

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОТОМКОВ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК, ВЫЖИВШИХ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПЕРТЕРМИИ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Г. П. Жураковская, И. П. Дергачева, М. Д. Тхабисимова

Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

Изучена способность к пострadiaционному восстановлению дрожжевых клеток после раздельного и комбинированного (синергического) действий гипертермии и ионизирующего излучения. Установлено, что снижение способности клеток восстанавливаться, вызванное комбинированным действием гипертермии и ионизирующего излучения, связано с увеличением доли необратимо пораженных клеток. Проанализирована радиочувствительность и способность к восстановлению клеток с различной степенью отдаленных повреждений, образованных в результате раздельного и комбинированного действий ионизирующего излучения и гипертермии.

В последние десятилетия в литературе достаточно широко представлены экспериментальные и теоретические данные о реакциях биологических объектов на различные отдельные физические или химические воздействия. Ранее нами были получены и опубликованы многочисленные экспериментальные и теоретические данные, свидетельствующие о существовании универсальных закономерностей проявления синергического взаимодействия вредных факторов окружающей среды на биологические объекты различного происхождения: синергизм максимален при одновременном применении агентов и зависит от соотношения повреждений, индуцированных каждым агентом; существует оптимальное соотношение воздействующих факторов, при котором синергизм максимален; понижение или повышение интенсивности одного из агентов требует пропорционального увеличения или уменьшения интенсивности второго агента для сохранения максимального синергического взаимодействия [4 - 7]. На основании выявленных закономерностей предложена концепция синергического взаимодействия факторов окружающей среды, в соответствии с которой синергизм обусловлен образованием дополнительных эффективных повреждений за счет взаимодействия субповреждений, формируемых каждым из используемых в комбинации агентом, не являющихся эффективными при раздельном действии агентов. Однако эти исследования касаются реакции клеток непосредственно после воздействия. Практически отсутствуют данные об отдаленных последствиях клеточных реакций на комбинированное воздействие и особенно данные о возможных изменениях чувствительности потомков клеток к последующим воздействиям и о возможных изменениях в системе клеточной репарации в условиях синергического взаимодействия вредных факторов различной природы.

В работе использована простейшая модель эукариотических клеток - диплоидные дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS 800). Широко известны ранние и отдаленные реакции этих клеток на действие ионизирующего излучения [1, 2]. В данной работе усилия были направлены на изучение отдаленных последствий комбинированного действия ионизирующего излучения и гипертермии.

На рис. 1 представлены результаты выживаемости дрожжевых клеток после отдельно гипертермии 52 °С (кривая 1) и ионизирующего излучения (доза 1670 Гр, точка 2), снижающего выживаемость клеток до 1,6 %, а также после последовательного комбинированного действия гипертермии и ионизирующего излучения (кривая 3). Кривая 4 – теоретическая, представляющая собой сумму выживаемостей после раздельного действия агентов.

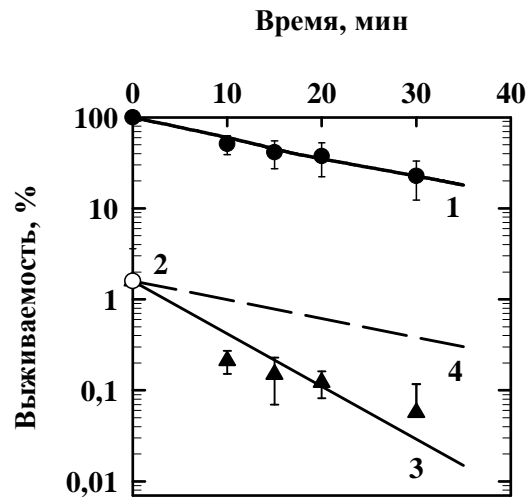


Рис. 1. Выживаемость дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS 800) после отдельного действия гипертермии 52 °C (кривая 1) и ионизирующего излучения (γ -кванты, мощность дозы 74 Гр/мин, доза 1670 Гр, точка 2), последовательного комбинированного действия гипертермии и ионизирующего излучения (кривая 3), а также расчетная кривая, ожидаемая при независимом действии гипертермии и ионизирующего излучения (кривая 4).

Комбинированное действие гипертермии и ионизирующего излучения в данном случае синергическое, т.е. выживаемость клеток после последовательного действия 52 °C и ионизирующего излучения была существенно ниже, чем ожидаемая при аддитивном действии отдельно гипертермии и излучения.

Для анализа реакций дрожжевых клеток, выживших после комбинированного воздействия, были выбраны тесты «радиочувствительность» и «способность к пострадиационному восстановлению». Выжившими считались все клетки, образовавшие на твердой питательной среде колонию. Однако колонии, образованные выжившими после комбинированного воздействия клетками, становились видимыми не одновременно: наблюдался эффект дорастания. Ранее показано, что эффект дорастания не связан со способностью клеток восстанавливаться от лучевых повреждений, а обусловлен теми же повреждениями, которые приводят к инактивации [2]. Если число таких повреждений больше или равно критическому, клетка погибает, если же их меньше, клетка формирует макроколонию, но медленнее, чем в контроле. Замедленное формирование колоний сублетально пораженными клетками может быть обусловлено как задержкой деления клеток после воздействия, так и появлением у некоторых клеток в процессе их размножения нежизнеспособных потомков [1]. По аналогии с воздействием на клетки ионизирующим излучением [2] будем считать, что клетки, не получившие во время воздействия повреждений, образуют макроколонии в те же сроки и таких же размеров, как в контроле (условно назовем их «0»). Клетки, получившие достаточно много повреждений, погибают. И клетки, получившие различное, но меньше критического, число повреждений, формируют колонии медленнее, чем необлученные клетки. В работе мы назвали клетки, образовавшие видимую колонию (потомки) через 1 сут после контроля - «1», через 2 сут - «2» и через 3 сут - «3».

На рис. 2 представлены зависимости радиочувствительности потомков дрожжевых клеток, выживших после ионизирующего излучения (рис. 2, А) и комбинированного воздействия гипертермии и ионизирующего излучения (рис. 2, Б) от дозы ионизирующего излучения. Т.е. мы подвергли клетки, названные выше «0», «1», «2» и «3» последующему воздействию радиацией и сравнили их чувствительность к этому воздействию.

Данные, представленные на рис. 2, А, показывают, что, чем больше сублетальных повреждений получают клетки при первичном облучении ионизирующим излучением, тем становятся более чувствительны к последующему облучению. Радиочувствительность по-

томков клеток, выживших после комбинированного воздействия (рис. 2, Б) различается очень незначительно (кривые 2, 3, 4 и 5 совпадают) и сравнима с чувствительностью клеток с наибольшим числом повреждений, полученных при облучении ионизирующим излучением («3»).

При сравнении результатов восстановления облученных потомков клеток, выживших после действия отдельно ионизирующего излучения и комбинированного действия гипертермии и ионизирующего излучения мы использовали необратимый компонент восстановления К [3]. Необратимый компонент К определяется долей необратимых поражений, от которых клетка не может восстановиться. Этот параметр позволил нам количественно оценить восстановление клеток в каждом отдельном случае. Результаты представлены в таблице.

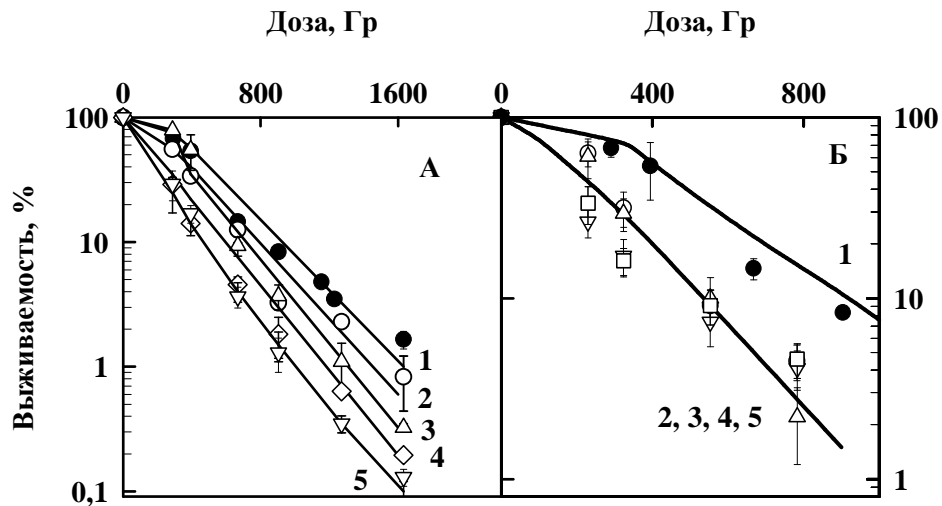


Рис. 2. Выживаемость диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS 800):
 А - кривая 1 - выживаемость клеток после действия ионизирующего излучения (γ -кванты, мощность дозы 74 Гр/мин);
 - кривая 2 - выживаемость потомков клеток «0» в результате последующего действия ионизирующего излучения;
 - кривая 3 - выживаемость потомков клеток «1» в результате последующего действия ионизирующего излучения;
 - кривая 4 - выживаемость потомков клеток «2» в результате последующего действия ионизирующего излучения;
 - кривая 5 - выживаемость потомков клеток «3» в результате последующего действия ионизирующего излучения;
 Б - кривая 1 - выживаемость клеток после действия ионизирующего излучения (γ -кванты, мощность дозы 74 Гр/мин);
 кривые 2, 3, 4, и 5 - выживаемость потомков клеток «0», «1», «2» и «3», соответственно, образовавших колонии после комбинированного действия гипертермии 52 °С и ионизирующего излучения (γ -кванты, мощность дозы 74 Гр/мин, доза 1670 Гр), в результате последующего действия ионизирующего излучения

Видно, что восстановление потомков облученных клеток, получивших в нашей работе обозначение «0» и «1», не отличается от восстановления клеток исходной культуры, независимо от предварительного воздействия ($K = 0,58$). Полностью теряют способность к восстановлению «3», потомки клеток, выживших после любого их исследованных видов воздействий. Существенное различие наблюдается лишь у «2». По-видимому, именно эти клетки будут вносить вклад в понижение степени восстановления дрожжевых клеток, подвергшихся комбинированному воздействию.

Зависимость необратимого компонента восстановления К потомков диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* (штамм XS800), выживших после воздействия ионизирующего излучения, от вида предварительного воздействия

Вид предварительного воздействия	Необратимый компонент восстановления К				
	Разновидность клеток, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения				
	исходные	«0»	«1»	«2»	«3»
Ионизирующее излучение	0,58	0,58	0,58	0,70	1,0
Комбинированное действие гипертермии и ионизирующего излучения	0,58	0,58	0,58	0,95	1,0

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы: а) независимость радиочувствительности потомков клеток, получивших различное число сублетальных повреждений в результате комбинированного действия гипертермии и ионизирующего излучения, позволяет предположить изменение характера этих повреждений по сравнению с ионизирующим излучением; б) увеличение доли необратимо пораженных клеток свидетельствует о формировании дополнительных повреждений в результате комбинированного действия гипертермии и ионизирующего излучения; в) выделена группа потомков клеток («2»), выживших после комбинированного воздействия, «ответственных» за увеличение числа необратимо пораженных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бычковская И.Б.* Проблема отдаленной радиационной гибели клеток. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 160 с.
2. *Капulyцевич Ю.Г., Корогодин В.И., В.Г. Петин.* Анализ радиобиологических реакций дрожжевых клеток. Сообщение 1. Кривые выживания и эффект дорастания // Радиобиология. – 1972. – Т. 12, № 2. – С. 267 – 271.
3. *Корогодин В.И.* Проблемы пострадиационного восстановления. – М.: Атомиздат, 1996. – 391 с.
4. *Петин В.Г., Комаров В.П.* Количественное описание модификации радиочувствительности. - М.: Энергоатомиздат, 1989. – 190 с.
5. *Petin V.G., Zhurakovskaya G.P.* The peculiarities of the interaction of radiation in *Saccharomyces cerevisiae* irradiated with various dose rates // Yeast. - 1995. - Vol. 11, No. 6. - С. 549 – 554.
6. *Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Komarova L.N.* Fluence rate as a determinant of synergistic interaction under simultaneous action of UV light and mild heat in *Saccharomyces cerevisiae* // J. Photochemistry and Photobiology B: Biology. - 1997. -Vol. 38. - P. 123 - 128.
7. *Petin V.G., Zhurakovskaya G.P., Pantiukhina N., Rassokhina A.V.* Low doses and problems of synergistic interaction of environmental agents // In: Low doses of radiation: are they dangerous? (Ed. E.V. Burlakova) / Science Publishers, Inc., Huntington, New York. – 2000. – P. 155 – 180.

Поступила в редакцию 25.10.04,
после доработки – 24.01.05.

17 РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ПОТОМКОВ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК, ВЫЖИВШИХ ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Г. П. Жураковская, И. П. Дергачева, М. Д. Тхабисимова

Изучена способность к пострadiaционному восстановлению дрожжевых клеток после раздельного и комбинированного (синергического) действий гипертермии и ионизирующего излучения. Установлено, что снижение способности клеток восстанавливаться, вызванное комбинированным действием гипертермии и ионизирующего излучения, связано с увеличением доли необратимо пораженных клеток. Проанализирована радиочувствительность и способность к восстановлению клеток с различной степенью отдаленных повреждений, образованных в результате раздельного и комбинированного действий ионизирующего излучения и гипертермии.

17 РАДІОБІОЛОГІЧНІ РЕАКЦІЇ ДАЛЕКИХ ПОТОМКІВ ДРІЖДЖОВИХ КЛІТИН, ЯКІ ВИЖИЛИ ПІСЛЯ КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ

Г. П. Жураковська, І. П. Дергачова, М. Д. Тхабісімова

Вивчено здатність до пострадіаційного відновлення дріжджових клітин після роздільної та комбінованої (синергічної) дії гіпертермії та іонізуючого випромінювання. Установлено, що зниження здібності клітин до відновлювання, визване комбінованою дією гіпертермії та іонізуючого випромінювання, пов'язане зі збільшенням частки необернено уражених клітин. Проаналізовано радіочутливість і здібність до відновлення клітин з різним ступенем віддалених пошкоджень, утворених у результаті роздільної та комбінованої дії іонізуючого випромінювання та гіпертермії.

17 THE LATE EFFECTS OF COMBINED ACTIONS ON CELL RECOVERY PROCESSES

G. P. Zhurakovskaya, I. P. Dergacheva, M. D. Tkhabisimova

The capacity for postradiation recovery of yeast cells after simultaneous (synergistic) action of hyperthermia and ionizing radiation and radiation alone has been investigated. It has been shown, that reducing of recovery capacity after combined action connected with growing of unreversibly killed cells portion. The analysis of radiosensitivity and recovery capacity of cells with different amount of late damages after combined actions of hyperthermia and ionizing radiations and radiation alone has been carried out.

Автори:

Жураковская Галина Петровна

Доктор биологических наук, старший научный сотрудник

Ведущий научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр РАМН

Тел.: 7 (08439) 74743 Факс: 7 (095) 9561440

zhgalina@mail.ru

Дергачева Инна Петровна

Кандидат химических наук

Старший научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр РАМН

Тел.: 7 (08439) 74743 Факс: 7 (095) 9561440

Тхабисимова Марианна Даняльевна

Младший научный сотрудник, Медицинский радиологический научный центр РАМН

Тел.: 7 (08439) 74743 Факс: 7 (095) 9561440