

О. Г. ЧЕРЕДНИЧЕНКО

РОЛЬ МОЩНОСТИ γ -ИЗЛУЧЕНИЯ В ИНДУКЦИИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА

(Институт общей генетики и цитологии МОН РК)

Проведено сравнительное изучение действия γ -излучения с использованием двух источников, различающихся мощностью доз ионизирующего облучения (аппарат SIRUS с энергией γ -излучения $E 1,25$ МэВ и линейный электронный ускоритель ЭЛУ-2 с номинальной энергией ускоренных электронов 2 МэВ). Рассмотрены влияние мощности доз ионизирующего излучения на индукцию хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови и их способность к формированию адаптивного ответа. Выявлено, что радиочувствительность клеток зависит не только от дозы полученного облучения, но и от его мощности. Способность клеток формировать адаптивный ответ также во многом зависит от мощности адаптирующей и повреждающей доз излучения.

Проблема изучения эффектов малых доз радиации является темой широких научных дискуссий. Существующие в настоящее время представления о механизмах их биологического дей-

ствия довольно ограничены и зачастую противоречивы.

Проблемы модификации мутагенеза, в частности изучение различных адаптивных реакций,

являются сейчас предметом широких исследований во всем мире и представляются чрезвычайно актуальными для Казахстана, на территории которого имеется большое количество загрязненных, в том числе радиоконтаминированных, регионов.

При изучении адаптивных реакций остается открытым вопрос о причинах вариации степени выраженности адаптивного ответа. По сведениям разных авторов, он может зависеть от условий облучения лимфоцитов в адаптирующей и повреждающей дозах, типа излучения [1], может быть модифицирован составом среды культивирования и ее рН [2], этот эффект зависит также от временного интервала между адаптирующими и повреждающими облучениями [3]. Имеются противоречивые данные по изучению выраженности адаптивного ответа в зависимости от стадии клеточного цикла, на которой воздействовали адаптирующей и повреждающей дозами [4–6]. Кроме того, вероятно, он зависит и от мощности используемых доз облучения.

Целью настоящей работы является изучение влияния мощности доз ионизирующего излучения на индукцию хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови и их способность к формированию адаптивного ответа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы крови. Образцы периферической крови от здоровых доноров (г. Алматы) отбирали в стерильных условиях из локтевой вены в гепаринизированные флаконы.

Культивирование лимфоцитов и приготовление препарата ов. 0,5 мл периферической крови добавляли к 4,5 мл среды культивирования, состоящей из 80% среды HAMs с глутамином (2 мМ), 20% сыворотки КРС, пенициллина 100 ед/мл, стрептомицина 100 ед/мл. Деление лимфоцитов стимулировали 2% ФГА. Клетки инкубировали при 37°С в течение 48 ч.

Для накопления метафазных пластинок в культуральную среду за 2 часа до фиксации вводили колхицин в конечной концентрации 0,8 мкг/мл.

Для получения цитологических препаратов клетки гипотонизировали 0,075М КСl при 37°С 15 мин, фиксировали смесью метиловый спирт/ледяная уксусная кислота (3/1) и окрашивали 4% раствором красителя Гимза [7].

При анализе метафазных пластинок определяли число клеток с aberrациями, а также число

и тип aberrаций на 100 проанализированных метафаз. Полученные данные обрабатывали статистическими методами [8].

Радиационная обработка образцов крови (γ-излучение)

Цельную кровь в стеклянных флаконах облучали γ-квантами на аппарате SIRUS с радионуклидным источником ⁶⁰Co и энергией γ-излучения E 1,25 МэВ с мощностью доз 0,01 Гр – 138 сГр/мин и 2Гр – 12,91 сГр/мин и на линейном электронном ускорителе ЭЛУ-2 с номинальной энергией ускоренных электронов 2 МэВ с мощностью доз 0,01 Гр – 50 сГр/мин и 2 Гр – 100 сГр/мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения влияния фактора мощности на индукцию цитогенетических повреждений в лимфоцитах периферической крови было проведено сравнительное исследование частоты хромосомных aberrаций, индуцированных различными вариантами доз γ-излучения при использовании двух источников с разной мощностью ускоренных электронов – SIRUS (1,25 МэВ) и ЭЛУ-2 (2 МэВ).

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что нарушения, индуцированные одними и теми же адаптирующими дозами, но с разной мощностью, практически не различаются. Иная картина обнаруживается при изучении частоты хромосомных aberrаций при использовании больших – повреждающих доз (1 и 2 Гр). Частота хромосомных нарушений, индуцированных γ-излучением с использованием аппарата SIRUS, превышает аналогичные показатели, полученные с применением аппарата ЭЛУ-2 примерно на 25% (30/23 – 1 Гр; 30/40 – 2 Гр (см. табл. 1)). При этом увеличение aberrаций в зависимости от мощности происходит за счет более чем 2-кратного повышения числа нарушений хромосомного типа (15/34 ЭЛУ-2/ SIRUS, соответственно) $p < 0,01$, тогда как частота нарушений хроматидного типа остается на прежнем уровне (38/36).

Таким образом, радиочувствительность клеток зависит не только от величины дозы полученного облучения, но и от мощности этой дозы, т.е. с ее понижением возрастает выход цитогенетических повреждений. Вероятно, эта закономерность является универсальной, так как аналогичные данные получены при изучении цито-

Таблица 1. Изучение цитогенетических эффектов обработки лимфоцитов в G_0 фазе клеточного цикла на выход aberrаций, индуцированных разными мощностями γ -излучения

Вариант	Мощность ионизирующего излучения, с Гр/мин	Клетки с aberrациями	Число aberrаций	Хромосом. нарушения	Хроматид. нарушения
Аппарат ЭЛУ-2 с энергией ускоренных электронов 2 МэВ					
0,01 Гр	50	12±3,2	13±3,3	5±2,2	8±2,7
0,05 Гр	50	12±3,2	14±3,4	4±1,9	10±3,0
1 Гр	100	19±3,9	23±4,2	7±2,5	16±3,6
2 Гр	100	26±2,5	30±2,6	8±1,6	22±2,3
Аппарат SIRUS с энергией γ -излучения E 1,25 МэВ					
0,01 Гр	138	14±2,4	14±2,4	6±1,7	8±1,9
0,05 Гр	138	14±2,4	16±2,6	7±1,8	9±2,0
1 Гр	12,91	25±3,1	30±3,2	16±2,6	14±2,4
2 Гр	12,91	30±3,4	40±3,5	18±2,7	22±2,9

Таблица 2. Изучение формирования адаптивного ответа с использованием источников γ -излучения с различной мощностью доз

Вариант	Источник ионизир. излучения	Клетки с aberrациями	Число aberrаций	Хромосом. нарушения	Хроматид. нарушения
2 Гр	ЭЛУ-2 с энергией ускоренных электр. 2 МэВ	26±2,5	30±2,6	8±1,6	22±2,3
0,01/2 Гр*		17,6±0,9	19±0,9	9±0,7	10±0,7
0,05/2Гр**		17±0,8	18,7±0,8	4,6±0,4	14,1±0,7
2 Гр	Аппарат SIRUS с энергией γ -излучения E 1,25 МэВ	36±3,4	40±3,5	18±2,7	22±2,9
0,01/2 Гр***		34±3,3	40±3,5	24±3,0	16±2,6
0,05/2Гр***		32±3,3	38±3,4	30±3,2	8±1,9

* $p < 0,05$;** $p < 0,01$;*** $p > 0,05$

генетических повреждений в проростках ярового ячменя – с понижением мощности дозы от 90 до 12 сГр/ч увеличиваются частота хромосомных нарушений и их число на aberrантную клетку [10].

Далее мы исследовали способность лимфоцитов периферической крови, предварительно облученных дозами 0,01 и 0,05 Гр в стадии G_0 , формировать адаптивный ответ также с использованием разных мощностей доз ионизирующего излучения (табл. 2).

Из представленных данных следует, что предварительная обработка лимфоцитов периферической крови в дозах 0,01 и 0,05 Гр в стадии G_0 приводит к снижению количества aberrантных клеток, индуцированных повреждающей дозой 2 Гр (26/17,6 ($p < 0,05$) и 26/17 ($p < 0,01$) соответственно), в случае использования радиационного источника ЭЛУ-2 с мощностями доз 0,01 Гр – 50 сГр/мин и 2 Гр – 100 сГр/мин и, напротив, обнаруживается отсутствие адаптивного ответа

при использовании источника SIRUS с мощностью излучения доз 0,01 Гр – 138 сГр/мин и 2 Гр – 12,91 сГр/мин (36/34 и 36/32 соответственно ($p > 0,05$)).

По-видимому, высокая мощность излучения, использованная для адаптирующей дозы (0,01 Гр) – аппарат SIRUS, не способствует выработке фактора адаптивного ответа [11], а значительное понижение мощности излучения при повреждающем воздействии вызывает серьезные нерепарируемые изменения, приводящие к высокой частоте хромосомных aberrаций различного типа.

Следовательно, адаптивный ответ может быть индуцирован при воздействии малой дозой радиации в G_0 фазе клеточного цикла, при этом мощности доз должны лежать в интервалах 50–100 сГр/мин для адаптирующих доз 10–50 сГр/мин и для повреждающих доз.

Таким образом, не только величина поглощенной дозы облучения, но и ее мощность имеют

немаловажное значение в проявлении эффектов облучения и способности клеток формировать адаптивный ответ. Кроме того, исходя из полученных результатов при оценке генетического риска или при сравнительном анализе радиационно-индуцированных повреждений необходимо принимать во внимание показатели мощности дозы ионизирующего излучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Говорун Р.Д., Лукашова Э., Козубек С., Красавин Е., Репин М. Индукция стабильных и нестабильных аберраций хромосом в лимфоцитах крови человека при действии ускоренных заряженных частиц // 4 Съезд по радиационным исследованиям "Радиология, радиоэкология, радиационная безопасность". М., 2001. С.719.
2. Bosi A., Micheli A., Pietrosanti S. et al. // *Mutat. Res.* 1991. V.250. P.325-329.
3. Цыб Т.С., Аfliнова И.В., Комарова Е.В. Радиационный ответ клеток эукариот на низкие дозы реакторных нейтронов // 4-й съезд по радиационным исследованиям "Радиология, радиоэкология, радиационная безопасность". М., 2001. С.728.
4. Shadley J.D., Afzal V., Wolff S. Characterisation of the adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of X-rays to human lymphocytes // *Radiat. Res.* 1987. V. 111. P. 511-517.
5. Aghamohammadi S. Z., Savage J.R.K. A Brd U pulse double-labelling method for studying adaptive response // *Mutat. Res.* 1991. V. 251. P. 133-141.
6. Natarjan A.T., Obe G. Molecular mechanism involved in the production of chromosomal aberrations. I. Utilization of Neurospora endonuclease for the study of aberration production in G₂ stage of the cell cycle // *Mutat. Res.* 1978. V. 52. P. 137-149.
7. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood // *Experimental Cell Research.* 1960. V. 20. P. 613-616.
8. Плехинский Н.А. Алгоритмы в биометрии. М., 1967. С. 82.
9. Clutton S.M., Townsend K.M.S., Walker C. et al. Radiation-induced genomic instability and persisting oxidative

stress in primary bone marrow cultures // *Carcinogenesis.* 1996. V. 17, N8. P.1633-1639.

10. Удалова А.А., Гераськин С.А., Дикарев В.Г. и др. Проблема восстановления формы дозовой зависимости выхода цитогенетических нарушений в области низких доз и мощностей облучения // 4-й Съезд по радиационным исследованиям "Радиология, радиоэкология, радиационная безопасность". М., 2001. С.319.

11. Akhmatullina N.B., Leonard A., Cherednichenko O.G. et al. Studies on the Adaptive Response: Modifications in People professionally Exposed to low Doses and Search for a Transmissible Conditioning Factor // International conference "The effects of low and very low doses of ionizing radiation on human health, Versail, France, 1999. June 16-18. P. 335-340.

Резюме

Иондандырылған сәулелендіру мөлшерінің қуаттылығымен ерекшеленетін екі дереккөзін қолдану арқылы g-сәулесінің әсерін салыстырмалы түрде зерттеу жүргізілген. Е1,25 МЭВ g-сәулесінің энергиясын бөлетін SIRUS аппараты және 2МЭВ номенальды энергиямен электрондары жылдамдатылған ЭЛУ-2 тізбекті электронды жылдамдатқыш. Перифериялық қан лимфоциттарында хромосомалық аберрациялар индукциясына иондандырылған сәулелендіру мөлшерінің қуаттылығының әсері, олардың бейімділік жауап түзу қасиеті қарастырылған. Клеткалардың радиосезгіштігі қабылданған сәулелендіру мөлшерінен ғана емес, оның қуаттылығына да байланысты екендігі анықталған.

Summary

It was conducted the comparative study of r-radiation action using two sources which differs in power of ionizing radiation doses (apparatus SIRUS with energy of r-radiation E=1,25 MEV and the linear electronic accelerator ELU-2 with the nominal energy of speeded electrons 2 MEV).

We examined the influence of the power of ionizing radiation doses to the induction of chromosomal aberrations in lymphocytes of peripheral blood and how they can form the adaptive response. We determined that radiosensitivity of cells depends on the obtained radiational dose and his power.

The ability of cells to form the adaptive response also depends on the power of adapting and damaging doses of radiation.