



Ідентифікатор подання: 104

Тип: Секційна доповідь

Оцінка змін метилування ДНК в лімфоцитах периферичної крові людини в умовах впливу іонізуючого випромінювання *in vitro*

четвер, 29 травня 2025 р. 12:15 (20 хвилин)

Вступ. Широке використання рентгенодіагностичних і радіотерапевтичних процедур може призводити до негативних генетичних наслідків. До груп ризику таких наслідків належать як пацієнти, так і медичний персонал, який безпосередньо стикається із джерелами іонізуючого випромінювання (ІВ) [1 – 3]. Віддалені генетичні (а відповідно й медичні) наслідки опромінення обумовлені як мішеними, так і не мішеними ефектами ІВ. Одним з немішених ефектів ІВ є затримана нестабільність геному (delayed genome instability) — феномен катастрофічне збільшення геномної нестабільності серед нащадків клітин, що вижили після опромінення і протягом декількох клітинних поколінь нормальний рівень стабільності геному. Вважається, що розвиток затриманої геномної нестабільності обумовлений саме епігенетичними, а не генетичними змінами геному.

Процес метилування ДНК є одним з основних механізмів, що контролюють експресію генів. Цей процес може пригнічувати або виключати роботу нормальних генів, що загалом призводить до зміненого фенотипу. Патерни метилування, характерні для нормальних клітин, змінюються залежно від дії чинників як внутрішнього, так і зовнішнього середовища. Зрозуміло, що зміна характерного для відповідного типу клітин рівня метилування ДНК може призвести до активації онкогенів, пригнічення генів-супресорів, а в результаті до збільшення геномної нестабільності та втрати функції певних генів, які можуть бути пов'язані з різними захворюваннями, включно з онкологічними та нейродегенеративними. Визначення індивідуальних особливостей змін метилування ДНК сприяє кращому розумінню відповіді на пошкоджувальну дію радіаційного випромінювання, що може використовуватися в персоналізованій медицині.

Метою нашої роботи було дослідити зміни ступеня метилування ДНК в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК), які опромінювали *in vitro* гамма-квантами в дозі 1,0 Гр.

Об'єктом дослідження були культури ЛПК умовно здорових 15 волонтерів, які на момент дослідження не мали контакту з ІВ. Експозицію ІВ проводили на стадії G0: одна частина культури ЛПК піддавалася гамма-випромінюванню в дозі 1,0 Гр (випромінювач ІВL-237С з потужністю 2,34 Гр/хв), інша – слугувала контролем. Особливістю експерименту було культивування зразків ЛПК упродовж 48 годин.

Метод дослідження Comet assay – електрофорез окремих клітин в буфері з нейтральним рН [4]. Обробка метилчутливою рестриктазою HpaII (5'-CCGG-3'). Візуалізацію та аналіз препаратів проводили з використанням люмінесцентного мікроскопа з під'єднаною фотокамерою Canon D1000 і комп'ютерної програми Image J.

Результати. Було визначено статус метилування ДНК в опроміненій культурі ЛПК умовно здорових осіб. Характерне подовження хвостової частини комети (рис. 1) свідчить про збільшення фрагментації ДНК.

Рис 1. Типове зображення «комет».

Рівень метилування ДНК у лімфоцитах оцінювався за показниками міграції ДНК в агарозний гель, що свідчить про відносний рівень одно- та дволанцюгових розривів ДНК: відсотка ДНК у хвості комети, довжини хвоста комети (у мкм) та моменту хвоста (ТМ), що одночасно враховує як кількість ДНК у хвостовій частині комети, так і довжину хвоста.

Аналіз індивідуальних параметрів метилування ДНК показав, що після дії ферменту рестрикції HpaII у неопроміненому контролі відсоток ДНК у хвостовій частині комет у середньому у групі складає $64,15 \pm 1,56$ %, а середня довжина хвостової частини комети TL дорівнює $66,64 \pm 2,03$ мкм. Середній показник ТМ становить $47,06 \pm 2,30$ мкм.

Після дії ІВ на культуру ЛПК спостерігається достовірне зниження середніх значень довжини комет TL ($p < 0,001$) та моменту хвоста ТМ ($p < 0,001$) відповідно контролю, що свідчить про зменшення кількості сайтів рестрикції метил-чутливої рестриктази HpaII та, як наслідок, збільшення рівня метилування ДНК у відповідь на дію ІВ. У групі опромінених клітин середнє значення відсотку ДНК у хвості становить в середньому у групі $62,78 \pm 1,03$ %. Довжина хвостової частини (TL) в середньому показала

57,03 ± 1,17 мкм, ТМ –37,77 ± 1,22 мкм.

Таким чином, нами було встановлено збільшення рівня глобального метилювання ДНК. Це може бути пов'язано з пригніченням експресії генів, що відповідають за репарацію ДНК та контроль клітинного циклу і, порушення функцій яких, спричиняють зростання нестабільності геному. Подальше оцінювання рівня метилювання ДНК із кореляцією його з хромосомними абераціями буде аспектом для майбутнього дослідження.

1. R.J. Klose, A.P. Bird. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. Trends Biochem. Sci. 31 (2006) 161–173.
2. Meng H. et al. DNA methylation, its mediators and genome integrity. Int. J. Biol. Sci. 8;11(5) (2015) 611–620.
3. P.A. Jones Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. Nat. Rev. Genet. 10(1) (2009) 31–42.
4. Y.J. Kim et al. Genome-wide methylation profiling of the bronchial mucosa of asthmatics: relationship to

Authors: Д-р. КУРІННИЙ, Денис (Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології Національної академії медичних наук України», Київ, Україна); Д-р. НЕУМЕРЖИЦЬКА, Любов (Національний науковий центр радіаційної медицини, гематології та онкології Національної академії медичних наук України», Київ, Україна); РУШКОВСЬКИЙ, Станіслав (Кафедра загальної та медичної генетики, ННЦ "Інститут біології та медицини" КНУ імені Тараса Шевченка)

Доповідач: РУШКОВСЬКИЙ, Станіслав (Кафедра загальної та медичної генетики, ННЦ "Інститут біології та медицини" КНУ імені Тараса Шевченка)

Тип засідання: Радіобіологія

Класифікація за напрямком: Радіоекологія та радіобіологія: Радіоекологія