

P19-2003-20

Н. Л. Шмакова, Е. А. Насонова, Е. А. Красавин,
Л. А. Мельникова, Т. А. Фадеева

**ИНДУКЦИЯ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ
И МИКРОЯДЕР В ЛИМФОЦИТАХ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА
ПРИ ДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ ИЗЛУЧЕНИЯ**

Направлено в журнал «Радиационная биология. Радиозэкология»

Известно, что генетические повреждения играют критическую роль в радиационном мутагенезе и канцерогенезе. Количественная оценка цитогенетических повреждений в клетках млекопитающих и человека при действии ионизирующей радиации чрезвычайно важна, поскольку может служить критерием риска действия малых доз облучения.

До настоящего времени оценка риска малых доз осуществляется путем экстраполяции эффектов высоких доз на область низких доз. Однако в последние годы накопилось большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о нелинейном характере зависимости доза-эффект [1-6]. По выживаемости клеток млекопитающих и выходу цитогенетических повреждений получены результаты, свидетельствующие о бимодальной зависимости эффекта от дозы облучения [7-9]. В диапазоне доз ниже $\sim 0,3$ Гр показана высокая радиочувствительность клеток, обозначаемая термином "гиперчувствительность" (ГЧ); при более высоких дозах (0,5-1Гр) наблюдается повышение радиорезистентности (на единицу дозы), получившее название индуцибельной радиорезистентности (ИР). Как правило, большинству клеточных линий присуща ГЧ к очень низким дозам, которая не может быть предсказана обратной экстраполяцией с эффектов высоких доз. Феномен ГЧ/ИР связывают с индукцией процессов репарации при достижении определенного порога повреждения клеток [10,11]. Адаптивный ответ на малые дозы облучения является хорошо известным проявлением такого рода индуцибельной резистентности, изученным, главным образом, на лимфоцитах периферической крови человека [12-16].

Несмотря на большое число работ по дозовой зависимости цитогенетических эффектов облучения в лимфоцитах человека, до настоящего времени в литературе нет однозначных данных, свидетельствующих о проявлении феномена ГЧ/ИР в этих клетках.

Хромосомные aberrации (ХА) считаются наиболее чувствительным индикатором повреждающего действия ионизирующей радиации, а метод учета хромосомных aberrаций в метафазных клетках до сих пор относится к очень немногим методам оценки радиочувствительности клеток животных и человека, а также мониторинга кластогенных воздействий на организм

человека. Аберрации хромосом обнаруживаются визуально уже в первом митозе после облучения; большинство из них ведут к утрате генетического материала или несбалансированному набору его в дочерних клетках, что чаще всего приводит к их гибели. Однако для получения статистически значимых результатов при действии малых доз необходимо анализировать большое количество делящихся клеток. В настоящее время в исследованиях на лимфоцитах наиболее часто применяется микроядерный тест (МЯ), более простой и быстрый, являющийся приближенным количественным показателем хромосомных повреждений [17,18] и во многих клеточных системах хорошо коррелирующий с выживаемостью [19,20].

Задача настоящего исследования состояла в изучении дозовой зависимости индукции цитогенетических повреждений в лимфоцитах периферической крови человека при действии малых доз ионизирующего излучения. Использовали метафазный и анафазный методы исследования ХА, а также МЯ-анализ в интерфазных клетках, заблокированных в процессе цитокинеза с использованием цитохалазина Б, и без него.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Образцы периферической крови от двух доноров объемом 50 мл каждый собирали гепаринизированным шприцем и отстаивали в пробирках при 37⁰ С в течение 1,5 – 2 ч. Собирали плазму крови и добавляли двойное количество среды RPMI1640 с добавлением 10% фетальной сыворотки, 2 мМ глутамина, пенициллина (100 ед./мл) и стрептомицина (100 мкг/мл). Суспензию разливали по чашкам Карреля и облучали при комнатной температуре. Каждый облученный образец разливали на три чашки, добавляли среду указанного состава, содержащую 1% фитогемагглютинаина, и инкубировали в атмосфере 5% CO₂ при 37⁰С.

Препараты для метафазного анализа готовили по стандартной методике: колцемид (0,1мкг/мл) вводили за 3 часа до фиксации, гипотоническую обработку проводили теплым 0,075 М раствором KCl,

фиксируют через 48 ч после начала культивирования с ФГА. Для анафазного анализа клеточную суспензию фиксируют после 49 ч культивирования, не подвергая воздействию колцемида и гипотоника. Для микроядерного теста цитохалазин Б (ЦХ) (5 мкг/мл) добавляют через 24 ч после начала культивирования с ФГА, фиксируют через 58 ч, перед фиксацией подвергая для сохранения цитоплазмы легкому гипотоническому воздействию (0,075 М КСl, разбавленный средой в соотношении 4:1) в течение 10 мин [21-23]. Все клетки фиксируют смесью (3:1) метанола и ледяной уксусной кислоты и окрашивают 3% раствором красителя Гимза.

При анализе ХА анафазным методом просчитывали ~1000 анафаз на дозу, определяя частоту аберрантных клеток, куда включались клетки с мостами и клетки с фрагментами. Количество клеток, проанализированных метафазным методом, приведено в табл. 1 и 2. Учитывали аберрации хромосомного типа, включающие хромосомные фрагменты и хромосомные обмены, куда входили дицентрики и центрические кольца с относящимися к ним ацентрическими (АЦ) фрагментами, ацентрические кольца и интерстициальные делеции, а также хроматидные фрагменты и обмены, включающие все виды интер- и интрахромосомных перестроек, определяемых без кариотипирования. При подсчете МЯ в клетках, заблокированных в процессе цитокинеза (ЦБ) с использованием ЦХ, анализировали 1,5-2,5 тыс. клеток. МЯ считали только в двуядерных лимфоцитах с хорошо сохранившейся цитоплазмой в соответствии с общепринятыми критериями [24, 25]. Кроме того, для сравнения частоту клеток с МЯ подсчитывали, согласно другой методике [26], на препаратах, предназначенных для метафазного метода, т.е. без цитохалазина, фиксированных через 48 ч после облучения, относя при этом число клеток с микроядрами к общему числу просчитанных интерфазных ядер (около 6 тыс. на дозу). Использовали те же критерии подсчета, но так как цитоплазма отсутствовала, то МЯ считали относящимися к ядру, если оно располагалось на расстоянии, не превышающем два диаметра ядра [26].

Для облучения лимфоцитов использовали γ -лучи ^{60}Co с мощности дозы 0,18 Гр/мин и 250 кэВ рентгеновское излучение (20 мА, фильтры 1 мм Си и 1 мм Al) с мощностью дозы 2 Гр/мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 и 2 представлены результаты метафазного анализа ХА в лимфоцитах человека после рентгеновского и γ -облучения. Спонтанные ХА, обнаруженные соответственно в 3,6 и 2,8% необлученных клеток, представлены в основном хроматидными фрагментами, количество которых в основном возрастает с дозой облучения до 0,05 Гр. Аберрациями, определяющими характер дозовой зависимости при более высоких уровнях облучения, являются хромосомные обмены и фрагменты, преимущественно индуцируемые при облучении нестимулированных (G_0) лимфоцитов человека [23, 27, 28]. Эти типы аберраций, индуцируемые примерно в равных количествах, начинают превалировать с дозы 0,2 - 0,3 Гр рентгеновского и 0,5 - 0,7 Гр γ -облучения (более 50% общего числа аберраций), тогда как при дозе 1 Гр их вклад составляет 70- 80%.

Частота аберрантных метафаз и анафаз и число аберраций на сто клеток в зависимости от дозы облучения показаны на рис. 1 и 2. Кривые доза-эффект имеют сходный ярко выраженный нелинейный характер. При γ -облучении в диапазоне 0-0,05 Гр процент клеток с аберрациями резко возрастает по сравнению с контрольным уровнем (участок ГЧ), затем значительно снижается. При рентгеновском облучении минимальная доза составляла 0,15 Гр, поэтому ГЧ не выявлена. Однако в обоих случаях в диапазоне \sim 0,3-0,5 Гр имеет место дозозависимый участок. При дозах выше 0,5 Гр резистентность клеток повышается (ИР) и дозовая зависимость становится линейной. На участке ГЧ на 0,01 Гр при γ -облучении индуцируется \sim 1% аберрантных клеток (0,85% при метафазном анализе и 1,15% при анафазном); на участке ИР - 0,17% и 0,07% по числу аберрантных метафаз и

анафаз соответственно. Таким образом, при переходе от ГЧ к ИР наклон кривой меняется в 5-10 раз.

Для анализа индукции цитогенетических нарушений малыми дозами излучений нами были использованы различные методы, т.к. каждый из них имеет свои достоинства и недостатки. Так, метафазный метод трудоемок, зато позволяет анализировать широкий спектр хромосомных перестроек и судить о механизмах их образования. В то же время метод не дает представления о судьбе клетки, несущей ту или иную аберрацию. Так, дицентрик может успешно поделиться, репродуцируясь в последующем цикле в обеих дочерних клетках, либо сформировать мост в анафазе, который приведет клетку к гибели вследствие нерасхождения дочерних ядер или, при разрыве моста, вследствие неравномерного распределения генетического материала между дочерними клетками. Анафазный метод прост и менее трудоемок, позволяет проследить судьбу клетки, несущей ХА (отставший в процессе деления фрагмент или мост в анафазе с большой вероятностью означают гибель клетки). В то же время анафазный метод кроме структурных ХА регистрирует и другие нарушения в процессе деления, например, нерасхождение и потерю целых хромосом и хроматид, которые бывает трудно отличить от АЦ-фрагментов. Серьезным недостатком этого метода при работе с лимфоцитами человека, в отличие от асинхронных монослойных культур, является малая продолжительность анафазы и невозможность накопить клетки на этой стадии, подобно накоплению метафаз коллечкидом.

Простой и быстрый МЯ-тест часто пытаются использовать в качестве биодозиметра и для оценки индивидуальной радиочувствительности, т.к. МЯ формируются из ХА, в основном, АЦ-фрагментов [27, 29], однако связь МЯ с ХА сложна и неоднозначна [17, 23, 27, 29] вследствие различных причин, рассматриваемых ниже. Кроме того, МЯ-метод совершенно не учитывает вклад обменных аберраций в радиационный эффект, который весьма значителен при облучении нестимулированных лимфоцитов человека.

Как видно из сопоставления зависимостей доза-эффект на рис. 1 и 2, форма кривой, полученная двумя методами анализа ХА, хорошо

воспроизводится, однако кривая, полученная анафазным методом, лежит выше кривой, полученной при анализе метафаз. Это различие в основном связано с более высоким уровнем ХА, регистрируемым анафазным методом в контроле. Большее число спонтанных ХА, выявляемых в анафазе, вероятно, обусловлено теми же причинами, что и высокий спонтанный уровень МЯ, содержащих центромеры и кинетохоры (до 60-80%), а именно, нарушением процесса деления клетки на стадии расхождения хромосом в анафазе [30-32]. Отставшие в анафазе хромосомы формируют МЯ, содержащие целую хромосому или хроматиду. При облучении число анафаз с ХА, так же, как и МЯ, увеличивается, главным образом, за счет ацентрических фрагментов, т.е. истинных разрывов хромосом [30-33], причем при малых дозах, где вклад спонтанных ХА в общий выход значителен, частота aberrантных клеток в метафазах остается ниже, чем в анафазах, но с ростом дозы до 1 Гр эта разница уменьшается (рис. 1,2).

На рис. 2 и 3 показана дозовая зависимость индукции МЯ в интерфазных ЦБ двуядерных клетках, и без ЦХ. Оба метода регистрации клеток с микроядрами четко выявляют ГЧ в диапазоне 0,01-0,05 Гр, сменяющуюся дозозависимым участком, а с ~ 0,5 Гр наблюдается линейная зависимость (ИР), характеризующаяся в 6-7 раз меньшим наклоном, чем в диапазоне ГЧ, что хорошо коррелирует с данными, полученными по ХА.

Результаты, представленные на рис 1 и 3, позволяют сопоставить количество клеток с ХА и МЯ в первом пострадиационном митозе. Как видно, процент клеток с МЯ ниже, чем с ХА, и эта разница увеличивается с ростом дозы.

Количественные различия числа aberrантных метафаз и клеток с МЯ при действии ионизирующей радиации были отмечены многими авторами [17, 27; 28, 34, 35] и свидетельствует о том, что, хотя МЯ образуются из ХА, преимущественно АЦ-фрагментов, однозначной связи между ними нет: так, по Сэвэджу [36-37], не все ацентрики формируют МЯ, часть из них увлекается в дочернее ядро массой хромосом при делении; несколько АЦ-фрагментов могут формировать одно МЯ; фрагменты, видимые в анафазе на экваторе деления,

могут втягиваться обратно и поглощаться дочерним ядром; сестринские хроматиды хромосомного фрагмента могут разделяться, образуя два МЯ; разорванные в анафазе мосты также могут давать АЦ-фрагменты и соответственно, МЯ. Вероятность всех этих процессов может быть непостоянной и зависеть от размера, числа, происхождения фрагментов и множества неизвестных нам факторов. Кроме того, МЯ часто не регистрируются вследствие их малого размера или наложения ядра [38].

Как уже отмечалось, спонтанные МЯ в лимфоцитах на 60-80%, по разным оценкам [30-32], содержат целые хроматиды или хромосомы, т.е. обязаны своим происхождением процессам нарушения расхождения хромосом, дефектам митотического веретена, в то время как радиационно-индуцированные МЯ более, чем на 90% состоят из АЦ-фрагментов. Поэтому при малых дозах, где спонтанные МЯ составляют весомую часть общего числа МЯ, они могут “смазывать”, маскировать радиационный эффект, искажая дозовую зависимость. В небольшом числе работ, посвященных сравнению выхода МЯ и ХА в лимфоцитах человека, спонтанный уровень МЯ превышает число ХА [23, 27,39]; при облучении выход ХА либо сразу превышает число МЯ [23], либо достигает этого уровня к $\sim 0,7$ Гр [27], а с ростом дозы разрыв между этими показателями растет. Та же тенденция отмечается и в наших экспериментах, хотя число клеток с МЯ несколько ниже как в контроле, так и во всем исследованном диапазоне доз, что может быть связано с ранним сроком исследования МЯ (58 ч), тогда как максимальный выход МЯ, согласно Фенеч и Мерли [21], приходится на 72 ч.

Метод подсчета МЯ в интерфазных клетках без блока цитокинеза ЦХ считается наименее информативным [21], так как поделившиеся клетки с МЯ рассчитываются на общую популяцию лимфоцитов, включая нестимулированные и неделящиеся, так что процент МЯ зависит от:

- 1) пропорции клеток, стимулированных митогеном;
- 2) пропорции стимулированных клеток, которые поделились к моменту исследования;
- 3) от судьбы МЯ в клетках, которые поделились более 1 раза. Все эти факторы

варьируют как у разных доноров, так и у одного донора в зависимости от условий эксперимента.

Таким образом, метафазный анализ остается наиболее универсальным и точным в оценке **радиационно-индуцированных аберраций хромосом**, хотя сравнительные оценки разными методами позволяют изучать роль иных процессов, таких, как нарушения деления, потеря хромосом и т.д., влияющих на выживаемость клеток. Тем не менее, все использованные нами методы позволили выявить основные закономерности действия малых доз облучения на лимфоциты человека.

Полученные нами данные однозначно свидетельствуют, о том, что несмотря на количественные различия цитогенетических показателей, полученных разными методами, все они отражают сложную зависимость доза-эффект, характеризующуюся ГЧ при дозах ниже 0,05 Гр, дозозависимым участком в диапазоне 0,05-0,5 Гр и линейной зависимостью на фоне повышенной радиорезистентности (ИР) при более высоких дозах. Аналогичные эффекты малых доз были продемонстрированы по выживаемости многих клеточных линий в [7,8,10,11] и в наших работах по цитогенетическим показателям на клетках китайского хомячка и меланомы человека *in vitro* [9,40]. Кроме того, в работах многих авторов представлены данные, полученные на лимфоцитах человека, свидетельствующие о наличие дозозависимого участка на кривой доза-эффект [18,39, 41-43], и даже ГЧ [39, 41], хотя авторами делается вывод лишь о нечувствительности метода МЯ при малых дозах, что вкупе с высокой вариабельностью между донорами делает его непригодным для биодозиметрии. Тогда как, исходя из наших данных, биодозиметрия в области малых доз невозможна в принципе, вне зависимости от выбранного теста и типа клеток, так как положение (и/или наличие) и амплитуда пика ГЧ и диапазон дозозависимости заметно варьируют в зависимости от донора, выбора доз, времени и условий исследования и множества других факторов.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о неправомерности оценки риска малых доз облучения путем линейной

экстраполяции с эффектов высоких доз, поскольку биологический ответ на действие ионизирующей радиации меняется с дозой вследствие, как полагают, индукции процессов репарации, "запуск" которых происходит после некоторого порога повреждения клеток. Оценка риска при дозах ниже 0,5 Гр при настоящем уровне понимания феномена ГЧИР не представляется возможной, и генетический риск, по всей вероятности, в значительной степени зависит от метаболического, физиологического состояния клеток, тканей, организма и от их способности к индукции процессов репарации.

Феномен ГЧИР имеет отношение не только к проблеме риска при облучении малыми дозами, но и к вопросу биологической дозиметрии. Как отмечает А.В.Севаньяев [44], успешная оценка индивидуальных доз на основе анализа ХА возможна при дозах облучения порядка 0,5 Гр и выше. Причина этого очевидна исходя из анализа представленных нами данных.

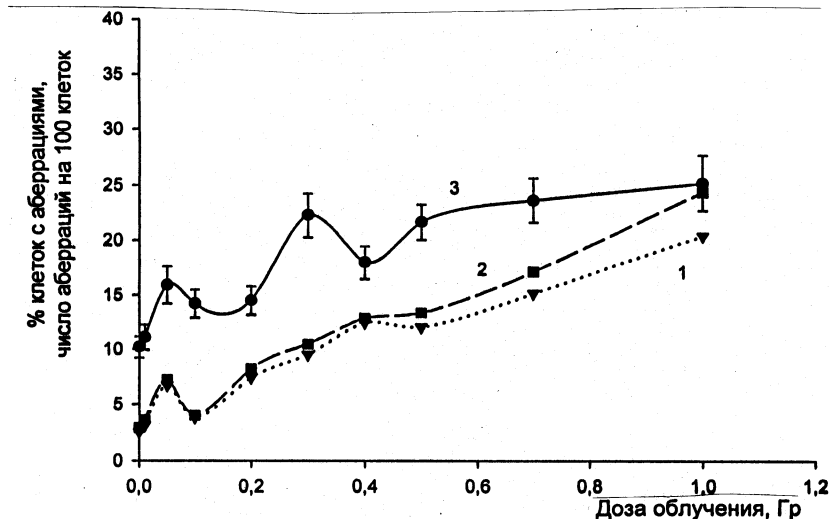


Рис.1. Процент клеток с хромосомными абберациями (1,3) и число аббераций на 100 клеток (2), выявляемых метафазным (1,2) и анафазным (3) методами в лимфоцитах человека после γ -облучения

Стандартные ошибки величин для кривых 1 и 2 приведены в табл. 1.

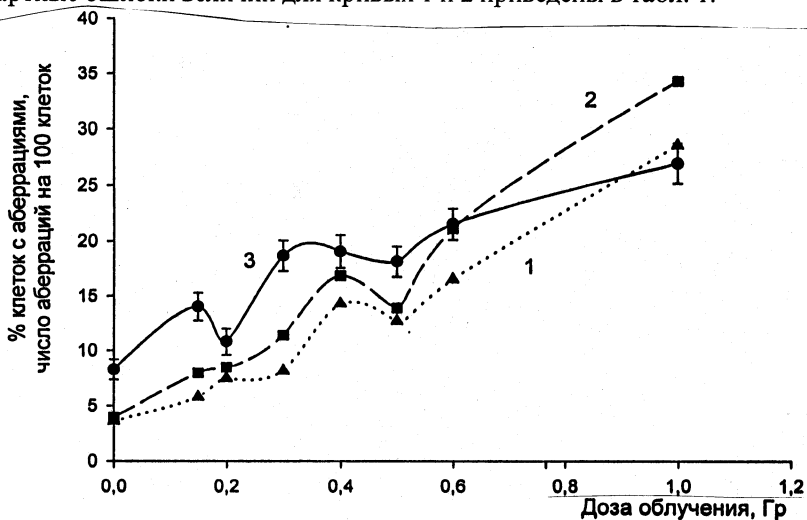


Рис. 2. Процент клеток с хромосомными абберациями (1,3) и число аббераций на 100 клеток (2), выявляемых метафазным (1,2) и анафазным (3) методами в лимфоцитах человека после рентгеновского облучения

Стандартные ошибки величин для кривых 1 и 2 приведены в табл. 2.

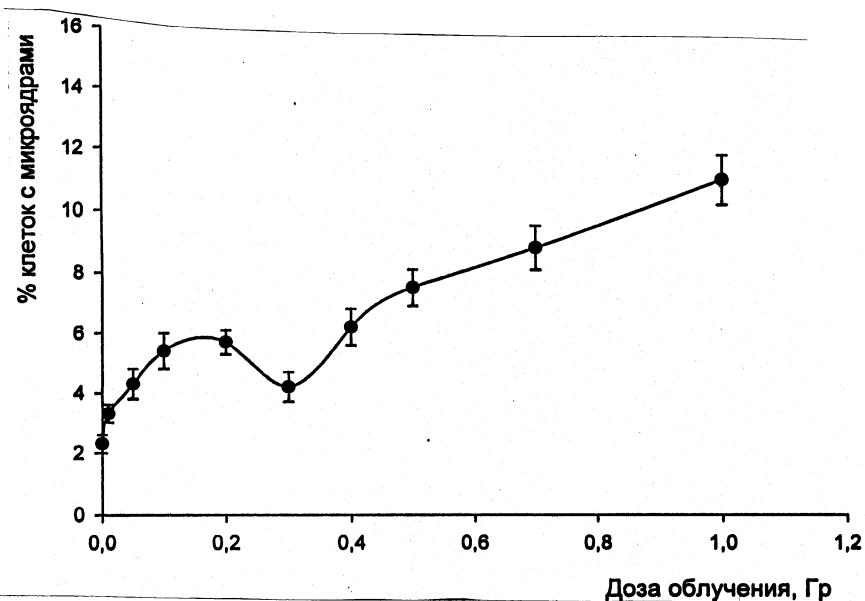


Рис. 3. Процент клеток с микроядрами среди двуядерных цитохалазин блокированных лимфоцитов человека после γ -облучения

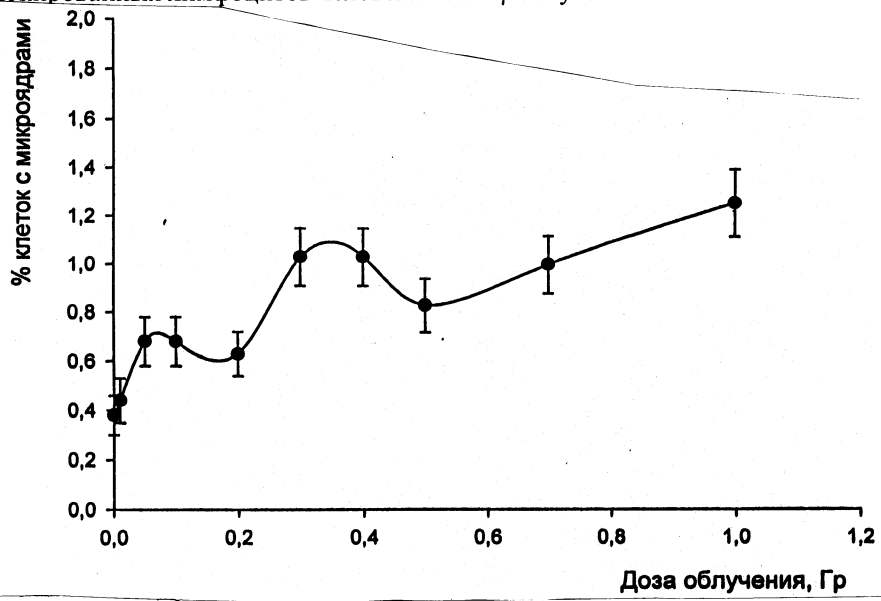


Рис. 4. Процент клеток с микроядерами, выявляемый без цитохалазина, в лимфоцитах человека после γ -облучения

Таблица 1. Частота хромосомных aberrаций, выявляемых метафазным методом в лимфоцитах человека после γ -облучения

Доза, Гр	Число просчитанных клеток	% aberrантных клеток	Хроматидные фрагменты	Хромосомные фрагменты	Хромосомные обмены	Хроматидные обмены	Сумма aberrаций
0	1194	$2,8 \pm 0,5$	2,8	0,1	0	0	$2,9 \pm 0,5$
0,01	1190	$4,4 \pm 0,6$	3,8	1,0	0,1	0,1	$5,0 \pm 0,6$
0,05	1140	$7,0 \pm 0,8$	5,4	1,0	0,6	0,1	$7,1 \pm 0,8$
0,1	1111	$3,9 \pm 0,6$	2,4	1,1	0,3	0,2	$4,0 \pm 0,6$
0,2	721	$7,4 \pm 1,0$	5,5	1,8	0,9	0	$8,2 \pm 1,0$
0,3	659	$9,5 \pm 1,2$	6,7	1,2	2,5	0,1	$10,5 \pm 1,3$
0,4	648	$12,5 \pm 1,4$	7,4	2,8	2,6	0,1	$12,9 \pm 1,4$
0,5	439	$12,1 \pm 1,7$	6,8	3,2	3,4	0	$13,4 \pm 1,7$
0,7	448	$15,2 \pm 1,8$	6,0	5,1	5,8	0,3	$17,2 \pm 2,0$
1	449	$20,5 \pm 2,1$	6,9	8,5	9,1	0	$24,5 \pm 2$

Частота отдельных видов aberrаций и суммарный выход aberrаций даны из расчета на 100 клеток (столбцы 4-8). Погрешности числа aberrантных клеток и суммарного выхода aberrаций рассчитывались как v / N , где v - число aberrантных клеток или aberrаций, а N - число проанализированных клеток

Таблица 2. Частота хромосомных aberrаций, выявляемых метафазным методом в лимфоцитах человека после рентгеновского облучения

Доза, Гр	Число просчитанных клеток	% aberrантных клеток	Хроматидные фрагменты	Хромосомные фрагменты	Хромосомные обмены	Хроматидные обмены	Сумма aberrаций
0	768	$3,6 \pm 0,7$	3,0	0,3	0,3	0,3	$3,9 \pm 0,7$
0,15	1540	$5,8 \pm 0,6$	3,2	1,6	1,8	1,4	$8,0 \pm 0,7$
0,2	989	$7,5 \pm 0,8$	2,9	2,9	2,1	0,6	$8,5 \pm 0,9$
0,3	667	$8,2 \pm 1,1$	2,3	3,5	4,3	1,3	$11,4 \pm 1,3$
0,4	712	$14,3 \pm 1,4$	5,8	3,9	6,5	0,7	$16,9 \pm 1,5$
0,5	949	$12,7 \pm 1,1$	3,2	4,4	5,9	0,4	$13,9 \pm 1,2$
0,6	813	$16,6 \pm 1,4$	5,2	6,2	8,7	1,1	$21,2 \pm 1,6$
1	878	$28,7 \pm 1,8$	3,6	11,7	18,6	0,6	$34,5 \pm 2,0$

Частота отдельных видов aberrаций и суммарный выход aberrаций даны из расчета на 100 клеток (столбцы 4-8). Погрешности числа aberrантных клеток и суммарного выхода aberrаций рассчитывались как $v \cdot p / N$, где p - число aberrантных клеток или aberrаций, а N - число проанализированных клеток

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pohl-Rulling J., Fisher P., Haas O. et al. // *Mutat. Res.* 1983. V. 110. P. 71-82.
2. Lloyd D.C., Edwards A., Leonard A. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1992. V. 61. P. 325-343.
3. Севанькаев А.В., Лучник Н.В. // *Генетика.* 1977. Т. 13. Вып. 3. С. 524-532.
4. Гераськин С.А. // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 563-571.
5. Заичкина С.И., Аптикаева Г.Ф., Ахмадиева А.Х. и др. // *Радиобиология.* 1992. Т. 32. Вып.1. С. 38-41.
6. Mitchell J.C., Norman A. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1987. V. 52. P. 527-535.
7. Joiner M.C., Lambin P., Malaise E.P. et al. // *Mutat. Res.* 1996. V. 358. P. 171-183.
8. Lambin P., Fertl B., Malaise E.P., Joiner M.C. // *Radiat. Res.* 1994. V. 38. S. 32 - S. 36.
9. Shmakova N.L., Fadeeva T.A., Krasavin E.A. et al. // *Nucleonika.* 1999. V. 44. P. 539-548.
10. Skov K.A. // *Mutat. Res.* 1999. V. 430. P. 241-253.
11. Joiner M.C., Marples B., Lambin B. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 2001. V. 49. P. 379-389.
12. Olivieri G., Bodycote J., Wolff S. // *Science.* 1984. V. 223. P. 549-557.
13. Wiencke J.K., Afzal V., Olivieri G., Wolff S. // *Mutagenesis.* 1986. V. 1. P. 375-380.
14. Wolff S., Afzal V., Wiencke J. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1988. V. 53. P. 39-48.
15. Shadley J.D., Wolff S. // *Mutagenesis.* 1987. V. 2. P. 95-96.
16. Shadley J.D., Wienske J. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1989. V. 56.. P. 107-118.
17. Jones L.A., Clegg S., Bush C. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1994. V. 66. P. 39-642.
18. Krepinsky A.B., Heddle J.A. // In: *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man.* 1983. A.R. Liss, N.Y. P. 93-109.

19. Grote S. J., Joshi G.P., Revell S.H., Show C.A. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1981. V. 39. P. 395-408.
20. Revell S.H. // In: *Radiation-Induced Chromosome Damage in Man*. 1983. A.R. Liss, N.Y. P. 215-233.
21. Fenech M., Morley A.A. // *Mutat. Res.* 1985. V.147. P. 29-36.
22. Migliore L., Parrini M., Sbrana I. et al. // *Mutat. Res.* 1991. V. 256. P.13-20.
23. Ramahlo A., Sunjevaric I., Natarajan A.T. // *Mutat. Res.* 1988. V. 207. P. 141-146.
24. Almasy Z., Krepinsky A.B., Bianco A. et al. // *Appl. Radiat. Isot.* 1987. V. 38 P 241-248.
25. Fenech M. // *Mutat. Res.* 1993. V. 285. P. 35-44.
26. Hoegstedt B. // *Mutat. Res.* 1984. V. 130. P. 63-72.
27. Bilbao A., Prosser J.S., Edwards A.A. et al.// *Int. J. Radiat. Biol.* 1989. V. 56. N.3. P. 287-292.
28. Prosser J.S., Moquet J.E., Lloyd D.C., Edwards A.A. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1988. V. 47. P. 423-432.
29. Obe G.// In: *Chromosomal Aberrations. Basic and applied aspects*. 1984. Springer-Verlag. P. 212-221.
30. Vral A., Thierens H., De Ridder L. // *Int. J. Radiat. Biol.* 1997. V. 71. P. 61-68.
31. Norppa H., Renzi L., Lindholm C. // *Mutagenesis*. 1993. V. 8. P. 519-525.
32. Huber R., Salassidis K., Kulka U. et al. // *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1996. V. 27. P. 105-109.
33. Kryscio A., Muller W-U., Wojcik A. et al. // *Int. J. Radiat. Biol.* 2001.V. 77. P. 1087-1093.
34. Kormos. C., Koteles G.J. // *Mutat. Res.* 1988. V. 199. P. 31-35.
35. Littlefield L.G., Sayer A.M., Frome E.L. // *Mutagenesis*. 1989. V. 4. P. 267-270.
36. Savage J.R.K. // *Mutat. Res.* 1988. V. 207. P. 33-36.
37. Savage J.R.K. // *Mutat. Res.* 1989. V. 225. P. 171-173.
38. Cornforth M.N., Goodwin E.H. // *Radiat. Res.* 1991. V. 126. P. 210-217.
39. Silva M.J., Carothers A., Dias A. et al.// *Int. J. Radiat. Biol.* 1994.V. 322. P. 117-128.

40. Шмакова Н.Л., Абу Зеид О., Фадеева Т.А. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. N 4. С. 405-409.
41. Vral A., Louagie H., Thierens H. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1998. V.73. P. 549-555.
42. Verhaegen F., Vral A. // Radiat. Res. 1994. V.139. P.208-213.
43. Воробцова И.Е., Канаева А.Ю., Тимофеева Н.М. и др. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. Вып. 2. С. 117-123.
44. Севаньяев А.В. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2000. Т. 40. N 5. С. 589-595.

Получено 31 января 2003 г.

Индукция хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах периферической крови человека при действии малых доз излучения

Изучали индукцию хромосомных повреждений малыми дозами γ -излучения ^{60}Co и рентгеновских лучей в лимфоцитах периферической крови человека с использованием различных цитогенетических методов. Изолированные лимфоциты облучали в дозах 0,01–1,0 Гр, стимулировали фитогемагглютинином и анализировали хромосомные нарушения метафазным и анафазным методами и с использованием микроядерного теста. Несмотря на количественные различия частоты хромосомных нарушений, выявляемой разными методами, все они отражают сложный нелинейный характер зависимости эффекта от дозы. При дозах 0,01–0,05 Гр клетки проявляют максимальную радиочувствительность. В диапазоне 0,05–0,5 Гр имеет место дозозависимый участок. При 0,5–1 Гр зависимость доза–эффект приобретает линейный характер, при этом клетки проявляют повышенную радиорезистентность — наклон кривой уменьшается по сравнению с первоначальным в несколько раз (5–10 по различным критериям). Полученные данные свидетельствуют о неправомерности оценки риска малых доз облучения путем линейной экстраполяции с эффектов высоких доз, т. к. при этом имеет место недооценка эффективности малых доз, и о невозможности биодозиметрии при дозах ниже 0,5 Гр. Обсуждаются преимущества и недостатки использованных цитогенетических методов.

Работа выполнена в Отделении радиационных и радиобиологических исследований ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 2003

Перевод авторов

The Induction of Chromosome Aberrations and Micronuclei in Human Peripheral Blood Lymphocytes at Low Doses of Radiation

The chromosome damage induced by the low doses of γ -irradiation with ^{60}Co and X-rays in peripheral blood lymphocytes has been studied using different cytogenetic assays. Isolated lymphocytes were exposed to 0.01–1.0 Gy, simulated by PHA, and analysed for chromosome aberrations by the metaphase and the anaphase methods, by the micronucleus assay. Despite the quantitative differences in the amount of chromosome damage revealed by different methods, all of them demonstrated complex nonlinear dose dependence of the frequency of aberrant cells and aberrations. At the dose range of 0.01–0.05 Gy the cells showed the highest radiosensitivity; at 0.05–0.5 Gy the dose-independent induction of chromosome damage was revealed. At the doses of 0.5–1.0 Gy the dose-effect curves became linear with the decreased slope compared with the initial one (by a factor of 5 to 10 for different criteria) reflecting a higher radioresistance of the cells. These data confirm the idea that the direct linear extrapolation of high-dose effect to low-dose range is incorrect and leads to underestimation of chromosome damage produced by low radiation doses. Similarly, the biodosimetry at the doses below 0.5 Gy is not reliable. Preferences and disadvantages of the used cytogenetic assays are discussed.

The investigation has been performed at the Division of Radiation and Radiobiological Research, JINR.

Редактор *М. И. Зарубина*
Макет *Н. А. Киселевой*

Подписано в печать 18.02.2003.

Формат 60 × 90/16. Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 1,0. Уч.-изд. л. 1,15. Тираж 220 экз. Заказ № 53771.

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@pds.jinr.ru

www.jinr.ru/publish/