

АНАЛИЗ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПРИ МОДИФИКАЦИИ ЭФФЕКТА ФОТРИНА

Г. Г. БАТІКЯՆ, Г. Г. ЗАЛИՆՅԱՆ

Проведен шаговый регрессионный анализ данных цитогенетического анализа при обработке культуры лимфоцитов человека фотрином и модификаторами. Установлено, что эффект фотрина зависит от таких важнейших параметров, как концентрация мутагена, протектора и время введения мутагена в культуру. В результате шагового регрессионного анализа получены удовлетворительные коэффициенты расхождения рядов Тейла как для аберрантных метафаз, так и для среднего числа разрывов на клетку.

Ключевые слова: фотрин, шаговый регрессионный анализ, цитогенетические параметры.

Ранее были приведены данные сравнения эффекта некоторых модификаторов при обработке культуры лимфоцитов многоцентровыми мутагенами на стадии G₂ клеточного цикла [1]. Наряду с этим, был исследован модифицирующий эффект этих же протекторов на цитогенетические повреждения, вызванные дипипом при его введении в культуру на стадии G₁-S клеточного цикла [2]. Данные цитогенетического анализа были подвергнуты корреляционному анализу. Нас интересовали также эффект, получаемый при введении фотрина и протекторов в культуру лимфоцитов человека на стадии G₁-S клеточного цикла, и создание моделей, описывающих процессы, протекающие в клетке под воздействием фотрина и модификаторов.

Материал и методика. Опыты проводили на культуре лимфоцитов периферической крови здоровых доноров. Культивирование крови проводилось общепринятым методом [3] в обеих сериях в течение 58-ми часов. В одной серии опытов фотрина вводился на 54-м часу культивирования, в другой—на 28-м. Протекторы (АПАЭТФ 2,3 и цистафос) в I серии опытов вводили на 28-м часу культивирования в концентрации 10⁻⁴ М, во II—после трехкратного отмыва мутагена, на 29-м часу.

В I серии опытов использовались 8 различных концентраций фотрина; от 1,1 · 10⁻⁴ М до 25,6 · 10⁻⁴ М через каждые 3,5 · 10⁻⁴ М, во II серии — от 0,5 · 10⁻⁴ М до 2,0 · 10⁻⁴ М через каждые 0,5 · 10⁻⁴.

Данные цитогенетического анализа были обработаны методом шагового регрессионного анализа в лаборатории мутагенеза ИМГ АМН СССР. Этот метод подробно рассмотрен в работе Тейла [4]. Коэффициент расхождения рядов Тейла вычислялся по формуле:

$$u = \frac{\sqrt{\frac{1}{n} \sum (P_i^2 - A_i)^2}}{\sqrt{\frac{1}{n} \sum P_i^2 + \frac{1}{n} \sum A_i^2}}$$

где через P_1, \dots, P обозначены прогнозы, а через A_1, \dots, A —действительные результаты [3]. При этом значения коэффициента $U=0$ при полном совпадении прогноза и действительных результатов, $U=1$ при их максимальном расхождении.

Результаты и обсуждение. В результате шагового регрессионного анализа имеем следующие величины для доли aberrантных метафаз: доля объясненной вариации = 81,288; стандартное отклонение = 0,059; свободный член уравнения = 0,133.

Дисперсионный анализ после последнего шага имеет вид следующей таблицы.

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	Общий F
Общий	100	1,0		
Регрессия	3	0,813	0,271	140,46
Остаток	97	0,187	0,002	

F—критерий Фишера, который вычислялся по оценке криволинейности [3].

После получения значений коэффициентов имеем следующую модель, удовлетворительно описывающую зависимость частоты aberrантных метафаз от условий обработки культур:

$$p = 1 - \exp [- (0,133 + 0,017 C_m - 0,012 C_m C_p - 0,002 C_p \psi)],$$

где C_m —концентрация мутагена, C_p —концентрация протектора, ψ —время введения мутагена.

В результате ряда шагов для среднего числа разрывов на клетку получили: доля объясненной вариации = 73,390; стандартное отклонение остатков = 0,068; свободный член уравнений = 0,118.

После последнего шага получена таблица величин дисперсионного анализа, имеющая следующий вид.

Источник	Степень свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	Общий F
Общий	100	1,0		
Регрессия	4	0,734	0,183	66,19
Остаток	96	0,266	0,003	

Среднее число разрывов на клетку при этом удовлетворительно описывается моделью:

$$E = \exp [0,118 + 0,023 C_m - 0,001 C_m^2 - 0,010 C_m C_p - 0,002 C_p \psi] - 1.$$

В результате шагового регрессионного анализа получены следующие предсказанные и наблюдаемые величины (табл. 1, 2, 3).

В результате были получены коэффициенты Тейла. Для частоты aberrантных метафаз $U=0,138$; для среднего числа разрывов $U=0,207$.

Таблица 1

Сравнение наблюдаемых и предсказанных, согласно полученным моделям, величин цитогенетических параметров при обработке культур лимфоцитов фотрином

Концентрация мутагена $\times 10^{-4}$ М	Аберрантные метафазы			Среднее число разрывов		
	наблюдаемое	предсказанное	остаток	наблюдаемое	предсказанное	остаток
1,1	11,899	14,075	2,176	13,100	15,343	2,243
1,1	15,000	14,075	0,925	15,000	15,343	0,343
4,6	19,000	18,963	0,037	28,000	21,137	-3,863
8,1	23,800	23,573	0,227	39,200	32,453	-6,747
11,6	30,600	27,920	-0,680	48,800	40,114	-8,686
11,6	27,500	27,920	0,420	45,000	40,114	-4,114
11,6	25,000	27,920	2,920	36,000	40,114	4,114
25,6	46,000	42,974	-3,026	56,000	60,958	4,958
25,6	43,000	42,974	0,026	51,000	60,958	9,958

Таблица 2

Сравнение наблюдаемых и предсказанных, согласно полученным моделям, величин цитогенетических параметров при обработке культуры лимфоцитов фотрином и АПАЭТФ 2,3

Концентрация мутагена $\times 10^{-4}$ М	Аберрантные метафазы			Среднее число разрывов		
	наблюдаемое	предсказанное	остаток	наблюдаемое	предсказанное	остаток
1,1	3,700	4,515	0,815	3,700	3,109	0,591
1,1	6,800	4,515	-2,285	9,100	3,109	-5,991
1,1	6,300	4,515	-1,785	6,300	3,109	-3,191
1,1	3,000	4,515	1,515	3,000	3,109	0,109
4,6	10,900	5,976	-4,924	14,700	7,919	-7,681
4,6	11,500	5,976	-5,524	13,500	7,919	-6,481
4,6	9,100	5,976	-3,124	9,100	7,919	-2,081
4,6	6,700	5,976	0,724	6,700	7,919	0,319
8,1	9,700	7,415	-2,285	12,500	10,124	-2,376
8,1	12,000	7,415	-4,585	16,000	10,124	-5,876
8,1	1,000	7,415	6,415	1,000	10,124	9,124
8,1	4,500	7,415	2,915	4,500	10,124	5,624
11,6	4,000	8,831	4,831	5,000	12,347	7,347
11,6	10,600	8,831	-1,769	10,000	12,347	1,747
11,6	5,500	8,831	3,331	6,400	12,347	5,947
15,1	11,000	10,226	0,774	17,900	13,630	-3,370
15,1	7,300	10,226	2,926	7,300	13,630	6,330
18,6	14,000	11,600	-2,400	16,300	13,941	-2,359
18,6	6,000	11,600	5,600	9,000	13,941	4,941
18,6	13,000	11,600	-1,400	15,000	13,941	-1,059

Здесь для примера приводится лишь половина таблицы, так как остальная часть ее подобного типа. Некоторые варианты сняты из таблиц из-за значительного расхождения между предсказанными и наблюдаемыми величинами.

Таким образом, в результате шагового регрессионного анализа для частоты аберрантных метафаз получена следующая модель:

$$\rho = 1 - \exp [-(v_0 + v_1 C_M + v_2 C_M C_{II} + v_3 C_{II} \psi)];$$

для среднего числа разрывов

$$E = \exp [v_0 + v_1 C_M + v_2 C_M^2 + v_3 C_M C_{II} + v_4 C_{II} \psi] - 1.$$

Сравнение наблюдаемых и предсказанных, согласно полученным моделям, величин цитогенетических параметров при обработке культуры лимфоцитов фотрином и цистафосом

Концентрация мутагена $\times 10^{-4}$ М	Аберрантные метафазы			Среднее число разрывов		
	наблюдаемое	предсказанное	остаток	наблюдаемое	предсказанное	остаток
1,1	5,700	4,515	-1,185	5,700	3,109	-2,591
1,1	5,000	4,515	0,485	6,000	3,109	-2,891
1,1	6,000	4,515	-1,485	6,000	3,109	-2,891
1,1	6,000	4,515	-1,485	6,000	3,109	-2,891
4,6	6,000	5,976	0,024	7,000	7,019	0,019
4,6	3,300	5,976	2,676	3,300	7,019	3,719
4,6	7,000	5,976	-1,024	8,000	7,019	0,981
4,6	7,000	5,976	-1,024	7,000	7,019	0,019
8,1	9,000	7,415	-1,585	9,000	10,124	1,124
8,1	7,000	7,415	0,415	7,000	10,124	3,124
8,1	8,000	7,415	0,585	8,000	10,124	2,124
8,1	8,000	7,415	0,585	9,000	10,124	1,124
8,1	10,000	7,415	-2,585	12,000	10,124	-1,876
11,1	11,500	8,831	-2,669	11,500	12,347	0,847
11,6	10,000	8,831	-1,169	11,000	12,347	1,347
11,6	12,000	8,831	3,169	15,000	12,347	2,653
11,6	10,600	8,831	-1,769	10,600	12,347	1,747
11,6	8,000	8,831	0,831	10,000	12,347	2,347
15,6	15,000	10,226	-4,774	19,000	13,630	-5,370
15,6	12,000	10,226	-1,774	14,000	13,630	0,370
15,1	13,300	10,226	-3,074	19,300	13,630	-5,670
15,1	13,000	10,226	-2,774	14,500	13,630	0,870
15,1	6,700	10,226	3,526	6,700	13,630	6,930
18,6	17,500	11,600	-5,900	19,000	13,941	-5,059
18,6	13,600	11,600	-2,000	16,300	13,941	-2,359
18,6	14,000	11,600	-2,400	14,000	13,941	0,059
18,6	10,000	11,600	1,600	10,000	13,941	3,941
18,6	8,000	11,600	3,600	10,000	13,941	3,941
18,6	6,000	11,600	5,600	7,000	13,941	6,941
22,1	11,000	12,952	1,952	13,000	13,273	0,273
22,1	12,000	12,952	0,952	14,000	13,273	0,727
22,1	15,000	12,952	-2,048	19,000	13,273	-5,727
22,1	10,000	12,952	2,952	10,000	13,273	3,273
25,6	12,000	14,284	2,284	14,000	11,641	-2,359
25,6	14,000	14,284	0,284	16,000	11,641	-4,359
25,6	13,000	14,284	1,284	17,000	11,641	-5,359

Следовательно, эффект зависит от таких важнейших цитогенетических параметров, как концентрация мутагена, концентрация протектора и время введения мутагена.

Получены вполне удовлетворительные коэффициенты расхождения рядов по Тейлу как для доли аберрантных метафаз, так и для среднего числа разрывов на клетку при действии фотрина, $\Phi + \Gamma\Phi$ 2,3 и $\Phi + \text{Ц}\Phi$ на стадиях G_2 и G_1-S клеточного цикла.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 21.I 1980 г

ՅԻՏՈՒԿԵՆՏԻԿԱԿԱՆ ՊԱՐԱՄԵՏՐԵՐԻ ՎԵՐԼՈՒԾՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՖՈՏՐԻՆԻ ԷՖԵԿՏԻ ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Հ. Գ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ, Գ. Գ. ՉԱԼԻՆՅԱՆ

Յիտոգենետիկական տվյալների հիման վրա մարդու լիմֆոցիտների կուլտուրան ֆոտրինով և մոդիֆիկատորներով մշակելիս, անց է կացվել աստիճանական ռեգրեսիվ անալիզ:

Ի հայտ է բերվել, որ ֆոտրինի մոդիֆիկացիայի էֆեկտը կախված է այնպիսի կարևորագույն ցիտոգենետիկական պարամետրերից, ինչպիսիք են մուտագենի կոնցենտրացիան, պրոտեկտորի կոնցենտրացիան և կուլտուրայի մեջ մուտագենի ներմուծման ժամկետը: Ընդ որում, ստացվել են բավարար թելի կոնֆիցիենտներ՝ խաթարված մետաֆազաների և խաթարումների ընդհանուր թվի համար:

STUDY OF CYTOGENETIC PARAMETERS UNDER
PHOTRIN EFFECT MODIFICATION

H. G. BATIKIAN, G. G. ZALINIAN

A step regression analysis of cytogenetic analysis data under the treatment of human lymphocyte culture with photrin and modifiers has been carried out. It has been revealed that photrin effect depends on such important parameters as mutagen concentration, protector concentration and time of mutagen injection into the culture. As a result of step regression analysis satisfactory models have been obtained for aberration metaphasis and the level of total break.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дрейпер Н., Смит Г. Прикладной регрессионный анализ. М., 1973.
2. Залинян Г. Г., Батикян Г. Г., Арутюнян Р. М., Егиазарян С. В. Биолог. ж. Армении, 33, 3, 1980.
3. Залинян Г. Г., Батикян Г. Г., Микаелян С. Г. Биолог. ж. Армении, 32, 10, 1979.
4. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов. 256, М., 1973.
5. Тейл Г. Экономические прогнозы и принятие решений. 488, М., 1971.
6. Hungerford. Stain Technol., 40, 333—335, 1965.