



Цитогенетические эффекты низких доз нейтронов в клетках млекопитающих

Корякина Е.В. • Потетня В.И.

Корякина Екатерина Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела радиационной биофизики¹
✉ 249036, Калужская область,
г. Обнинск, ул. Королева, 4, Российская Федерация. Тел.: +7 (484) 399 70 13.
E-mail: ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Потетня Владимир Иванович – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела радиационной биофизики¹

Актуальность. В связи с облучением больших групп людей в малых дозах при лечебных и диагностических процедурах и потребностью прогнозирования канцерогенного риска облучения представляется актуальным изучение закономерностей биологических эффектов малых доз радиации. Относительно мало исследованы особенности биологического действия нейтронного излучения и его эффекты на цитогенетическом уровне в области малых доз, при этом они могут быть важны при проведении нейтронной терапии и разработке нормативных документов по радиационной защите на ускорителях ионов, в том числе терапевтического назначения.

Цель – изучение закономерностей образования структурных повреждений хромосом в клетках млекопитающих при действии быстрых нейтронов в области доз до 1 Гр.

Материал и методы. Цитогенетическую эффективность нейтронов с энергией 14,5 МэВ исследовали на лимфоцитах крови человека и клетках китайского хомячка CHO-K1. Диапазон доз нейтронов составлял 0,1–1,2 Гр, мощностей доз – 0,3–60 мГр/мин, частота следования импульсов – 50, 5, и 0,017 Гц. Приготовление

препаратов хромосом проводили по общепринятым стандартным методикам. При анализе учитывали весь спектр aberrаций хромосом.

Результаты. В исследованном диапазоне доз нейтронов для обеих клеточных культур наблюдалась одинаковая закономерность: резкий подъем выхода aberrаций хромосом при дозах 0,12–0,15 Гр, замедление роста числа aberrаций с увеличением дозы нейтронов до 0,3–0,5 Гр, далее стандартная дозовая зависимость. Указанная закономерность выявлена как по суммарной частоте aberrаций хромосом, так и по частоте дицентриков (лимфоциты) и парных фрагментов (CHO-K1).

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о проявлении феномена гиперчувствительности и индуцированной радиорезистентности в клетках лимфоцитов человека и китайского хомячка при действии нейтронов с энергией 14,5 МэВ.

Ключевые слова: aberrации хромосом, нейтронное излучение, низкие дозы, гиперчувствительность, индуцированная радиорезистентность.

doi: 10.18786/2072-0505-2015-41-72-78

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России; 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Жукова, 10, Российская Федерация

В последние годы возрождается интерес к изучению биологического действия нейтронов, обусловленный в частности необходимостью радиобиологически обоснованного решения практических задач онкотерапии и радиационной защиты.

Несмотря на определенные недостатки дозового распределения в теле пациента, нейтроны потенциально могут занять достаточно обширную нишу в арсенале лучевой терапии. Знание закономерностей действия нейтронов в области малых доз важно в плане радиационной



защиты и для онкологии, поскольку нейтроны составляют основную величину фона на современных терапевтических комплексах ускорителей протонов и ионов, а также на атомных реакторах.

В 1990-е гг. на клетках млекопитающих был обнаружен нерегулярный ход дозовых кривых выживаемости в диапазоне доз γ -излучения до 1 Гр, который получил название феномена/эффекта гиперчувствительности – индуцированной радиорезистентности (ГЧ/ИР) [1]. Он проявлялся в наличии начального участка с высокой радиочувствительностью, за ним следовала область более или менее выраженного плато, а затем был переход к регулярной линейно-квадратичной зависимости. Как полагают, феномен обусловлен особенностями работы репарационных систем клеток млекопитающих и, возможно, связан с такими феноменами, как адаптивная реакция и обратный эффект мощности дозы [2].

Ретроспективный анализ результатов экспериментальных исследований показал, что этот двойной феномен наблюдался раньше и в цитогенетических исследованиях. В работе А.В. Севаньяева, где впервые было продемонстрировано наличие плато на начальном участке дозовой кривой выхода аберраций хромосом в лимфоцитах человека после воздействия γ -излучения [3], отчетливо проявляется участок гиперчувствительности, но это не привлекло внимания исследователей.

Впоследствии феномен ГЧ/ИР регистрировали на разных линиях нормальных и опухолевых клеток при действии не только рентгеновского или γ -излучения, но и протонов, пи-мезонов, альфа-частиц, ионов углерода [2, 4, 5, 6]. При действии нейтронов со средней энергией 2,5 МэВ на клетки V-79 феномен ГЧ/ИР не проявлялся [7], так же как и при облучении нейтронами с энергией 14–15 МэВ клеток меланомы человека при высокой (40 мГр/мин) мощности дозы, но при низкой (0,8 мГр/мин) обнаруживался по тестам выживаемости и образования аберраций хромосом [8].

Целенаправленных работ, посвященных феномену ГЧ/ИР при цитогенетическом действии нейтронов разных энергий на клетки млекопитающих, проведено не было, поскольку пик исследований пришелся на годы, предшествующие его обнаружению. Так, в цитогенетических исследованиях на лимфоцитах человека в стадии G_0 показано, что в отличие от γ -излучения при воздействии нейтронов со средней энергией

0,04, 0,09, 0,35, 0,7, 0,85 МэВ наблюдается линейная зависимость выхода аберраций хромосом от дозы в диапазоне 2–170 сГр, то есть в области возможного проявления эффекта ГЧ/ИР [9], а для нейтронов с энергией 14,7 МэВ – линейно-квадратичная [9, 10, 11].

Таким образом, к настоящему времени нет надежных количественных данных о биологических эффектах, вызванных низкими дозами нейтронных излучений. И следовательно, нельзя однозначно определить, дают ли экстраполяции с высоких доз завышенные или, наоборот, заниженные оценки радиобиологического эффекта и радиационных рисков при низких дозах. При этом крайне важными представляются полнота и надежность физико-дозиметрических характеристик полей действующего излучения, поскольку от спектрально-дозового состава излучения существенным образом зависит величина биологического эффекта.

В настоящей работе исследовали влияние нейтронного излучения с энергией 14–15 МэВ в низких дозах (до 1 Гр) на выход аберраций хромосом в клетках млекопитающих *in vitro*.

Материал и методы

Цитогенетическую эффективность нейтронов с энергией 14,5 МэВ, генерируемых импульсными нейтронными генераторами (ИНГ-031 на запаянных трубках и И-100 с источником плазменного фокуса), исследовали на двух тест-системах: клетках китайского хомячка СНО-К1 в стационарной фазе роста и лимфоцитах периферической крови человека в стадии G_0 . В каждом отдельном эксперименте образцы цельной крови или суспензии клеток китайского хомячка облучали в стеклянных флаконах Карреля, установленных друг под другом, располагая верхний флакон с клетками вплотную к кожуху трубки, то есть на расстоянии 5 мм от мишени генератора. В связи с низким выходом нейтронов все флаконы с клетками облучали одновременно (одно и то же время), величина дозы зависела от расстояния до мишени генератора.

Для соблюдения условий протонного равновесия при облучении нейтронами с энергией 14,5 МэВ в каждый флакон наливали 3 мл клеточной суспензии, что обеспечивало необходимую толщину слоя жидкости (2,5–3 мм).

Облучение флаконов с цельной кровью на импульсном генераторе нейтронов ИНГ-031 проводили с частотой следования импульсов 5 и 50 Гц, клеток китайского хомячка – 50 Гц в диапазоне поглощенных доз 0,1–0,8 Гр. Во время облучения

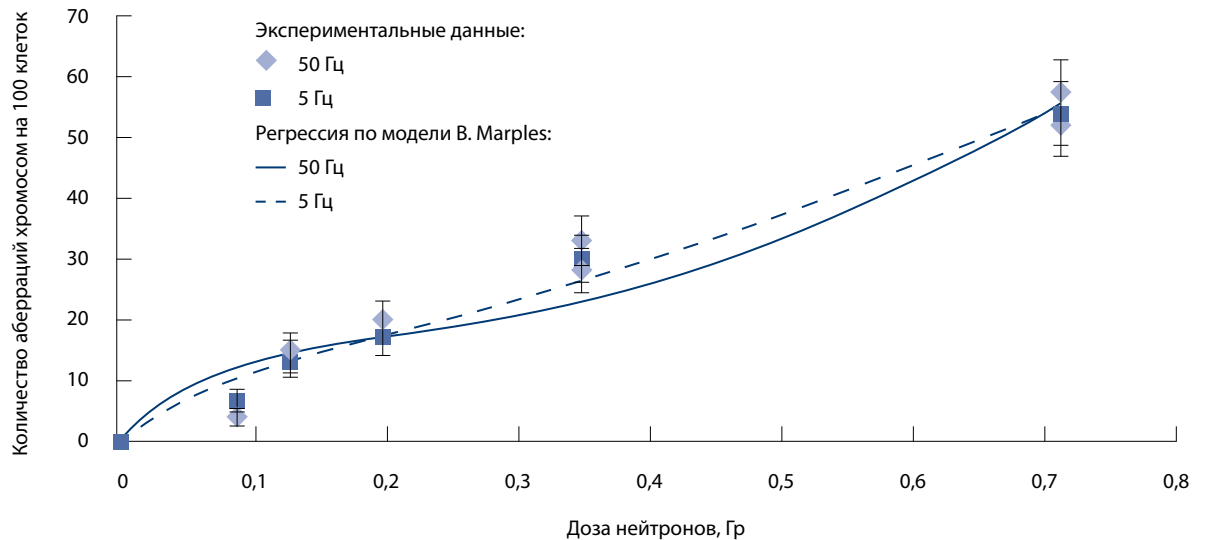


Рис. 1. Дозовые зависимости выхода aberrаций хромосом в лимфоцитах человека при действии импульсного нейтронного излучения с энергией 14,5 МэВ и частотами следования импульсов 5 и 50 Гц (аппроксимация по модели В. Marples [2])

лимфоцитов нейтронами на генераторе с источником плазменного фокуса (длительность импульса порядка 40 нс, частота $1,7 \times 10^{-3}$ Гц) флаконы с кровью находились при температуре тающего льда (0 °С). Особенности дозиметрии нейтронов и сопутствующего γ -излучения описаны нами ранее [12, 13].

Клетки до и после облучения культивировали по стандартным методикам [13, 14]. Клетки китайского хомячка облучали в стационарной фазе роста на 5-й день после пересева. В экспериментах с лимфоцитами периферической крови человека в стадии покоя (G_0) использовали полумикрометод культивирования, облучая цельную кровь (двух здоровых доноров-мужчин 40 лет). Приготовление препаратов метафазных пластинок первого митоза проводили по стандартным методикам. При анализе aberrаций хромосом учитывали весь спектр повреждений, видимых при обычном окрашивании по методу Гимза.

Статистическую обработку результатов и регрессионный анализ дозовых кривых осуществляли с помощью стандартных методов, реализованных в программных средствах Microsoft Excel, Microcal Origin. Кроме того, для аппроксимации экспериментальных данных, где наблюдался эффект ГЧ/ИР, применяли формулу, вытекающую из модели индуцированной резистентности для выживаемости клеток млекопитающих [2]:

$$S = \exp \{ -\alpha [1 + (\alpha_s / \alpha - 1) \exp(-D/D_c)] D - \beta D^2 \}$$

Поскольку суммарная частота видимых в световой микроскоп нестабильных aberrаций

хромосом, Y_{tot} , и выживаемость S связана соотношением [15, 16]

$$S = \exp(-Y_{tot}),$$

то

$$Y_{tot} = \alpha [1 + (\alpha_s / \alpha - 1) \exp(-D/D_c)] D - \beta D^2,$$

где α и β – параметры стандартной линейно-квадратичной зависимости, α_s – начальный наклон дозовой кривой на участке гиперчувствительности, D_c – переходная доза от участка гиперчувствительности к участку плато (индуцированной резистентности).

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены дозовые зависимости выхода aberrаций хромосом в лимфоцитах человека в стадии G_0 при действии импульсного нейтронного излучения с энергией 14,5 МэВ в диапазоне низких доз при частотах следования импульсов 5 и 50 Гц. В первую очередь необходимо отметить, что выход aberrаций хромосом в лимфоцитах человека не зависел от частоты следования импульсов при облучении и в целом соответствовал дозовой зависимости выхода aberrаций хромосом, полученной ранее в лаборатории на генераторе непрерывного действия [9].

Однако во всех четырех проведенных экспериментах проявляется одинаковая закономерность, которую поэтому нельзя отнести лишь на счет статистического разброса данных и которая в целом согласуется с известным феноменом ГЧ/ИР: низкий выход aberrаций хромосом при дозах ниже 0,1 Гр и его резкое нарастание при дозах 0,12–0,15 Гр (проявление гиперчувствительности),

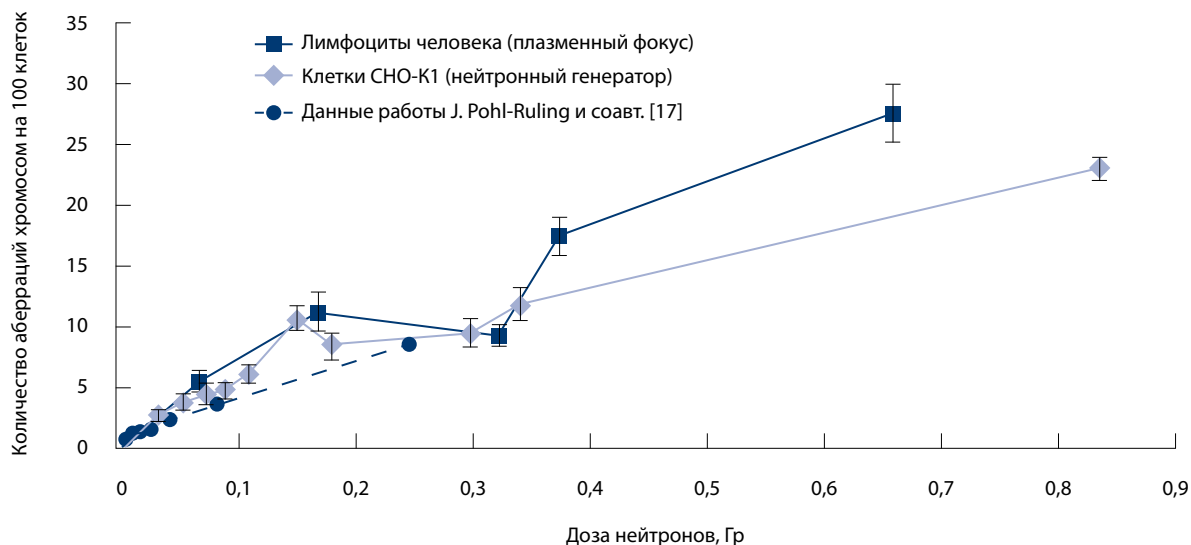


Рис. 2. Цитогенетический эффект нейтронного излучения с энергией 14,5 МэВ при низких дозах в лимфоцитах человека и клетках китайского хомячка CHO-K1

замедление роста частоты aberrаций хромосом в диапазоне 0,12–0,2 Гр (участок индуцированной резистентности) и снова увеличение выхода aberrаций хромосом.

Формально экспериментальные точки удовлетворительно описываются как линейной зависимостью, так и зависимостью, вытекающей из модели индуцированной радиорезистентности В. Marples [2]. По модели величина переходной дозы, D_0 , от участка гиперчувствительности к участку плато составляет 0,14 Гр. В случае линейной зависимости ее наклон оказывается почти в 4 раза выше, чем линейный коэффициент линейно-квадратичной регрессии при непрерывном облучении [9], подчеркивая формальный характер линейной аппроксимации.

Модель В. Marples исходит из отсутствия порога эффекта гиперчувствительности, но первые дозовые точки (< 0,1 Гр, см. рис. 1) не согласуются с этим постулатом модели. Сравнение с результатами совместного исследования 14 европейских лабораторий [17, рис. 2] показало, что выход aberrаций хромосом при дозах до 0,1 Гр совпадает с полученными нами результатами. Анализ дозовых кривых как выхода aberrаций хромосом, так и выживаемости клеток млекопитающих при дозах ниже 1 Гр в опубликованных результатах исследований позволяет сделать вывод, что нельзя исключить наличие порога проявления эффекта гиперчувствительности в диапазоне 0,05–0,1 Гр (который может зависеть от вида излучения, типа клеток и пр.) [15, 16].

Таким образом, представленные данные в целом согласуются с предположением о наличии участков ГЧ/ИР на дозовой кривой выхода aberrаций хромосом в клетках лимфоцитов человека. Модель индуцированной радиорезистентности В. Marples, разработанная для описания начального участка (до 1 Гр) дозовой кривой выживаемости клеток млекопитающих, вполне успешно описывает экспериментальные данные и по выходу aberrаций хромосом (что неудивительно, учитывая тесную корреляцию обоих клеточных эффектов).

Эксперименты, результаты которых были представлены, не имели целью исследование эффекта ГЧ/ИР. Именно поэтому были проведены дополнительные расчетно-экспериментальные дозиметрические исследования, подтвердившие надежность полученных данных, а также эксперименты с лимфоцитами на нейтронном генераторе с источником плазменного фокуса и на импульсном нейтронном генераторе ИНГ-031 с клетками китайского хомячка.

На рис. 2 представлены дозовые зависимости суммарной частоты aberrаций хромосом в лимфоцитах человека и клетках китайского хомячка при действии нейтронов с энергией 14,5 МэВ нейтронного генератора с плазменным фокусом, импульсного нейтронного генератора и данные работы J. Pohl-Ruling и соавт. [17]. Видно, что на начальном участке дозовых кривых выхода aberrаций хромосом для обеих клеточных культур прослеживалась одинаковая закономерность: резкий подъем выхода aberrаций хромосом при дозах 0,12–0,15 Гр, затем замедление роста

их числа с увеличением дозы нейтронов вплоть до формирования плато в диапазоне до 0,35 Гр, после чего дозовые кривые выходят на стандартную зависимость. Указанная закономерность наблюдалась как по суммарной частоте аберраций хромосом, так и по частоте дицентриков (лимфоциты человека) и парных фрагментов (клетки китайского хомячка). Приведенные для сравнения данные J. Pohl-Ruling и соавт. [17] подчеркивают обнаруженную закономерность (эффект гиперчувствительности при дозах выше 0,05–0,1 Гр, область индуцированной резистентности при дозах 0,15–0,35 Гр), причем области ГЧ/ИР для обеих клеточных культур примерно совпали.

Феномен ГЧ/ИР проявляется во многих опухолевых и нормальных клеточных линиях при воздействии излучений различного качества. ГЧ/ИР по выживаемости клеток также установлены после облучения протонами и пи-мезонами с высокой мощностью дозы, хотя точка перехода от гиперчувствительности к индуцированной резистентности наблюдалась при различных уровнях дозы ($\approx 0,4$ и $0,27$ Гр).

Таким образом, проведенный анализ показывает, что при действии импульсного нейтронного излучения в дозах до 1 Гр, как и для других видов радиационного воздействия (гамма-квантов, протонов, пи-мезонов, альфа-частиц, ионов углерода [2, 4, 5, 6, 8, 18]), проявляется более сложная, чем линейная или линейно-квадратичная, зависимость, которой обычно аппроксимируют экспериментальные данные. Она характеризуется резким увеличением числа аберраций хромосом на начальном участке дозовой кривой (в 2–3 раза против ожидаемого), затем его постоянством на единицу дозы и вновь возрастанием.

Феномен ГЧ/ИР, по-видимому, является универсальной реакцией у клеток разного происхождения на низкие уровни радиационного воздействия. Линейная передача энергии излучения влияет в основном на величину дозы перехода от гиперчувствительности к области индуцированной радиорезистентности (плато), величина которого зависит также от компетентности системы репарации, варьируя от 0,15 до 0,7 Гр [2, 6]. Предположительно, эффект гиперчувствительности отражает высокую радиочувствительность всех клеток на фоне постоянно функционирующей конститутивной репарации. Повышение радиорезистентности происходит в результате включения индуцированной системы репарации при определенном уровне повреждения клеток, что означает изменение биологического ответа с дозой.

Нельзя исключить, что этот радиационный феномен служит проявлением общего неспецифического ответа клетки на низкоуровневые низкоинтенсивные воздействия факторов как химической, так и физической природы, тем более что радиация вызывает в клетке образование химически измененных молекул (продукты радиолитической воды, низко- и высокомолекулярные радикалы, активные формы кислорода, повреждения ДНК, мембран и т.п.).

Феномен ГЧ/ИР становится научным основанием развития новой парадигмы лечения в клинической радиотерапии, в которой величина подводимой дозы находится на границе перехода от гиперчувствительности к индуцированной радиорезистентности, 0,2–0,5 Гр [19]. Проводится поиск оптимальных схем суточного ультра-фракционирования (величина, количество фракций, временной интервал), продолжительности курса. В этом плане, возможно, нуждается в коррекции курс облучения нейтронами (14–15 МэВ) по схеме 0,3 Гр – 4 ч – 0,3 Гр [20], поскольку разовая доза может оказаться уже в области плато дозовой кривой, то есть даже завышенной.

Важно также отметить, что при использовании лучевой терапии – одного из основных способов лечения в онкологии – неизбежно возникновение генных мутаций в клетках тканей, находящихся на границе с облучаемой опухолью и оказывающихся в зоне радиационного воздействия. Это диктует необходимость тщательного планирования лучевой терапии для минимизации облучения тех критических органов, повреждения в которых в диапазоне доз, ответственных за феномен ГЧ/ИР, могут иметь неблагоприятные последствия для пациента (необратимое снижение качества жизни и даже ее общей продолжительности).

Заключение

Полученные в настоящей работе результаты указывают на проявление эффекта ГЧ/ИР при действии нейтронов с энергией 14–15 МэВ на клетки лимфоцитов человека и китайского хомячка СНО-К1 в области низких, менее 1 Гр, доз. А значит, нейтроны, как и другие виды излучения (гамма-кванты, протоны, альфа-частицы, ионы углерода, пи-мезоны), отличаются сложной зависимостью биологического эффекта от дозы в области малых доз, не выявляемой при экстраполяции из более высоких доз. Это следует учитывать в радиационной защите и нормировании и, возможно, использовать в новых схемах лучевой, в том числе нейтронной, терапии. ☺



Литература

- Joiner MC, Marples B, Lambin P, Short SC, Tur-esson I. Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49(2):379–89.
- Marples B, Krueger SA, Collis SJ, Joiner MC. Low dose hyper-radiosensitivity: a historical perspective. In: Stigbrand T, Carlsson J, Adams GP, editors. Targeted radionuclide tumor therapy. Biological aspects. Springer (Netherlands); 2008. p. 329–47.
- Севаньякаев АВ. Радиочувствительность хромосом лимфоцитов человека в митотическом цикле. М.: Энергоатомиздат; 1987. 158 с.
- Насонова ЕА, Шмакова НЛ, Комова ОВ. Цитогенетические эффекты малых доз ионизирующей радиации с различной ЛПЭ в лимфоцитах периферической крови человека и возможные механизмы их реализации. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2006;46(4):457–60.
- Репина ЛА. Цитогенетические изменения в лимфоцитах крови человека после воздействия ускоренных заряженных частиц in vitro в низких дозах. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2006;46(4):461–5.
- Heuskin AC, Michiels C, Lucas S. Low dose hypersensitivity following in vitro cell irradiation with charged particles: Is the mechanism the same as with X-ray radiation? *Int J Radiat Biol.* 2014;90(1):81–9. doi: 10.3109/09553002.2013.835503.
- Joiner MC, Lambin P, Malaise EP, Robson T, Arrand JE, Skov KA, Marples B. Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance. *Mutat Res.* 1996;358(2):171–83.
- Dionet C, Tchirkov A, Alard JP, Arnold J, Dhermain J, Rapp M, Bodez V, Tamain JC, Monbel I, Malet P, Kwiatkowski F, Donnarieix D, Veyre A, Verrelle P. Effects of low-dose neutrons applied at reduced dose rate on human melanoma cells. *Radiat Res.* 2000;154(4):406–11.
- Севаньякаев АВ, Жербин ЕА, Лучник НВ, Обатуров ГМ, Козлов ВМ, Тятте ЭГ, Капчигашев СП. Цитогенетические эффекты, индуцируемые нейтронами в лимфоцитах периферической крови человека in vitro. I. Зависимость эффекта от дозы для разных типов aberrаций хромосом при воздействии нейтронов разных энергий. *Генетика.* 1979;15(6):1046–60.
- Vauchinger M, Schmid E, Rimpl G, Kühn H. Chromosome aberrations in human lymphocytes after irradiation with 15.0-MeV neutrons in vitro. I. Dose-response relation and RBE. *Mutat Res.* 1975;27(1):103–9.
- Lloyd DC, Purrott RJ, Dolphin GW, Edwards AA. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by neutron irradiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1976;29(2):169–82.
- Gribov V, Dubrovsky A, Demina E, Pimenov V, Orlova M, Kost O, Ulyanenko S, Lychagin A, Koryakin S. Comparison of biophysical and radiological responses of bio-test objects to pulsed and continuous X-ray and neutron irradiations. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry.* 2013;3(1):32–47.
- Корякина ЕВ. Цитогенетические эффекты излучения со сверхвысокой мощностью дозы. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing; 2014. 176 с.
- Фрешни РЯ. Культура животных клеток. Практическое руководство. Пер. с англ. под ред. Хомякова ЮН. М.: Бином; 2010. 714 с.
- Обатуров ГМ, Потетня ВИ. Хромосомные aberrации и репродуктивная гибель клеток млекопитающих. Количественные соотношения между этими эффектами. *Радиобиология.* 1986;26(4):465–72.
- Cornforth MN, Bedford JS. A quantitative comparison of potentially lethal damage repair and the rejoining of interphase chromosome breaks in low passage normal human fibroblasts. *Radiat Res.* 1987;111(3):385–405.
- Pohl-Ruling J, Fischer P, Lloyd DC, Edwards AA, Natarajan AT, Obe G, Buckton KE, Bianchi NO, van Buul PP, Das BC, Daschil F, Fabry L, Kučerová M, Léonard A, Mukherjee RN, Mukherjee U, Nowotny R, Palitti P, Polívková Z, Sharma T, Schmidt W. Chromosomal damage induced in human lymphocytes by low doses of D-T neutrons. *Mutat Res.* 1986;173(4):267–72.
- Tsouliou E, Baggio L, Cherubini R, Kalfas CA. Low-dose hypersensitivity of V79 cells under exposure to gamma-rays and 4He ions of different energies: survival and chromosome aberrations. *Int J Radiat Biol.* 2001;77(11):1133–9.
- Schoenherr D, Krueger SA, Martin L, Marignol L, Wilson GD, Marples B. Determining if low dose hyper-radiosensitivity (HRS) can be exploited to provide a therapeutic advantage: a cell line study in four glioblastoma multiforme (GBM) cell lines. *Int J Radiat Biol.* 2013;89(12):1009–16. doi: 10.3109/09553002.2013.825061.
- Лукина ЕЮ, Важнин АВ, Кузнецова АИ, Мокичев ГВ, Мунасипов ЗЗ, Бобкова ГГ. Быстрые нейтроны в лечении сарком мягких тканей. *Вопросы онкологии.* 2010;56(4):408–12.

References

- Joiner MC, Marples B, Lambin P, Short SC, Tur-esson I. Low-dose hypersensitivity: current status and possible mechanisms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;49(2):379–89.
- Marples B, Krueger SA, Collis SJ, Joiner MC. Low dose hyper-radiosensitivity: a historical perspective. In: Stigbrand T, Carlsson J, Adams GP, editors. Targeted radionuclide tumor therapy. Biological aspects. Springer (Netherlands); 2008. p. 329–47.
- Sevan'kaev AV. Radiochuvstvitel'nost' khromosom limfotsitov cheloveka v mitoticheskom tsikle [Radiosensitivity of human lymphocytes chromosomes in mitotic cycle]. Moscow: Energoatomizdat; 1987. 158 p. (in Russian).
- Nasonova EA, Shmakova NL, Komova OV. Tsitogeneticheskie efekty mal'kh doz ioniziruyushchey radiatsii s razlichnoy LPE v limfotsitakh perifericheskoy krovi cheloveka i vozmozhnye mekhanizmy ikh realizatsii [Cytogenetic effects of low-dose radiation with different LET in human peripheral blood lymphocytes and possible mechanisms of their realization]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2006;46(4):457–60 (in Russian).
- Repina LA. Tsitogeneticheskie izmeneniya v limfotsitakh krovi cheloveka posle vozdeystviya uskorennykh zaryazhennykh chastits in vitro v nizkikh dozakh [The cytogenetic effects of low doses of accelerated charged particles in human blood lymphocytes in vitro]. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2006;46(4):461–5 (in Russian).
- Heuskin AC, Michiels C, Lucas S. Low dose hypersensitivity following in vitro cell irradiation with charged particles: Is the mechanism the same as with X-ray radiation? *Int J Radiat Biol.* 2014;90(1):81–9. doi: 10.3109/09553002.2013.835503.
- Joiner MC, Lambin P, Malaise EP, Robson T, Arrand JE, Skov KA, Marples B. Hypersensitivity to very-low single radiation doses: its relationship to the adaptive response and induced radioresistance. *Mutat Res.* 1996;358(2):171–83.
- Dionet C, Tchirkov A, Alard JP, Arnold J, Dhermain J, Rapp M, Bodez V, Tamain JC, Monbel I, Malet P, Kwiatkowski F, Donnarieix D, Veyre A, Verrelle P. Effects of low-dose neutrons applied at reduced dose rate on human melanoma cells. *Radiat Res.* 2000;154(4):406–11.



9. Sevan'kaev AV, Zherbin EA, Luchnik NV, Obaturov GM, Kozlov VM, Tyatte EG, Kapchigashv SP. Tsitogeneticheskie efekty, indutsiruemye neytronami v limfotsitakh perifericheskoy krovi cheloveka in vitro. I. Zavisimost' efekta ot dozy dlya raznykh tipov aberratsiy khromosom pri vozdeystvii neytronov raznykh energiy [Cytogenetic effects produced by neutrons in lymphocytes of human peripheral blood in vitro. I. The dependence of the effect on the dose of neutrons of different energies for different types of chromosome aberrations]. *Genetika*. 1979;15(6):1046–60 (in Russian).
10. Bauchinger M, Schmid E, Rimpl G, Kühn H. Chromosome aberrations in human lymphocytes after irradiation with 15.0-MeV neutrons in vitro. I. Dose-response relation and RBE. *Mutat Res*. 1975;27(1):103–9.
11. Lloyd DC, Purrott RJ, Dolphin GW, Edwards AA. Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by neutron irradiation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*. 1976;29(2):169–82.
12. Gribov V, Dubrovsky A, Demina E, Pimenov V, Orlova M, Kost O, Ulyanenko S, Lychagin A, Koryakin S. Comparison of biophysical and radiological responses of bio-test objects to pulsed and continuous X-ray and neutron irradiations. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2013;3(1):32–47.
13. Koryakina EV. Tsitogeneticheskie efekty izlucheniya so sverkhvysokoy moshchnost'yu dozy [Cytogenetic effects of ultra-high dose rate radiation]. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing; 2014. 176 p. (in Russian).
14. Freshney RJ. Culture of animal cells. A manual of basic technique. Trans. from English. Moscow: Binom; 2010. 714 p. (in Russian).
15. Obaturov GM, Potetnya VI. Khromosomnye aberratsii i reproduktivnaya gibel' kletok mlekopitayushchikh. Kolichestvennye sootnosheniya mezhdu etimi effektami [Chromosome aberrations and reproductive death of mammalian cells: quantitative correlation between these effects]. *Radiobiologia*. 1986;26(4):465–72 (in Russian).
16. Cornforth MN, Bedford JS. A quantitative comparison of potentially lethal damage repair and the rejoining of interphase chromosome breaks in low passage normal human fibroblasts. *Radiat Res*. 1987;111(3):385–405.
17. Pohl-Ruling J, Fischer P, Lloyd DC, Edwards AA, Natarajan AT, Obe G, Buckton KE, Bianchi NO, van Buul PP, Das BC, Daschil F, Fabry L, Kučerová M, Léonard A, Mukherjee RN, Mukherjee U, Nowotny R, Palitti P, Polívková Z, Sharma T, Schmidt W. Chromosomal damage induced in human lymphocytes by low doses of D–T neutrons. *Mutat Res*. 1986;173(4):267–72.
18. Tsoulou E, Baggio L, Cherubini R, Kalfas CA. Low-dose hypersensitivity of V79 cells under exposure to gamma-rays and 4He ions of different energies: survival and chromosome aberrations. *Int J Radiat Biol*. 2001;77(11):1133–9.
19. Schoenherr D, Krueger SA, Martin L, Marignol L, Wilson GD, Marples B. Determining if low dose hyper-radiosensitivity (HRS) can be exploited to provide a therapeutic advantage: a cell line study in four glioblastoma multiforme (GBM) cell lines. *Int J Radiat Biol*. 2013;89(12):1009–16. doi: 10.3109/09553002.2013.825061.
20. Lukina EYu, Vazhenin AV, Kuznetsova AI, Mokichev GV, Munasipov ZZ, Bobkova GG. Bystrye neytrony v lechenii sarkom myagkikh tkaney [Role of fast neutrons in the treatment of soft tissue]. *Voprosy onkologii*. 2010;56(4):408–12 (in Russian).

Cytogenetic effects of low neutron doses in mammalian cells

Koryakina E.V. • Potetnya V.I.

Background: Studies of biological effects of low dose radiation are important due to exposure of large patient groups to low radiation doses during therapeutic and diagnostic procedures. Details of biological effects of neutron irradiation have been poorly studied, including cytogenetic effects of its low doses, although they could be important during neutron therapy and for development of normatives on radiation protection with ion accelerators, including therapeutic ones.

Aim: To study patterns of structural chromosomal damage in mammalian cells exposed to 14.5 MeV neutrons at doses up to 1 Gy.

Materials and methods: Cytogenetic effect of 14.5 MeV neutrons was evaluated in human blood lymphocytes and Chinese hamster ovarian cells CHO-K1 in the dose range of 0.1–1.2 Gy, dose rate range 0.3–60 mGy/min, pulse frequency 50, 5, and 0.017 Hz. Chromosome preparations were conventionally prepared. All types of chromosomal aberrations were included into the analysis.

Results: In the 14.5 MeV neutron dose range studied, both cell cultures demonstrated the same dose-effect pattern: a drastic increase of chromosomal aberrations frequency at doses of 0.12–0.15 Gy, with a somewhat lower increase of the number of aberration in the dose range 0.3–0.5 Gy and regular linear dose dependence thereafter. This pattern was found both on the total chromosome aberrations frequency and on dicentric (lymphocytes) and paired fragments (CHO-K1) frequencies.

Conclusion: The results obtained indicate the existence of a phenomenon of hypersensitivity and induced radio-resistance in human lymphocytes and Chinese hamster ovarian cells (CHO-K1) following irradiation with 14.5 MeV neutrons.

Key words: chromosomal aberrations, neutron irradiation, low doses, hyper-radiosensitivity, induced radio-resistance.

doi: 10.18786/2072-0505-2015-41-72-78

Koryakina Ekaterina Vladimirovna – PhD (Biol.), Senior Research Fellow, Division of Radiation Biophysics¹
✉ 4 Koroleva ul., Obninsk, Kaluzhskaya oblast', 249036, Russian Federation. Tel.: +7 (484) 399 70 13. E-mail: ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Potetnya Vladimir Ivanovich – PhD (Biol.), Senior Research Fellow, Division of Radiation Biophysics¹

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation; 10 Zhukova ul., Obninsk, Kaluzhskaya oblast', 249036, Russian Federation