

С.М. Роднева, Л.П. Сычева, Д.В. Гурьев

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ ТРИТИЯ НА КЛЕТКИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

Контактное лицо: Софья Михайловна Роднева, e-mail: sontyaga@yandex.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Введение

1. Индукция хромосомных aberrаций в стимулированных и нестимулированных к делению лимфоцитах периферической крови человека при воздействии тритиевой воды (НТО);
2. Индукция микроядер в лимфоцитах периферической крови при воздействии трития;
3. Оценка относительной биологической эффективности соединений трития в цитогенетических исследованиях.

Заключение

Ключевые слова: *тритий, хромосомные aberrации, лимфоциты, микроядра, ОБЭ*

Для цитирования: Роднева С.М., Сычева Л.П., Гурьев Д.В. Цитогенетические эффекты воздействия соединений трития на клетки млекопитающих // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2025. Т. 70. № 5. С. 5–10. DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-5-5-10

S.M. Rodneva, L.P. Sycheva, D.V. Guryev

Cytogenetic Effects In Mammalian Cells Exposed To Tritium Compounds

A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

Contact person: Sofya Mikhailovna Rodneva, e-mail: sontyaga@yandex.ru

CONTENT

Introduction

1. Induction of chromosomal aberrations in stimulated and unstimulated human peripheral blood lymphocytes by exposure to tritiated water (НТО);
2. Induction of micronuclei in peripheral blood lymphocytes when exposed to tritium
3. Assessment of the relative biological effectiveness of tritium in cytogenetic studies

Conclusion

Keywords: *tritium, chromosomal aberrations, lymphocytes, micronuclei, RBE*

For citation: Rodneva SM, Sycheva LP, Guryev DV. Cytogenetic Effects In Mammalian Cells Exposed To Tritium Compounds. Medical Radiology and Radiation Safety. 2025;70(5):5–10. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2025-70-5-5-10

Введение

Тритий – радионуклид, с которым население встречается даже в быту, хотя и в минимальных концентрациях. Тритиевая вода является основным токсичным компонентом сточных вод атомной энергетики. В связи с разработкой и внедрением термоядерных реакторов в качестве альтернативы реакторам деления содержание трития на единицу тепловой мощности может в 10^4 – 10^5 раз превысить аналогичный показатель последних. Соединения трития вызывают многочисленные клеточные эффекты, и, что особенно важно, оказывают молекулярно-генетические изменения, ведущие к образованию хромосомных aberrаций (ХА) и микроядер (МЯ). Цитогенетические методы, позволяющие провести анализ ХА и МЯ в клетках после облучения, являются «золотым стандартом» в радиационной биологии. Их оценка в лимфоцитах периферической крови является важным показателем для прогноза долгосрочных последствий воздействия ионизирующего излучения.

Различают aberrации хроматидного или хромосомного типа. Их индукция варьируется в зависимости от

стадии клеточного цикла, на которой клетки подвергаются облучению. Клетки, подвергшиеся воздействию ионизирующего излучения во время G_0 и G_1 фазы клеточного цикла, чаще имеют aberrации хромосомного типа, тогда как облучение во время S и G_2 фаз вызывает преимущественно aberrации хроматидного типа, что связано с пространственной организацией генетического материала на разных стадиях клеточного цикла.

К aberrациям хромосомного типа относят нестабильные хромосомные aberrации (дидентрики, центрические и ацентрические кольца, ацентрические фрагменты), и стабильные хромосомные aberrации (транслокации, инверсии и т.п.). Ацентрические фрагменты, как правило, менее надежны в качестве индикатора радиационного повреждения и, обычно, не принимаются во внимание при анализе.

К aberrациям хроматидного типа относят в основном терминальные делеции, т. е. смещение фрагмента хроматиды от места повреждения. Другими менее частыми aberrациями хроматидного типа считаются бесцветные повреждения (или пробелы), изохроматид-

ные делеции, асимметричные и симметричные обмены [Savage 1976].

МЯ состоят из фрагментов или целых хромосом, отстающих в анафазе, что указывает на частичные нарушения их структуры [Fenech 2010]. Значительное увеличение процентного содержания МЯ в лимфоцитах периферической крови является чувствительным показателем радиационного повреждения.

Тритий, инкубируемый с клеточными культурами *in vitro*, вызывает многочисленные клеточные эффекты, включая ХА и МЯ. Распад трития приводит к образованию бета-частицы с очень низкой энергией (средняя энергия 5,7 кэВ) с малым радиусом действия (средняя длина трека в воде 0,56 мкм). Плотность ионизации у бета-частиц трития больше, чем у электронов или фотонов более высокой энергии, образующихся в результате воздействия гамма-излучения ⁶⁰Со и рентгеновского излучения 200–250 кВп. Предполагается, что низкоэнергетические бета-частицы, образующиеся при распаде трития, биологически более эффективны, чем жесткие рентгеновские и гамма-лучи на единицу поглощенной дозы в отношении образования разрывов ДНК.

Оценка биологического действия трития важна не только для прогноза последствий для населения, но и для реконструкции доз у профессионалов-атомщиков с последующей корректировкой нормативов для различных соединений трития. До сих пор нормативы трития и его соединений значительно отличаются в разных странах, от 100 Бк/л в большинстве стран Европейского Союза до 7000 Бк/л в Канаде, 7600 Бк/л в России, 30000 Бк/л в Финляндии и более 76000 Бк/л в Австралии [1], что требует дополнительных данных для их гармонизации. Причем, в основном, они разработаны для оксида трития, но отнесены также к другим его соединениям. В связи с этим изучение биологических эффектов действия бета-излучения трития и проблема относительной биологической эффективности (ОБЭ) соединений трития является актуальной и социально значимой.

Целью настоящей статьи является обобщение накопленных к настоящему времени данных о цитогенетическом действии соединений трития в исследованиях *in vitro* и возможностью определения ОБЭ. Представлены экспериментальные данные из наиболее информативных работ, проведенных за последние 50 лет с определением зависимости эффекта от объемной активности и/или дозы. Поскольку такие данные получены преимущественно в экспериментах на культивируемых лимфоцитах периферической крови человека, именно им уделено основное внимание.

В анализируемых статьях исходные данные экспериментов получены в зависимости от разных параметров: радиоактивности в культивируемой среде, мощности дозы, поглощенной дозы. Поэтому для сравнения исходные параметры нами рассчитаны и представлены в единой системе. Известно, что ОБЭ трития отличается для aberrаций хроматидного или хромосомного типа. По данным [2], это различие может быть трехкратным. Поскольку индукция aberrаций того или иного типа зависит от фазы клеточного цикла, воздействие трития на делящиеся и неделящиеся клетки рассмотрено отдельно. Проведено сравнение эффекта трития в неорганической форме (неорганический тритий оксид, НТО) и органически связанного трития (ОСТ) – ³Н-тимидина. Отдельный раздел посвящен расчёту ОБЭ на основании обобщения данных литературы для НТО по отношению к рентгеновскому и гамма-излучению.

1. Индукция хромосомных aberrаций в стимулированных и нестимулированных к делению лимфоцитах периферической крови человека при воздействии тритиевой воды (НТО)

В опубликованных материалах исследований, в основном, изучено воздействие тритиевой воды на популяции лимфоцитов периферической крови человека в фазе G₀ клеточного цикла до стимуляции их к митозу с помощью фитогемагглютинина (ФГА). Индуцированные тритием ХА подсчитывали при достаточно высокой объёмной концентрации НТО (выше 1 МБк/мл) [3–8]. Преимущественно расчеты проводили путем оценки aberrаций хромосомного типа – дидентриков и центральных колец. В табл. 1 представлен перечень цитогенетических исследований *in vitro*. Указаны время инкубации с тритием, объёмная радиоактивность и поглощенная доза. Примерно в половине исследований воздействие трития было краткосрочным – от 10 мин до 2 ч, в части работ клетки подвергались облучению в течение 24–48 ч. Расчет мощности дозы трития во всех перечисленных исследованиях проводили по формуле:

$$\dot{D} = 9,12 \times 10^{-13} \times C \times \eta \text{ (Гр/с)},$$

где C – объёмная активность трития в среде на единицу массы, т.е. число распадов трития в секунду на грамм массы воды (Бк/г), η – коэффициент содержания воды в клетке.

Таблица 1

Условия экспериментов по оценке цитогенетического действия оксида трития на культуры клеток *in vitro*

Experimental conditions for evaluating the cytogenetic effect of tritium oxide on cell culture *in vitro*

Исследование	Клетки	Время, ч	НТО, МБк / мл	Доза ³ Н, Гр
Хромосомные aberrации				
Bocian (1978)	лимфоциты	2	63–531	0,28–2,5
		24	1,2–50	0,1–4,0
Prosser (1983)	лимфоциты	0,5	1200, 1700, 2500	1,91, 2,76, 3,85
Vulpis (1984)	лимфоциты	0,16	223, 454	0,25, 0,5
		1,5	238–871	1,2–4,2
Tanaka (1994)	лимфоциты	0,1–1,7	555	0,14–2,1
	костный мозг	0, 16–2,5	555	0,13–1,1
Balakrishnan (2004)	лимфоциты	0,5	76, 171, 286	0,10, 0,23, 0,38
		2	171, 286	0,9, 1,5
Snigireva (2011)	лимфоциты	24	6–150	0,06–1,5
		1,6–48	7,6	0,06–1,5
Deng et al (2015)	лимфоциты	24	0,14–25	0,01–1,8
Микроядра				
Balakrishnan (2004)	лимфоциты	0,5	76, 171, 286	0,10, 0,23, 0,38
Deng (2015)	лимфоциты	24	0,14–25	0,01–1,8
Ueno (1982)	L5178Y мышей	20	22–190	1,0–8,0

По этой формуле для отдельных исследований в табл. 1 радиоактивность НТО в среде получена исходя из значений мощности дозы. При расчете поглощенной дозы принимается во внимание время инкубации в среде с НТО (мощность дозы умножается на время инкубации в сек). При оценке поглощенной дозы учитывают также различное содержание воды в каждом из компонентов крови (плазме, эритроцитах и лейкоцитах), отношение объема клеток крови к общему объему крови и объем-

ный процент лимфоцитов в крови. Методика оценки соответствующего поправочного коэффициента представлена в работе [9] и принята в работах [4, 5, 7, 8] с вариациями от 0,9 до 1,05, но в работах [2, 6] использовались значения коэффициента 0,7 и 0,8.

Для определения зависимости эффекта трития от дозы были отобраны работы, в которых результаты исследований приведены в табличной форме и доступны для обработки и графического представления [2, 4–8]. Эти экспериментальные данные сгруппированы в зависимости от постоянной или переменной мощности излучения с различными временными значениями.

В работах [4, 7, 8] измерены уровни нестабильных ХА с объемной активностью 0,8–26 МБк/мл (или мощностью дозы 0,024 до 1,230 мГр/мин) и постоянным временем воздействия НТО в течение 24 ч. Это позволило нам рассчитать уравнения регрессии и представить результаты авторов в графическом виде (рис. 1). Результаты описываются линейной зависимостью до 20 МБк/мл, отмечено их хорошее соответствие при активности ниже 10 МБк/мл.

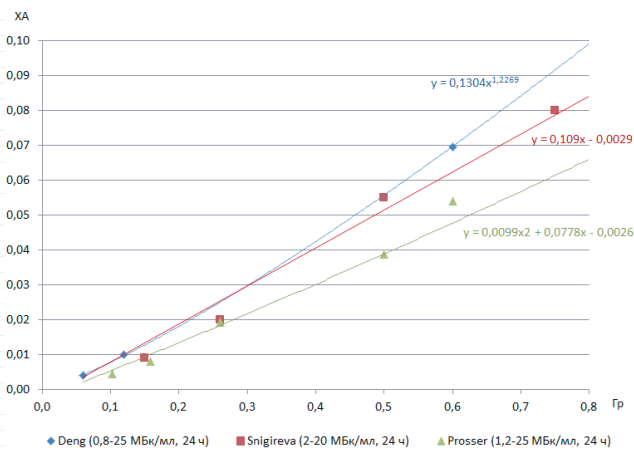


Рис. 1. Зависимость частоты нестабильных хромосомных aberrаций (суммы дицентриков и центрических колец) на клетку от дозы облучения (в Гр) при воздействии НТО с различной объемной активностью в течение 24 ч на лимфоциты человека

Fig. 1. Dependence of the frequency of unstable chromosomal aberrations (the sum of dicentric and centric rings) per cell on the radiation dose (in Gy) when exposed to НТО with different volumetric activity for 24 hours on human lymphocytes

На рис. 2 представлены рассчитанные нами зависимости частоты нестабильных aberrаций хромосомного типа на клетку по результатам 4 исследований, в которых объемная активность была высокой и постоянной в течение воздействия НТО: 555 МБк/мл и 0,1–1,7 ч [2]; 286 МБк/мл и 2 ч [6]; 170 МБк / мл и 0,5 ч [6]; 10 МБк/мл и 2–48 ч [7]. Близкие значения наблюдаются в экспериментах [6, 7] при дозах менее 1 Гр, несмотря на отличие на порядок мощности доз и времени облучения. Частота ХА в исследовании [2] в 3 раза выше, чем в [7], что можно объяснить различием в коэффициентах учета воды в клетках при расчете доз, а также использованием высокой мощности дозы в исследовании [2]. При значениях дозы больше 1 Гр отмечают увеличение частоты ХА при большей мощности дозы. По данным [7] при дозах меньше 1 Гр отмечено хорошее соответствие (с линейной аппроксимацией) между экспериментами с переменной и постоянной мощностями доз.

В экспериментах по оценке воздействия высоких доз НТО (выше 1 Гр) при хроническом (18–25 МБк/мл и 24 ч [8]; 12–50 МБк/мл и 24 ч [4]; 13–20 МБк/мл и

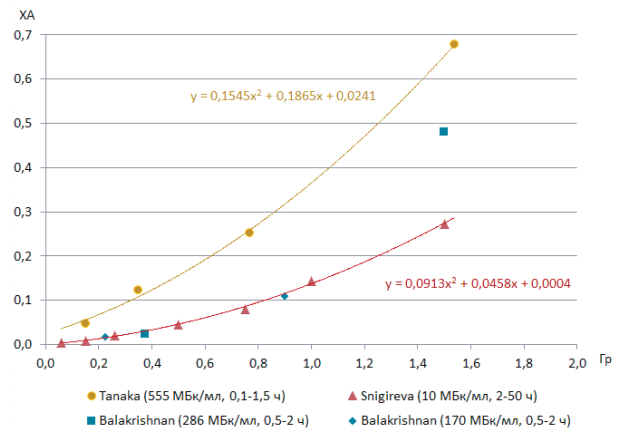


Рис. 2. Зависимость частоты нестабильных хромосомных aberrаций (суммы дицентриков и центрических колец) на клетку от дозы облучения (в Гр) при воздействии НТО с разным временем инкубации и постоянной объемной активностью в каждом эксперименте на лимфоциты человека

Fig. 2. The dependence of the frequency of unstable chromosomal aberrations (the sum of dicentric and centric rings) on the cell on the radiation dose (in Gy) when exposed to НТО with different incubation times and constant volumetric activity in each experiment on human lymphocytes

24 ч [7]; 10 МБк/мл и 32–48 ч [7]) и острым облучении (1,2–2,5 ГБк/мл и 0,5 ч [4]; 555 МБк/мл и 0,1–1,7 ч [4]; 200–900 МБк/мл и 1,5 ч [4]) мощность дозы может отличаться в 100 раз. При остром облучении и большой мощности дозы частота ХА выше, чем при хроническом облучении и низкой мощности (рис. 3).

В исследованиях с НТО с объемной активностью трития в 1–1000 МБк/мл с не делящимися клетками лимфоцитов в фазе G₀ наблюдались в подавляющем большинстве нестабильные ХА (дицентрики и центрические кольца) и только небольшое число хроматидных aberrаций.

Представленные данные показывают, что частота ХА может отличаться при воздействии НТО в разных экспериментах со схожими условиями даже для клеток одинакового типа и единой методике расчета доз. Это можно объяснить тем, что при расчете дозы в работах используются различные коэффициенты учета воды в клетках

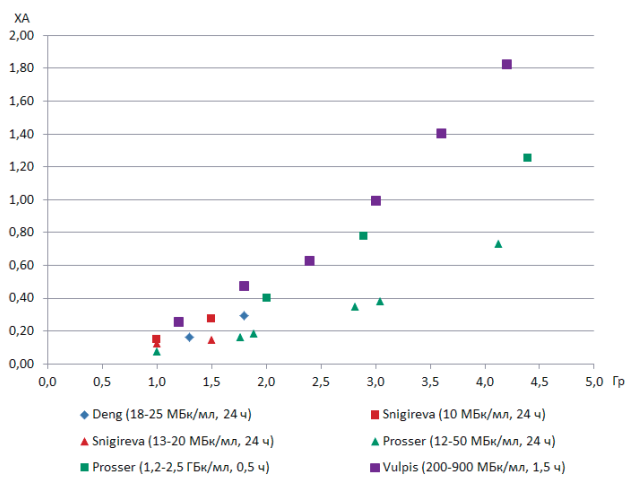


Рис. 3. Частота нестабильных хромосомных aberrаций (дицентриков и центрических колец) на клетку в лимфоцитах человека при хроническом и остром облучении НТО в зависимости от дозы облучения (в Гр)

Fig. 3. The frequency of unstable chromosomal aberrations (dicentric and centric rings) per cell in human lymphocytes during chronic and acute НТО irradiation, depending on the radiation dose (in Gy)

(от 0,7 до 1,05), что может привести к существенным различиям в полученных зависимостях.

Следует отметить, что в указанных работах эффект ХА на клетках получен при воздействии НТО с высокой объемной активностью (десятки и сотни МБк/л).

Кроме этого, в литературе описаны эффекты воздействия трития в форме НТО и ^3H -тимидина на делящиеся лимфоциты. В этом случае соединения трития добавляют непосредственно в культуру лимфоцитов, уже стимулированных к делению с помощью ФГА. В этих исследованиях определены, в основном, aberrации хроматидного типа, такие как терминальные делеции и пробелы.

Самые первые исследования [10] индукции ХА в культуре делящихся клеток китайского хомячка при воздействии НТО с высокой объемной активностью (от 10 до 200 МБк/мл) в течение 10 часов показали, что около 95 % всех aberrаций относятся к одиночным разрывам хроматидного типа. В других ранних исследованиях в лимфоцитах периферической крови человека, а также в клетках HeLa и китайского хомячка [11] также наблюдали только aberrации хроматидного типа при инкубации с ^3H -тимидином. В работе [12] клетки китайского хомячка С-12 инкубировали с ^3H -тимидином (23–185 кБк/мл) в течение 2 ч, где наблюдали aberrации только хроматидного типа. При использовании самых высоких концентраций ^3H -тимидина митоз задерживается на 3 ч исключительно в фазе G_2 , при этом задержка увеличивается приблизительно линейно с увеличением активности трития. В экспериментах с клетками HeLa наблюдали aberrации хроматидного типа только в том случае, если ^3H -тимидин был включен в ДНК во время S-фазы клеточного цикла [13].

Анализ хромосомных aberrаций в первых метафазах лимфоцитов человека при длительном воздействии НТО и ^3H -тимидина (48 ч) и низкой объемной активностью (0,037–370 кБк/мл) показал повышение частоты aberrаций только хроматидного типа [14]. При повышении активности НТО до 3,7 МБк / мл отмечено повышение частоты aberrаций хромосомного типа (0,02–0,03 дицентриков на клетку). ^3H -тимидин индуцировал существенно больше aberrаций хроматидного типа, чем НТО, и с ростом объемной активности наблюдается увеличение отношения aberrаций хроматидного типа у ^3H -тимидина к НТО с 5 до 30. (рис. 4).

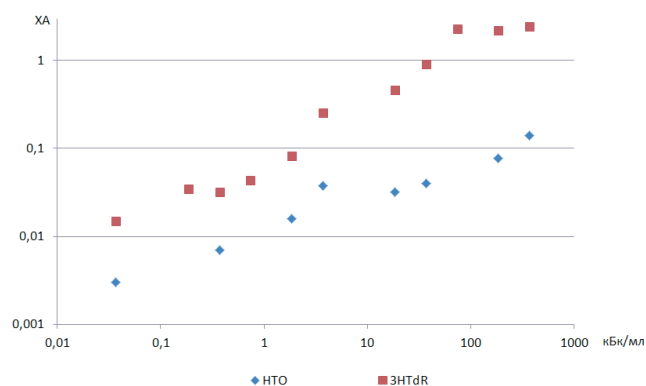


Рис. 4. Частота aberrаций хроматидного типа на клетку в лимфоцитах крови человека при хроническом облучении НТО и ^3H -тимидина в течение 48 ч в зависимости от объемной активности трития [14] (данные на диаграмме представлены в двойном логарифмическом масштабе)

Fig. 4. The frequency of chromatid-type aberrations per cell in human blood lymphocytes during chronic exposure to NTO and ^3H -thymidine for 48 hours, depending on the volumetric activity of tritium [14] (the data in the diagram are presented on a logarithmic scale)

Цитогенетический анализ клеток костного мозга человека после воздействия НТО с объемной активностью 555 МБк/мл представлен в работе [2]. Авторы инкубировали клетки с НТО в течение 10–150 мин, а затем культивировали в течение 24 ч и анализировали метафазы первого клеточного деления после облучения. Определено в 2,4–4,0 раза больше aberrаций хроматидного типа, чем хромосомного типа.

Преимущественное появление aberrаций хроматидного типа отмечено в культивируемых клетках обезьян DBS-FRhl-2 [15] при воздействии ^3H -тимидина (37 кБк/мл) в течение 0,5–1 ч инкубации и дальнейшего наблюдения в течение 36 ч.

Исходя из проанализированных данных, можно утверждать, что aberrации хромосомного типа проявляются в делящихся лимфоцитах при активности НТО в среде свыше 0,7 МБк/л и инкубации в течение двух дней. При воздействии ^3H -тимидина не наблюдалось aberrаций хромосомного типа. Данное обстоятельство объясняется различиями в чувствительности клеток к бета-частицам на разных стадиях клеточного цикла. Клетки в фазе G_2 , как правило, более чувствительны, чем клетки в фазах G_0 и G_1 . Также известно, что образование хроматидных aberrаций связано с разрывами хромосом в фазе G_2 . Тритированный тимидин активно включается в хромосомную ДНК во время репликации ДНК в фазе S и эффективен только после дубликации хромосомы уже в фазе G_2 .

При одинаковой объемной активности эффект от воздействия ^3H -тимидина кратно выше, чем при воздействии НТО. Все приведенные выше исследования указывают на то, что тритий при воздействии на делящиеся клетки разного вида индуцирует преимущественно aberrации хроматидного типа.

2. Индукция микроядер в лимфоцитах периферической крови при воздействии трития

Для определения «истинной» частоты клеток с цитогенетическими нарушениями при воздействии какого-либо фактора необходимо учитывать частоту ХА в метафазе первого деления или МЯ в клетках сразу после первого деления. При следующих делениях частота клеток с цитогенетическими нарушениями увеличивается из-за так называемой генетической нестабильности, автономно, уже независимо от фактора. В микроядерном тесте на лимфоцитах для этого предложен специальный прием – блок цитокинеза с помощью цитохалазина В. В этом случае клетка после первого деления содержит два ядра. При дальнейших делениях количество ядер увеличивается до четырех и более.

Метод учета микроядер в двуядерных лимфоцитах менее трудоемкий в анализе и приготовлении препаратов, не требует высокой квалификации специалиста, поэтому предложен в качестве альтернативы подсчету хромосомных aberrаций, в частности дицентриков и центрических колец, в случае радиационных аварий. Опубликовано всего несколько исследований по индукции МЯ при воздействии трития (табл. 1).

В работах [6, 8] было изучено образование МЯ в периферических лимфоцитах и выявлена зависимость доза–эффект для различных типов облучения при различных дозах облучения. Значимые показатели МЯ по отношению к контролю наблюдались при объемных концентрациях НТО от 76 МБк/мл (0,03, контроль 0,009 МЯ/клетку) до 286 МБк/мл (0,08 МЯ/клетку) при 0,5 ч инкубации [6] и от 2 МБк/мл (0,01, контроль 0,004 МЯ/клетку) до 25 МБк/мл (0,03 МЯ/клетку) при 24 ч инкубации [8].

Показатели МЯ у лимфоцитарных лейкозных клеток мышей L5178Y [16] получены при более высоких концентрациях трития (22-190 МБк/мл) в течение 20 часов инкубации НТО. В [16] при объемной активности в 30 МБк/мл значения МЯ (0,025 МЯ/клетку) сопоставимы со значениями в [8].

В работе [17] изучали образование МЯ в эмбриональных клетках мышей при действии метил-³Н-тимидина и L-⁵-³Н-аргинина с небольшой объемной активностью (0,37 и 0,925 кБк/мл). Повышение частоты МЯ отмечали только при активности 0,925 кБк/мл. Эффект ³Н-аргинина с точки зрения образования МЯ был выше почти в четыре раза, чем от ³Н-тимидина, что авторы объясняют более быстрым поглощением ³Н-аргинина эмбрионами.

Авторы работ по индуцированию МЯ отмечают, что оценка доз с помощью микроядерного теста согласуется с анализом дицентриков и центрических колец. Оценка МЯ является более быстрой, простой и экономически эффективной по сравнению с оценкой ХА, но индивидуальная вариабельность и фоновая частота ограничивают его применение в области малых доз.

3. Оценка общей биологической эффективности трития в цитогенетических исследованиях

ОБЭ – это отношение поглощенной дозы эталонного излучения, необходимой для конкретного биологического ответа, к поглощенной дозе исследуемого излучения, вызывающего такой же ответ. Значения ОБЭ различаются в зависимости от биологической системы, рассматриваемых показателей, дозы, мощности дозы и эталонного излучения. В литературе представлено около 60 экспериментальных определений ОБЭ излучения трития с использованием различных биологических показателей при сравнении эффекта трития и гамма- или рентгеновских лучей в качестве эталонных излучений. Оценку ОБЭ трития проводили путем анализа ХА, показателей канцерогенеза, гибели клеток и других. Применяли режимы хронического или острого облучения.

Сводные таблицы этих исследований приведены в публикациях [18–21], в которых также рассматриваются причины, способные повлиять на определение ОБЭ. Большинство цитогенетических исследований для определения ОБЭ бета-частиц трития проведено при действии НТО на клетки млекопитающих *in vitro*. Обобщение этих данных представлено нами в табл. 2. В основном, эти исследования проведены на лимфоцитах периферической крови человека. В табл. 2 также указаны мощность дозы и доза НТО.

Результаты исследований ХА в лимфоцитах с эталонным острым рентгеновским облучением приведены в работах [3–5]. ОБЭ трития (НТО) варьирует незначительно: 1,13 при дозах 0,2–4 Гр [4]; 1,16 при дозе 2,5 Гр [3]; 1,17 при дозе 7 Гр [5]. Аналогичное значение ОБЭ получено при анализе ХА в клетках периферической крови мышей *in vivo* -1,14 (доза 1,5–6 Гр) [22]. И только при низкой дозе 0,25 Гр в работе [5] определено более высокое значение ОБЭ – 2,6.

ОБЭ трития с эталонным гамма-излучением в лимфоцитах крови человека [2] соответствовала 2,6–2,4 при остром воздействии НТО в суммарных дозах 0,14–2,1 Гр и гамма-излучения ⁶⁰Со в дозах 0,05–4,0 Гр. При тех же мощностях дозы для клеток костного мозга человека ОБЭ соответствовала 1,13. Подобное определение ОБЭ представлено в исследовании [7] на лимфоцитах при определении дицентриков и центрических колец. Эталоном служило гамма-излучение ⁶⁰Со. Максимальное

Таблица 2

Относительная биологическая эффективность (ОБЭ) излучения трития в форме НТО в экспериментах по определению частоты хромосомных aberrаций и микроядер

The relative biological effectiveness (RBE) of tritium radiation in the form of HTO in experiments to determine the frequency of chromosomal aberrations and micronuclei

Исследование	Излучение, Гр/мин	Доза, Гр	ОБЭ
Хромосомные aberrации			
Bocian (1978) лимфоциты	НТО 0,0024–0,0213	0,28–2,5	1,17 *
	X-180 кВп 1,9	0,5–3,0	
Prosser (1983) лимфоциты	НТО 0,7–0,15	0,2–4,0	1,13 *
	X-250 кВп 1,0	0,1–4,1	
Vulpis (1984) лимфоциты	НТО 0,013–0,047	0,25–7,0	2,35–1,17
	X-250 кВп 1,0	0,05–9,0	
Tanaka (1994) лимфоциты	НТО 0,02	0,14–2,10	2,6–2,4
	γ- ⁶⁰ Со 0,02	0,05–4,0	
Tanaka (1994) клетки костного мозга	НТО 0,02	0,13–1,11	хромосомы 1,13 хроматиды 3,1*
	γ- ⁶⁰ Со 0,02	0,25–2,0	
Snigireva (2011) лимфоциты	НТО 0,000522	0,03–1,5	2,2–1,25
	γ- ⁶⁰ Со 0,102	0,06–2,0	
Deng (2015) лимфоциты	НТО 0,000024–0,0012	0,06–1,8	2,17–1,05
	γ- ⁶⁰ Со 0,014	0,05–2,2	
Микроядра			
Deng (2015) лимфоциты	НТО 0,000024–0,0012	0,06–1,3	2,17–1,46
	γ- ⁶⁰ Со 0,014	0,11–1,9	
Ueno (1982) L5178Y мышей	НТО 0,0008–0,0067	1,0–6,0	2,3–1,34
	γ- ⁶⁰ Со 0,3	2,0–9,0	

Примечание: * линейная аппроксимация данных

значение ОБЭ трития, равное 2,2, получено при дозе 0,03 Гр. При увеличении дозы значение коэффициента ОБЭ плавно снижалось, приближаясь к величине 1,2 при дозе в 1 Гр.

Аналогичные значения ОБЭ получены в работе [8]. ОБЭ в отношении нестабильных ХА составила 2,21 при дозе 0,06 Гр. С увеличением дозы отмечено уменьшение ОБЭ до 1,14 при 1 Гр.

На рис. 5 представлены значения ОБЭ трития с эталонным гамма- [7, 8] и рентгеновским излучением [5]. Отмечается существенное увеличение значений ОБЭ трития по отношению к обоим эталонным излучениям в диапазоне малых доз (меньше 0,5 Гр).

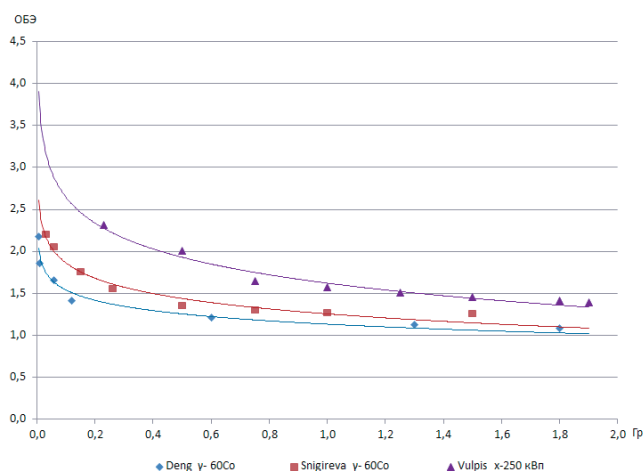


Рис. 5. Значения ОБЭ трития при эталонном ⁶⁰Со γ-излучении [7, 8] и X-250 кВп [5] (по горизонтали значения доз от НТО)

Fig. 5. The values RBE of tritium at the reference ⁶⁰Co gamma radiation [7, 8] and X-250 kVp [5] (horizontal dose values from HTO)

Определение ОБЭ трития при анализе клеток с МЯ проводилось в единичных исследованиях [8, 16]. В качестве эталона использовались гамма-кванты ^{60}Co . В клеточной линии мышинового лимфоцитарного лейкоза (L5178Y) при суммарных дозах НТО 1–8 Гр и гамма-излучения 2–9 Гр значения ОБЭ составили 2,3 и 1,8 соответственно [16]. В лимфоцитах ОБЭ трития в микро-ядерном тесте снижались от 2,17 до 1,46 при увеличении доз от 0,06 до 1,3 [8].

Таким образом, при анализе представленных исследований просматриваются определенные закономерности в оценке ОБЭ:

- Диапазон ОБЭ в представленных исследованиях соответствует 1,1–2,6.
- Эффект от трития при малых и умеренных дозах (до 1 Гр) примерно в два раза выше, чем при воздействии рентгеновского или гамма-излучения.
- Для эталонного излучения обоих видов при малых и умеренных дозах (до 1 Гр) отмечены более высокие ОБЭ трития, а при увеличении дозовой нагрузки значения ОБЭ снижаются.

Заключение

Эксперименты с тритием на клетках млекопитающих различного типа показали различия в типе и частоте ХА в зависимости от способности клеток к делению и формы тритированного субстрата.

В работах продемонстрировано значительное различие в коэффициентах ОБЭ для НТО, полученных на основе одного и того же показателя – ХА. Причинами могут являться, во-первых, использование авторами различных коэффициентов содержания воды в клетках при оценке доз, во-вторых, то, что эталонное фотонное излучение было доставлено со значительно большей мощностью дозы по сравнению с мощностью дозы β -излучения.

В целом, за последние 50 лет исследования проводились на клетках с высокими объемными активностями. Но важно отметить, что антропогенное и природное количество трития на 2–3 порядка меньше, чем в представленных исследованиях. Перспективным направлением, на наш взгляд, является количественное изучение повреждений ДНК клеток человека при более низких объемных активностях и мощностях доз, так как этот подход является наиболее чувствительным. Также нами отмечено малое количество исследований в отношении ОСТ, хотя распределение трития в этом случае в клетке будет совершенно отличаться от НТО.

При воздействии соединений трития в малых дозах ХА обоих типов наблюдаются в очень малых количествах. Поэтому необходимо использовать более чувствительные методы оценки повреждения ДНК клеток, такие как, например, количественные исследования образования фокусов белков-маркеров двуниевых разрывов ДНК.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

- Gueguen Y., Priest N.D., Dublino I., Bannister L., Benderitter M., Durand C., et al. in Vivo Animal Studies Help Achieve International Consensus on Standards and Guidelines for Health Risk Estimates for Chronic Exposure to Low Levels of Tritium in Drinking Water. *Environ Mol Mutagen*. 2018;59:7:586-94. doi: 10.1002/EM.22200. PMID: 30151952.
- Tanaka K., Sawada S., Kamada N. Relative Biological Effectiveness and Dose Rate Effect of Tritiated Water on Chromosomes in Human Lymphocytes and Bone Marrow Cells. *Mutat Res*. 1994;323:1-2:53-61. doi: 10.1016/0165-7992(94)90045-0. PMID: 7508567.
- Bocian E., Ziemba-Zak B., Rosiek O., Sablinski J. Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Exposed to Tritiated Water in Vitro. *Curr Top Radiat Res Q*. 1978;12:1-4:168-81. PMID: 639545.
- Prosser J.S., Lloyd D.C., Edwards A.A., Stather J.W. The Introduction of Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes by Exposure to Tritiated Water in Vitro. *Radiat Prot Dosim*. 1983;4:1:21-26. doi: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a081989.
- Vulpis N. The Induction of Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes by in Vitro Irradiation with Beta Particles from Tritiated Water. *Radiat Res*. 1984;97:3:511-18. doi: 10.2307/3576141. PMID: 6729027.
- Balakrishnan S., Rao B.S. Cytogenetic Effects of Tritiated Water (HTO) in Human Peripheral Blood Lymphocytes in Vitro. *Int J Hum Genet*. 2004;4:237-42. doi: 10.1080/09723757.2004.11885900.
- Snigireva G., Khaimovich T., Nagiba V. Estimation of Relative Biological Effectiveness of Tritium According to Chromosome Aberration Frequency in Human Blood Lymphocytes. *Biophysics*. 2011;56:364-70. doi: 10.1134/S0006350911020291.
- Deng B., Hou J., Quan Yi., Dong L., Tan Z. Cytogenetic Effects of Low-Dose Tritiated Water in Human Peripheral Blood Lymphocytes – Experimental Studies on the Relative Biological Effectiveness and Chromosome Aberration Rate and CBMN in Human Blood Lymphocyte Irradiated by Tritium Low Dose Tritium β -Rays and ^{60}Co γ -Rays. *Open Journal of Clinical Diagnostics*. 2015;5:4:125-35. doi: 10.4236/ojcd.2015.54021.
- Scarpa G., Vulpis N., De Santis M.E., Vulpis G. The Dose Absorbed by Lymphocytes Irradiated in Vitro with Tritiated Water. *Phys Med Biol*. 1981;26:1137-44. doi: 10.1088/0031-9155/26/6/012. PMID: 7323151.
- Dewey W.C., Humphrey R.M., Jones B.A. Comparisons of Tritiated Thymidine, Tritiated Water, and Cobalt-60 Gamma Rays in Inducing Chromosomal Aberrations. *Rad Res*. 1965;24:2:214-38. doi: 10.2307/3571572. PMID: 14282679.
- Bond V.P., Feinendegen L.E. Intranuclear ^3H -Thymidine: Dosimetric Radiological and Radiation Protection Aspects. *Health Phys*. 1966;12:8:1007-20. doi: 10.1097/00004032-196608000-00002. PMID: 5338817.
- Brewen J.G., Olivieri G. The Kinetics of Chromatid Aberrations Induced in Chinese Hamster Cells by Tritium-Labeled Thymidine. *Radiat Res*. 1966;28:779-92. PMID: 5920291.
- Wang H.C., Fedoroff S. The Effect of Tritiated Thymidine on Human Chromosomes in Vitro. 1971;7:2:74-9. URL: <https://www.jstor.org/stable/4291586>.
- Hori T.A., Nakai S. Unusual Dose-Response of Chromosome Aberrations Induced in Human Lymphocytes by Very Low Dose Exposure to Tritium. *Mutation Res*. 1978;50:1:101-10. doi: 10.1016/0027-5107(78)90065-9; PMID: 642962.
- Huang C., Ninan T., Petricciani C. Extensive Chromosome Aberrations Caused by ^3H Thymidine Incorporation in a Diploid Monkey Cell Line DBS-FRHL-2. *In Vitro*. 1975;11:4:234-8. doi: 10.1007/BF02616339. PMID: 1176159.
- Ueno A.M., Furuno-Fukushi I., Matsudaira H. Induction of Cell Killing, Micronuclei, and Mutation to 6-Thioguanine Resistance after Exposure to Low-Dose-Rate Gamma Rays and Tritiated Water in Cultured Mammalian Cells (L5178Y). *Radiat Res*. 1982;91:3:447-56. doi: 10.2307/3575884. PMID: 7122826.
- Muller W.U., Streffer C., Molls M., et al. Radiotoxicities of ^3H Thymidine and of ^3H Arginine Compared in Mouse Embryos in Vitro. *Radiat Res*. 1987;110:2:192-8. doi: 10.2307/3576898. PMID: 3575650.
- Straume T., Carsten A.L. Tritium Radiobiology and Relative Biological Effectiveness. *Health Physics*. 1993;65:6:657-72. doi: 10.1097/00004032-199312000-00005. PMID: 8244712.
- Little M.P., Lambert B.E. Systematic Review of Experimental Studies of Relative Biological Effectiveness of Tritium. *Rad Environ Bioph*. 2008;47:1:71-93. doi: 10.1007/s00411-007-0143-y. PMID: 18071729.
- CNSC. Tritium Studies Project Synthesis Report. Canadian Nuclear Safety Commission, 2011. INFO-0800. Revision 1. URL: <https://www.nrc.gov/docs/ML1029/ML102990116.pdf>.
- UNSCEAR. Sources, Effects and Risks of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. UNSCEAR 2016. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex C, Biological Effects of Selected Internal Emitters – Tritium. United Nations, New York. URL: <https://www.unscear.org/unscear/en/publications/2016.html>.
- Chopra C., Heddle J.A. Cytogenetic Measurements of the Relative Biological Effectiveness of Tritium. A Research Report Prepared for the Atomic Energy Control Board. Ottawa, Canada INFO-0287, 1988. URL: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/22/068/22068753.pdf.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного контракта, № Н.2з.217.08.24.2199, тема НИР «Залп».

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 20.05.2025. **Принята к публикации:** 25.06.2025.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was carried out within the framework of the state contract, No. H.2z.217.08.24.2199, research topic «Zalp».

Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.

Article received: 20.05.2025. **Accepted for publication:** 25.06.2025.