

Д. Д. Гапеєнко, Г. Й. Лавренчук

Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України», Київ

КОМБІНОВАНА ДІЯ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ, СОЛЕЙ МІДІ ТА НІКЕЛЮ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛІТИН *IN VITRO*

Проведено експериментальне дослідження комбінованої дії солей важких металів та іонізуючого випромінювання на життєздатність клітин у культурі. Установлено суттєвий токсичний вплив сполук міді та нікелю на проліферативну і мітотичну активність клітин *in vitro*. За комбінованого впливу на клітини радіації та іонів міді спостерігали зміни морфофункціональних властивостей клітин, які детермінувались або дозою опромінення, або концентрацією іонів мікроелемента. За умов інкубації опромінених клітин з іонами нікелю спостерігали сенсibiliзацію клітин іонами нікелю до опромінення в дозах 0,5 та 5 Гр та резистентність клітин до опромінення в сублетальній дозі 10,0 Гр.

Ключові слова: важкі метали, іонізуюче випромінювання, культура клітин, виживання, проліферація, апоптоз, мітохондріальні ферменти.

Вступ

Екологічна ситуація у великих промислових центрах характеризується постійним зростанням забруднення оточуючого середовища антропогенними чинниками. Чільне місце серед таких слід відвести хімічним забрудненням – викидам та відходам підприємств, добривам, пестицидам, кислим дощам, важким металам (ВМ) та їхнім сполукам [1 - 5]. За останні 20 років у літературі з'явилась значна кількість повідомлень про результати експериментальних досліджень комбінованої дії важких металів та іонізуючого випромінювання (ІВ) [6 - 10]. Найчастіше зустрічаються дані про те, що поєднана дія ІВ та солей ВМ зумовлює підсилення негативного впливу цих факторів на біологічні об'єкти у порівнянні з окремими впливами кожного з них [8, 11 - 13].

Україн важливими є дослідження закономірностей впливу ІВ в умовах поєднаної дії його з ВМ на клітинному рівні, адже саме тут формується основа порушень життєздатності клітин, що пізніше проявляються у вигляді різноманітних патологічних порушень органів, а інколи – появою новоутворень.

Іони міді є одним із найважливіших незамінних та есенціальних елементів, необхідних для імунної системи в живих організмах [14 - 16]. Їхня недостатність здатна порушити баланс практично всіх обмінних процесів в організмі, так як вони беруть участь у біохімічних процесах, у біосинтезі гемоглобіну, еластину, каталази, пероксидази та здійснюють реакції окиснення органічних субстратів молекулярним киснем. До появи надлишку Cu^{2+} призводять порушення видільної функції лізосом у результаті дефектів мембран або цитоскелета. Слід зазначити, що будь-яка затримка виділення міді з клітини приз-

водить до індукції біосинтезу металлотіонеїну та пошкодження мембрани та цитоскелета, що у свою чергу супроводжується подальшим накопиченням Cu^{2+} в клітині [17].

Нікель виявляють в рибонуклеїновій кислоті (РНК), вважаючи, що він забезпечує певну структуру нуклеїнової кислоти, змінюючи хімічні властивості РНК і нуклеопротеїнів. Іони нікелю мають ті самі шляхи всмоктування та обміну, що й залізо, мідь і цинк, пролонгують дію інсуліну тощо. Цей елемент впливає на окиснення аскорбінової кислоти, прискорює перехід сульфгідрильних груп у дисульфідні та може проявляти канцеротоксичність.

Мета дослідження – дослідити особливості окремого та комбінованого впливу іонізуючого випромінювання, іонів міді та нікелю на морфофункціональні характеристики клітин лінії L₉₂₉.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження проведено на асинхронній культурі перещеплених клітин (лінія L₉₂₉). Культура клітин L₉₂₉ (інша назва NCTC-clone 929, Clone of strain L) була виділена в 1948 р. Первинний штаб було отримано з нормальної підшкірної жирової тканини 100-денної миші С3Н/An чоловічої статі. Морфологічно культура клітин L₉₂₉ є фібробластоподібною. Культивування клітин здійснювали в поживному середовищі такого складу: середовище RPMI-1640 (90%), ембріональна теляча сироватка (10%) та антибіотики згідно зі стандартними методами роботи з клітинними штабами [18]. Клітини вирощували при постійній температурі 37 °С на покривних скельцях розмірами 16 × 8 мм, які знаходилися на дні скляних пляшечок, до конфлуентного стану моношару (1 - 5 діб).

© Д. Д. Гапеєнко, Г. Й. Лавренчук, 2014

У дослідженнях було використано водорозчинні солі ВМ, а саме: ацетат міді ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) та ацетат нікелю ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{COO})_2$). Контролем на ацетат-аніон був ацетат натрію (NaCH_3COO). ВМ додавали в культуральне середовище через 24 год після посадки клітин (щоб іони ВМ не впливали на адгезію та розпластання клітин на скляній підложці) у вигляді водного розчину в концентраціях 0,001, 0,01, 0,1 та 1 мкмоль/л. Культивування клітин здійснювали впродовж 5 діб у присутності іонів ВМ.

Опромінення культури клітин ІВ здійснювали на апараті «Гератрон» (джерело – ^{60}Co 1,2 МеВ, потужність експозиційної дози $4,3 \cdot 10^{-4}$ Кл/(кг·с), відстань до об'єкта 80 см) у дозах 0,5, 5,0, 10,0 Гр через 24 год після посадки. ВМ додавали до культури клітин через 1 год після їхнього опромінення.

Проліферативну активність клітин оцінювали за кінетикою росту: під оптичним мікроскопом «Axioscop» (WestGermany) при збільшенні у 1000 разів у межах сітки площею 0,05 мм² підраховували загальну кількість клітин, кількість мітозів і кількість полікаріоцитів. Мітотичний індекс та індекс полікаріоцитів розраховували на 1000 клітин (%).

Активність мітохондріальних ферментів енергообміну в клітинах оцінювали за цитохімічним показником активності ключових ферментів циклу трикарбонних кислот – флавінферментів: дегідрогенази сукцината (акцептор – оксидоредуктаза, КФ 1.3.99.1) та альфа-гліцерофосфатази (L-гліцерол-3-фосфат: акцептор – НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.8) за методом Нахласа [16]. У тих же культурах клітин, в яких досліджували їхнє виживання та активність мітохондріальних ферментів, визначали кількість апоптотичних клітин на протоковому цитофлюориметрі FACStar Plus фірми “Becton Dickinson” (США).

Результати дослідження та їхнє обговорення

Для вивчення впливу ІВ та іонів ВМ на життєздатність клітин *in vitro* використовували модель культури перманентно проліферуючих клітин – лінія L₉₂₉. У контролі клітини утворювали щільний моношар із типових фібробластоподібних клітин веретеноподібної та полігональної форми. Більшість клітин мали відростки. Цитоплазмі цих клітин притаманні світлі вакуолі та маленькі гранули. У полі зору помітні клітини на різних стадіях поділу (рис. 1, а).

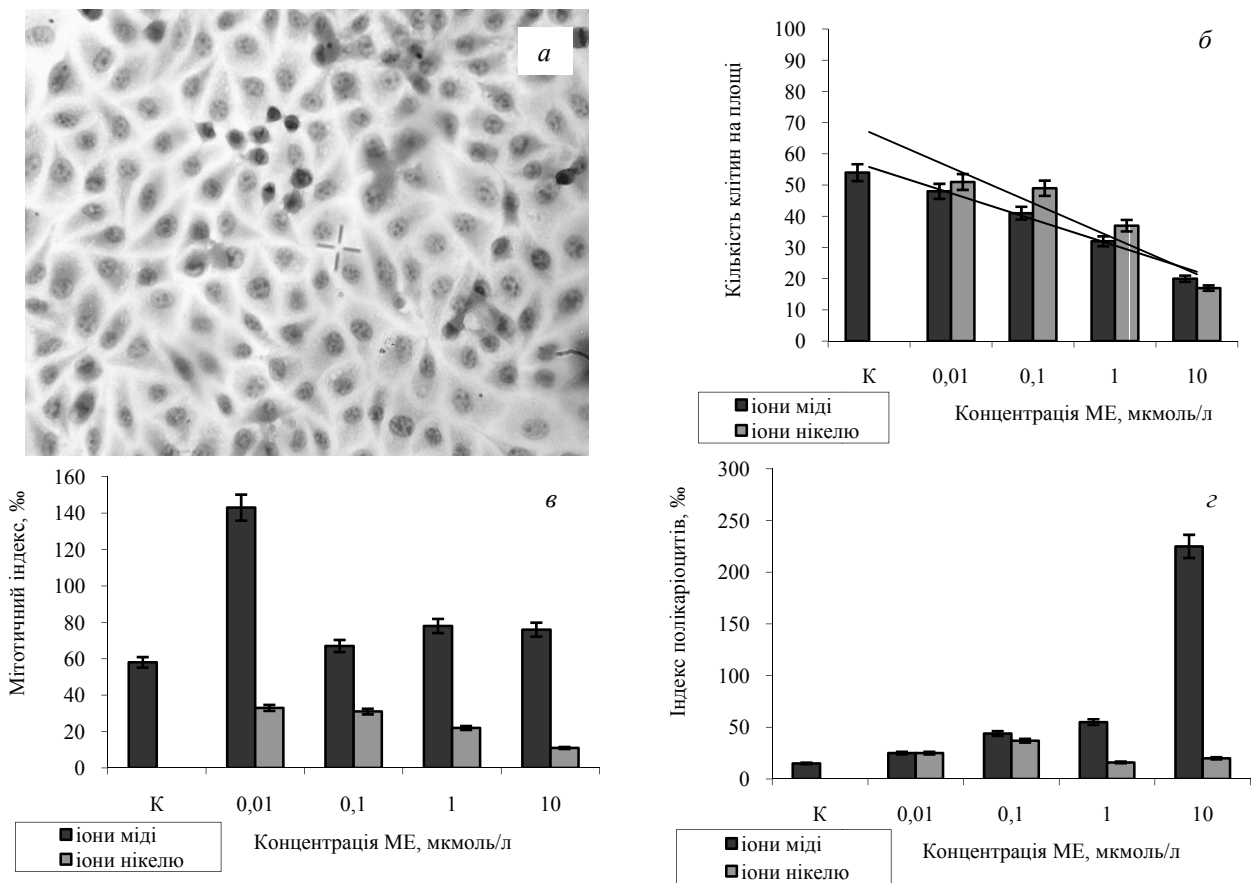


Рис. 1. Культура клітин лінії L₉₂₉ на 5-ту добу культивування в контролі (а). Форма клітин, в основному, полігональна та веретеноподібна, овальні ядра з чіткими ядерцями, значна кількість мітотичних клітин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 1000$. Показники життєздатності клітин лінії L₉₂₉ в умовах впливу іонів ВМ: б – проліферативна активність; в – мітотична активність; г – кількість полікаріоцитів.

Експериментальне дослідження клітинних реакцій показало, що інкубація клітин з іонами ВМ різної концентрації (див. рис. 1, б - з) викликала зміни їхніх морфофункціональних характеристик: дозозалежне зменшення щільності клітинної популяції (див. рис. 1, б) на тлі істотного інгібування мітотичної активності клітин у культурах з іонами нікелю та підвищеної мітотичної активності клітин у культурах з іонами міді (див. рис. 1, в). Водночас у культурах клітин з іонами міді в поживному середовищі статистично достовірно зростає кількість атипичних багатоядерних клітин (більш ніж у 20 разів за концентрації міді 10 мкмоль/мл). За даними [19] одногодина інкубація клітин з іонами нікелю в концентрації 10 мкг/мл спричиняє затримку їх в лаг-фазі та

пригнічення виживання на 5-ту добу культивування до 27 % від контролю. Ці дані можуть опосередковано вказувати на різні механізми загибелі клітин при їхній інкубації з іонами міді та нікелю – апоптотичну чи генотоксичну.

У результаті експериментальних досліджень було встановлено, що γ -радіація в області малих доз (0,5 Гр) спричиняє стимулюючий вплив на життєздатність клітин (рис. 2), що характеризується підвищенням проліферативної і мітотичної активності, зменшенням кількості полікаріоцитів. У дозах 5,0 та 10,0 Гр γ -кванти ^{60}Co пригнічують життєздатність клітин (рис. 3 та 4), що характеризується зменшенням проліферативної і мітотичної активності клітин та суттєвим збільшенням кількості полікаріоцитів.

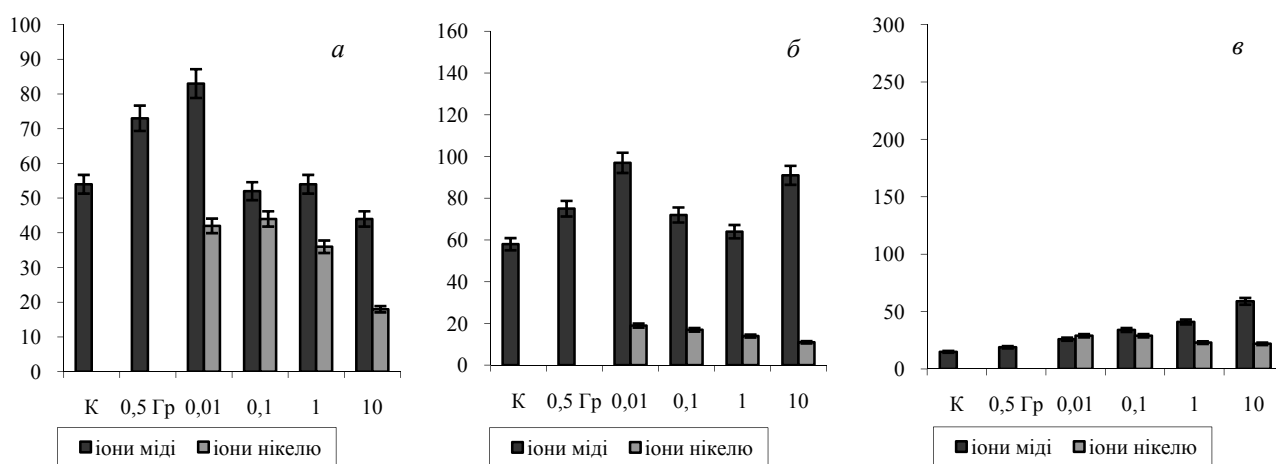


Рис. 2. Показники життєздатності клітин лінії L_{929} на 5-ту добу культивування при комбінованій дії ІВ у дозі 0,5 Гр та солей ВМ у різних концентраціях. На осях ординат: а – виживання клітин, яке оцінювалось за кількістю клітин на площині препарату 0,05 мм²; б – мітотична активність – за мітотичним індексом (%); в – кількість атипичних багатоядерних клітин – за індексом полікаріоцитів (%). К – контроль. На осях абсцис – концентрація іонів ВМ, мкмоль/л.

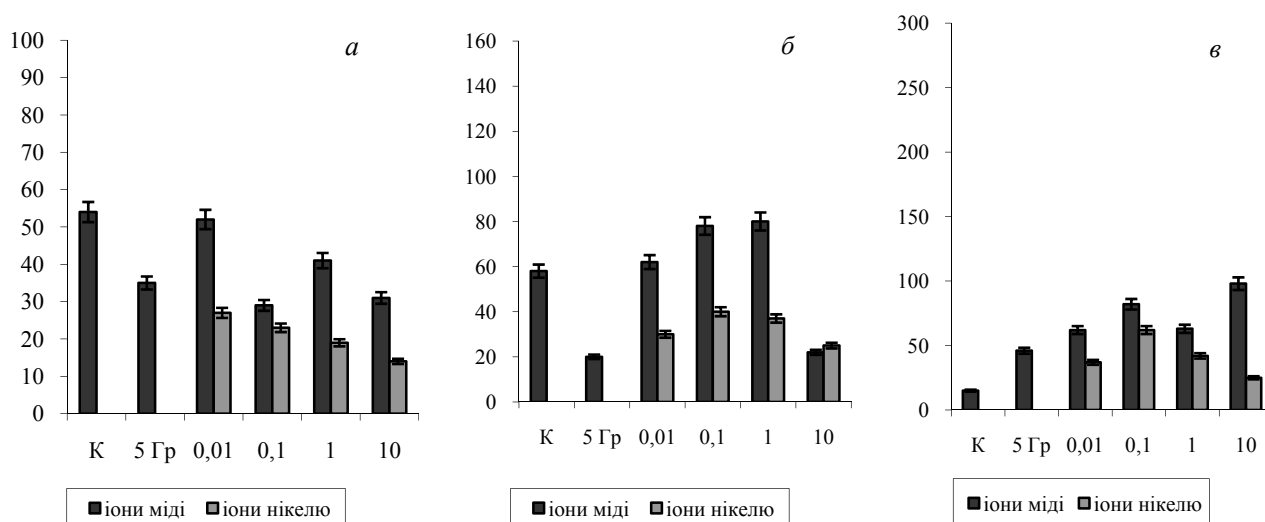


Рис. 3. Показники життєздатності клітин лінії L_{929} на 5-ту добу культивування при комбінованій дії ІВ у дозі 5 Гр та солей ВМ у різних концентраціях. Позначення ті ж, що й на рис. 2.

При опроміненні клітин у дозі 0,5 Гр та подальшою інкубацією їх з іонами міді (див. рис. 2, *a, б*) в концентрації 0,01 мкмоль/л спостерігали ще більшу стимуляцію проліферативної та мітотичної активності клітин у порівнянні як з контролем, так і з тільки опроміненням.

Збільшення в поживному середовищі концентрації катіона призвело до зменшення виживання клітин (у порівнянні з тільки опроміненням) на тлі досить високої мітотичної активності та кількості багатоядерних клітин. На препаратах спостерігались полікаріоцити з числом ядер більше двох та 3-полюсні мітози.

Інкубація клітин з іонами нікелю після опромінення їх іонізуючим випромінюванням у дозі 0,5 Гр (див. рис. 2, *a, б*) призвела до статистично достовірного ($p < 0,05$) зменшення виживання та мітотичної активності клітин (в 1,6 раза) у порівнянні з окремим впливом металу. Кількість полікаріоцитів за цих умов при низьких концентраціях іонів нікелю зростала майже у 2 рази, а при високих концентраціях іонів нікелю – статистично достовірно не відрізнялась від контролю та опромінення в дозі 0,5 Гр.

При підвищенні дози ІВ до 5 Гр (див. рис. 3, *a*) спостерігали полімодальну залежність показників життєздатності клітин при інкубації з іонами міді: за концентрацій 0,01 та 1 мкмоль/л виживання клітин статистично достовірно не відрізнялось від контрольних показників, за кон-

центрацій міді 0,1 та 10 мкмоль/л – мало тенденцію до зменшення.

При дії всіх досліджуваних концентрацій міді спостерігали підвищення кількості полікаріоцитів та мітотичного індексу (окрім концентрації 10 мкмоль/л).

За умов поєднаної дії опромінення в дозі 5 Гр та іонів нікелю (див. рис. 3, *a*) виявили лінійну залежність виживання клітин та їх мітотичної активності від концентрації металу: підвищення концентрації мікроелемента призводило до статистично достовірного зменшення величини показників порівняно з контролем. При цьому кількість полікаріоцитів у культурі клітин зростала у 2 - 5 разів у порівнянні з контролем.

Опромінення клітин у сублетальній дозі 10 Гр та інкубація їх з іонами міді чи нікелю (рис. 4, *a, б*) показало, що за показниками виживання клітин та їх мітотичною активністю детермінуючою була не доза ІВ, а надлишок іонів ВМ: за всіх концентрацій мікроелементів ці показники мали менші значення у порівнянні з контролем, але вищі значення у порівнянні з опроміненням, тобто надлишок іонів міді та нікелю справляв радіопротекторний вплив на культуру клітин. Водночас кількість атипичних багатоядерних клітин при інкубації з іонами міді була істотно вищою (більш ніж у 20 разів) у порівнянні з контролем та дією іонів нікелю.

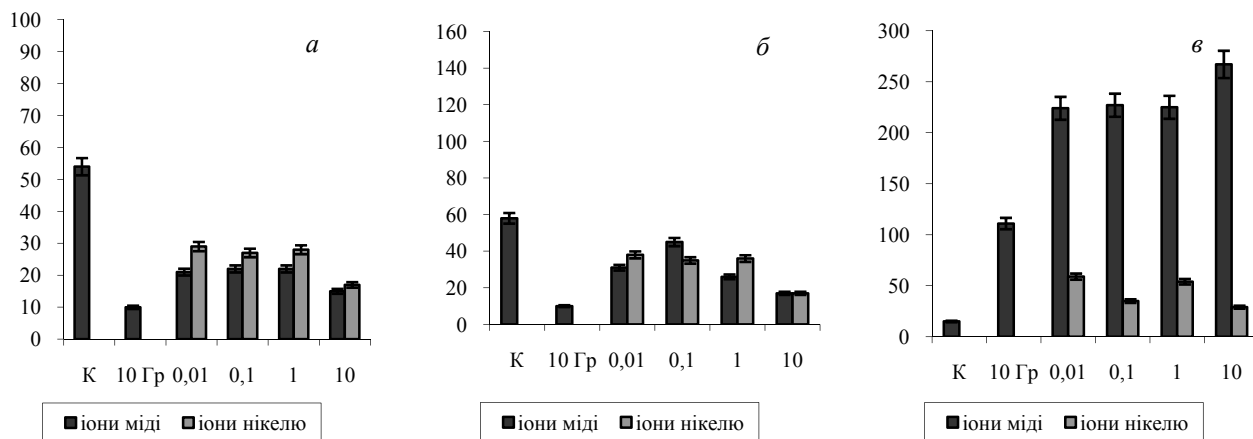


Рис. 4. Показники життєздатності клітин лінії L₉₂₉ на 5-ту добу культивування при комбінованій дії ІВ у дозі 10 Гр та солей ВМ у різних концентраціях. Позначення ті ж, що й на рис. 2.

Основна функція апоптозу – своєрідна клітинна селекція, тобто вилучення із популяції клітин з мутаціями чи іншими явними чи прихованими пошкодженнями. Загальновідомо, що ІВ є індуктором апоптозу. Кількість апоптотичних клітин у культурі зростає при підвищенні дози радіації (рис. 5).

Визначення апоптозу в опроміненні ІВ культурах клітин при інкубації з іонами міді показало, що кількість апоптотичних клітин у культурі

клітин за цих умов теж зростає, але статистично достовірно не відрізняється від контролю та опромінення.

Інкубація опромінених клітин з іонами нікелю істотно підвищувала кількість апоптотичних клітин у культурі, причому їхня кількість збільшилась у 3 рази при застосуванні найменшої концентрації нікелю 0,01 мкмоль/л і в 2 рази – при всіх інших концентраціях металу. За комбінованої дії на клітини ІВ з іонами нікелю спостерігали дозову

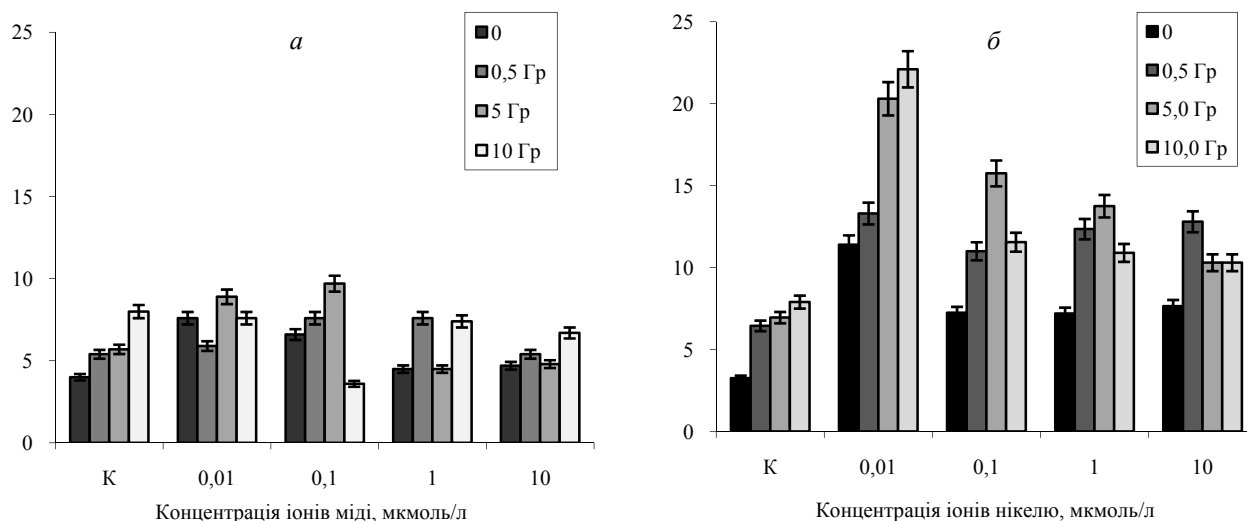


Рис. 5. Апоптоз клітин у культурі клітин лінії L₉₂₉ за комбінованого впливу ІВ у різних дозах та іонів міді (а) та іонів нікелю в різних концентраціях (б). На осях ординат – кількість клітин у стані апоптозу, %.

залежність апоптозу: при збільшенні дози ІВ зросла кількість апоптотичних клітин у культурі, причому найвищі величини спостерігали при найменшій концентрації іонів металу.

Механізми токсичної дії іонів міді та нікелю у ссавців складні. Вони включають підвищену клітинну проникність у еритроцитах, інгібування глутатіонредуктази, зниження концентрації внутрішньоклітинного відновленого глутатіону, аглютинацію, надмірне стимулювання гексозомонофосфатного шунта. Експериментальні дослідження активності мітохондріальних дегідрогеназ сукцинатдегідрогенази (СДГ) та гліцерофос-

фатдегідрогенази (ГЦФ) показали (рис. 6 та 7), що за дії радіації активність СДГ зменшується, а активність ГЦФ зростає зі збільшенням дози опромінення. Інкубація опромінених клітин з іонами міді (див. рис. 6) призводить до перерозподілу активностей ферментів енергообміну: за опромінення в дозі 0,5 Гр не спостерігали статистично достовірних відмінностей порівняно з контролем; дія радіації в дозі 5 Гр та іонів міді викликала активацію обох мітохондріальних ферментів, а при опроміненні клітин у дозі 10 Гр зазначено активацію тільки «гліцерофосфатного шунта».

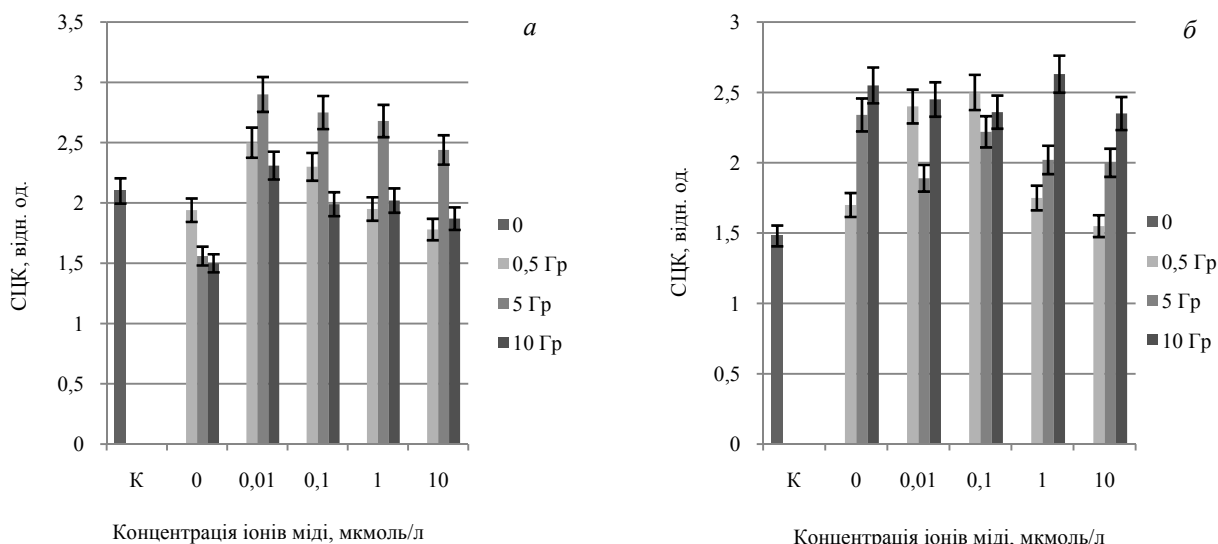


Рис. 6. Ензиматична активність мітохондріальних ферментів СДГ (а) та ГЦФ (б) у клітинах лінії L₉₂₉ в умовах впливу різних концентрацій іонів міді та комбінованої дії ІВ у дозах 0,5, 5,0 і 10,0 Гр та іонів міді. СЦК – середній цитохімічний коефіцієнт.

Дослідження ензиматичної активності мітохондріальних дегідрогеназ за комбінованої дії радіації та іонів нікелю (див. рис. 7) показало, що із збільшенням вмісту катіона від 0,01 до 1 мкмоль/л

активність СДГ та ГЦФ істотно збільшується (у 2 рази). На нашу думку, це може бути компенсаторна активація. Її зрив відбувався при високому вмісті нікелю (10 мкмоль/л) у поживному середовищі.

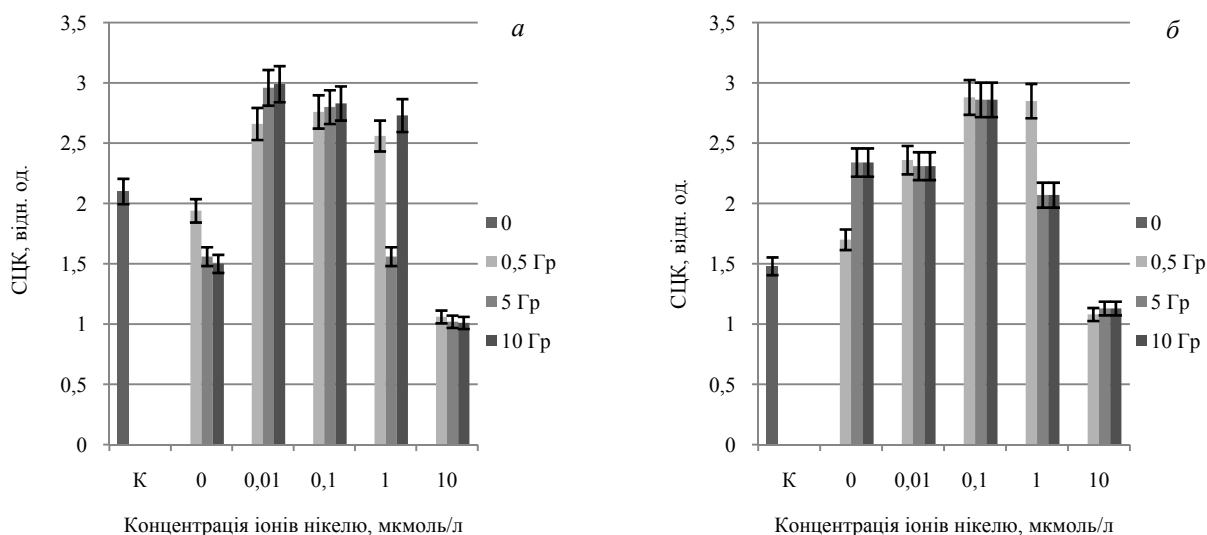


Рис. 7. Ензиматична активність мітохондріальних ферментів СДГ (а) та ГЦФ (б) у клітинах лінії L₉₂₉ в умовах впливу різних концентрацій іонів нікелю та комбінованої дії ІВ у дозах 0,5, 5,0 та 10,0 Гр та іонів нікелю. СЦК – середній цитохімічний коефіцієнт.

Висновки

1. Результати досліджень показали, що інкубація клітин із солями міді та нікелю призводить до дозозалежних змін їхніх морфофункціональних властивостей: із збільшенням концентрації ВМ істотно зменшується виживання клітин, змінюється їхня здатність до поділу та наростає атипія в культурі клітин (утворення багатоядерних гігантських клітин).

2. Комбінована дія ІВ у малій та сублетальних дозах (0,5, 5 і 10 Гр) та різних концентрацій іонів ВМ мала складний багатокомпонентний ефект на морфофункціональні властивості клітин *in vitro*.

3. Поєднана дія опромінення в дозі 0,5 Гр та іонів міді в концентрації 0,01 мкмоль/л викликала ще більшу стимуляцію проліферації клітин у культурі, водночас при підвищенні концентрації іонів міді в поживному середовищі від 0,1 до 10 мкмоль/л виживаність опромінених клітин статистично достовірно не відрізнялась від контролю. На противагу цим ефектам, інкубація клітин, опромінених у дозі 0,5 Гр, з іонами нікелю призводила до істотного пригнічення проліферативної та мітотичної активності клітин.

4. Комбінований вплив на клітини опромінення в дозі 5 Гр та іонів ВМ призвів до різнонаправлених ефектів: інкубація клітин з іонами міді призвела до підвищення виживання клітин

(окрім концентрацій 0,1 та 10 мкмоль/л), їхньої мітотичної активності (окрім концентрації 10 мкмоль/л) та кількості атипичних полікаріоцитів у порівнянні з тільки опроміненням, тобто показав радіозахисний ефект. Водночас при інкубації опромінених клітин з іонами нікелю спостерігали пригнічення показників життєздатності за усіх концентрацій мікроелемента.

5. Опромінення клітин у сублетальній дозі 10 Гр у присутності іонів міді та нікелю призвело до покращення показників життєздатності клітин у порівнянні з опроміненням, тобто надлишок іонів міді та нікелю справляв радіопротекторний вплив на культуру клітин. Водночас кількість атипичних багатоядерних клітин при інкубації з іонами міді була істотно вищою (більш ніж у 20 разів) у порівнянні з контролем та дією іонів нікелю.

6. Аналіз апоптозу в культурі клітин при комбінованій дії радіації та іонів міді та нікелю показав, що кількість апоптотичних клітин істотно підвищується при інкубації з іонами нікелю, що може свідчити про переважаючий механізм загибелі клітин шляхом апоптозу.

7. Експериментальні дослідження активності мітохондріальних ферментів енергообміну СДГ та ГЦФ показали, що інкубація опромінених клітин з іонами міді та нікелю призвела в основному до підвищення їхньої активності, що може свідчити про компенсаторні ефекти в системі енергообміну клітин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Еришов Ю.А. Механизмы токсического действия неорганических соединений. - М.: Медицина, 1989. - 272 с.
2. Трахтенберг И.М. Приоритетные аспекты проблем медицинской экологии в Украине // Современные проблемы токсикологии. - 1998. - № 1. - С. 5 - 8.

3. Трахтенберг И.М., Шестопалов В.М., Набока М.В. Свинец и другие тяжелые металлы во внешней среде после Чернобыльской катастрофы (к экологической ситуации в Украине) // *Международ. мед. журн.* - 1998. - № 3. - С. 94 - 98.
4. Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // *Current Topics in Medicinal Chemistry.* - 2001. - Vol. 1, No. 6. - P. 529 - 539.
5. Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* - 2005. - Vol. 12, No. 10. - P. 1161 - 1208.
6. Trakhtenberg I., Ivanitskaya N., Talakin Yu. The Ecological Consequences of the Chernobyl Disaster: Radiation and Lead // *Frezenius Envir. Bull.* - 1995. - Vol. 4. - P. 597 - 602.
7. Мадоннова Ю.Б., Трофимов В.А. Хромосомные нарушения, индуцированные солями тяжелых металлов *in vitro* у населения, проживающего на территориях с повышенной радиационной нагрузкой // *Успехи совр. естествознания № 12: Материалы конф.* - 2006. - С. 58 - 59.
8. Трахтенберг И.М., Виленский Ю.Б. Токсикология в реалиях времени. - Режим доступа: <http://health-ua.com/articles/866.html>
9. Пчеловская С.А., Кутлахмедов Ю.А. Оценка синергизма комбинированного действия радионуклидов и тяжелых металлов // *Радиобіологічні ефекти: ризики мінімізація, прогноз: Матеріали міжнародної конференції.* - К., 2005. - С. 141.
10. Севериновська О.В., Дворецкий А.І., Єгорова О.Г., Зайченко О.Ю. Поєднаний вплив важких металів та іонізуючого опромінення низької інтенсивності на рівень ферментативного антиоксидантного захисту клітин // *Зб. наук. праць. НЦРМ АМН України «Проблеми радіаційної медицини та радіобіології».* - К., 2003. - Вип. 9 - С. 115 - 119.
11. Лавренчук Г.Й., Гапесенко Д.Д., Чоботко Г.М., Оксамитний В.М. Комбінований вплив солей важких металів та іонізуючого випромінювання на клітини *in vitro* // *Техногенна безпека. Наукові праці.* - 2012. - Вип. 175. - Т. 187. - С. 55 - 61.
12. Литвинчук Х.М., Лавренчук Г.Й., Гапесенко Д.Д. Особливості клітинних ефектів за умов комбінованого впливу іонів нікелю та іонізуючого випромінювання // *Проблеми військової охорони здоров'я. Зб. наук. праць Української військово-медичної академії.* - 2013. - Т. 1, вип. 38. - С. 19 - 27.
13. Лавренчук Г.Й., Гапесенко Д.Д., Оксамитний В.М., Литвинчук Х.М. Комбінований вплив іонів важких металів та іонізуючого випромінювання на клітини *in vitro* // *Матеріали наук.-практ. конф. в рамках міжнар. форуму «Довкілля України» «Радіоекологія-2013. Чорнобиль - Фукусіма. Наслідки»*, 25 - 27 квітня 2013 р., Київ, Україна. - К., 2013. - С. 205 - 208.
14. Бут Г. Микроэлементы и их роль в обеспечении иммунного ответа // *Новости медицины и фармации.* - 2008. - № 4 (235). - С. 13.
15. Скальный А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение): Практическое руководство для врачей и студентов медицинских вузов. - М.: Изд-во КМК, 2001. - 96 с.
16. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология). - М.: Медицина, 1991. - С. 118.
17. Животная клетка (Методы и применение в биотехнологии) / Под общ. ред. проф. Л. П. Дьякова. - М.: Спутник+, 2009. - 656 с.
18. Лирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. - М.: Изд-во иностр. лит., 1962. - 962 с.
19. Дудченко Т.М., Лавренчук Г.Й., Серкіз Я.І., Зінченко В.А. Життєздатність клітин у культурі при спільній дії важких металів та радіації // *Биополимеры и клетка.* - 2000. - Т. 16, № 5. - С. 409 - 412.

Д. Д. Гапесенко, Г. И. Лавренчук

Государственное учреждение «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины», Киев

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ, СОЛЕЙ МЕДИ И НИКЕЛЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛЕТОК *IN VITRO*

Проведено експериментальне дослідження комбінованого дії солей важких металів та іонізуючого випромінювання на життєспособність кліток в культурі. Установлено суттєве токсичне вплив сполучень міді та нікелю на проліферативну та митотичну активність кліток *in vitro*. При комбінованому впливі на клітки радіації та іонів міді та нікелю спостерігали зміни морфофункціональних властивостей кліток, які детермінувалися або дозою випромінювання, або концентрацією іонів мікроелемента. В умовах інкубації облучених кліток з іонами нікелю спостерігали сенсibiliзацію кліток іонами нікелю до облучення в дозах 0,5 та 5 Гр та резистентність кліток до облучення в сублетальній дозі 10,0 Гр.

Ключевые слова: важкі метали, іонізуюче випромінювання, культура кліток, виживання, проліферація, апоптоз, мітохондріальні ферменти.

D. D. Gapeenko, H. I. Lavrenchuk

State Institution "The National Research Center for Radiation Medicine of NAMS of Ukraine", Kyiv

COMBINED ACTION OF RADIATION, SALTS OF COPPER AND NICKEL ON CELL VIABILITY *IN VITRO*

Experimental study of the combined action of heavy metals and ionizing radiation on the viability of cells in culture was made. We established a significant toxic effect of copper and nickel in the proliferative and mitotic activity of cells

in vitro. Under the combined effects of radiation and copper ions on cells we observed the morphological changes in morphologically-functional properties of cells that were determined by or radiation dose or by concentration of copper ions. While incubation of irradiated cells with nickel ions we observed sensitization of cells by nickel ions under the irradiation dose of 0.5 and 5.0 Gy, and the resistance of cells to exposure to sublethal dose of 10.0 Gy.

Keywords : heavy metals, ionizing radiation, cell culture, survival, proliferation, apoptosis.

REFERENCES

1. *Ershov Yu.A.* Mechanisms of toxic action of inorganic compounds. - Moskva: Meditsina, 1989. - 272 p. (Rus)
2. *Trakhtenberg I.M.* // *Sovremennye problemy toksikologii.* - 1998. - No. 1. - P. 5 - 8. (Rus)
3. *Trakhtenberg I.M., Shestopalov V.M., Naboka M.V.* // *Mezhdunar. med. zhurn.* - 1998. - No. 3. - P. 94 - 98. (Rus)
4. *Ercal N., Gurer-Orhan H., Aykin-Burns N.* Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage // *Current Topics in Medicinal Chemistry.* - 2001. - Vol. 1, No. 6. - P. 529 - 539.
5. *Valko M., Morris H., Cronin M.T.* Metals, toxicity and oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* - 2005. - Vol. 12, No. 10. - P. 1161 - 1208.
6. *Trakhtenberg I., Ivanitskaya N., Talakin Yu.* The Ecologic Consequences of the Chernobyl Disaster: Radiation and Lead // *Frezenius Envir. Bull.* - 1995. - Vol. 4. - P. 597 - 602.
7. *Madonova Yu.B., Trofimov V.A.* // *Uspekhi sovr. estestvoznaniya* No. 12: Conf. proc. - 2006. - P. 58 - 59. (Rus)
8. *Trakhtenberg I.M., Vilenskij Yu.B.* Toxicology in the realities of the time. - Access mode: <http://health-ua.com/articles/866.html> (Rus)
9. *Pchelovskaya S.A., Kutlakhmedov Yu.A.* Synergy evaluation of the radionuclides and heavy metals combined action // *Radiobiological effects: risk minimization, forecast: Proc. of the Int. Conf.* - Kyiv, 2005. - P. 141. (Rus)
10. *Severynovs'ka O.V., Dvoret's'kyi A.I., Yegorova O.G., Zaichenko O.Yu.* // *Zb. nauk. prats'. NCRM AMS Ukraine «Problemy radiatsiinoyi medytsyny ta radiobiologiyi».* - Kyiv, 2003. - Issue. 9 - P. 115 - 119. (Ukr)
11. *Lavrenchuk G.I., Gapyeyenko D.D., Chobot'ko G.M., Oksamytnyi V.M.* // *Tekhnogenna bezpeka. Naukovi pratsi.* - 2012. - Issue 175. - Vol. 187. - P. 55 - 61. (Ukr)
12. *Lytvynchuk Kh.M., Lavrenchuk G.I., Gapyeyenko D.D.* // *Problemy viis'kovoyi okhorony zdorov'ya. Zb. nauk. prats' Ukrayins'koyi viis'kovo-medychnoyi akademiyi.* - 2013. - Vol. 1, Issue 38. - P. 19 - 27. (Ukr)
13. *Lavrenchuk G.I., Gapyeyenko D.D., Oksamytnyi V.M., Lytvynchuk Kh.M.* Combined effect of heavy metal ions and ionizing radiation on cells *in vitro* // *Proc. of scientific-practical conf. within int. FORUM "Environment of Ukraine" "Radioecology-2013. Chernobyl - Fukushima. Consequences", April 25 - 27, 2013, Kyiv, Ukraine.* - Kyiv, 2013. - P. 205 - 208. (Ukr)
14. *But G.* // *Novosti meditsyny i farmatsii.* - 2008. - No. 4 (235). - P. 13. (Rus)
15. *Skal'nyj A.V.* Microelementoses of human being (diagnosis and treatment): Practical guide for physicians and medical students. - Moskva: Izd-vo KMK, 2001. - 96 p. (Rus)
16. *Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S.* Microelementoses of human being (etiology, classification, organopathology). - Moskva: Meditsina, 1991. - P. 118. (Rus)
17. *Animal cell (Methods and application in biotechnology)* / Ed. by Prof. L. P. D'yakov. - Moskva: Sputnik+, 2009. - 656 p. (Rus)
18. *Pirs E.* Histochemistry theoretical and applied. - Moskva: Izd-vo inostr. lit., 1962. - 962 p. (Rus)
19. *Dudchenko T.M., Lavrenchuk G.I., Serkiz Ya.I., Zinchenko V.A.* // *Biopolimery i kletka.* - 2000. - Vol. 16, No. 5. - P. 409 - 412. (Ukr)

Надійшла 29.05.2014

Received 29.05.2014