини розвитку, діагностика и профілактика // Ревматологія. – 2003. – Т.5, №2. – С. 1-8.
7. Педан Л. Р. Радіоіндукований цитогенетичний ефект і його модифікація in vitro в лімфоцитах периферичної крові осіб, які постраждали від Чорнобильської аварії // Автореф. дис. ... канд. біол. наук. - К., 2005. – 19 с.
8. Laughlin J., Dowling B., Mustafa L. et. al. // Arth. Rheum. – 2002. – Vol. 46. – P. 1519–27.
9. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J. Chromosomes preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood // Exper. Cell. Res. – 1960. – Vol.20. – P. 613–616.
10. Iked T., Mabuchi A., Fakud A. et al. // J. Bon. Min. Res. – 2002. – Vol. 17. – P. 1290–96.

Резюме

В работе исследовано состояние хромосомного аппарата у подростков, больных остеоартрозом (ОА), и у здоровых сверстников. Установлены закономерности спонтанного мутагенеза у всех обследованных пробандов, выявлена скрытая хромосомная нестабильность генома в ответ на мутагенную нагрузку митомцином С.

У роботі досліджено стан хромосомного апарату у підлітків, хворих на остеоартроз (ОА), та у здорових однолітків. Встановлено закономірності спонтанного мутагенезу у всіх обстежених пробандів, виявлено приховану хромосомну нестабільність геному у відповідь на мутагенне навантаження митомцином С.

The article presents the results of studying the chromosomal apparatus status in adolescents with osteoarthrosis, and in healthy age-matched adolescents. There were established certain regularities of the probands examined, and hidden chromosomal genome instability was revealed in response to mutagens load with mitomycin C.

БАРИЛЯК І.Р., ШКАРУПА В.М., НЕУМЕРЖИЦЬКА Л.В.

ДУ “Науковий центр радіаційної медицини АМН України”,
040050, Київ, вул. Мельникова, 53

МОДИФІКУЮЧИЙ ВПЛИВ ГУМАТУ НАТРІЮ НА ГЕНОТОКСИЧНІСТЬ ТІОФОСФАМІДУ

Гумінові речовини відносяться до групи фізіологічно активних речовин. Показана їх участь в детоксикації, радіоадаптивній відповіді організму, стимуляції росту та розвитку рослин [1]. Адаптогенні властивості гуматів обумовили зацікавленість в дослідженні їх можливих антимуагенних властивостей. Виявлено генопротокторну активність гумінових сполук щодо дії ряду хімічних мутагенів (бенз[а]пірен, триаміноантрацен, 2-нітрофлуорен, 1-нітроперен, митоміцин С), пестицидів (малеїновий гідрозид), сумарної мутагенної активності забруднених ґрунтів [1-7]. Поряд з цим, гумати виявилися неефективними щодо мутагенності AF-2, 4-NQO, MN-NG [3]. Існують також дані про слабку мутагенність гумінових речовин [6-9], яку деякі автори пояснюють хлоруванням зразків гуматів протягом їх підготовки [7]. За даними інших авторів основним внесоком в слабку мутагенність гуматів може бути їх забрудненість поллюантами [9].

Метою роботи було дослідити вплив гумату натрію на генотоксичні ефекти, індуковані трифункціональним алкілюючим мутагеном – тіофосфамідом в клітинах кореневої меристеми *Allium cepa L.*

Матеріали і методи

В якості модельної системи використовували кореневу меристему проростків насіння *Allium cepa L.* Досліджували вплив гумату натрію (100 мг/л) на генотоксичні