

Zytogenetische Auswirkungen bei Besatzungsmitgliedern  
nach Kurz- und Langzeitaufenthalten auf der ISS  
(CHROMOSOME)

UNIVERSITÄT  
DUISBURG  
ESSEN

- Christian Johannes, PI
- Alexandra Antonopoulos
- Wolfgang Gödecke

BMWI (DLR)



## Fragestellungen

1. Gibt es einen Anstieg der Mutationsraten in den Lymphozyten von Astronauten und Kosmonauten infolge von kürzeren und längeren Missionen zur ISS?
2. Welche Mutationstypen werden induziert?
3. Gibt es einen Unterschied der Mutationsraten in Mitose- und Interphasezellen?
4. Gibt es eine inter-individuelle Variabilität der Mutationsinduktion?
5. Ändert sich die Strahlenempfindlichkeit infolge eines Raumfluges?

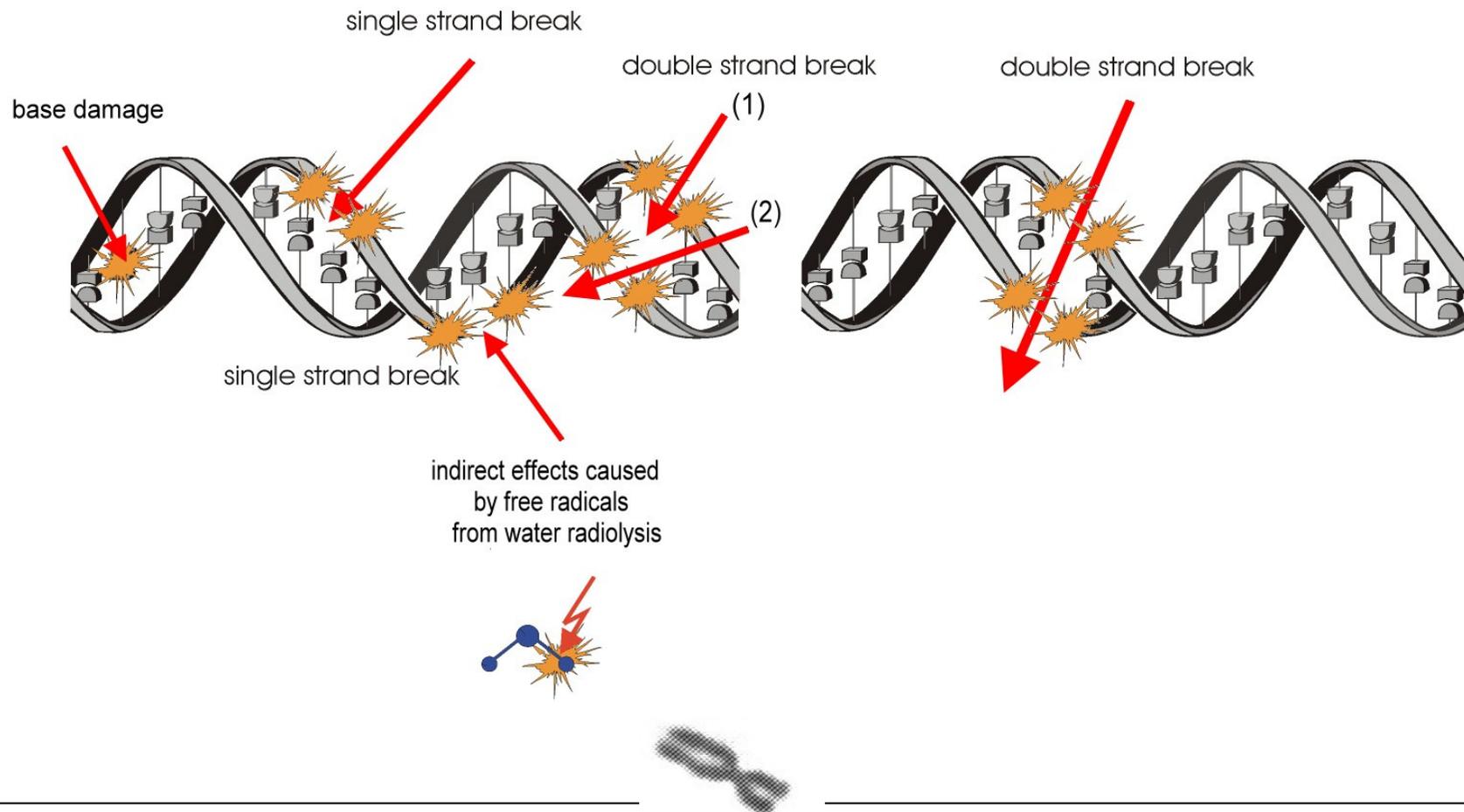


## Hintergrund

- ISS Besatzungen sind chronisch ionisierender Strahlung mit hohem und niedrigem LET ausgesetzt.
- Ionisierende Strahlung schädigt auf verschiedene Weise die zelluläre DNA. Soweit die DNA nicht oder falsch repariert wird, können Mutationen resultieren.



Durch ionisierende Strahlung hervorgerufene DNA-Schädigungen



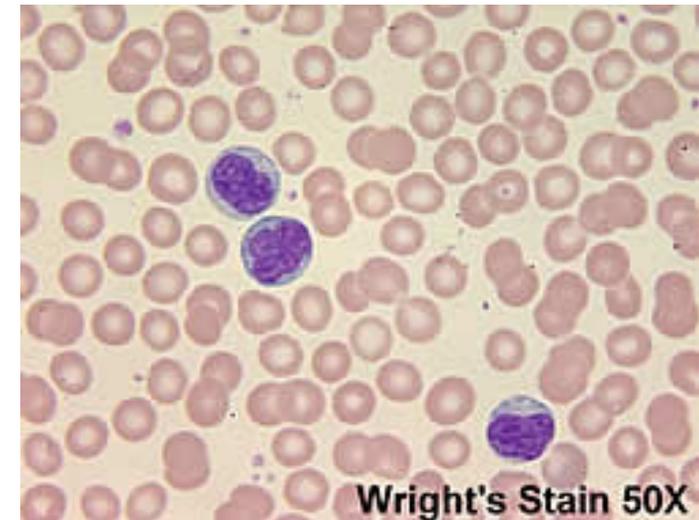
## Hintergrund

- Eine häufige Folge sind strukturelle Chromosomenveränderungen, so genannte Chromosomenaberrationen.
- Erhöhte Mutationsraten in somatischen Zellen sind mit einem erhöhten Risiko verbunden, an Krebs zu erkranken.
- Chromosomenaberrationen können in peripheren Lymphozyten analysiert werden. Dabei stehen dieser Zelltyp beispielhaft für alle Körperzellen.



## Warum periphere Lymphozyten?

- Lymphozyten lassen sich leicht gewinnen.
- Sie zirkulieren im Körper, so dass bei einer Blutabnahme Zellen gewonnen werden, die an verschiedenere Stellen des Körpers exponiert waren.
- Lymphozyten haben ein langes „Gedächtnis“. Erst durch die Stimulation in der Zellkultur treten sie wieder in den Zellzyklus ein und zeigen uns auch Aberrationen, die vor längerer Zeit entstanden sind.



Methode

Phytohämagglutinin zur  
mitogenen Stimulation



Heparinisiertes Blut  
Nährmedium  
Kälberserum

Colcemid für  
die letzten 3 h

Kulturdauer = 48h - 52h

Hypotone Behandlung  
Fixierung  
Präparation auf Objektträgern  
Färbung (Giemsa) oder FISH

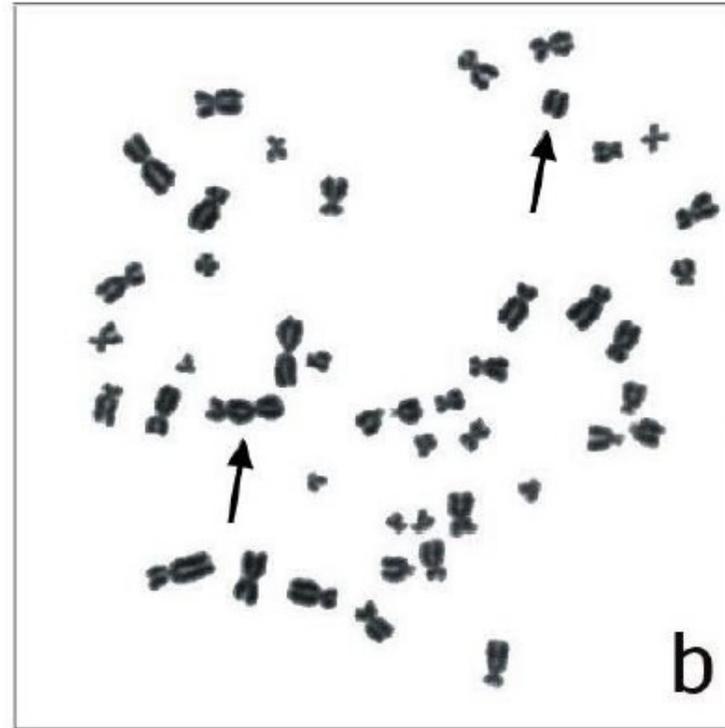
Chromosomenanalyse am  
Mikroskop, ggf. computer-  
gestützte Bildanalyse



Giemsa-gefärbte Metaphasen



Ungeschädigt



Dizentrisches Chromosom



DLR Status-Seminar Strahlen-/Astrobiologie  
Kiel, 12 - 13. Juni 2008

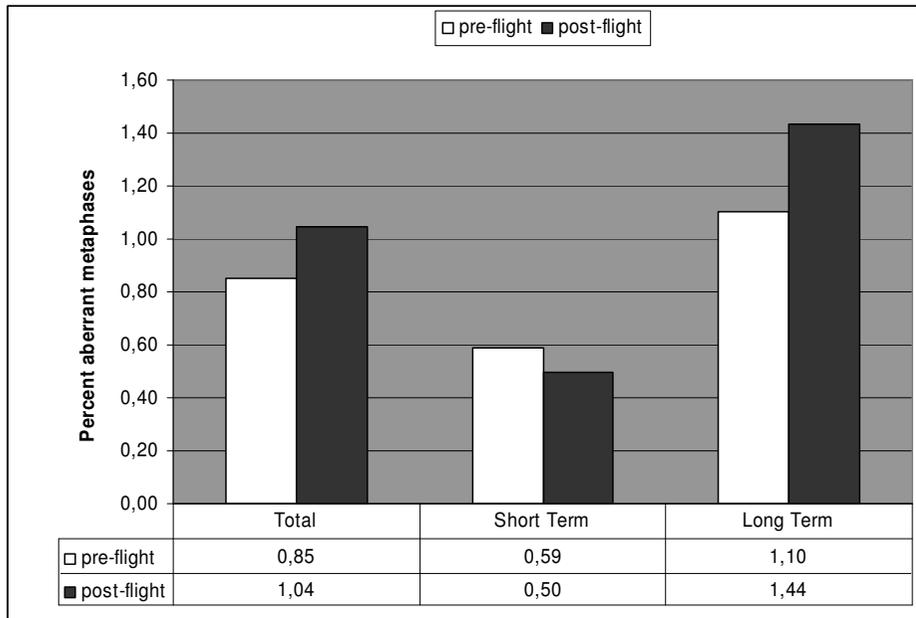
CHROMOSOME

Astronaut Code Number	<u>Pre-flight</u>		<u>Post-flight</u>		Difference: post- flight vs. pre- flight calculated for 1000 cells
	Number of cells analysed	Aberrant cells	Number of cells analysed	Aberrant cells	
0	631	14	833	3	-18.6
1	1,677	15	1,687	8	-4.2
2	2,438	10	1,068	9	+4.3
3	2,316	11	1,052	8	+2.9
4	1,020	8	659	10	+7.3
5	851	4	811	23	+23.7
6	902	9	325	7	+11.6
7	1,219	22	415	1	-15.6
8	1,017	9	938	10	+1.8
9	675	14	1,005	24	+3.1
10	516	6	1,004	45	+33.2
11	888	11	1,676	6	-8.8
12	1,378	20	1,024	5	-9.6
13	1,159	8	1,398	20	+7.4
14	1,320	4	1,204	13	+7.8
15	1,000	9	855	7	-0.8
16	1,294	22	1,220	9	-9.6
17	1,086	3	1,009	8	+5.2
18	1,050	8	516	2	-3.7
19	1,118	3	1,002	2	-0.7
20	1,127	3	1,055	1	-1.7
21	470	1	409	3	+5.2
22	702	6	378	1	-5.9
Total	25,834	220	21,543	225	0.2
Short-term	12,615	74	9,009	45	-0.1
Long-Term	13,239	146	12,534	180	0.3

Anteil chromosomal  
aberranter Zellen  
(Langzeitflieger sind  
grau unterlegt)



Am häufigsten wurden Chromatidbrüche gefunden

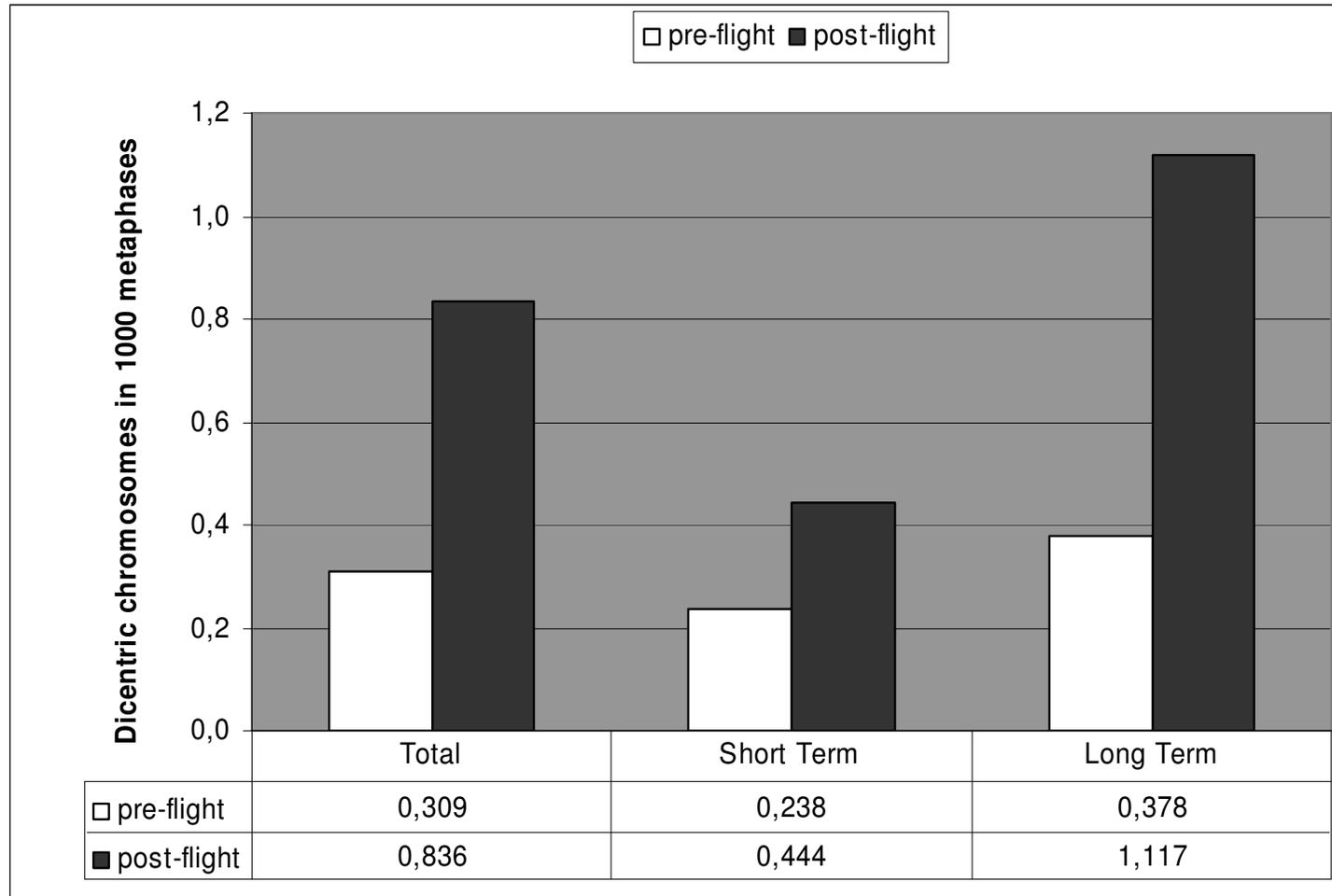


Dizentrische  
Chromosomen

Astronaut Code Number	Pre-flight		Post-flight		Difference: post- flight vs. pre- flight calculated for 1000 cells
	Number of cells analysed	Dicentric chromosomes	Number of cells analysed	Dicentric chromosomes	
0	631	0	833	1	+1,20
1	1,677	0	1,687	0	0,00
2	2,438	0	1,068	0	0,00
3	2,316	0	1,052	2	+1,90
4	1,020	0	659	0	0,00
5	851	0	811	1	+1,23
6	902	0	325	0	0,00
7	1,219	0	415	0	0,00
8	1,017	0	938	0	0,00
9	675	0	1,005	0	0,00
10	516	0	1,004	2	+1,99
11	888	0	1,676	2	+1,19
12	1,378	2	1,024	3	+1,48
13	1,159	0	1,398	3	+2,15
14	1,320	1	1,204	0	-0,76
15	1,000	0	855	0	0,00
16	1,294	2	1,220	3	+0,91
17	1,086	0	1,009	0	0,00
18	1,050	2	516	1	+0,03
19	1,118	0	1,002	0	0,00
20	1,127	1	1,055	0	-0,89
21	470	0	409	0	0,00
22	702	0	378	0	0,00
Total	25,834	8	21,543	18	+0.53
Short-term	12,615	3	9,009	4	+0.21
Long-Term	13,239	5	12,534	14	+0.74



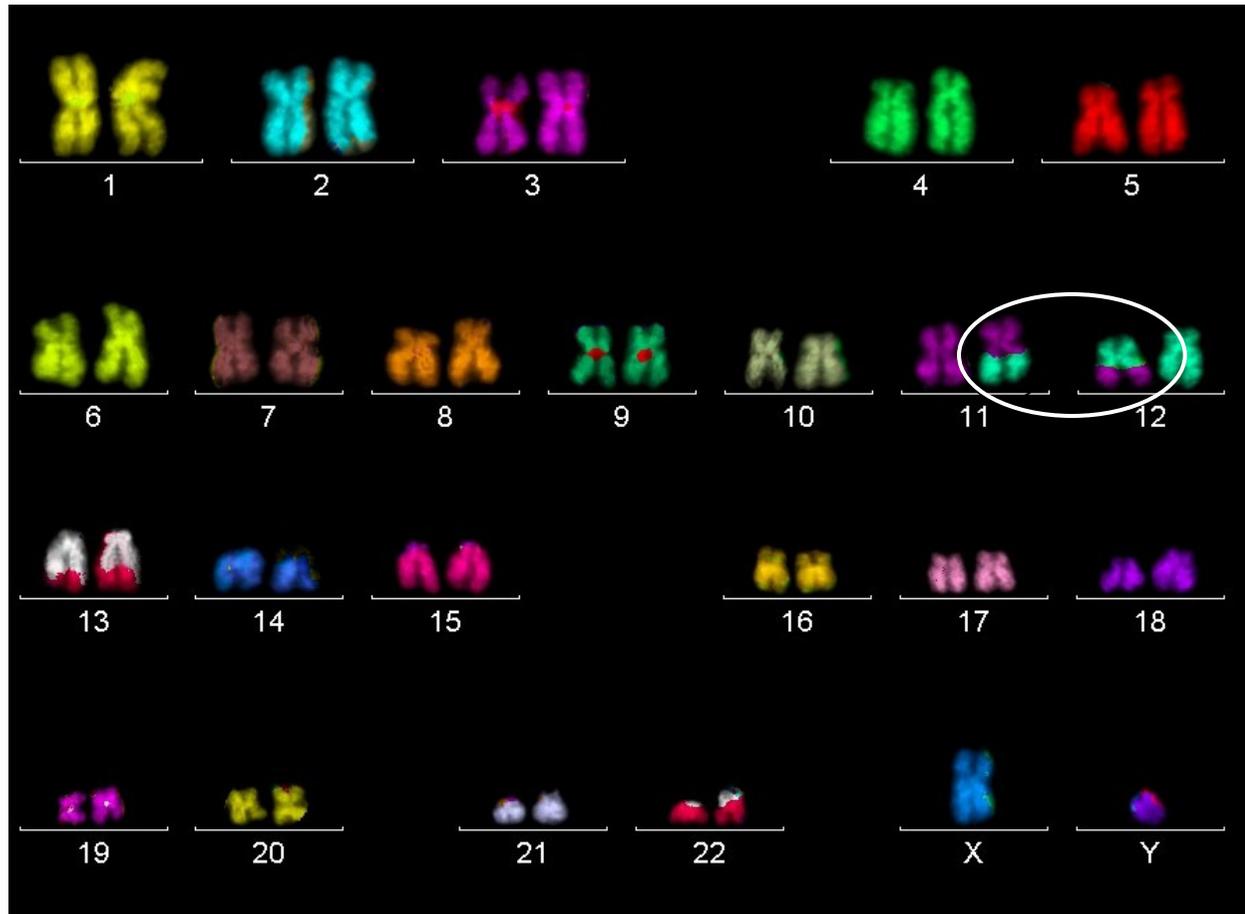
### Dizentrische Chromosomen



Multicolor FISH für alle 24 menschlichen Chromosomen



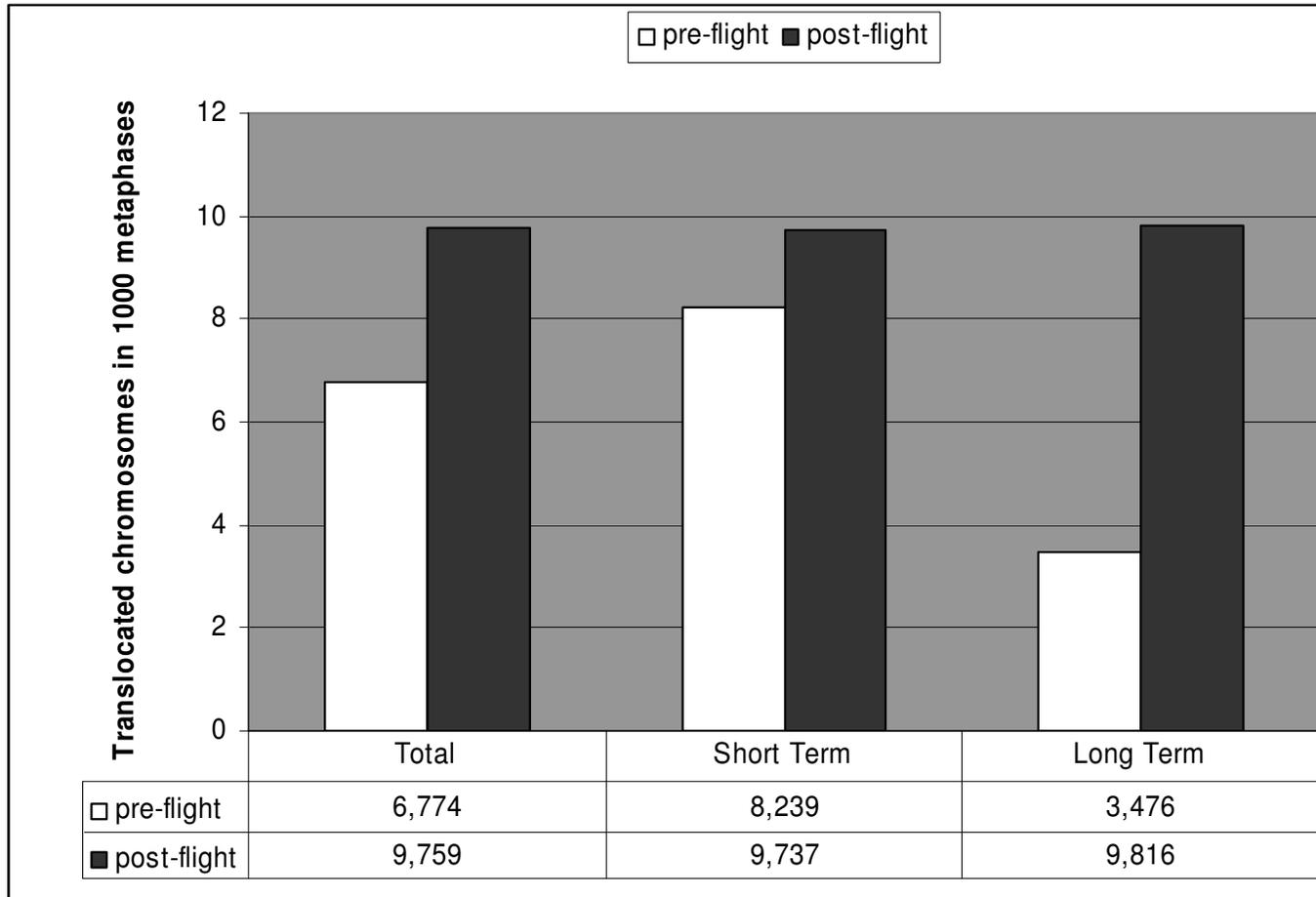
# Karyotyp nach mFISH



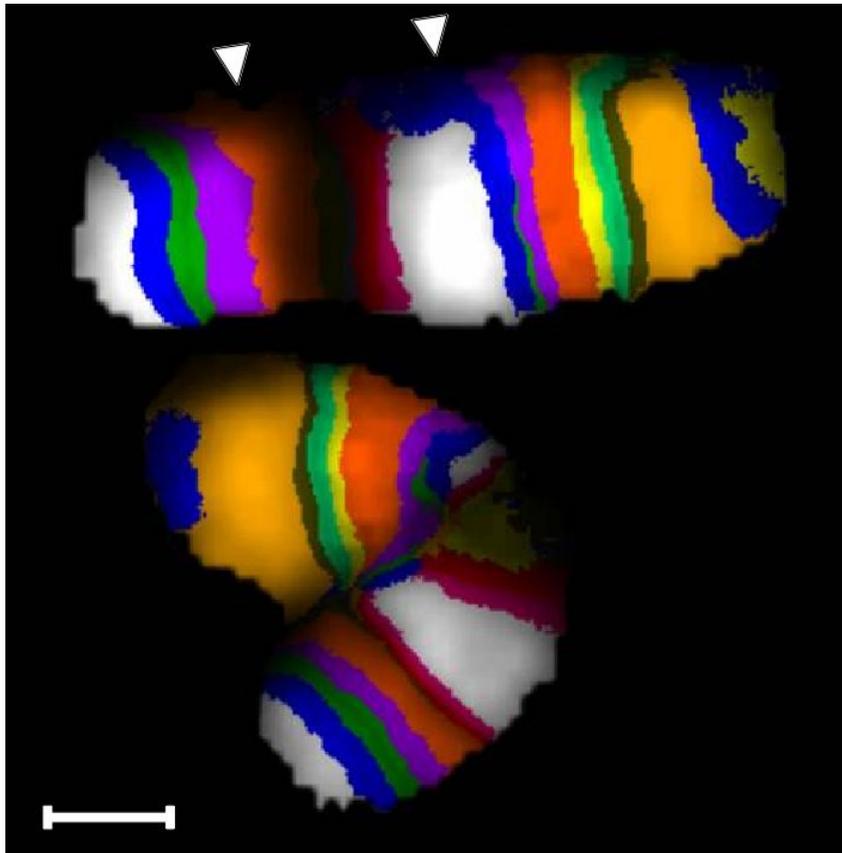
Reziproker Austausch  
(Translokation) zwischen  
den Chromosomen 11  
und 12



### Austauschaberrationen

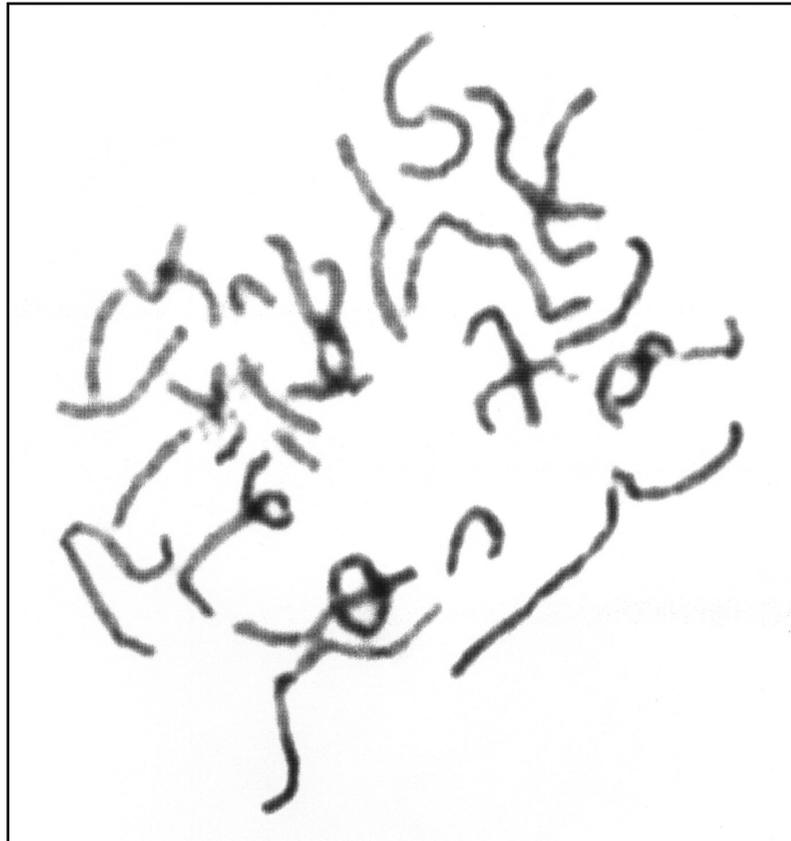


## Chromosomenpaar 5 nach mBAND



Das obere Chromosom zeigt die normale Bandenabfolge, das untere Chromosom weist eine parazentrische Inversion auf. Der Bereich des invertierten Segments ist durch Pfeilköpfe im normalen Chromosom kenntlich gemacht.

Interphasechromosomenkondensation  
(Premature chromosome condensation; PCC)



- Mithilfe von PCC können Zellen ausgewertet werden, die nicht stimulierbar sind oder infolge von Strahlenschäden die Mitose nicht erreichen können.
- Falls Interphasezellen höhere Mutationsraten zeigen als Mitosezellen, würde mit Standardtechniken das Ausmaß an Strahlenschäden unterschätzt werden.

In-vitro Bestrahlung

Vorflugprobe

A

B

Inter-individuelle  
Variabilität?

Strahlensensibilisierung  
infolge des Raumfluges

Nachflugprobe

A

B

