



Международная конференция «ПРОБЛЕМЫ ХИМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ И
РЕПАРАЦИИ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ»

Дубна, 30-31 мая 2018



Участие процессов восстановления в проявлении генетической нестабильности клеток после действия редко- и плотноионизирующего излучения

Екатерина Евстратова
к.б.н., старший научный сотрудник
Биофизической лаборатории ОИКВ

Петин В.Г.
д.б.н., профессор
Заведующий Биофизической лабораторией ОИКВ

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ
радиологии» Минздрава России

На стабильность генома могут влиять: клеточная ploидность, фаза клеточного цикла, транскрипционная активность и функционирование системы контроля ДНК, метаболическая стадия клетки, и, наконец, воздействие эндогенного или экологического стресса.

Генетическая нестабильность клеток является предметом интенсивных современных исследований с точки зрения участия этого процесса в старении и формировании онкологических заболеваний после применения различных физических факторов и лекарственных средств.

И хотя генетическая нестабильность имеет важное значение для образования многих опухолей, закономерности ее формирования не совсем понятны.

К проявлениям генетической нестабильности относят многие радиобиологические эффекты, формируемые в отдаленные сроки после облучения, к которым можно отнести задержанное формирование колоний выжившими после облучения клетками. Действительно, замедленная скорость размножения облученных клеток воспроизводилась после нескольких пассажей выживших после облучения клеток.

Колонии, сформированные позже контроля, характеризовались большим содержанием нежизнеспособных и морфологически измененных клеток. Клетки из таких колоний отличались повышенной радио- и термочувствительностью. Чем позже по сравнению с контролем формировались колонии, тем в большей степени проявлялись упомянутые эффекты как сразу, так и в отдаленные сроки после облучения. Совокупность этих данных позволяет относить задержку формирования колоний облученными клетками к генетической нестабильности.



sMark
or updates



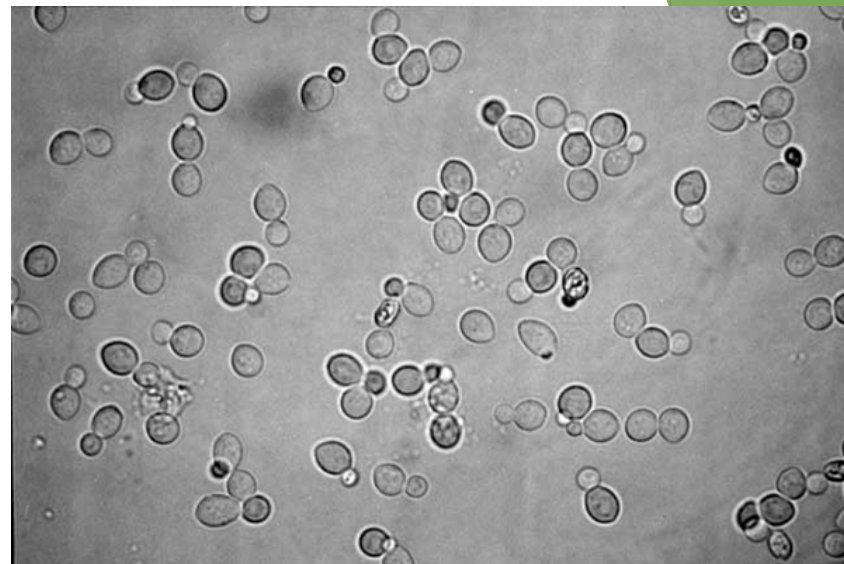
Published online 6 November 2007

- ▶ В данной работе проводилась экспериментальная оценка генетической нестабильности потомков клеток, выживших после действия ионизирующих излучений различного качества и УФ света

Saccharomyces cerevisiae

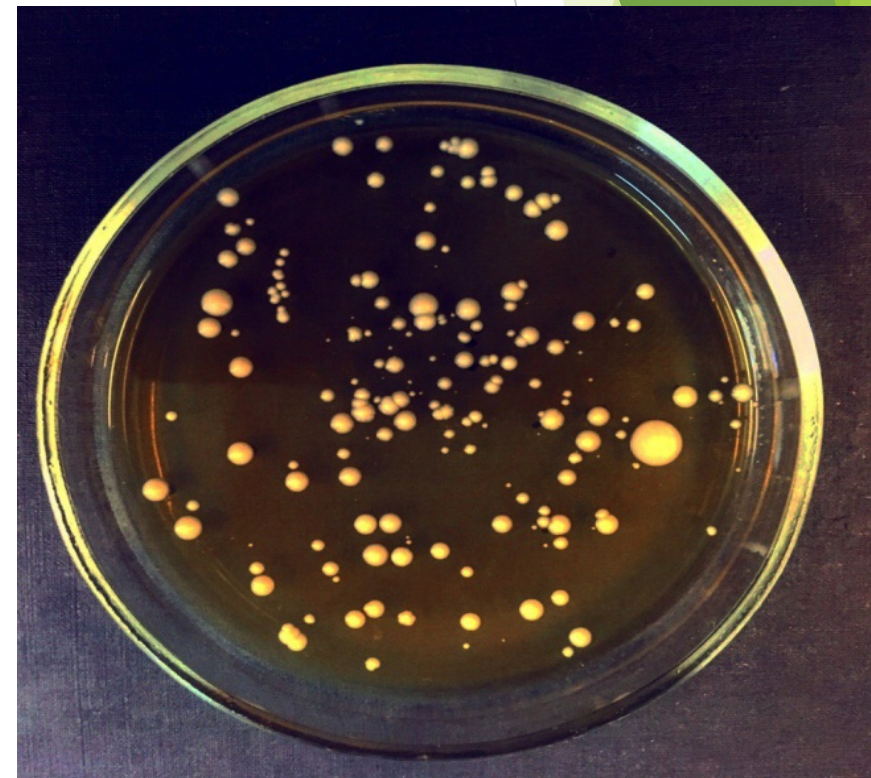
дикого типа

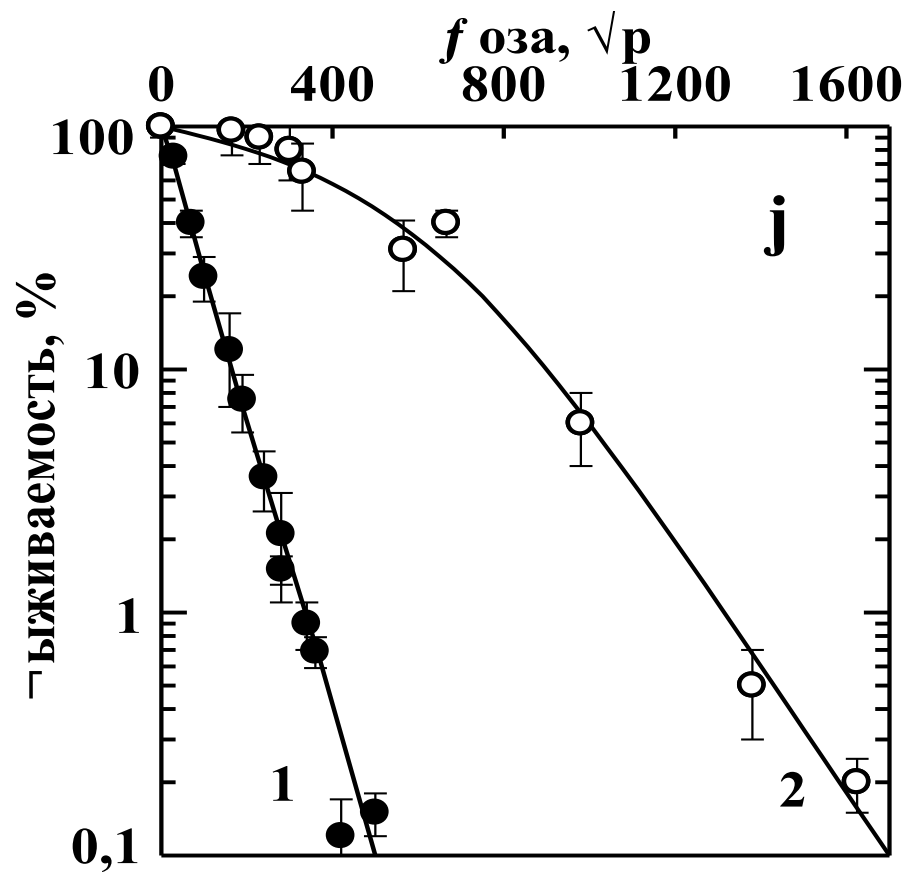
- гаплоидные (S288C)
- диплоидные штаммы (XS800)
- радио- и УФ-чувствительные мутанты



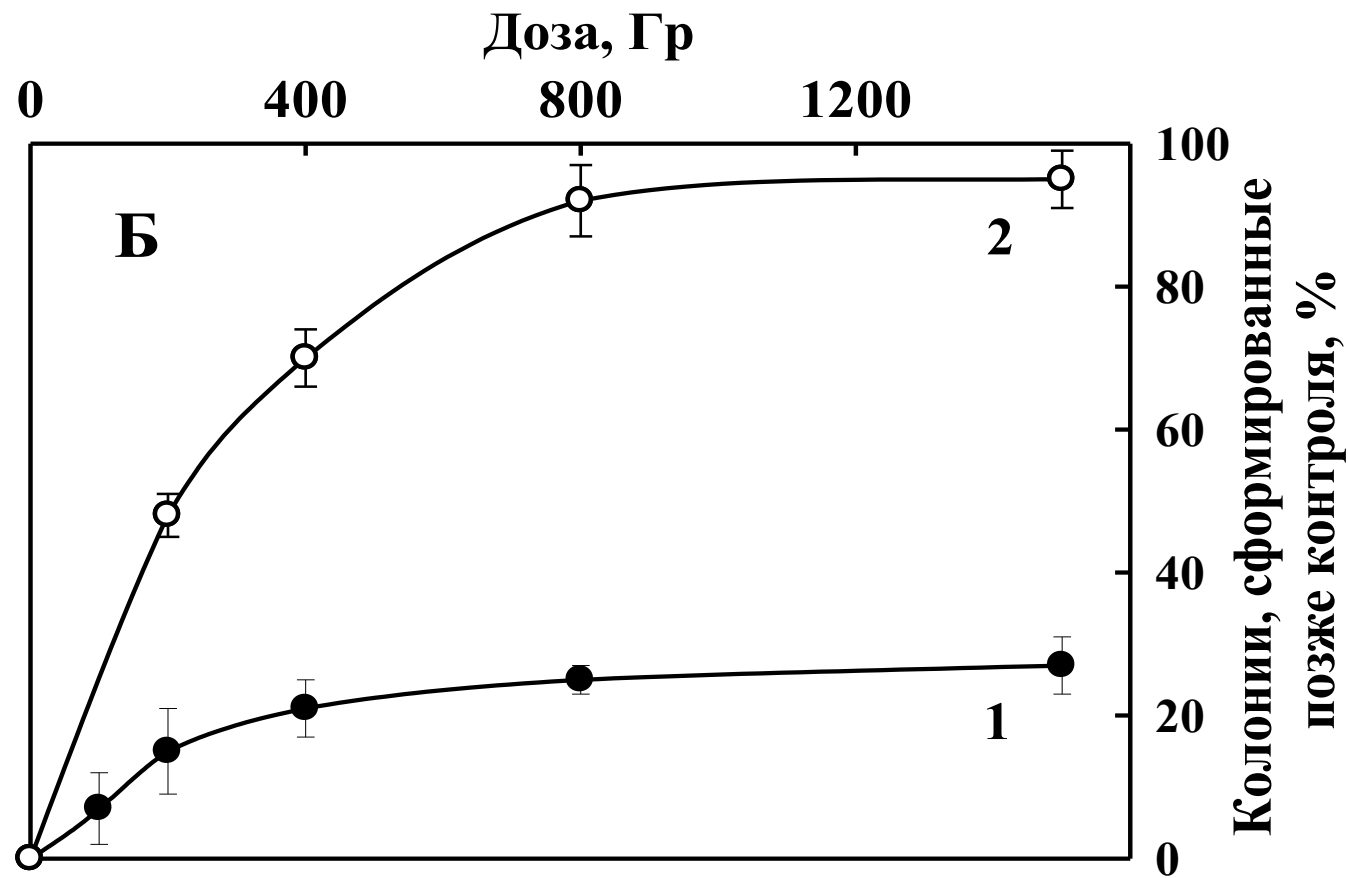
Воздействующие факторы:

- гамма-кванты ^{60}Co (0,2 кэВ/мкм, 20 Гр/мин)
- альфа-частицы ^{239}Pu (120 кэВ/мкм, 25 Гр/мин)
- УФ свет (254 нм, интенсивность 1,5 Вт/м²)





Зависимость выживаемости гаплоидных (штамм S288C, кривые 1) и диплоидных (штамм XS800, кривые 2) дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* от дозы гамма-излучения (А).

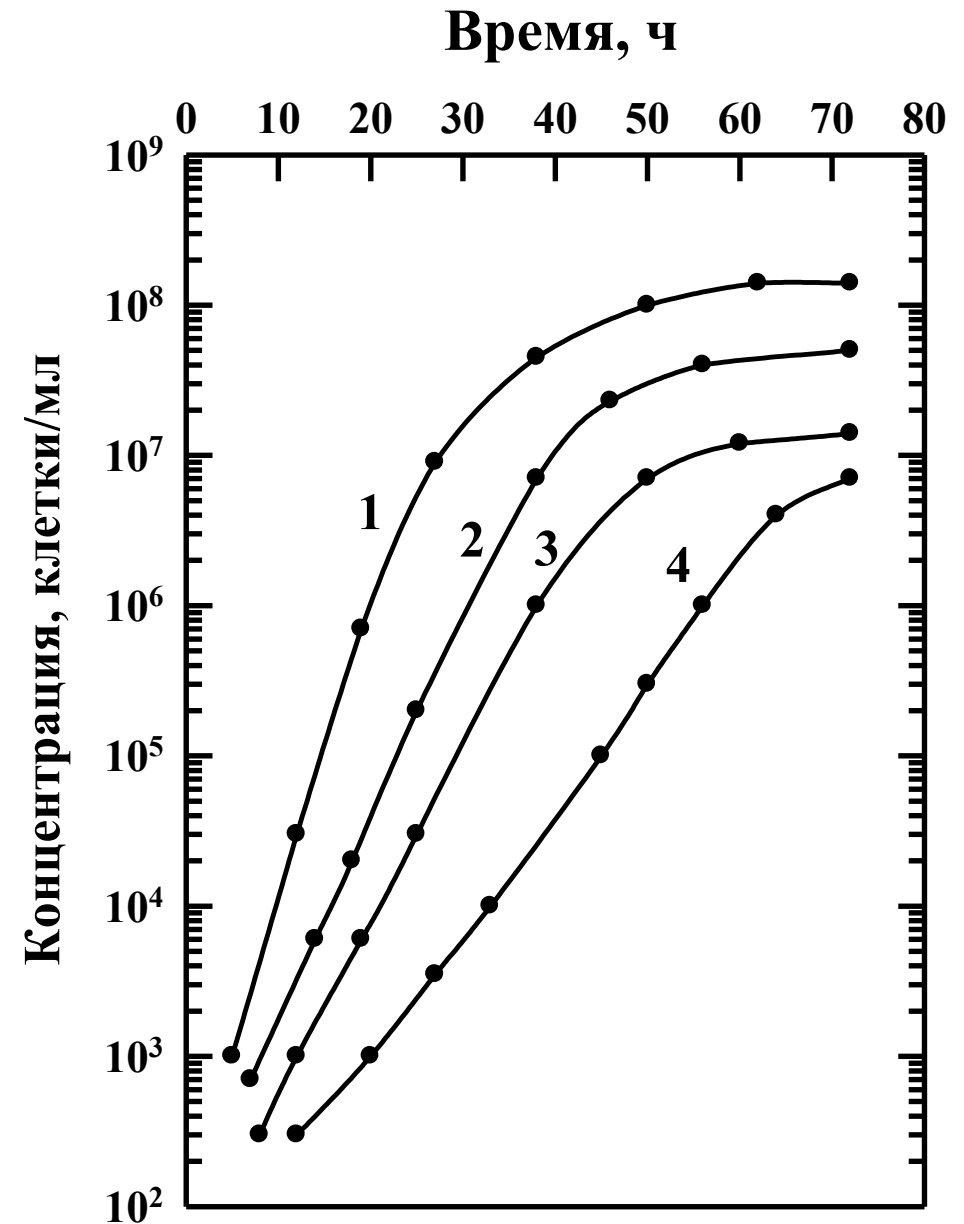


Зависимость эффекта позднего появления колоний, образованных выжившими после действия гамма-излучения гаплоидными и диплоидными клетками от дозы (Б).

- ▶ Эти данные соответствуют широко публиковавшимся результатам Корогодина о канцерогенном мутагенезе, также связанном с эффектом дорастания, т.е. задержанным появлением колоний выжившими после облучения клетками.
- ▶ Поскольку генетическая нестабильность тесно связана с генетической нестабильностью, в литературе сложилось четкое представление, что генетическая нестабильность определяется сигмоидной формой кривой доза-эффект и способностью клеток к восстановлению.
- ▶ Эта парадигма существовала в течение многих лет. В данной работе будут приведены результаты, кардинально противоречащие этому представлению.

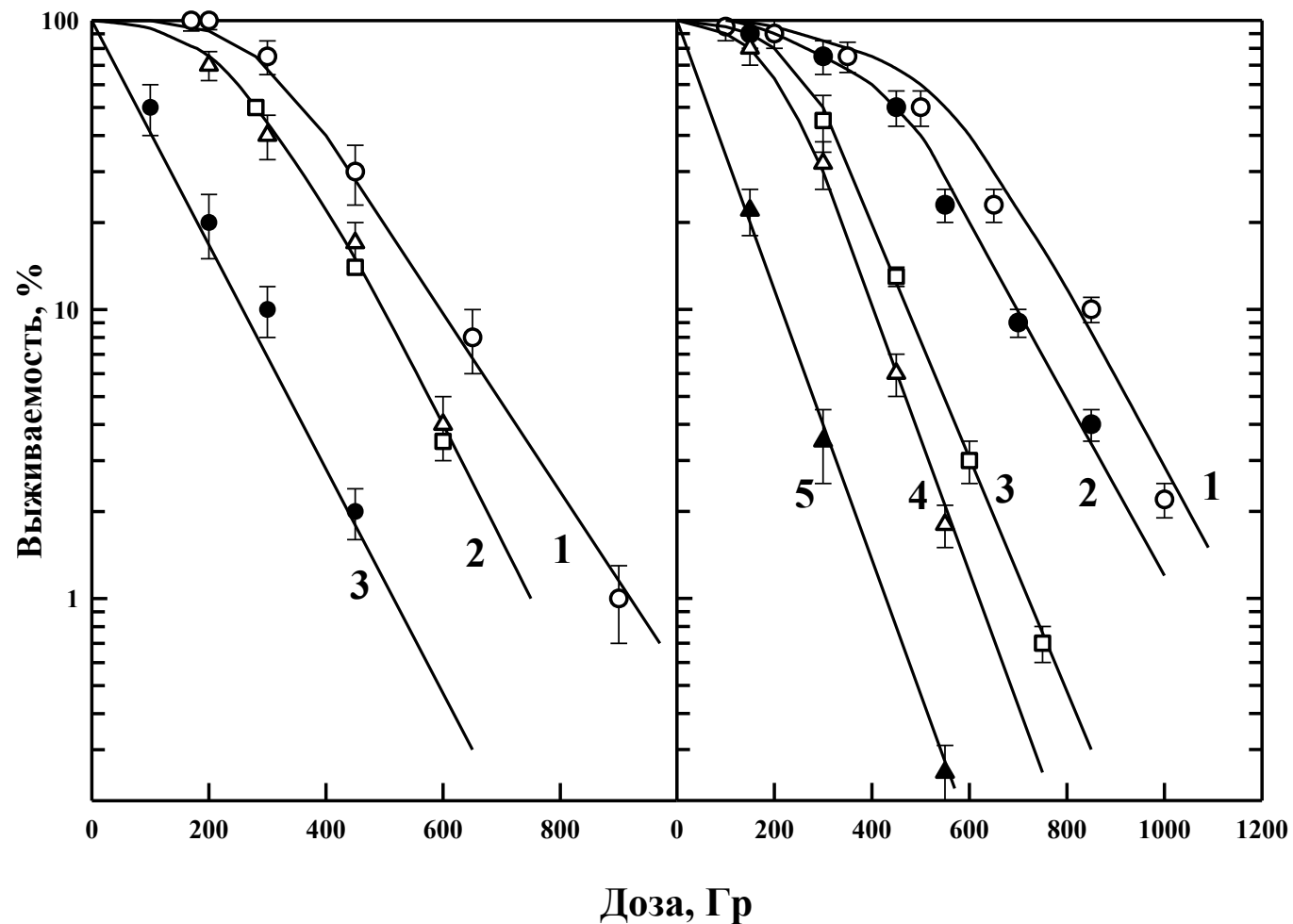
Следующие экспериментальные данные позволили нам сделать заключение, что изученный эффект позднего формирования колоний выжившими после облучения клетками обусловлен генетической нестабильностью.

Замедленная скорость размножения выживших после облучения клеток сохранялась в отдаленных потомках на протяжении многих клеточных пассажей.

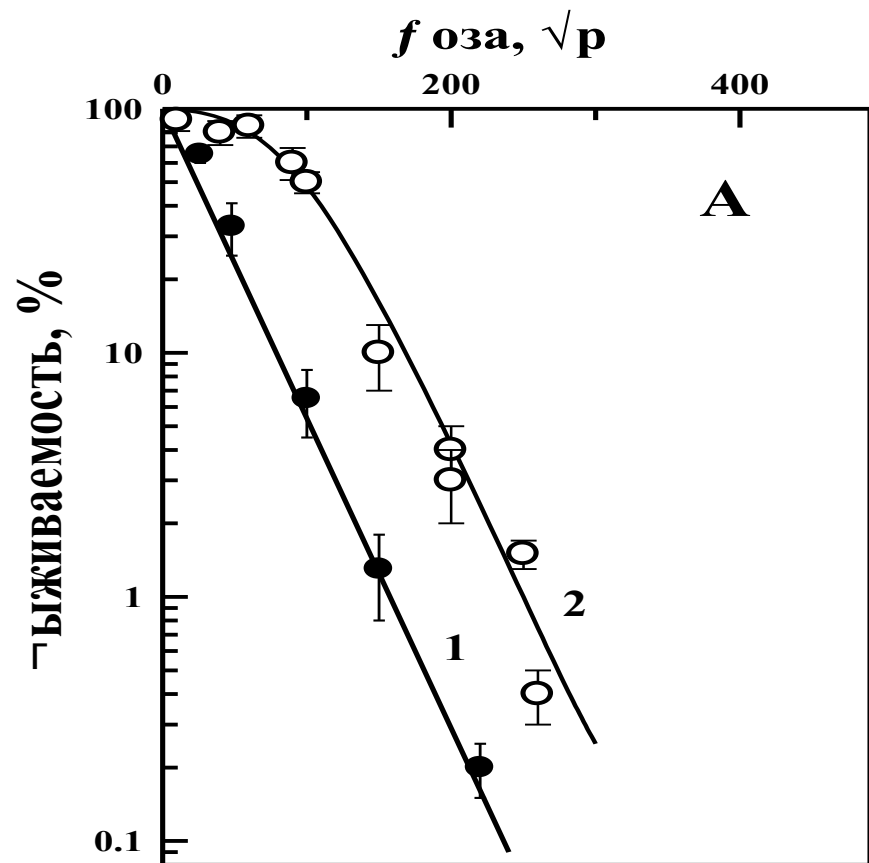


Повторные воздействия ионизирующим излучением на отдаленные потомки выживших после облучения клеток из колоний, сформированных позже контроля.

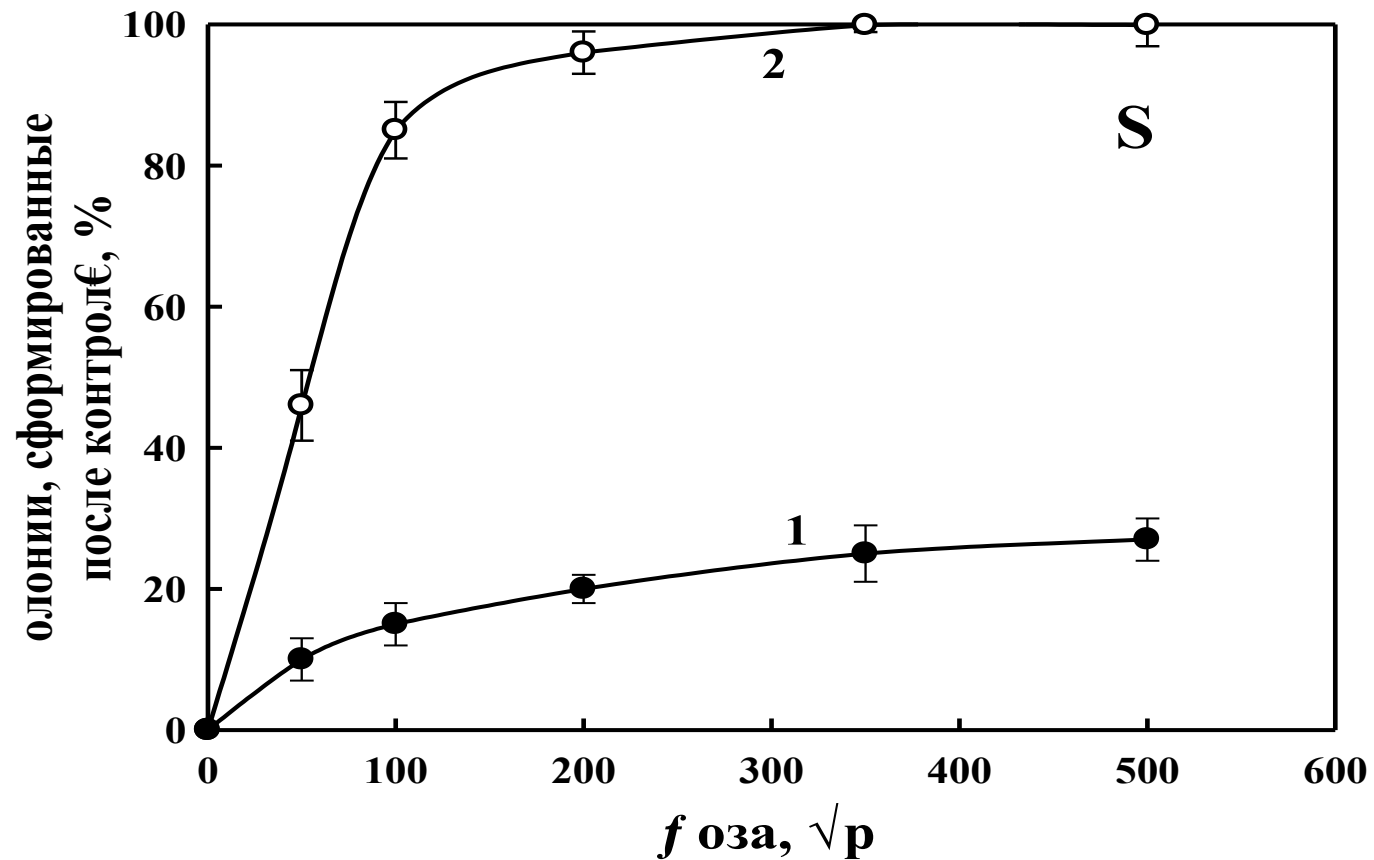
Повышенная радиочувствительность клеток при повторных облучениях сохранялась в отдаленных потомках на протяжении многих клеточных пассажей.



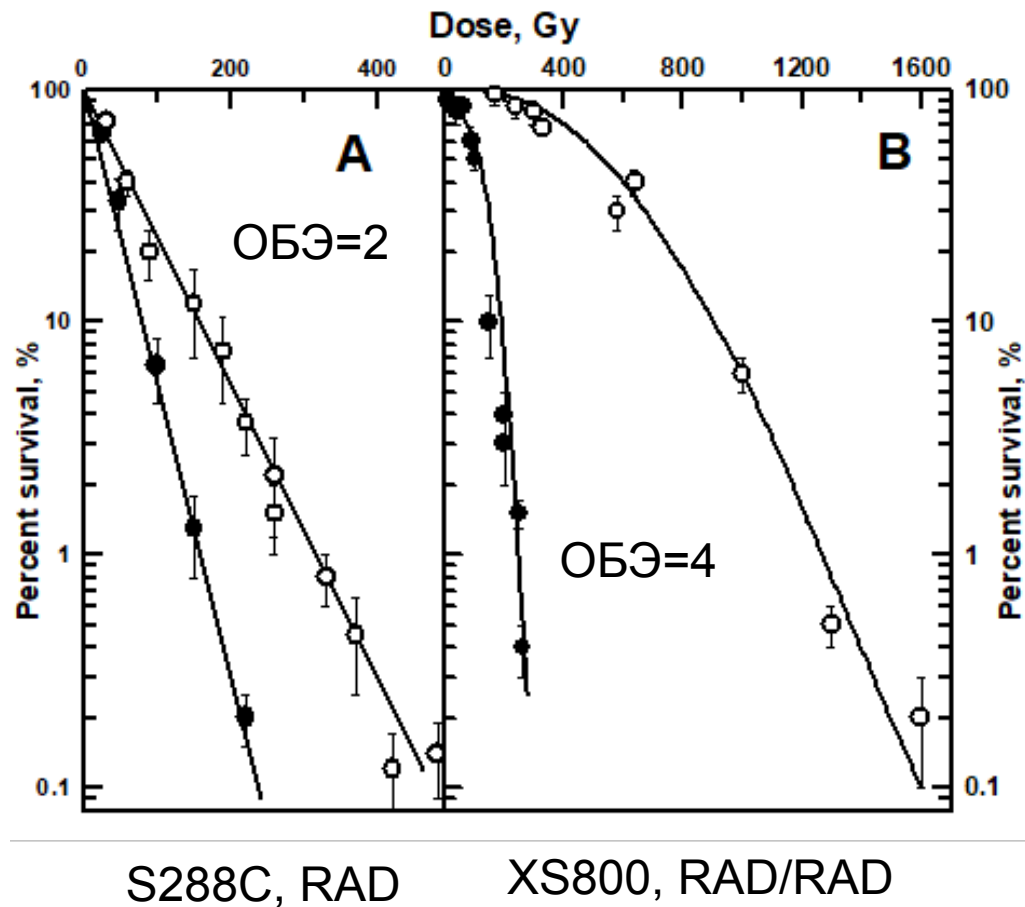
Дополнительными данными, подтверждающие факт, что мы имеем дело с генетической нестабильностью, является повышенное содержание морфологически измененных и нежизнеспособных клеток среди колоний, сформированных облученными дрожжевыми клетками (Korogodin et al., 2007; Petin et al., 2008).



Зависимость выживаемости гаплоидных (штамм S288C, кривые 1) и диплоидных (штамм XS800, кривые 2) дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* от дозы альфа-излучения (А).



Зависимость эффекта позднего появления колоний, образованных выжившими после действия альфа-излучения гаплоидными и диплоидными клетками от дозы (Б).

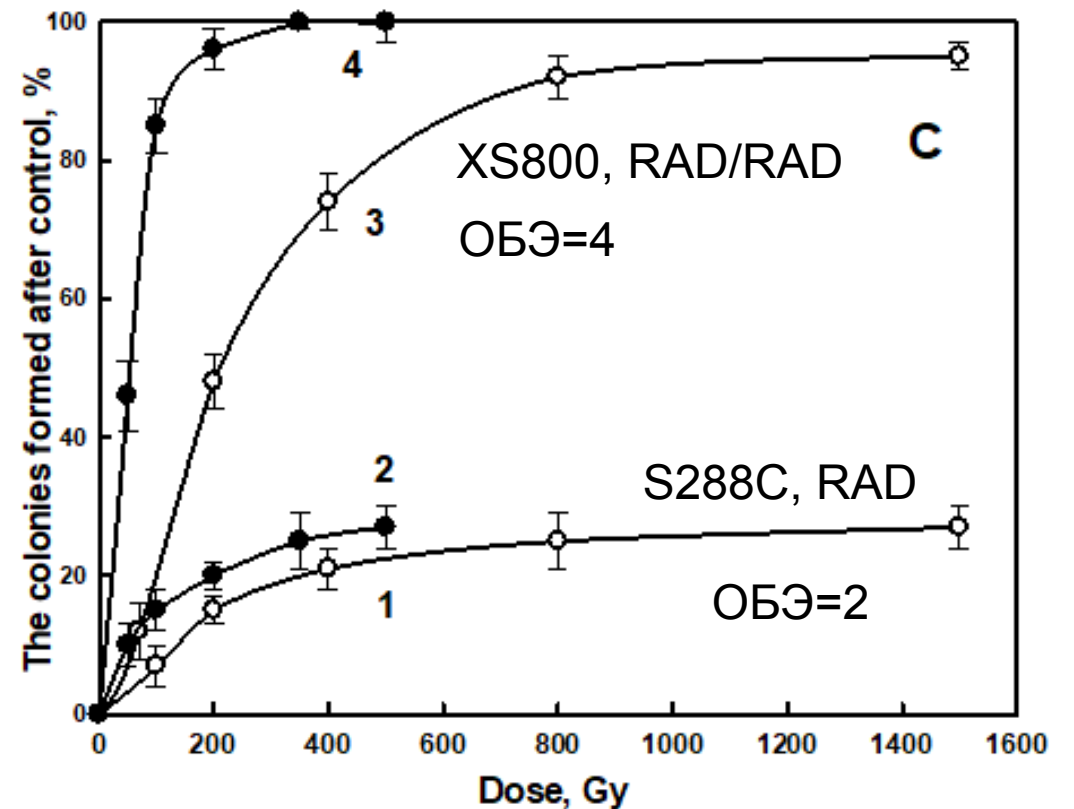


ОБЭ для выживаемости и
генетической
нестабильности

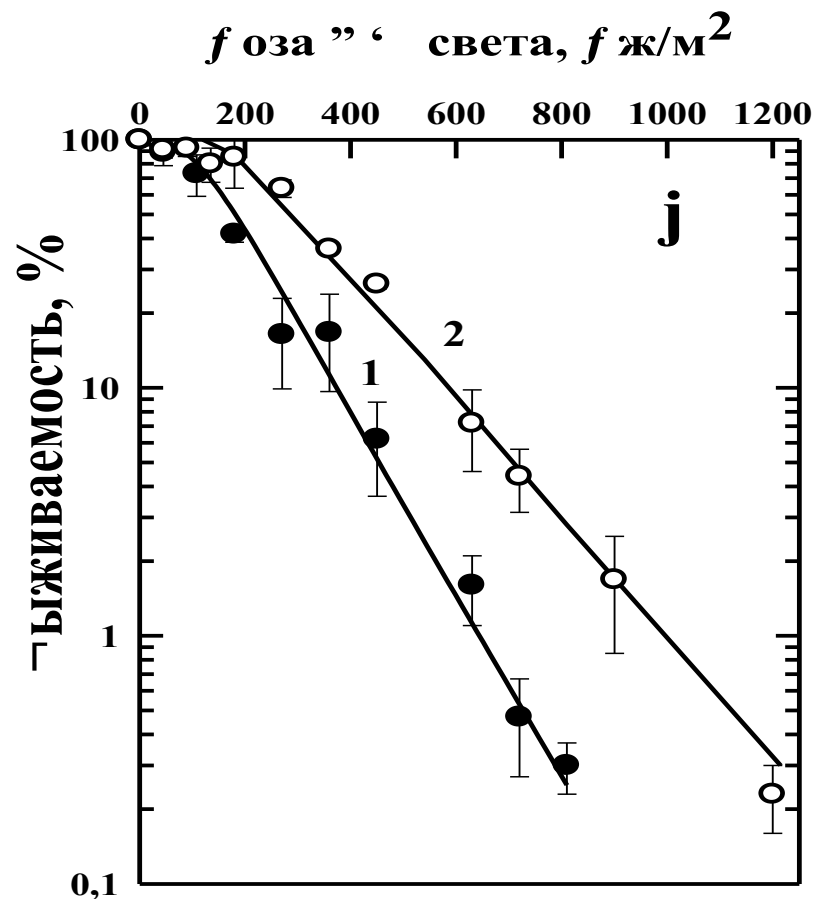
Radiobiological responses of wild-type *S. cerevisiae* yeast cells.

^{60}Co γ -rays (open circles)

^{239}Pu α -particles (closed circles).

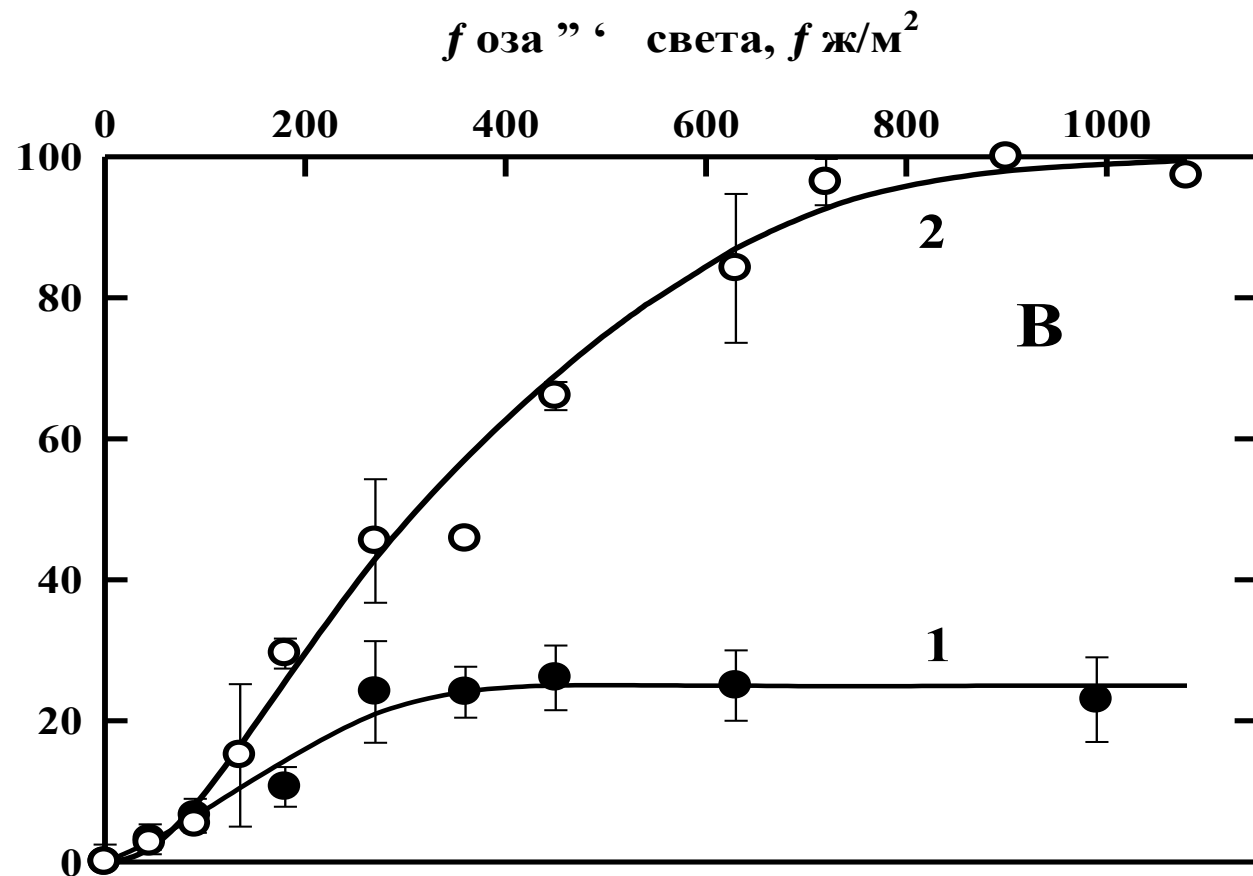


Видно, что ОБЭ одинакова для выживаемости и генетической нестабильности. Это может означать, что число повреждений, ответственных за генетическую нестабильность, пропорциональны числу летальных повреждений.



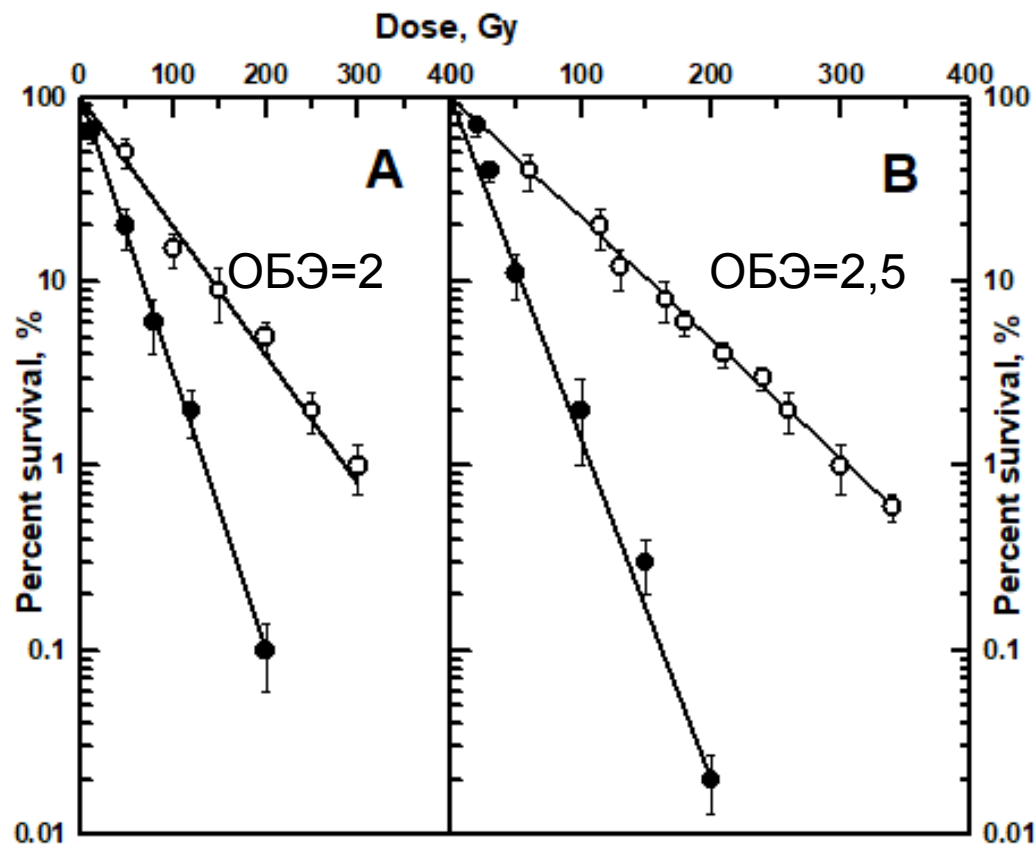
Зависимость выживаемости гаплоидных (штамм S288C, кривые 1) и диплоидных (штамм XS800, кривые 2) дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* от дозы УФ света (А).

олонии, сформированные
позже контрол€, %



Зависимость эффекта позднего появления колоний, образованных выжившими после УФ облучения гаплоидными и диплоидными клетками (Б).

Видно, что и диплоидный и гаплоидный штаммы имеют сигмоидную форму кривой доза-эффект. Если бы генетическая нестабильность детерминировалась сигмоидной формой кривой доза-эффект, то можно было бы ожидать одинаковый эффект генетической нестабильности для обоих штаммов. Однако видно, что генетическая нестабильность диплоидных клеток с увеличением дозы облучения достигает 100%, а гаплоидных лишь 20%. Это подтверждает нашу точку зрения, что генетическая нестабильность детерминируется в большей степени ploидностью клеток, чем формой кривой доза-эффект.



XS774-4d,
rad51

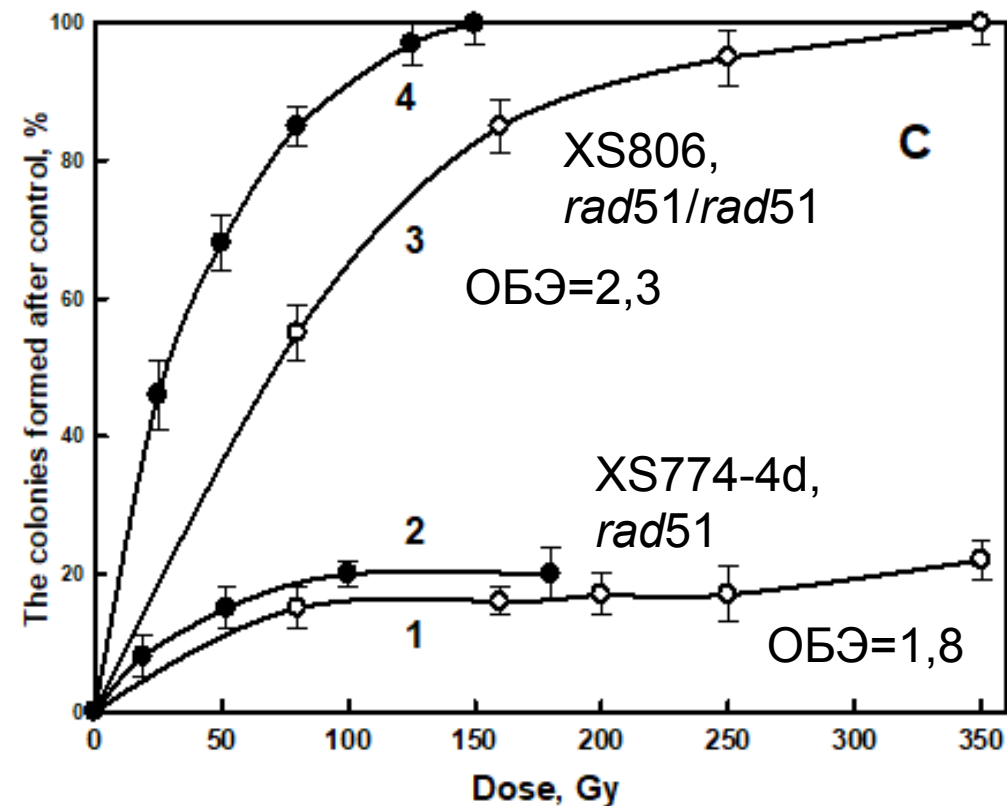
XS806,
rad51/rad51

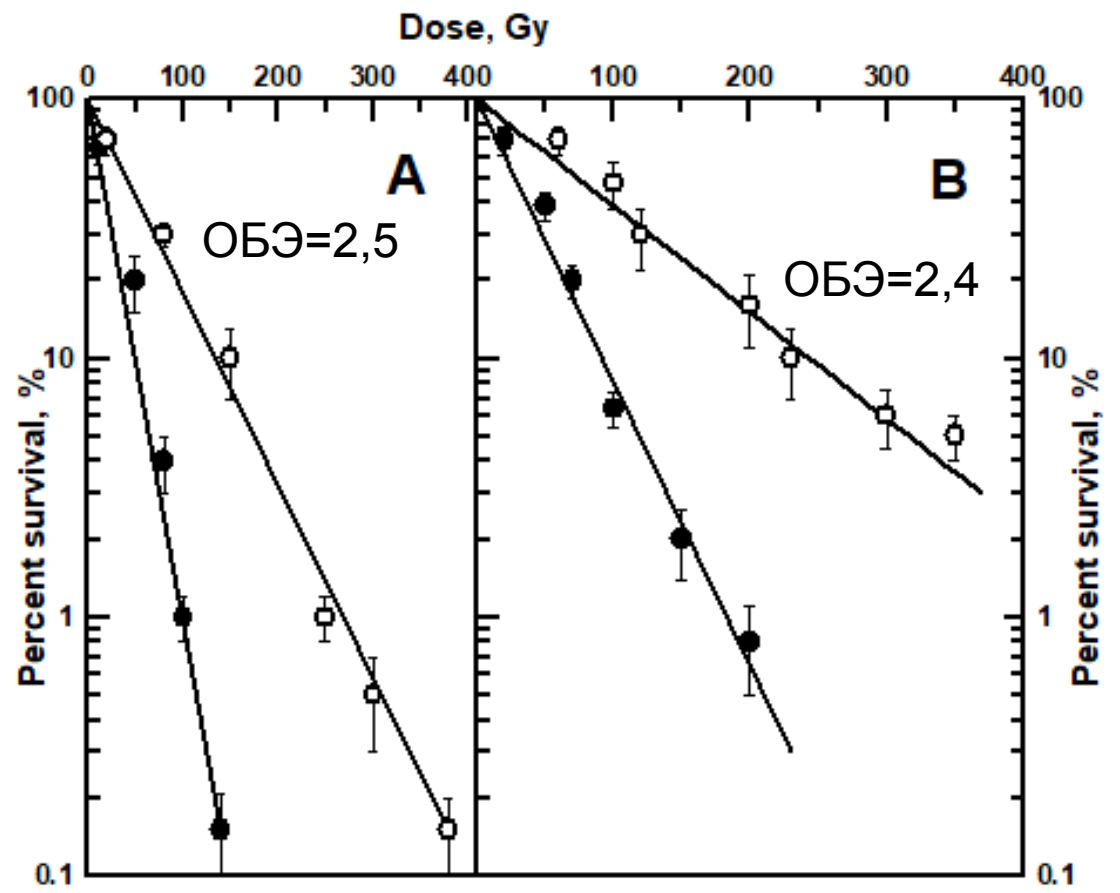
Radiobiological responses of wild-type *S. cerevisiae* yeast cells.

^{60}Co γ -rays (open circles)

^{239}Pu α -particles (closed circles).

ОБЭ = 2 для
гаплоидных и
диплоидных клеток
по обоим тестам





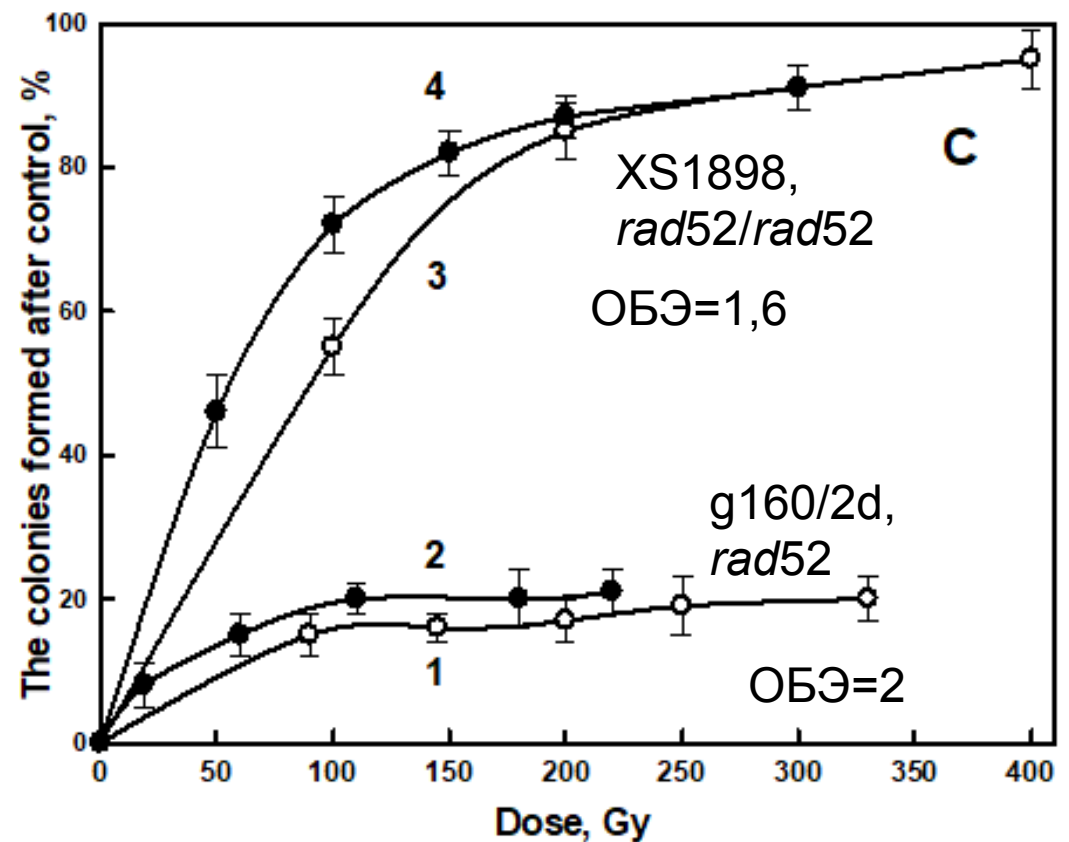
g160/2d, rad52

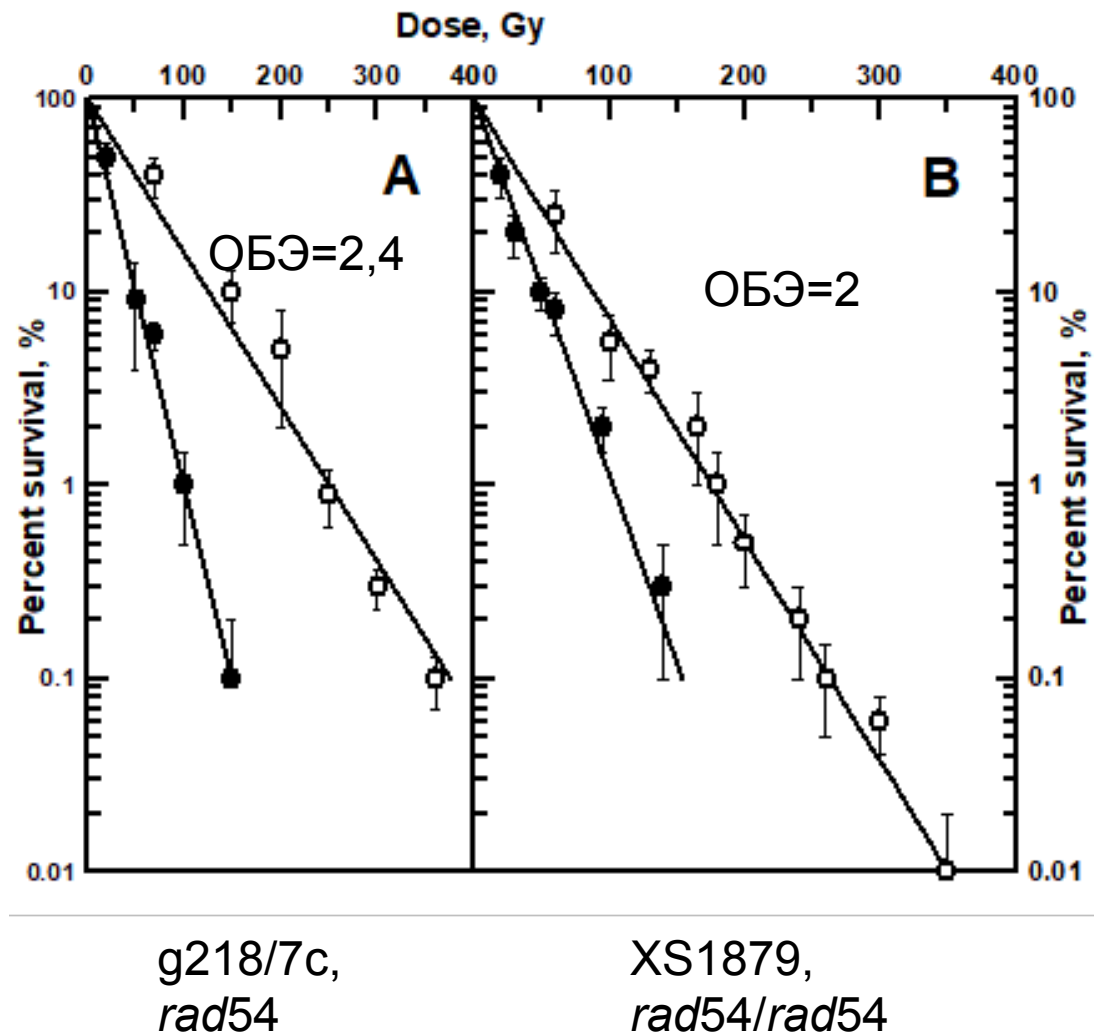
XS1898, rad52/rad52

Radiobiological responses of wild-type *S. cerevisiae* yeast cells.

^{60}Co γ -rays (open circles)

^{239}Pu α -particles (closed circles).

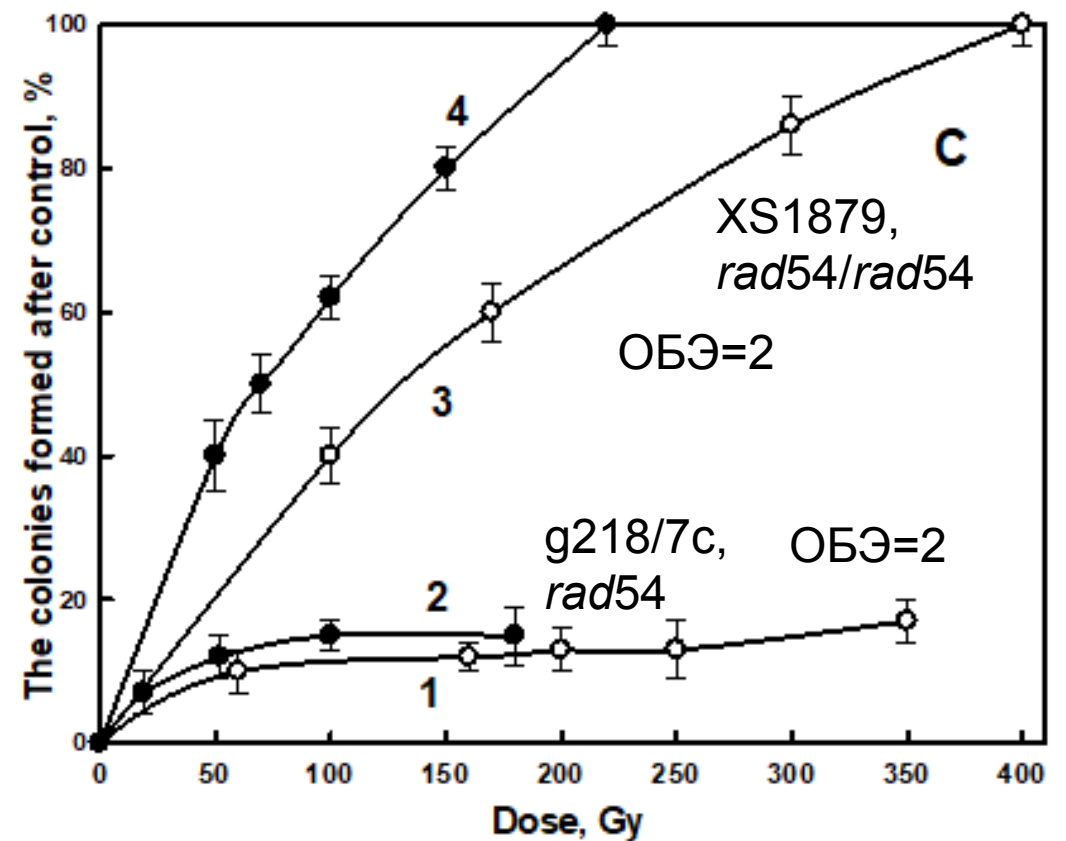




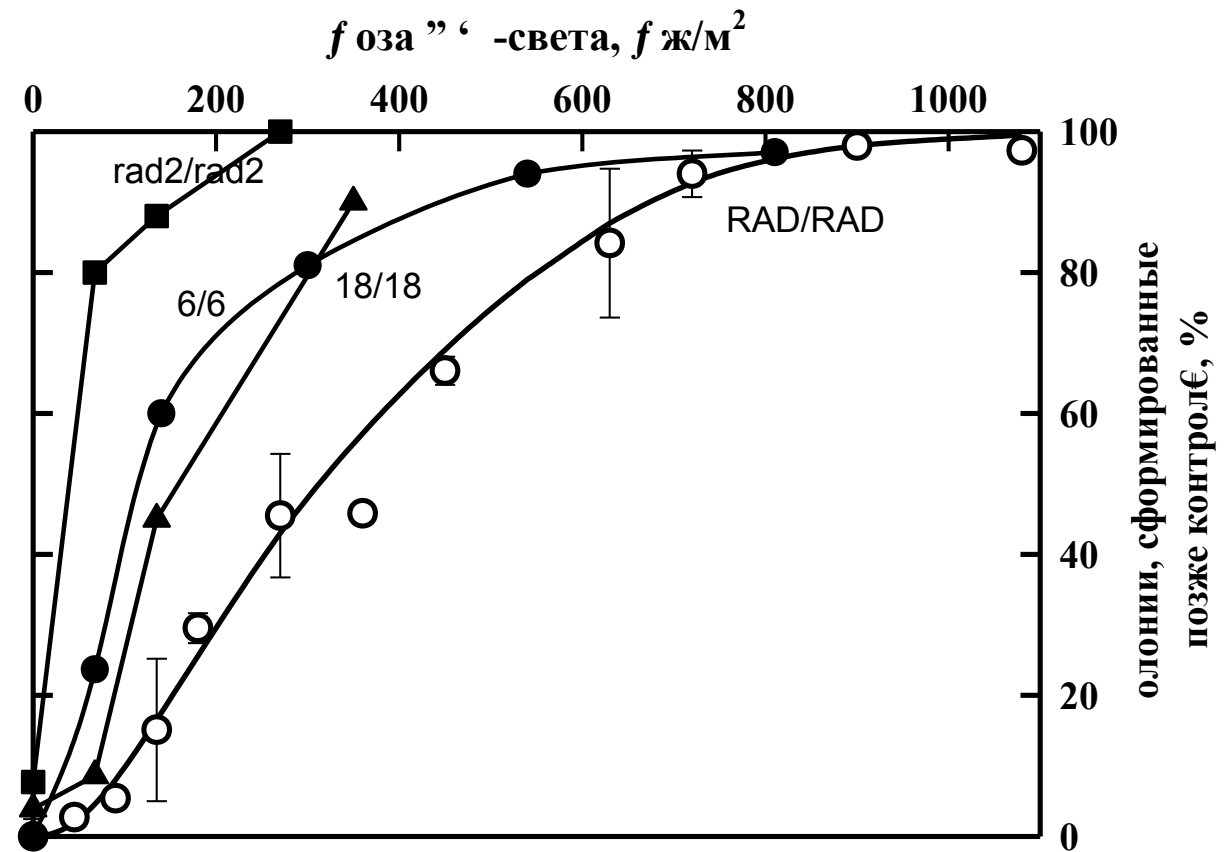
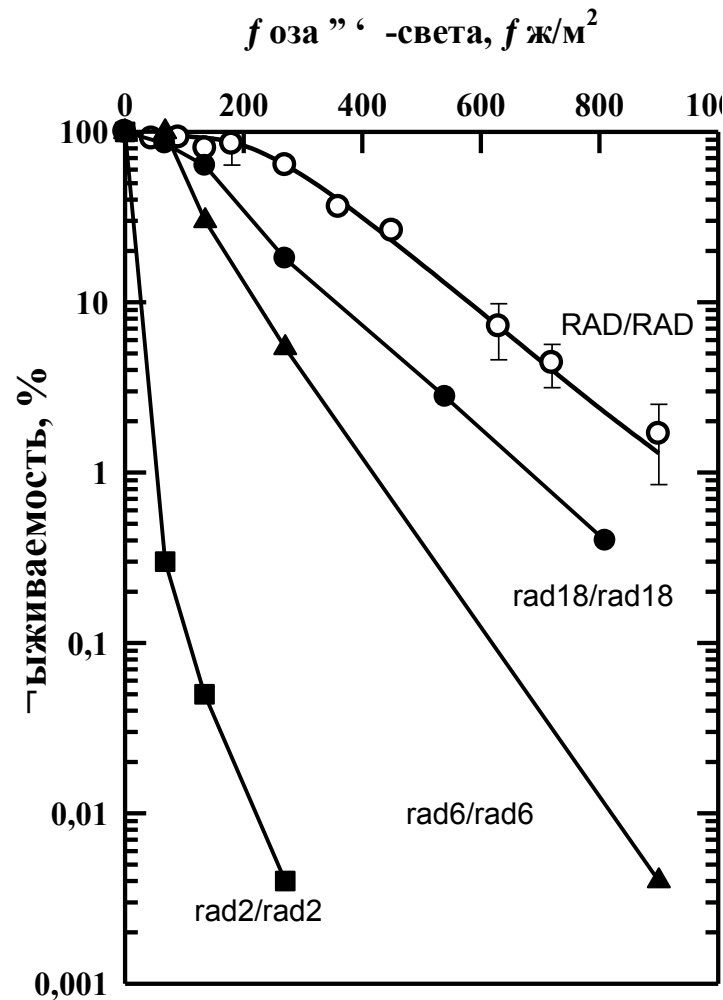
Radiobiological responses of wild-type *S. cerevisiae* yeast cells.

^{60}Co γ -rays (open circles)

^{239}Pu α -particles (closed circles).



Зависимость выживаемости и зависимость эффекта позднего появления колоний (УФ-мутанты по rad2/ rad2, rad6/rad6, rad18/rad18)



ВЫВОД:

В отличии от традиционных представлений, в данной работе впервые продемонстрировано, что генетическая нестабильность определяется не радиочувствительностью клеток, не их способностью к восстановлению или формой кривой зависимости выживаемости от дозы, а детерминируется ploидностью клеток - во всех случаях генетическая нестабильность диплоидных клеток достигала 100%, а гаплоидных около 20%.



Благодарю за внимание!!