

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

Л 241

P19-87-359

И.Л.Липидус, Е.А.Насонова

ВЫХОД СЕСТРИНСКИХ ХРОМАТИДНЫХ ОБМЕНОВ
И ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК
КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА V79-4
ПРИ ОБЛУЧЕНИИ НЕЙТРОНАМИ
С ЭНЕРГИЕЙ 0,7 МЭВ

Направлено в журнал "Радиобиология"

1987

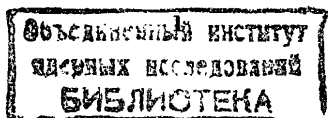
В литературе накоплена обширная информация о воздействии ионизирующих излучений на клетки млекопитающих. Однако наиболее полные и систематизированные данные имеются только для редкоионизирующих излучений. Исследования плотноионизирующих излучений касаются лишь отдельных аспектов их воздействия на биологические объекты. В наибольшей степени это относится к нейтронному излучению, особенно в том, что касается его цитогенетического действия.

В настоящее время общепризнано, что причиной образования сестринских хроматидных обменов (СХО), представляющих собой реципрокные обмены гомологичных хроматид, являются первичные повреждения ДНК, индуцируемые различными агентами: ионизирующим излучением ^{/1,2,4/} γ /3/, химическими мутагенами ^{/4/}. Как показано в ^{/1,2,5/}, ионизирующие излучения являются слабыми индукторами СХО: они увеличивают выход этого типа хромосомных перестроек всего в 1,5–2 раза. Поскольку при действии ионизирующих излучений образуются разрывы ДНК, с высокой эффективностью приводящие к образованию хромосомных аберраций ^{/6/}, то вызывает недоумение слабая эффективность их в индукции СХО. В указанных работах рассматривается, как правило, индукция СХО только излучениями с низкой ЛПЭ. Что касается излучений с высокой ЛПЭ, то нами обнаружены лишь единичные сведения ^{/7,8/}.

Поскольку в настоящее время вопрос о природе первичных повреждений ДНК, играющих решающую роль в образовании СХО, остается открытым, использование излучений с высокой ЛПЭ, приводящих к иному, чем при γ -облучении, соотношению выходов одно- и двунитовых разрывов ДНК в облученных клетках, может быть полезно в решении этого вопроса. В связи с этим целью настоящей работы являлось сравнение выхода СХО в зависимости от дозы нейтронного и γ -излучения и оценка коэффициента ОБЭ нейтронов со средней энергией 0,7 МэВ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клетки китайского хомячка V79-4 культивировали в монослое в питательной среде Игла с добавлением 20% сыворотки крупного рогатого скота. В стационарной фазе роста культуры клетки трипсинизировали, суспендировали в свежей среде до концентрации 10^5 клеток/мл и облучали γ -квантами ¹³⁷Cs в стеклянных пробирках при мощности дозы



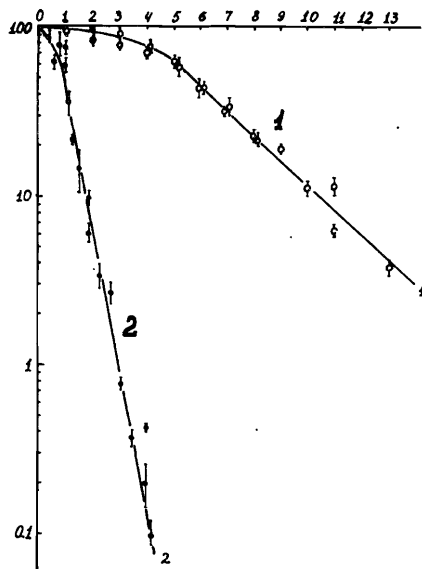


Рис.1. Зависимость выживаемости клеток V79-4 от дозы γ - (1) и нейтронного (2) излучения. По оси абсцисс - доза (Gr); по оси ординат - выживаемость (% к контролю).

ших колоний на 7 сутки после посева. Все эксперименты по облучению клеток нейтронами проводились параллельно с γ -облучением в целях нивелировки изменений чувствительности клеток в зависимости от сезона и других переходящих факторов.

Для определения выхода СХО облученные и контрольные клетки высевали на питательную среду, содержащую 10 мкг/мл 5-бромдезоксигуанидина, и культивировали 28-30 часов. За 3 часа до фиксации вводили колхицин (2,5 мкг/мл). Клетки трипсинизировали и подвергали гипотонической обработке 0,075 моль раствором КСВ в течение 9 мин. Фиксировали смесью этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1). Окраску препаратов проводили по методике /10/.

4,6 Гр/мин, а нейтронами - в полиалломерных пробирках в биофизическом канале (БЭК) импульсного реактора на быстрых нейтронах ИБР-2 (Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна). Средняя мощность дозы нейтронов (со средней энергией по потоку 0,7 МэВ) при мощности реактора 1 МВт с частотой следования импульсов 5 Гц составила 0,55-0,6 Гр/мин. Вклад γ -квантов в дозу нейтронов составил 10-15%. Подробное описание БЭК ИБР-2 и его технических возможностей приводится в работе /9/.

Для оценки выживаемости клетки высевали в чашки Петри, содержащие 10 мл питательной среды с добавлением 20-25% сыворотки крупного рогатого скота. Выживаемость определяли, подсчитывая количество вырос-

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Перед началом цитогенетических исследований нами проведено предварительное изучение выживаемости клеток китайского хомячка V79-4 при действии нейтронов, выводимых в БЭК ИБР-2. Полученные данные по выживаемости клеток в зависимости от дозы γ -квантов и нейтронного излучения приведены на рис.1. Как видно, кривая выживания клеток после γ -облучения имеет сигмоидный вид, величина экстраполяционного числа составляет 3,3, $D_0^{-1} = (0,33 \pm 0,02) \text{Gr}^{-1}$. Облучение клеток нейтронами приводило к резкому уменьшению выживаемости: при этом экстраполяционное число равно 3,0, а радиочувствительность клеток увеличилась до $D_0^{-1} = (1,82 \pm 0,01) \text{Gr}^{-1}$. Коэффициент ОБЭ нейтронов с энергией 0,7 МэВ равен 5,5. Сходные данные для нейтронов близких энергий получены и другими авторами /6,11,12/.

Результаты исследования зависимости выхода СХО от дозы γ -квантов и нейтронного излучения представлены на рис. 2. Можно видеть, что после облучения γ -квантами частота СХО на хромосому возрастает с увеличением дозы до 5 Гр, а при дальнейшем увеличении дозы выходит на плато на уровне около 0,8 СХО/хромосома. При этом в области доз 1-5 Гр она увеличивается примерно в 1,6 раза. Аналогичная ситуация описана в ряде других работ /1,2/.

Анализ индукции СХО нейтронным излучением не выявил достоверных изменений числа обменов по сравнению с контролем во всем исследованном диапазоне доз. Этот результат оказался неожиданным, поскольку во встреченных нами единичных публикациях по этому вопросу /7,8/ указывалось на увеличение выхода СХО после облучения нейтронами. Засухина и др. /7,8/ показали, что после облучения лимфоцитов периферической крови человека *in vitro* нейтронами со средней энергией 1,35 МэВ в дозах 1-4 Гр наблюдалась линейная зависимость индукции

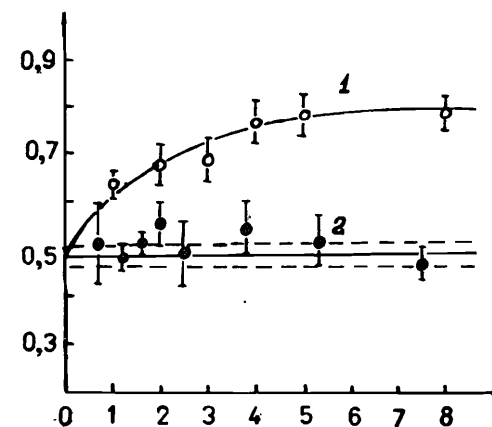


Рис.2. Зависимость выхода СХО в клетках V79-4 от дозы γ - (1) и нейтронного (2) излучения. По оси абсцисс - доза (Gr); по оси ординат - количество СХО на хромосому.

СХО от дозы. При этом в интервале указанных доз частота СХО возрастала в 1,7 раза. Пока не представляется возможным выяснить, играет ли какую-то роль различие исследованных видов клеток, более высокие плотности ионизации использованных в наших экспериментах нейтронов или разные вклады в дозу нейтронов γ -излучения.

Ранее показано, что высокие значения ОБЭ нейтронов по выживаемости хорошо согласуются с данными по индукции ими хромосомных аберраций ^{1/67}, для образования которых необходимо возникновение двунитевых разрывов ДНК. Мы полагаем, что полученные нами данные об отсутствии индукции СХО нейтронами со средней энергией 0,7 МэВ могут свидетельствовать о том, что для образования этого типа хромосомных перестроек основным является иной тип повреждений, а следовательно, и иной путь их реализации в зависимости от качества излучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marin G., Prescott D.M. Journal of Cell Biology, 1964, 21, p.159.
2. Gatti M., Pimpinelli S., Olivieri G. Mutation Research, 1974, 23, p.229.
3. Wolff S., Bodycote J., Painter R.B. Mutation Research, 1974, 25, p.73.
4. Македонов Г.П., Евграфов О.В. В кн.: Мутагенез и репарация в системе вирус-клетка. "Наука", М., 1983, с.38.
5. Livingston G.K., Dethlefsen L.A. Radiation Research, 1979, 77, 3, p.512.
6. Жербин Е.А., Капчигашев С.П., Коноплянников А.Г. и др. Биологические эффекты нейтронов разных энергий. Энергоатомиздат, М., 1984, с.91-98.
7. Засухина и др. Радиобиология, 1982, т.22, в.6, с.768.
8. Засухина Г.Д. и др. Журнал общей биологии, 1986, т.47, в.1, с.42.
9. Лapidус И.Л., Назаров В.М., Эрцгребер Г. ОИЯИ, Р19-84-286, Дубна, 1984.
10. Антошина М.М., Порядкова Н.А. Цитология и генетика, 1978, 4, с.349.
11. Hall E.D. et al. Radiation Research, 1975, 64, p.245.
12. Комова О.В. и др. В сб.: Труды III Совещания по использованию новых ядерно-физических методов для решения научно-технических и народнохозяйственных задач. ОИЯИ, 1978, Д1,2-12147, с.282.

Рукопись поступила в издательский отдел
22 мая 1987 года.

Лapidус И.Л., Насонова Е.А.

P19-87-359

Выход сестринских хроматидных обменов
и выживаемость клеток китайского хомячка
V79-4 при облучении нейтронами с энергией
0,7 МэВ

Исследованы выживаемость и образование сестринских хроматидных обменов /СХО/ при облучении клеток китайского хомячка V79-4 γ -квантами и нейтронами с энергией 0,7 МэВ в дозах 1÷8 Гр. ОБЭ нейтронов по выживаемости клеток составила 5,5. Показано увеличение выхода СХО с возрастанием дозы γ -излучения и отсутствие индукции СХО при нейтронном облучении.

Работа выполнена в Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1987

Перевод М.И.Потапова

Lapidus I.L., Nasonova E.A.

P19-87-359

Amount of Sister Chromatid Exchanges
and Survival of Chinese Hamster V79-4
Cells after Irradiation with 0,7 MeV
Neutrons

The dependence of the survival and induction of sister chromatid exchanges (SCEs) in Chinese hamster V79-4 cells on the dose of γ -rays and neutrons with average energy 0,7 MeV has been analysed. The value of RBE for neutrons was 5.5. It has been shown that the number of SCE increased with the dose of γ -irradiation and no induction could be detected after neutron irradiation.

The investigation has been performed at the Laboratory of Nuclear Problems, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1987