

effect on separation of the components of a biological fluid in the case of clinoid dehydration. *JTP*, 2003, vol. 73 (5), pp. 13-17. (In Russ.)]

8. Тарасевич Ю.Ю., Исакова О.Л., Кондухов В.В., Савицкая А.В. Влияние режима испарения на пространственное перераспределение компонентов в испаряющейся капле жидкости на твердой горизонтальной подложке. *ЖТФ*, 2010, т. 89 (5), с. 45-50. [Tarasevich Yu.Yu., Isakova O.L., Kondukhov V.V., Savitskaya A.V. The evaporation mode influence on the spatial redistribution of the components in the evaporating drop of fluid on the solid horizontal substrate. *JTP*, 2010, vol. 89 (5), pp. 45-50. (In Russ.)]

9. Гольбрайх Е., Рапис Е.Г., Моисеев С.С. О формировании узора трещины в свободно высыхающей пленке водного раствора белка. *ЖТФ*, 2003, т. 73 (10), с. 118-122. [Holbreich E., Rapis E.G., Moiseev S.S. On the formation of the fracture pattern in a free drying film of the albumin aqueous solution. *JTP*, 2003, vol. 73 (10), pp. 118-122. (In Russ.)]

10. Кизель В.А. *Физические причины десимметрии гелевых систем*. М.: Наука, 1985, 120 с. [Kizel V.A. *The physical causes of asymmetry in gel systems*. М.: Nauka, 1985, 120 p. (In Russ.)]

11. Краевой С.А., Колтовой Н.А. *Диагностика по капле крови. Кристаллизация биожидкостей*. Книга 1 – Открытая капля, 2013, с. 67-71. [Kraevoi S.A., Koltovoi N.A. *Diagnostication by a drop of blood. Crystallization of biological fluids*. Book 1 – Exposed drop, 2013, pp. 67-71. (In Russ.)]

### КЛЕТОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕЙТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Кузнецов К.А., Бережной А.Ю., Кизим П.С., Онищенко Г.М., Шкорбатов Ю.Г.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

пл. Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина

e-mail: Co-Smith@yandex.ru

**Аннотация.** С помощью методики определения степени конденсации хроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека показана реакция на воздействие нейтронного излучения с разным временем экспозиции. В качестве источника нейтронного излучения были использованы два Pu-Be источника ИБН-17 (Россия). Диапазон энергий испускаемых нейтронов: 100 кэВ – 10 МэВ, поток нейтронов одного источника  $5 \cdot 10^7$  нейтр./с, излучение изотропно, расстояние до образца – 5 см. Облучение проб клеток происходило на протяжении 1 – 64 мин. Обработанные клетки окрашивались 2% раствором орсеина в 45% уксусной кислоте. Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) определяли в ядрах 100 клеток и по среднему количеству гранул в ядре определяли степень конденсированности хроматина. Установлена нелинейная зависимость показателя конденсированности хроматина в ядре (стрессовой реакции клетки). Максимального значения изучаемый показатель достигал при 16-минутном облучении, дальнейшее увеличение времени облучения приводило к снижению показателя. Полученные данные проанализированы на соответствие одноударной и двухударной моделям распределения Пуассона, а также распределению Гаусса и Вигнера. Установлено, что распределение Пуассона в качестве модели радиационных повреждений наиболее точно отображает наблюдаемые изменения в клетках.

**Ключевые слова:** клеточный стресс, гетерохроматин, нейтронное излучение, распределение Гаусса.

### CELLULAR EFFECTS OF NEUTRON RADIATION EXPOSURE

Kuznetsov K.A., Berezhnoy A.Y., Kyzym P.S., Onishchenko G.M., Shkorbatov Y.G.

V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

Svobody Sq., 4, Kharkov, 61022, Ukraine

e-mail: Co-Smith@yandex.ru

**Abstract.** The answer to neutron radiation of different exposure time was demonstrated in nuclei of isolated human buccal epithelial cells by the method of assessment of the degree of chromatin condensation. As a neutron radiation source two sources Pu-Be IBN-17 (Russia) have been used. The range of emitted neutrons energies was 100 keV - 10 MeV, the neutron flux  $5 \cdot 10^7$  n/s, the irradiation was isotropic. Cell samples were exposed to radiation during 1 - 64 minutes. Exposed cells were stained with 2% orcein in 45% acetic acid. The content of the heterochromatin granules quantity (HGQ) was counted in nuclei of 100 cells, and the mean number of HGQ per nucleus was determined as a measure of chromatin condensation. The nonlinear dependence of chromatin condensation in the nuclei (cell stress reaction) from irradiation time was observed. The maximum value of HGQ reached after 16-minute exposure, further increase of the exposure time lead to decrease of HGQ. The data has been analyzed for compliance with the single- and double-hit models of the Poisson distribution, as well as the Gaussian and Wigner distributions. It is found that the Poisson distribution as a model of radiation impact reflects changes in cell reaction of chromatin condensation most accurately.

**Key words:** cell stress, heterochromatin, neutron radiation, Gauss distribution.

Биологические эффекты корпускулярных видов ионизирующих излучений, как правило, более выражены, чем таковые, производимые рентгеновским и гамма-излучением. В дозиметрии предполагается, что действие нейтронного излучения, в зависимости от энергетического диапазона частиц, приблизительно в 2-20 раз сильнее гамма-излучения [1].

Наличие нейтронной компоненты в ионизирующем излучении способно приводить к неблагоприятным изменениям, включающие в себя появление многоядерности клеток и снижение частоты апоптоза [2]. Однако эффекты нейтронного облучения также могут быть сглажены естественными репарационными процессами. Существуют данные [3] по роли сигнального пути NF-κB в устранении последствий воздействия нейтронного излучения. В то же время нейтронное излучение находит применение в медицине. Например, в работе [4] продемонстрирована эффективность терапии с применением захвата нейтронов бором  $^{10}\text{B}$  в лечении раковых опухолей ротовой полости хомяков.

Для определения биологического эффекта ионизирующих излучений используются показатели стрессовой реакции клетки. Одним из них является конденсация хроматина в ядре клетки – неспецифический ответ на внешние раздражители [5].

В проведенных ранее экспериментах [6, 7] было установлено, что нейтронное излучение, содержащее до 10% замедленных нейтронов, в меньшей степени влияет на показатель конденсации хроматина, чем излучение, состоящее только из быстрых нейтронов. В связи с этим дальнейшие эксперименты были проведены только с использованием быстрых нейтронов.

Целью данной работы являлась оценка степени стрессового воздействия нейтронного излучения на эпителиальные клетки человека и характеристика полученных данных с точки зрения существующих моделей радиационного повреждения живых объектов.

В экспериментах использовались клетки буккального эпителия человека (донор мужского пола возрастом 24 года). Клетки извлекались с помощью тупого шпателя и помещались в 3,03 мМ фосфатный буфер с добавлением 2,89 мМ  $\text{CaCl}_2$  (pH=7,0). В данном растворе клетки буккального эпителия способны находиться до 6 часов без изменения состояния хроматина в ядрах [3].

В качестве источника нейтронного излучения были использованы два Pu-Be источника ИБН-17 (Россия), расположенные по разные стороны от облучаемого объекта на равном расстоянии. Диапазон энергий испускаемых нейтронов: 100 кэВ - 10 МэВ, поток одного источника нейтронов –  $5 \cdot 10^7$  нейтр./с, излучение изотропно. Отсечение медленных нейтронов производилось с помощью листового (2 мм) кадмия, сопутствующее гамма-излучение источников ( $\text{Am-241}$ , 59 кэВ) экранировалось 2 мм свинцом. Облучение проб клеток происходило на протяжении 1-64 мин. Облученные клетки окрашивались 2 % раствором орсеина в 45 % уксусной кислоте. Контрольные пробы фиксировались дважды – в начале и в конце эксперимента (через 2-2,5 часа после начала опытов). Содержание гранул гетерохроматина (СГГ) определяли в ядрах 100 клеток. Полученные данные обрабатывали по методу Стьюдента.

Результаты первого эксперимента представлены на рисунке 1.

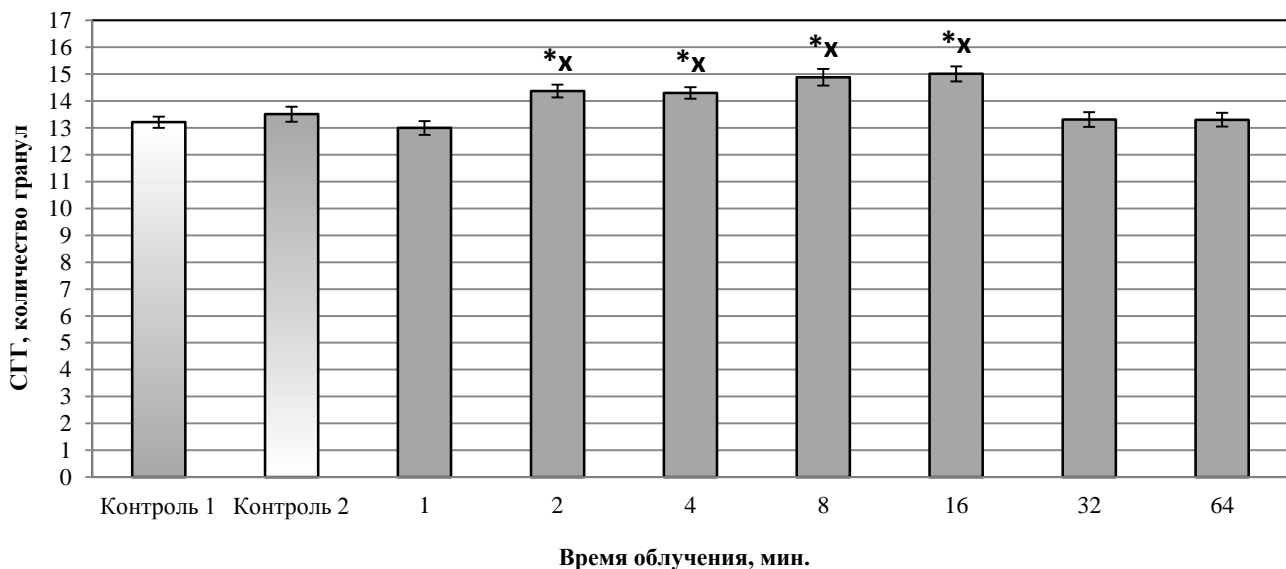


Рисунок 1 – Изменение содержания гранул гетерохроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека под действием быстрых нейтронов. Здесь и далее: "\*" – значимое отличие ( $p > 0,95$ ) экспериментальных данных от контрольных значений в начале эксперимента, "х" – значимое отличие от контрольных значений по окончании эксперимента

Постепенное увеличение показателя СГГ под действием быстрых нейтронов происходило при облучении в период от 2 до 16 минут. Дальнейшее увеличение времени воздействия нейтронов привело к возвращению СГГ до уровня контроля. Подобное снижения уровня конденсированности хроматина может свидетельствовать не о возврате клетки к норме, а о потере способности адекватно реагировать на стресс при длительном воздействии нейтронного излучения.

Для уточнения максимального значения показателя содержания гранул гетерохроматина во временном промежутке около 16 мин. была проведена повторная серия опытов, результаты которых показаны на рисунке 2.

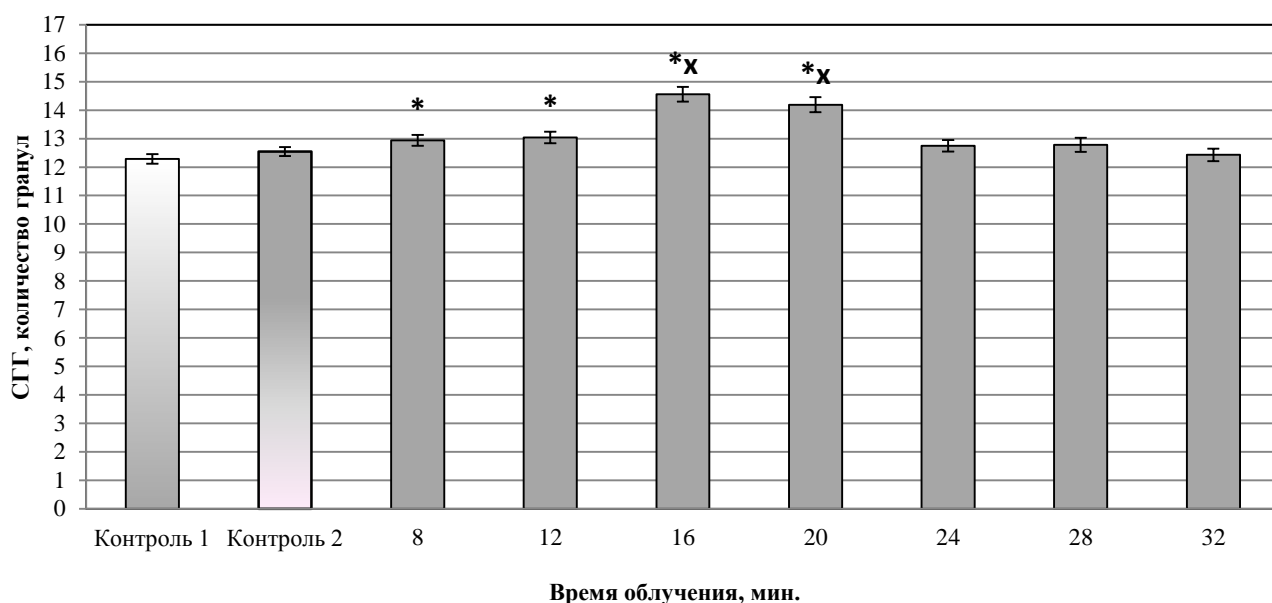


Рисунок 2 – Уточняющее определение максимума содержания гранул гетерохроматина в ядрах клеток буккального эпителия человека под действием быстрых нейтронов в диапазонах экспозиции 8-32 мин.

Результаты второй серии экспериментов подтвердили наличие максимума реактивности клеток при 16-минутной экспозиции

Полученные экспериментальные данные анализировались на соответствие одно-, двухударной моделям, распределениям Гаусса и Вигнера через коэффициент детерминированности функции. Чем ближе коэффициент детерминированности к 1, тем точнее функция описывает эксперимент. Этот коэффициент вычисляется по (1):

$$C_{det} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - f_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}}, \quad (1)$$

где  $f_i$  – значения теоретической аппроксимирующей функции,  $y_i$  – экспериментально полученные значения;  $\bar{y}$  – среднее экспериментальное значение, вычисляемое по формуле:

$$\bar{y} = \frac{\sum y_i}{n}, \quad (2)$$

где  $n$  – количество экспериментальных точек.

Результаты аппроксимации экспериментальных данных приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Аппроксимация экспериментальных данных

Распределение	Формула	Параметры				Коэффициент детерминированности
		A	B	C	D	
Пуассон одноударный (без пика)	$A \exp(-Bt) + C$	-11,54	2,67	0,7	—	0,31
Пуассон двухударный (с пиком)	$ABt \exp(-Bt) + C$	5,56	0,07	-0,81	—	0,72
Вигнер	$ABt \exp(-(Bt)^2) + C$	4,65	0,05	-0,56	—	0,81
Гаусс	$A \exp(-(t - B)^2 / D^2) + C$	2,26	17,42	0,16	4,81	0,97

Таким образом, воздействие нейтронного излучения на клетки буккального эпителия человека приводит к развитию стрессовой реакции, показателем которой является конденсация хроматина в ядре. Содержание гранул

гетерохроматина в ядре достигает максимального значения (на 14-17 % выше контрольного) при облучении в течение 16 минут. Зависимость эффекта от времени воздействия подчиняется нормальному распределению.

#### **Список литературы / References:**

1. Кудряшов Ю.Б. *Радиационная биофизика (ионизирующие излучения)*. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004, 448 с. [Kudryashov Y.B. *Radiation Biophysics (ionizing radiation)*. М.: FIZMATLIT, 2004, 448 p. (In Russ.)]
2. Петрашова Д.А., Белишева Н.К., Пелевина И.И., Мельник Н.А., Зользер Ф. Генотоксические эффекты в буккальном эпителии горняков, работающих в условия облучения природными источниками ионизирующего излучения. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, 2011, т. 13, с. 1792-1796. [Petrashova D.A., Belisheva N.K., Pelevina I.I., Miller N.A., Zolzer F. Genotoxic effects in buccal epithelia at miners, working in the conditions of irradiation by natural sources of ionizing radiation. *Bulletin of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2011, vol. 13, pp. 1792-1796. (In Russ.)]
3. Gong-Min Chang, Ya-Bing Gao, Shui-Ming Wang [et al.] Protecting Intestinal Epithelial Cell Number 6 against Fission Neutron Irradiation through NF-kB Signaling Pathway. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, article ID 124721, 8 pages.
4. Heber E.M., Hawthorne M.F., Kueffer P.J., Garabalino M.A. [et al.] Therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy mediated by boron-rich liposomes for oral cancer in the hamster cheek pouch model. *PNAS*, 2014, vol. 111, pp. 16077-16081.
5. Shckorbatov Y. The state of chromatin as an integrative indicator of cell stress. In: *New Developments in Chromatin Research*, Editors: Neil M. Simpson and Valerie J. Stewart. Chapter 6. Nova Science Publishers, Inc. New York, 2012, pp. 123-144.
6. Kuznetsov K.A., Kyzym P.S., Onishchenko G.M., Berezhnoy A.Y., Shckorbatov Y.G. [et al.] Chromatin changes under exposure to neutron radiation. *Proceedings of the International Conference "Advances in cell biology and biotechnology"*, Lviv, 11-13 October 2015, p. 83.
7. Shckorbatov Y.G., Shakhbazov V.G., Bogoslavsky A.M., Rudenko A.O. On age-related changes of cell membrane permeability in human buccal epithelium cells. *Mech. Ageing Develop*, 1995, vol. 83, pp. 87-90.

### **РЕГУЛЯЦИЯ ВХОДА $\text{Ca}^{2+}$ ВО ВКУСОВЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ВОЗМОЖНОМ УЧАСТИИ ГЕПТАСПИРАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА ВНЕКЛЕТОЧНОГО $\text{Ca}^{2+}$**

Черкашин А.П., Рогачевская О.А., Фадеев П.Ю., Колесников С.С.

Институт биофизики клетки РАН

ул. Институтская, 3, г. Пуццино, 142290, РФ

e-mail: a.p.cher@yandex.ru

**Аннотация.** Вкусовая почка – это плотный ассоциат 50-100 вкусовых клеток нескольких типов, в котором межклеточное пространство на два порядка меньше внутриклеточного. В силу этого, концентрация внеклеточных ионов, включая ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , может варьировать при изменении электрической активности клеток вкусовой почки. Вкусовые клетки типа III образуют классические химические синапсы, в которых выброс нейромедиатора инициируется входом наружного  $\text{Ca}^{2+}$  через потенциал-зависимые (ПЗ)  $\text{Ca}^{2+}$  каналы. Истощение наружного  $\text{Ca}^{2+}$  за счет активности других клеток, должно восприниматься данной клеткой как изменение интенсивности вкусового стимула. Это фактически является ложной информацией для мозга, и поэтому в клетках типа III должен существовать механизм, который обеспечивает инвариантность выброса нейромедиатора в определенном диапазоне концентраций наружного  $\text{Ca}^{2+}$ . В данной работе анализировалась зависимость ПЗ  $\text{Ca}^{2+}$  тока во вкусовых клетках от концентрации внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Было установлено, что на кривой зависимости ПЗ  $\text{Ca}^{2+}$  тока от концентрации внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  имеется плато в диапазоне концентраций (1-2 мМ) наружного  $\text{Ca}^{2+}$ . Также нами анализировалась зависимость величины  $\text{Ca}^{2+}$  ответов, инициируемых деполяризацией клетки, от концентрации наружного  $\text{Ca}^{2+}$ . Оказалось, что величина  $\text{Ca}^{2+}$  ответа практически не зависела от концентрации наружного  $\text{Ca}^{2+}$  в диапазоне от 0,5 до 5 мМ. Это указывает на существование механизма, который регулирует активность ПЗ  $\text{Ca}^{2+}$  каналов, чтобы обеспечить инвариантность потока  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Ключевые слова:** вкусовые клетки, ПЗ  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы, экстраклеточный  $\text{Ca}^{2+}$ , рецептор экстраклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ .