

ПОВЫШЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ ЛЕГКОГО ЧЕЛОВЕКА A549 ПРИ γ -ОБЛУЧЕНИИ В ПРИСУТСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

А.В. Рзянина, Г.В. Мицын, К.Ш. Восканян, В.Н. Гаевский
Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Одной из основных проблем лучевой терапии является отсутствие селективности поглощения энергии излучения опухолевыми клетками из-за сходных энергопоглощающих свойств опухолевых и здоровых тканей. Одним из вариантов радиосенсибилизации является искусственное повышение энерговыделения в опухоли. Увеличение поглощенной дозы достигается путем введения или доставки в опухолевые клетки веществ с существенно большим сечением поглощения излучения, чем у нормальных клеток. Возникающее вторичное короткопробежное излучение локализует энерговыделение вблизи этих элементов и поражает лишь близлежащие биологические структуры. Исследовалось генотоксическое действие наночастиц золота на опухолевые клетки карциномы легкого человека A549 под действием γ -облучения. Было показано, что наночастицы золота в сочетании с γ -излучением усиливают генотоксическое действие на опухолевые клетки A549. При γ -облучении в присутствии наночастиц золота повышается частота образования микроядер и уменьшается пролиферативный индекс в клетках A549.

Ключевые слова: γ -облучение, генотоксичность, наночастицы, клетки A549

DOI: 10.52775/1810-200X-2021-92-4-24-31

Введение

В настоящее время многие исследовательские программы направлены на изучение использования наночастиц металлов в лучевой терапии. Одной из основных ее проблем является отсутствие селективности поглощения энергии излучения опухолевыми клетками из-за сходных энергопоглощающих свойств опухолевых и здоровых тканей [1]. Одним из вариантов радиосенсибилизации является искусственное повышение энерговыделения в опухоли. Увеличение поглощенной дозы достигается путем введения или доставки в опухолевые клетки веществ с существенно большим сечением поглощения излучения, чем у нормальных клеток. Таковыми являются химические элементы с высоким атомным номером (Z), более 52 (I, Gd, Au, Pt и др.). За счет большей веро-

ятности взаимодействия таких элементов с излучением можно достичь локального увеличения поглощенной дозы в области накопления вещества с высоким атомным номером. Возникающее вторичное короткопробежное излучение локализует энерговыделение вблизи этих элементов и поражает лишь близлежащие биологические структуры [2].

Золото (Au, $Z=79$) является перспективным радиосенсибилизатором в связи с его высоким атомным номером и более высоким коэффициентом поглощения рентгеновского и γ -излучения относительно мягких тканей. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* показали существенное повышение радиосенсибилизации наночастицами золота для различных клеточных линий с использованием киловольтного рентгеновского излучения [3–6].

Механизм повышения радиосенсибилизации в присутствии наночастиц зависит от энергии ионизирующих фотонов и различных видов взаимодействия между фотонами и наночастицами. В диапазоне энергий, применяемых в лучевой терапии (100 кэВ – 25 МэВ), фотоны взаимодействуют с веществом посредством фотоэффекта, комптоновского рассеяния и образования пар.

Фотоэффект является преобладающим механизмом взаимодействия для фотонов с энергией до 500 кэВ с тяжелыми металлами. При таком взаимодействии фотон, целиком поглощаясь атомом среды, передает всю свою энергию одному из электронов атомных оболочек. Вероятность фотоэффекта зависит от атомного номера вещества среды (Z) и пропорциональна Z^5 . То есть атомы с высоким Z будут иметь существенно большую вероятность поглощения фотона. Именно поэтому для радиосенсибилизации используют наночастицы с высоким атомным номером [7, 8].

Для фотонов с энергией выше 500 кэВ наблюдается, в основном, комптоновское рассеяние. Вероятность его линейно зависит от Z . Рассеявшийся фотон, в зависимости от его изменившейся энергии, вызовет в дальнейшем либо фотоэффект, либо еще одно комптоновское рассеяние.

Образование пар может происходить, когда энергия фотона превышает 1,02 МэВ. В этом процессе падающий фотон взаимодействует с электромагнитным полем атомного ядра и преобразуется в электрон и позитрон. Испускаемый позитрон затем взаимодействует с электроном среды, в результате чего рождаются два аннигиляционных фотона с энергией 511 кэВ, а испускаемый электрон вызывает радиобиологическое повреждение в ткани. Вероятность этого процесса пропорциональна Z^2 . Он становится преобладающим в тяжелых металлах при энергиях фотонов от 5 МэВ.

Как можно видеть, из всех 3 процессов взаимодействия наибольшей чувствительностью к заряду атомов среды обладает фотоэффект, поэтому наилучшей эффективностью для радиосенсибилизации обладают наночастицы в сочетании с фотонами, энергия которых не превышает 500 кэВ [9], т.е. в области энергий, где фотоэффект преобладает. При взаимодействии фотонов с такой энергией с наночастицами образуется много вторичных электронов, которые ответственны за большинство повреждений клеток [10].

Однако в клинических условиях киловольтные фотоны имеют ограниченную область применения, т.к. у них относительно малая глубина проникновения в ткани, и они не могут доставлять дозу облучения в глубоко расположенные опухоли. Поэтому в большинстве случаев для лучевой терапии используется мегавольтное фотонное (гамма) излучение в диапазоне энергий от 1 до 25 МэВ.

Теоретические работы по моделированию методом Монте-Карло предсказывали незначительное повышение дозы при сочетании наночастиц золота с мегавольтным излучением [11–15]. Однако эксперименты *in vitro* продемонстрировали существенное повышение поглощенной дозы с помощью наночастиц золота при облучении таким излучением [16–23]. Вероятно, существуют дополнительные биологические факторы, изменяющие сенсибилизацию клеток к мегавольтному излучению, которые не были учтены физическими расчетными методами [24].

Считается, что повышение сенсибилизации клеток при облучении в присутствии наночастиц золота имеет сложный механизм и включает в себя физические, химические и биологические аспекты [25, 26]. На физической стадии присутствие наночастиц золота приводит к большему поглощению энергии самими наночастицами. Сечение взаимодействия мегавольтных фотонов с веществом невелико, однако первичный пучок при взаимодействии дает вторичное излучение, содержащее низкоэнергетические фотоны и электроны (<200 кэВ) [26]. Они, в свою очередь, взаимодействуют с наночастицами и производят большое количество низкоэнергетических Оже-электронов (<10 кэВ). Эти низкоэнергетические электроны, покидая наночастицы, могут передавать свою энергию на короткие расстояния вокруг наночастиц и впоследствии генерировать свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК) [27].

Образовавшиеся АФК и свободные радикалы вызывают повреждения клеточных биомолекул и способны приводить к образованию множественных повреждений в клеточной ДНК. В том числе, и к возникновению кластерных повреждений, которые наиболее трудны для репарации. Сложность восстановления таких повреждений приводит к формированию двунитевых разрывов ДНК во время репликации [10, 29–31]. Таким образом, вторичные электроны очень эффективны для индукции

медленно восстанавливаемых повреждений ДНК.

Следовательно, наночастицы с высоким атомным номером Z можно использовать для радиосенсебилизации опухолевых клеток за счет локального повышения поглощенной дозы, вызванного вторичными фотонами и электронами.

Целью наших исследований было изучение повышения генотоксической активности и цитотоксичности в опухолевых клетках карциномы легкого человека А549 при γ -облучении в присутствии наночастиц золота.

Материал и методы

Клеточная культура: Клетки карциномы легкого человека А549 культивировали в чашках Петри, либо культуральных планшетах в зависимости от задачи эксперимента. Клетки инкубировали в стандартных условиях (37°C, 5 % CO₂). Для культивирования использовалась питательная среда Игла MEM с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 2 ммоль/л L-глутамин, пенициллин-стрептомицин (50 ед./мл).

Наночастицы золота (Au/PEG 6000/W 200/20 нм): В работе использовался коллоидный раствор наночастиц золота, приобретенный в фирме M 9 Nanomaterials & Technologies (Тольятти), с известными характеристиками: наночастицы стабилизированы полимером PEG (полиэтиленгликоль, W6000), исходная концентрация наночастиц 200 ppm, средний размер частиц составляет 20 нм. Необходимая для эксперимента концентрация наночастиц достигалась непосредственным разведением исходного раствора в среде культивирования.

Наночастицы золота в различных концентрациях добавляли в питательную среду за 24 часа до облучения с предварительной 10-минутной обработкой ультразвуком (35 кГц). Перед облучением среду с наночастицами удаляли, дважды промывали клетки раствором фосфатносолевого буфера (ФСБ) и добавляли свежую питательную среду.

γ -облучение: Клетки подвергали воздействию γ -излучения ⁶⁰Co на установке "Рокус-М" со средней энергией излучения 1,25 МэВ и мощностью поглощенной дозы 0,48 Гр/мин. Процедура облучения проводилась в стандартных условиях с РИП 75 см. Поглощенную дозу

измеряли с помощью клинического дозиметра CD 27012 (Германия) при толщине замедлителя из оргстекла, эквивалентной 4,5 мм воды в максимуме глубинного-дозного распределения. Погрешность определения поглощенной дозы не превышала 5 %. Образцы облучались в тех же условиях и одинаково как для культур клеток с наночастицами, так и без них.

Оценка цитотоксичности: Влияние наночастиц на жизнеспособность культуры клеток А549 определяли с помощью МТТ-теста, описанного Моссманом [32]. Для этого клетки высевали на 96-луночные культуральные планшеты по 50–70 тыс. клеток на лунку. При достижении клетками 70–80 % монослоя за 24 ч до облучения добавляли наночастицы золота в концентрациях 0,1; 2,5; 5; 10; 15; 30 мкг/мл. Перед облучением питательная среда с наночастицами удалялась. Клетки дважды промывались ФСБ, добавлялась свежая питательная среда. Клетки облучали дозами 0, 2, 3, 4 Гр. Цитотоксичность наночастиц исследовалась через 1 час и 24 часа после облучения. В лунки планшета вносили 20 мкл реагента МТТ (5 мг/мл) и на 100 мкл диметилсульфоксида, инкубировали на шейкере 20 мин при комнатной температуре в темноте. Оптическую плотность регистрировали на длине волны 540 нм с помощью фотометра Vityas Ф300. Значения оптической плотности усредняли по трем лункам.

Процент жизнеспособных клеток вычисляли по формуле:

$$N, (\%) = (E_{\text{опыт}} / E_{\text{контроль}}) \times 100,$$

где N – количество жизнеспособных клеток. E – оптическая плотность.

Оценка генотоксичности: Генотоксичность наночастиц золота определяли с помощью микроядерного теста в цитокинез-блокированных клетках А549 [33]. Микроядерный тест с блокированием цитокинеза позволяет провести комплексный анализ клеток и отразить в одном тесте генотоксические (образование микроядер) и цитостатические (митотическая активность по соотношения моно-, би-, мульти- нуклеарных клеток) события. Частота образования микроядер позволяет количественно оценить цитогенетические нарушения, которые формируют микроядра, содержащие отставшие фрагменты хромосом или целые хромосомы. Соотношение моно-, би-, мульти- нуклеарных клеток позволяет вычислить пролиферативный индекс и оценить митотическое состояние клеток.

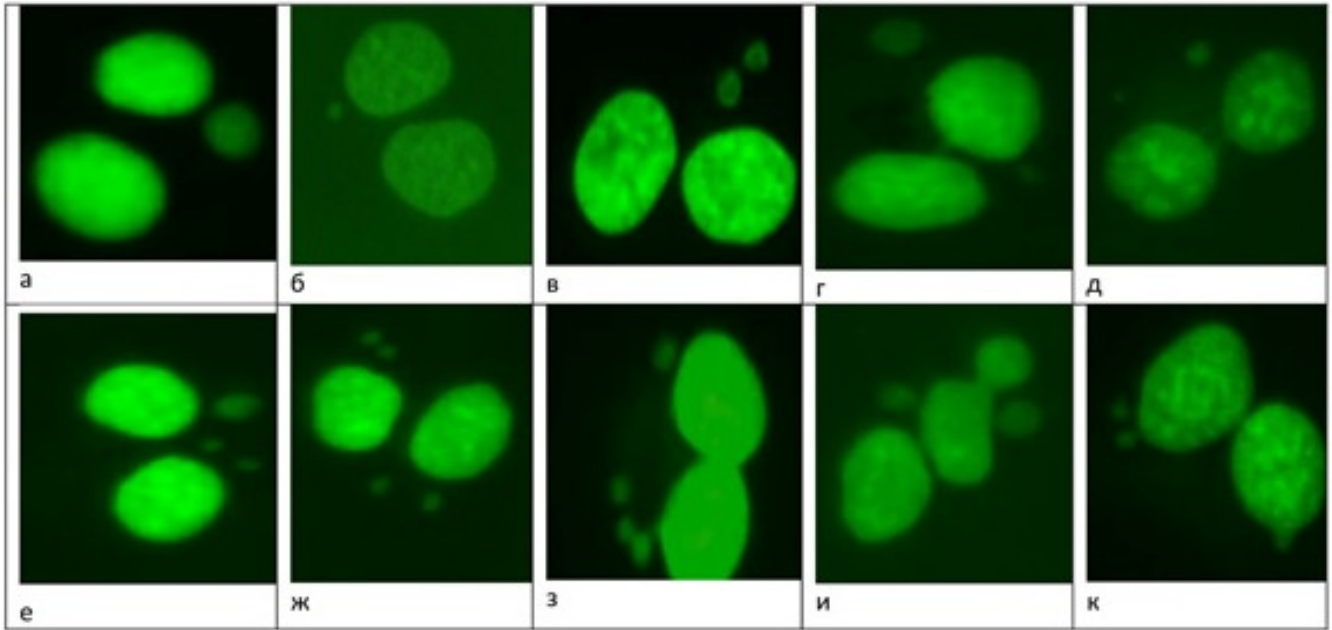


Рис. 1. Микроядра в клетках карциномы легкого человека А549: а) и б) бинуклеарная клетка с микроядром; в) бинуклеарная клетка с 2 микроядрами; г) бинуклеарная клетка с 2 микроядрами и нуклеоплазматическим мостом; д) бинуклеарная клетка с 2 микроядрами и 2 нуклеоплазматическими мостами; е) бинуклеарная клетка с 3 микроядрами; ж) и з) бинуклеарная клетка с 4 микроядрами; и) и к) бинуклеарная клетка с 2 микроядрами и ядерной почкой

Клетки карциномы легкого человека А549 выращивали на покровных стеклах в чашках Петри. При достижении клетками 70–80 % монослоя за 24 ч до облучения добавляли наночастицы золота в концентрациях 0, 1; 2,5; 5; 10; 15; 30 мкг/мл. Перед облучением питательная среда с наночастицами удалялась. Клетки дважды промывались ФСБ, добавлялась свежая питательная среда. В течение 30 минут после γ -облучения в дозе 2 Гр в питательную среду для блокировки цитокинеза добавляли цитохалазин В (3 мкл/мл) не менее чем на 24 ч до фиксации клеток. Затем среду удаляли, дважды промывали ФСБ, фиксировали смесью метанол-уксусная кислота (3:1), промывали ФСБ, красили акридиновым оранжевым и вновь промывали ФСБ. Окрашенные стекла подсушивали и монтировали препараты на предметных стеклах.

Генотоксичность наночастиц золота оценивалась по количеству микроядер на 1000 бинуклеарных клеток. Микроядра (МЯ) считали только в бинуклеарных клетках (см. рис. 1). Для каждой дозы просчитывалось не менее 1000 бинуклеарных клеток, эксперименты проводились в трех повторах.

Для оценки цитостатических эффектов был посчитан индекс пролиферации (ИП), отражающий митотическую активность клеток:

$$\text{ИП} = (1 \times \text{число мононуклеаров} + 2 \times \text{число бинуклеаров} + 3 \times \text{число мультинуклеаров}) / (\text{общее число живых клеток}).$$

На основании индекса пролиферации рассчитывали цитостатичность клеток.

Если $\text{ИП} = 1$, то все клетки мононуклеарны и соответственно цитостатичность = 100 % [33].

$$\text{Цитостатичность (\%)} = 100 - 100 \times (\text{ИП}_T - 1) / (\text{ИП}_K - 1),$$

где Т – тест, К – контроль.

Результаты

Как видно из рис. 2, присутствие наночастиц золота в выбранном диапазоне концентраций во время облучения не оказывает заметного влияния на жизнеспособность клеток А549 через 1 ч после облучения. Пролиферативная активность остается на уровне 70–80 %, незначительное падение (до 58 % для 2 Гр) наблюдается только при концентрации

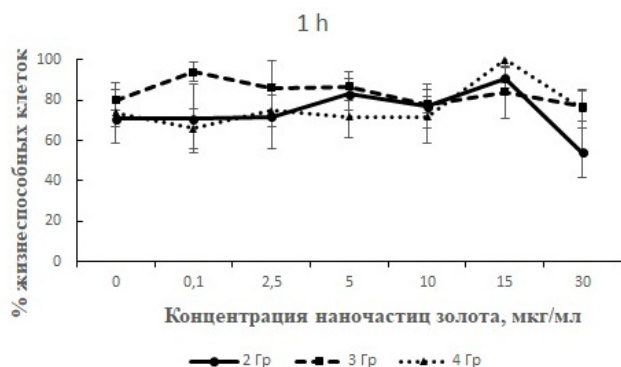


Рис. 2. Процент жизнеспособных клеток после γ -облучения в дозе 2, 3, 4 Гр по отношению к необлученному контролю через 1 ч после облучения

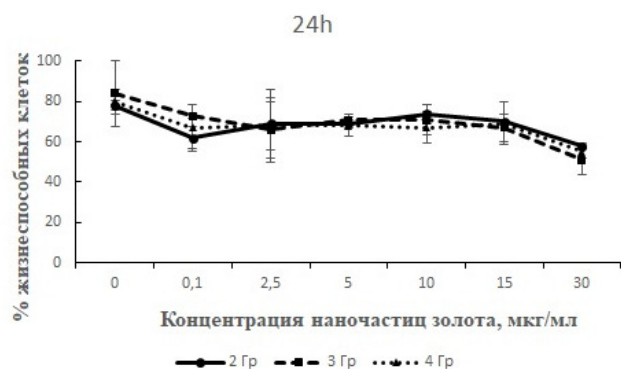


Рис. 3. Процент жизнеспособных клеток после γ -облучения в дозе 2, 3, 4 Гр по отношению к необлученному контролю через 24 ч после облучения

30 мкг/мл. Аналогичная картина наблюдается и через 24 ч после облучения, рис. 3. Пролиферативная активность остается на уровне 70–80 % и снижается до 50 % только при концентрации 30 мкг/мл. Возможно это связано с тем, что МТТ-тест основан на функциональной активности митохондрий, а в злокачественных клетках метаболизм имеет сдвиг в сторону гликолиза даже в присутствии высоких концентраций кислорода [34–37]. По-видимому, данный тест оказался недостаточно точным для нашего анализа.

Генотоксическое действие наночастиц золота на клетки карциномы человека А549 при γ -облучении показана на рис. 4. Количество микроядер в клетках, которые культивировались в присутствии наночастиц в диапазоне концентраций от 0,1–30 мкг/мл, находится на уровне контроля. При γ -облучении клеток, обработанных наночастицами золота, в дозе 2 Гр

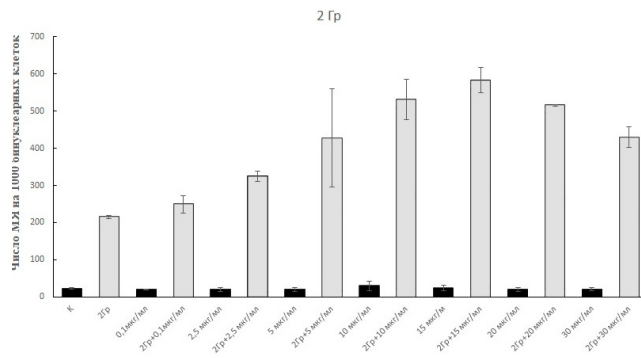


Рис. 4. Число микроядер на 1000 бинуклеарных клеток. Клетки А549 за 24 ч до γ -облучения в дозе 2 Гр культивировались с наночастицами золота в концентрации 0,1; 2,5; 5; 10; 15; 20; 30 мкг/мл

наблюдается повышение количества микроядер в зависимости от концентрации наночастиц по сравнению с точкой 2 Гр, где клетки не обрабатывались наночастицами. Число микроядер в клетках повышается до концентрации 15 мкг/мл, затем наблюдается уменьшение количества микроядер при концентрациях 20 и 30 мкг/мл. По-видимому, при этих концентрациях начинает проявляться цитостатическое действие наночастиц золота при воздействии γ -облучения, наблюдается значительное повышение уровня мононуклеарных клеток, т.е. замедляется процесс клеточного деления. С этим может быть связано снижение числа микроядер, выявляемых в процессе обработки данных эксперимента.

По данным микроядерного теста мы оценили цитостатическое действие наночастиц золота под действием γ -облучения. Был рассчитан

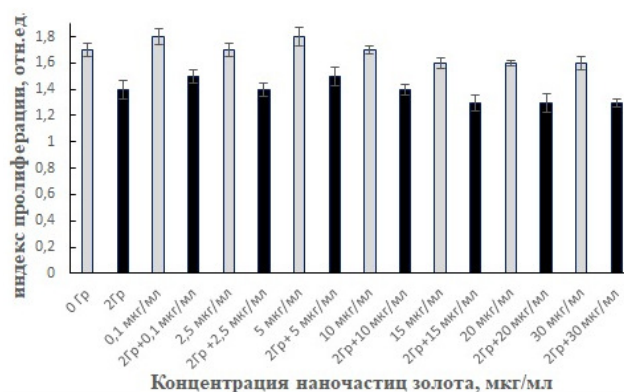


Рис. 5. Индекс пролиферации клеток А549 после γ -облучения в дозе 2 Гр: темные столбцы – для необработанных наночастицами золота, светлые столбцы – для обработанных наночастицами золота

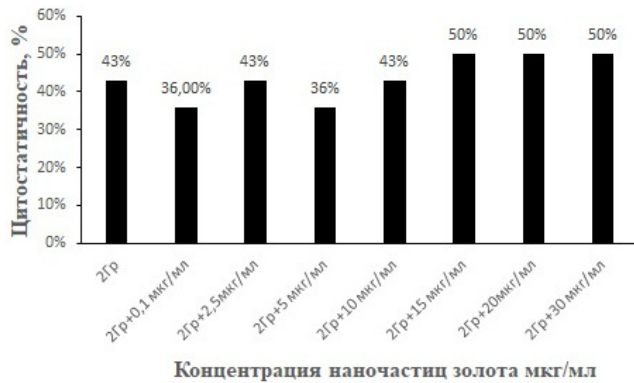


Рис.6. Цитостатическое действие наночастиц золота (концентрация 0; 0,1; 2,5; 5; 10; 15; 20; 30 мкг/мл) под действием γ -облучения в дозе 2 Гр на клетки А549

тан индекс пролиферации (ИП) для клеток А549, облученных γ -излучением в дозе 2 Гр для двух групп клеток: необработанных и обработанных наночастицами (рис. 5). Видно, что внутри каждой группы индекс пролиферации примерно одинаковый, но у клеток, облученных в присутствии наночастиц золота индекс пролиферации ниже, чем у необработанных.

На основании индекса пролиферации можно судить о цитостатическом действии, оказываемом наночастицами золота на культуру клеток А549 при γ -облучении.

Из рис. 6 видно, что при концентрациях 0,1; 2,5; 5 и 10 мкг/мл цитостатическое действие наночастиц золота Au79 существенно не отличается от контроля (облучение 2 Гр без наночастиц). Тенденция к росту цитостатичности наблюдается при концентрациях наночастиц 15, 20 и 30 мкг/мл при совместном γ -облучении.

Заключение

Показано, что в использованном диапазоне концентраций наночастицы золота не цитотоксичны и сравнимы по влиянию на образование микроядер с необлученным контролем.

Однако под действием γ -облучения генотоксическая активность наночастиц золота повышается в зависимости от их концентрации. Наблюдается повышение частоты образования микроядер в клетках карциномы легкого человека А549 после γ -облучения в присутствии наночастиц. Облучение в присутствии наночастиц золота приводит к снижению пролиферативного индекса в клетках, также вызывает за-

метное повышение цитостатического действия наночастиц в концентрациях от 15 до 30 мкг/мл.

Список литературы

1. Butterworth KT, McMahon SJ, Currell FJ, Prise KM. Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization. *Nanoscale*. 2012. 4:4830. DOI: 10.1039/c2nr31227a.
2. Hubbell JH, Seltzer SM (1996) Tables of X-ray mass attenuation coefficients and mass energy-absorption coefficients. 1996. <http://www.nist.gov/pml/data/xraycoef/>.
3. Chithrani DB, Jelveh S, Jalali F, et al. Gold nanoparticles as radiation sensitizers in cancer therapy. *Radiat Res*. 2010; 173(6): 719-28.
4. Liu CJ, Wang CH, Chen ST, et al. Enhancement of cell radiation sensitivity by pegylated gold nanoparticles. *Phys Med Biol*. 2010; 55(4): 931-45.
5. Jain S, Coulter JA, Hounsell AR, et al. Cell specific radiosensitization by gold nanoparticles at megavoltage radiation energies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011; 79(2): 531-9.
6. Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Phys Med Biol*. 2004; 49(3): 315.
7. Hainfeld JF, Dilmanian FA, Slatkin DN, Smilowitz HM. Radiotherapy enhancement with gold nanoparticles. *J Pharm Pharmacol*. 2008; 60: 977-85.
8. McMahon SJ, Mendenhall MH, Jain S, Currell F. Radiotherapy in the presence of contrast agents: a general figure of merit and its application to gold nanoparticles. *Phys Med Biol*. 2008; 53: 5635-51.
9. Mesbahi A. A review on gold nanoparticles radiosensitization effect in radiation therapy of cancer. *Rep Pract Oncol & Radiother*. 2010; 15(6): 176-80.
10. Rezaee M, Hill RP, Jaffray DA. The Exploitation of Low-Energy Electrons in Cancer Treatment. *Radiation research*. 2017; 188: 123-43.
11. Robar JL, Riccio SA, Martin M. Tumour dose enhancement using modified megavoltage photon beams and contrast media. *Phys Med Biol*. 2002; 47(14): 2433-49.
12. Cho SH. Estimation of tumour dose enhancement due to gold nanoparticles during typical radiation treatments: a preliminary Monte

- Carlo study. *Phys Med Biol.* 2005; 50(15): 163-73.
13. Mesbahi A, Jamali F. Effect of photon beam energy, gold nanoparticle size and concentration on the dose enhancement in radiation therapy. *BioImpacts: BI.* 2013; 3(1): 29-35.
 14. Roeske JC, Nucez L, Hoggarth M, et al. Characterization of the theoretical radiation dose enhancement from nanoparticles. *Technol Cancer Res Treat.* 2007; 6(5): 395-401.
 15. Lechtman E, Chattopadhyay N, Cai Z, et al. Implications on clinical scenario of gold nanoparticle radiosensitization in regards to photon energy, nanoparticle size, concentration and location. *Phys Med Biol.* 2011; 56(15): 4631-47.
 16. Chithrani DB, Jelveh S, Jalali F, et al. Gold nanoparticles as radiation sensitizers in cancer therapy. *Radiat Res.* 2010; 173(6): 719-28.
 17. Geng F, Song K, Xing JZ, et al. Thio-glucose bound gold nanoparticles enhance radio-cytotoxic targeting of ovarian cancer. *Nanotechnology.* 2011; 22(28): 285101.
 18. Wang C, Li X, Wang Y, Liu Z, Fu L, Hu L. Enhancement of radiation effect and increase of apoptosis in lung cancer cells by thio-glucose-bound gold nanoparticles at megavoltage radiation energies. *J Nanopart Res.* 2013; 15(5): 1642.
 19. Wang C, Jiang Y, Li X, Hu L. Thioglucose-bound gold nanoparticles increase the radiosensitivity of a triple-negative breast cancer cell line (MDA-MB-231). *Breast Cancer.* 2015; 22(4): 413-20.
 20. Jain S, Coulter JA, Hounsell AR, et al. Cell-specific radiosensitization by gold nanoparticles at megavoltage radiation energies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011; 79(2): 531-9.
 21. Liu C-J, Wang C-H, Chien C-C, et al. Enhanced x-ray irradiation-induced cancer cell damage by gold nanoparticles treated by a new synthesis method of polyethylene glycol modification. *Nanotechnology.* 2008; 19(29): 295104.
 22. Rahman WN, Bishara N, Ackerly T, et al. Enhancement of radiation effects by gold nanoparticles for superficial radiation therapy. *Nanomedicine.* 2009; 5(2): 136-42.
 23. Wolfe T, Chatterjee D, Lee J, et al. Targeted gold nanoparticles enhance sensitization of prostate tumors to megavoltage radiation therapy in vivo. *Nanomedicine.* 2015; 11(5): 1277-83.
 24. Ghita M, McMahon SJ, Taggart LE, et al. A mechanistic study of gold nanoparticle radiosensitisation using targeted microbeam irradiation. *Sci Rep.* 2017; 7: 44752.
 25. Her S, Jaffrey DA, Allen C. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: mechanisms and recent advancements. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 109: 84-101.
 26. McMahon SJ, Hyland WB, Muir MF, et al. Biological consequences of nanoscale energy deposition near irradiated heavy atom nanoparticles. *Sci Rep.* 2011; 1: 18.
 27. McMahon SJ, Hyland WB, Muir MF, et al. Nanodosimetric effects of gold nanoparticles in megavoltage radiation therapy. *Radiother. Oncol.* 2011; 100(3): 412-6.
 28. Kleinauskas A, Rocha S, Sahu S, et al. Carbon-core silver-shell nanodots as sensitizers for phototherapy and radiotherapy. *Nanotechnology.* 2013; 24(32): 325103.
 29. Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol: CB.* 2014; 24(10): 453-62.
 30. Ward JF. The complexity of DNA damage: Relevance to biological consequences. *Int J Radiat Biol.* 1994; 66: 427-32.
 31. Goodhead DT. Energy deposition stochastics and track structure: What about the target? *Radiat Prot Dosim.* 2006; 122: 3-15.
 32. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Meth.* 1983; 65(1-2): 55-63.
 33. OECD/OCDE, 2010; Bull C. Et. Al., 2011; OECD, 2012, 2013
 34. Warburg O, Wind F, Negelein E. The metabolism of tumors in the body. *J Gen Physiol.* 1927; 8(6): 519-30.
 35. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science.* 1956; 123: 309-14.
 36. Moreno-Sánchez R, et al. Energy metabolism in tumor cells. *FEBS J.* 2007; 274: 1393-418.
 37. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science.* 2009; 324: 1029-33.

ENHANCEMENT OF GENOTOXIC ACTIVITY OF γ -IRRADIATION OF HUMAN LUNG CARCINOMA A549 CELLS IN THE PRESENCE OF GOLD NANOPARTICLES

*A.V. Rzyanina, G.V. Mytsin, K.Sh. Voskanyan, V.N. Gaevskiy
Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia*

One of the main problems of radiotherapy is the lack of selectivity in the absorption of radiation energy by tumor cells due to the similar energy-absorbing properties of tumor and healthy tissues. An increase in the absorbed dose is achieved by introducing or delivering substances to tumor cells with a significantly larger radiation absorption cross-section than in normal cells. The resulting secondary short-range radiation localizes the energy release near these elements and affects only nearby biological structures. The genotoxic effect of gold nanoparticles on tumor cells of human lung carcinoma A549 under γ -gamma radiation was studied. Gold nanoparticles in combination with γ -radiation enhance the genotoxic effect on tumor cells A549. γ -irradiation in the presence of gold nanoparticles increases the frequency of micronucleus and decreases the proliferative index in A549 cells.

Key words: γ -irradiation, genotoxicity, nanoparticles, cells A549

E-mail: rzjanina@mail.ru