В.Ю. Нугис, М.Г. Козлова

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ДВУХ СИТУАЦИЯХ ОБНАРУЖЕНИЯ НЕКОНТРОЛИРУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

V.Yu. Nugis, M.G. Kozlova

Cytogenetic Researches in Two Situations of Unregulated Ionizing Radiation Source Finding

РЕФЕРАТ

Цель: Оценка результатов цитогенетических исследований, направленных на биологическую индикацию дозы, у двух групп людей, предположительно подвергшихся облучению от неконтролируемых источников ионизирующего излучения.

Материал и методы: Цитогенетические исследования были выполнены с использованием культур лимфоцитов периферической крови. В одном случае применялась FISH-методика окрашивания хромосом, в другом — классический метод.

Результаты: Показано, что, несмотря на реальное воздействие излучения от источников, частоты аберраций хромосом у почти всех обследованных находились в пределах фоновых значений. Только у одного индивидуума частота FISH-регистрируемых транслокаций превышала контрольный уровень и соответствовала дозе 0,34 Зв, однако его вовлеченность в радиационную ситуацию сомнительна.

Заключение: Полученные цитогенетические данные в целом соответствовали низким физическим дозовым оценкам для лиц, вовлеченных в два рассмотренных радиационных инцидента, при использовании как классического, так и FISH-окрашивания хромосом.

Ключевые слова: *аберрации хромосом, культура лимфоцитов периферической крови, случайное облучение*

ABSTRACT

Purpose: Evaluation of the results of cytogenetic studies aimed for biological dose indication for two groups of people probably irradiated with unregulated sources of ionizing radiation.

Material and methods: The cytogenetic studies were carried out with use of peripheral blood lymphocyte cultures, FISH-method was applied in one case and classic method of chromosome staining was applied in another case.

Results: It is shown that chromosome aberration frequencies in almost all examined people did not exceed limits of background values despite real existence of ionizing radiation sources. The frequency of FISH-registered translocations exceeded a reference level and corresponded to a dose of 0.34 Sv only in one individual. However his involvement into the radiation situation is doubtful.

Conclusion: Cytogenetic data received with use of classical or FISH-methods of chromosome painting corresponded to low doses estimated with physical methods for persons involved in two considered radiation incidents.

Key words: *chromosome aberrations, peripheral blood lymphocytes culture, occasional irradiation*

Введение

Цитогенетический анализ культур лимфоцитов периферической крови является одним из основных (наряду с ЭПР-спектрометрией эмали зуба) способов биологической индикации дозы, что отражено в периодически обновляемых методических рекомендациях МАГАТЭ [1, 2]. Необходимость использования данного подхода обусловлена возможностью случайного облучения от различных источников ионизирующего излучения не только работников, профессионально контактирующих с радиацией, но и обычных граждан, не имеющих дозиметров.

Несмотря на определенные трудности, связанные с характером и режимом облучения, анализ аберраций хромосом достаточно хорошо зарекомендовал себя в случаях аварийного воздействия в дозах, вызывающих развитие острой лучевой болезни (ОЛБ). При меньших дозах, которые, с нашей точки зрения, можно было бы определить как «субклинические», возникают определенные сложности, в том числе связанные и с общей чувствительностью метода цитогенетической индикации дозы. Данный уровень доз лет 10–20 назад назвали бы уровнем малых доз.

Однако в настоящее время международные организации, анализирующие данные по радиационным эффектам, произвели определенную регламентацию терминов. Обзор этой деятельности дан в работе А.Н. Котерова [3]. В соответствии с принятыми решениями предлагается использовать следующую градацию диапазонов доз: очень малые — от свыше 0 до 10 мГр, малые — от свыше 10 мГр до 100 мГр, средние — от свыше 100 мГр до 1 Гр, большие — от свыше 1 Гр до 10 Гр, очень большие — от свыше 10 Гр. Заметим, что в соответствии с таким разделением доза 1 Гр, при которой почти у всех людей в случае облучения уже сформировалась бы легкая степень лучевой болезни, оказывается отделенной от более высоких доз. Термин «субклинические» дозы обозначает только

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: nugisvju@list.ru

Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia. E-mail: nugisvju@list.ru

то, что при остром тотальном облучении в таких дозах ОЛБ не индуцируется.

Однако в большинстве случаев, которые приходится расследовать при подозрении на радиационное поражение, речь идет именно о таких величинах доз (если вообще имел факт облучения) и поэтому представляется важным рассмотреть практику применения цитогенетических методов при таких условиях на примере двух случаев нахождения неконтролируемых источников.

Материал и методы

Первое цитогенетическое обследование было выполнено в связи с обнаружением 29.04.2010 г. в г. В. неизвестного радиоактивного источника у одного из строений на территории общего двора по ул. О-а, д. 3, где проживает 5 семей. Источник находился в земле. На рис. 1 представлена схема распределения замеров с помощью дозиметров мощности дозы гамма-излучения на местности с указанием точек исследования. В табл. 1 приведены значения мощности дозы в измеренных точках. Непонятно, почему наибольшая мощность дозы наблюдалась не в ближайших к источнику точках (4 и 7), а на некотором отдалении (точка 6). Возможно, это связано со структурой почвы или с другими факторами. Какие-либо данные о длительности нахождения источника в указанном месте и о конкретном времени пребывания жильцов в местах повышенного гамма-фона отсутствовали. Поэтому возникла необходимость в проведении цитогенетической индикации дозы.

Таблица 1

Приложение к схеме, изображенной на рис. 1, с указанием мощности дозы гамма-излучения в каждой точке

№ точки на схеме	Мощность дозы, мкЗв/ч	№ точки на схеме	Мощность дозы, мкЗв/ч
1	0,20	19	103,0
2	30,0	20	43,5
3	200,0	21	4,24
4	320,0	22	1,5
5	914,0	23	24,8
6	1200,0	24	270,0
7	550,0	25	1,45
8	654,0	26	2,69
9	928,0	27	2,3
10	370,0	28	1,13
11	540,0	29	1,1
12	156,0	30	140,0
13	0,27	31	32,0
14	0,24	32	27,8
15	1,52	33	24,6
16	1,69	34	2,4
17	0,48	35	420,0
18	2,37	36	370,0
Площадь на расстоянии 70–80 м			0,15
Естественный фон мощности дозы гамма-излучения			0,12

Венозная кровь у лиц с подозрением на переоблучение (10 детей и 26 взрослых) была взята в первой половине дня 10.08.2010 г. и в тот же день вечером доставлена на рейсовом самолете в г. Москву. Постановка культур лимфоцитов периферической крови была осуществлена на следующий день.

Лимфоциты периферической крови культивировали при температуре 37 °С в среде IRMP-1640 (9 мл), содержащей фитогемагглютинин (ФГА) (фирма «ПанЭко», Россия), антибиотики стрептомицин и пенициллин (растворены предварительно в среде). Время инкубации культур составляло 50 ч. В эти сроки в наших условиях культивирования с помощью FPG-методики обнаруживались метафазы практически только в первом митозе. За 2,5 ч до конца инкубации в культуры добавляли колхицин (0,5 мкг/мл). В качестве гипотонического раствора использовали 0,075 М KCl. Клетки фиксировали охлажденной смесью метанола и ледяной уксусной кислоты в объемном соотношении 3:1. Затем производили смену фиксатора (центрифугирование) еще два раза. Полученную взвесь раскапывали на охлажденные стекла, которые высушивали на термоплате.

В связи с пролонгированным (хроническим) характером предполагаемого облучения и отсроченным временем взятия материала от момента изъятия источника ионизирующего излучения (около 3,3 мес) была применена цитогенетическая методика FISH-окрашивания хромосом с использованием готовых наборов ДНК-зондов к целым хромосомам №№ 1, 4 и 12 (XCP — chromosome painting probe, прямое мечение TexasRed, контркраситель — DAPI) фирмы MetaSystems. При обработке и окраске препаратов хромосом руководствовались прилагаемой к набору фирменной инструкцией. Данный подход позволяет выявлять так называемые стабильные перестройки хромосом (реципрокные транслокации), не представляющие препятствия для протекания митоза и имеющих по этой причине тенденцию сохраняться с течением времени, в отличие от дицентриков (нестабильные перестройки), обычно используемых для оценки дозы в ближайшие сроки после острого облучения. Для перерасчета обнаруженного числа транслокаций на весь геном был использован известный подход, основанный на формуле, приведенной в работе [4], и доли генома по содержанию ДНК в FISH-окрашенных хромосомах [5].

Второе цитогенетическое обследование было обусловлено случайным обнаружением 28.04.2012 г. неучтенного источника ионизирующего излучения на

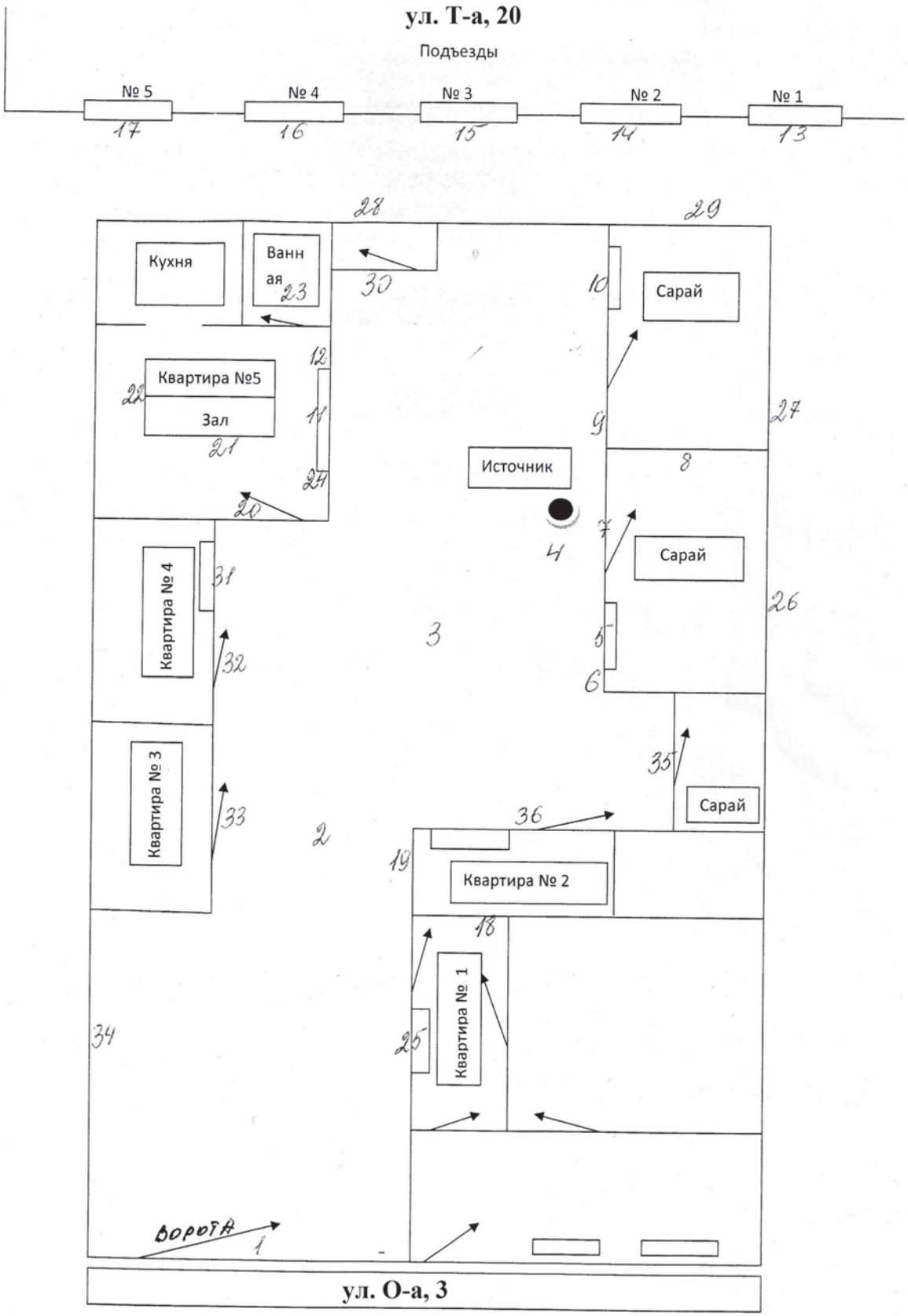

Рис. 1. Схема точек измерения мощности дозы гамма-излучения на местности в г. В.

складе (в ящике среди других инструментов) на одном из предприятий, занимающихся дефектоскопической работой. Изотопный состав и паспортная активность источника, который не подвергся разрушению, в связи с отсутствием документации на него не были установлены. Загрязнение поверхности упаковочного ящика по α- и β-излучениям отсутствовало. По данным модельного радиологического исследования, максимальный уровень мощности амбиентного эквивалента дозы гамма-излучения наблюдался на расстоянии 10 см в направлении максимального излучения и составлял 352 мкЗв/ч. По результатам исследований был произведен расчет годовых эквивалентных доз, предположительно полученных персоналом с учетом времени нахождения в помещении и условий облучения (взаимное расположение работников и источника). Полученные дозовые нагрузки представлены в табл. 2.

Все люди были разделены на группы в зависимости от своей категории по отношению к профессиональному облучению: персонал категории А (лица, непосредственно работающие с техногенными источниками облучения), персонал категории Б (лица, работающие на радиационном объекте или на территории его санитарно-защитной зоны и находящиеся в сфере воздействия техногенных источников) и группа «население» [6]. Как можно видеть из табл. 2, расчетные дозы на все тело (за год) очень малы и варьируют в группе персонала категории А от 0,0870 до 0,8917 мЗв, в группе персонала категории Б от 0,0011 до 0,0022 мЗв и в группе население от 0,0008 до 0,3155 мЗв (у П.Г.Д. доза не рассчитывалась).

Таблица 2

Расчетные дозы γ-облучения (за год) у персонала, подвергшегося радиационному воздействию в дефектоскопической организации

№ п/п	Ф.И.О.	Возраст, полных лет	Пол	Органы	Доза излучения, мЗв	
					Допустимая	Расчетная
Персонал категории А						
1	Е.Д.Н.	26	м	Кожа, стопы	500	42,3
				Все тело	20	0,8
2	К.В.А.	45	м	Кожа, стопы	500	16,2
				Все тело	20	0,3
3	Р.И.Е.	25	м	Кожа, стопы	500	47,7
				Все тело	20	0,9
4	Т.В.С.	58	м	Кожа, стопы	500	4,7
				Все тело	20	0,1
5	У.Ф.Е.	62	м	Кожа, стопы	500	32,2
				Все тело	20	0,6
Персонал категории Б						
6	К.В.В.	56	ж	Кожа, стопы	125	0,1
				Все тело	5	0,002
7	Ш.Е.В.	45	ж	Кожа, стопы	125	0,06
				Все тело	5	0,001
Население						
8	В.М.А.	48	м	Кожа, стопы	50	9,1
				Все тело	1	0,2
9	Л.И.А.	25	м	Кожа, стопы	50	5,2
				Все тело	1	0,1
10	О.Е.С.	39	ж	Кожа, стопы	50	0,04
				Все тело	1	0,000
11	П.Г.Д.	4	м	Кожа, стопы	50	—
				Все тело	1	—
12	П.Н.Н.	37	ж	Кожа, стопы	50	13,3
				Все тело	1	0,2
13	Р.М.В.	24	ж	Кожа, стопы	50	0,2
				Все тело	1	0,003
14	Т.Е.В.	46	ж	Кожа, стопы	50	0,1
				Все тело	1	0,002
15	Т.С.Н.	35	м	Кожа, стопы	50	16,9
				Все тело	1	0,3
16	У.В.М.	41	м	Кожа, стопы	50	12,6
				Все тело	1	0,2

Это очень низкие дозы, с учетом того, что нижняя граница чувствительности классического цитогенетического метода составляет 10 сЗв (100 мЗв) [2, 3]. Однако осуществление цитогенетической оценки дозы в случае любой возможности случайного переоблучения является полезным как для верификации данных физической дозиметрии (отнюдь не претендуя на ее точность), так и идя навстречу пожеланиям вовлеченных лиц. Такая политика является обычной для Национального совета по радиологической защите (National Radiological Protection Board) Великобритании [7].

Образцы венозной крови (16 человек) были получены 15.05.2012 г. Один из обследуемых (П.Г.Д.) не относился к штату работников: он был четырехлетним сыном сотрудницы П.Н.Н и был обследован только по просьбе матери, которая считала, что она подвергалась облучению в период беременности. Исходя из близости моментов изъятия источника и забора крови для осуществления цитогенетического анализа, было решено использовать классический метод окраски хромосом, хотя как долго (годы?) находился источник в ящике, так и осталось неизвестным. Также исходили из общей предполагаемой очень низкой величины доз возможного переоблучения и выдвигаемого некоторыми авторами положения о более высоком пороге чувствительности FISH-метода по уровню транслокаций по сравнению с классическим методом анализа дицентриков (10 сЗв [1, 2]) после острого облучения. Так, авторы работы [8] считают, что оценка индивидуальных доз с помощью FISH-окраски возможна только начиная с 0,35 Гр. В других работах [9, 10] высказывается мнение, что из-за зависимости средних фоновых частот FISH-транслокаций от возраста и увеличивающейся с возрастом их вариабельности пороговые значения накопленных за время жизни доз также растут от 0,2 до 0,5 Гр. Однако в работе [11] эти точки зрения не учитываются.

Методика приготовления препаратов хромосом была абсолютно такой же, как и для группы из г. В. Окраска осуществлялась по классическому методу Гимза. Подсчет хромосомных аберраций производили в клетках, содержащих 45–46 хромосом. У 4 человек наблюдалось по 1 метафазе с 47 хромосомами. При этом нельзя было четко идентифицировать лишнюю хромосому, как относящуюся к другой метафазе. Однако, учитывая низкую частоту этих анеуплоидов (процент таких клеток варьировал от 0,21 до 0,40 у отдельных индивидуумов), мы не стали делать какие-либо выводы о причинах их обнаружения. При цитогенетическом анализе производили поиск и учет как аберрации хромосомного (парные фрагменты, дицентрики, центрические и ацентрические кольца, атипичные хромосомы), так и хроматидного (одиночные фрагменты, хроматидные обмены) типов.

Результаты и обсуждение

Результаты цитогенетического FISH-анализа культур лимфоцитов периферической крови выборки детей и взрослых из г. В. приведены в табл. 3 и 4 соответственно. Здесь же также представлены результаты сравнения обнаруженных частот FISH-регистрируемых транслокаций с их фоновым уровнем и, в случае его статистически достоверного превышения, расчет оцениваемой дозы. В основе этого анализа лежит медицинская технология №ФС-2007/015-У [11]. В этой работе предлагается сначала устанавли-

Таблица 3

Результаты FISH-цитогенетического исследования и оценки дозы у выборки детей из г. В.

№ п/п	Ф.И.О.	Адрес: улица, дом-квартира	Возраст, полных лет	Пол	Количество клеток	Число обнаруженных транслокаций	Частота транслокаций на 100 клеток	Частота транслокаций на 100 клеток на весь геном	Индивидуальная дозовая оценка
1	М.А.Ю.	О-а, 3-1	11	ж	578	0	0	0	нет отличия от контроля
2	П. Ф.Х.	О-а, 3-4	6	м	1000	1	0,10	0,37	нет отличия от контроля
3	Д.Р.	О-а, 3-3	8	ж	881	2	0,23	0,72	нет отличия от контроля
4	Д.К.	О-а, 3-3	10	ж	184	1	0,54	1,72	нет отличия от контроля
5	Д.Кр.	О-а, 3-3	?	ж	848	1	0,12	0,37	нет отличия от контроля
6	Д.Х.Н.	О-а, 3-5	15	м	550	1	0,18	0,58	нет отличия от контроля
7	Д.З.Т.	Т-а, 20-49	6	ж	602	1	0,17	0,53	нет отличия от контроля
8	Д.Д.Т.	Т-а, 20-49	8	ж	601	1	0,17	0,53	нет отличия от контроля
9	Г.А.И.	Т-а, 20-51	3	ж	341	0	0	0	нет отличия от контроля
10	А.С.О.	Т-а, 20-59	5	м	162	0	0	0	мало клеток
Среднее ± стандартная ошибка							0,15 ± 0,05	0,48 ± 0,16	
Контроль: среднее ± стандартная ошибка								0,14 ± 0,05*	

Примечание:
* — данные из работы [12]

Таблица 4

Результаты FISH-цитогенетического исследования и оценки дозы у выборки взрослых жителей из г. В.

№ п/п	Ф.И.О.	Адрес: улица, дом-квартира	Возраст, полных лет	Пол	Количество клеток	Число транслокаций	Частота транслокаций на 100 клеток	Частота транслокаций на 100 клеток на весь геном	Средняя фоновая геномная частота транслокаций на 100 клеток ± SE (размах колебаний) для данного возраста*	Индивидуальная дозовая оценка
1	М.Н.С.	О-а, 3-1	34	ж	580	2	0,34	1,09	0,504 ± 0,570 (0–1,919)	нет отличия от контроля
2	М.В.Т.	О-а, 3-1	73	ж	351	1	0,28	0,90	1,341 ± 0,121 (0,29–3,478)	нет отличия от контроля
3	Д.Х.А.	О-а, 3-3	27	м	296	1	0,34	1,07	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
4	Д.А.А.	О-а, 3-3	34	ж	119	1	0,84	2,66	0,504 ± 0,570 (0–1,919)	мало клеток
5	Д.Г.А.	О-а, 3-3	36	м	937	1	0,11	0,34	0,504 ± 0,570 (0–1,919)	нет отличия от контроля
6	Х.Н.С.	О-а, 3-3	63	ж	112	1	0,89	2,83	1,008 ± 0,084 (0–3,478)	мало клеток
7	Б.Д.В.	О-а, 3-4	20	ж	417	0	0	0	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
8	П.З.О.	О-а, 3-4	20	м	271	0	0	0	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
9	П.Р.Н.	О-а, 3-4	42	ж	247	0	0	0	0,681 ± 0,051 (0–2,060)	нет отличия от контроля
10	Т.М.Ш.	О-а, 3-5	49	ж	454	0	0	0	0,681 ± 0,051 (0–2,060)	нет отличия от контроля
11	Д.Н.П.	О-а, 3-5	56	м	422	1	0,24	0,75	0,732 ± 0,048 (0–2,407)	нет отличия от контроля
12	З.М.В.	О-а, 5-4	16	м	253	0	0	0	0,253 ± 0,110 (0–0,562)	нет отличия от контроля
13	З.К.Е.	О-а, 5-4	80	ж	384	7	1,82	5,78	1,56 ± 0,250 (0,29–2,609)	0,34 Зв
14	Б.Л.Т.	Т-а, 20-41	83	ж	39	0	0	0	1,56 ± 0,250 (0,29–2,609)	мало клеток
15	Ч.Е.А.	Т-а, 20-45	21	ж	581	0	0	0	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
16	Ч.В.Н.	Т-а, 20-45	53	ж	284	0	0	0	0,732 ± 0,048 (0–2,407)	нет отличия от контроля
17	А.А.Б.	Т-а, 20-48	22	ж	2445	0	0	0	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
18	А.З.Б.	Т-а, 20-48	22	ж	803	1	0,125	0,39	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
19	А.А.Б.	Т-а, 20-48	28	м	313	0	0	0	0,337 ± 0,045 (0–1,573)	нет отличия от контроля
20	А.Э.А.	Т-а, 20-48	53	ж	282	2	0,71	1,12	0,732 ± 0,048 (0–2,407)	нет отличия от контроля
21	А.Б.Х.	Т-а, 20-48	60	м	111	0	0	0	1,008 ± 0,084 (0–3,478)	мало клеток
22	Д.Т.К.	Т-а, 20-49	46	ж	323	0	0	0	0,681 ± 0,051 (0–2,060)	нет отличия от контроля
23	Д.Т.А.	Т-а, 20-49	49	м	532	2	0,38	1,19	0,681 ± 0,051 (0–2,060)	нет отличия от контроля
24	С.А.М.	Т-а, 20-52	60	ж	231	2	0,87	2,74	1,008 ± 0,084 (0–3,478)	нет отличия от контроля
25	С.К.М.	Т-а, 20-58	59	ж	385	2	0,52	1,65	0,732 ± 0,048 (0–2,407)	нет отличия от контроля
26	Б.Н.К.	Т-а, 20-60	76	ж	642	2	0,31	0,99	1,341 ± 0,121 (0,29–2,609)	нет отличия от контроля

Примечание:
* — данные из работы [13]

вать статистическую значимость наблюдаемого отличия частот аберраций хромосом от ее фоновых значений, а уже в случае достоверного повышения уровня повреждений хромосом у обследуемого индивидуума производить расчет дозы по калибровочным кривым «доза–эффект». Также при любом числе проанализированных клеток наличие одной аберрации, даже относящейся к группе индикаторов радиационного воздействия, не может свидетельствовать о перенесенном переоблучении и служить поводом для количественной оценке дозы. Одновременно в данной работе [11] высказывается мнение, что при обнаружении одной аберрации — индикатора радиационного воздействия — возникает неопределенность в вынесении заключения о том, было или не было воздействие. С нашей точки зрения, при сколь угодно большом количестве просмотренных метафаз можно никогда не обнаружить второй соответствующей аберрации хромосом, так как у любого индивидуума по отдельности (но не у всех вместе) она может наблюдаться в единичном экземпляре. Поэтому в ситуации детекции одного хромосомного индикатора радиационного воздействия целесообразно говорить именно о непревышении спонтанного уровня. Проблема действительно состоит в недостаточно большом количестве проанализированных клеток. К сожалению, когда пациент «не лежит на койке», повторить цитогенетическое исследование достаточно сложно чисто административно и финансово. Поэтому, исходя из приведенного в работе [11], граничного количества 200 просмотренных клеток для возможности получения хоть сколько бы статистически достоверного превышения над фоновым уровнем частоты транслокаций, в соответствующих табл. 3 (обследуемый № 10) и 4 (обследуемые № 4, 6, 14 и 21) в столбце «Индивидуальная дозовая оценка» приведена фраза «Мало клеток» в том случае, если проанализировано меньше 200 метафаз.

Для расчета дозы была использована трансформированная зависимость из работы [11]. Эта трансформация потребовалась в связи с необходимостью учета возраста обследуемых лиц, так как сведения, имеющиеся в научной литературе [12, 13], свидетельствуют о зависимости от него фоновой частоты FISH-регистрируемых транслокаций. Ниже приведено полученное нами уравнение для наблюдаемой частоты транслокаций при FISH-окрашивании 1, 4 и 12 пар хромосом:

$$Y = c + 2{,}402 \times D + 0{,}516 \times D^2, \qquad (1)$$

где Y — частота FISH-зарегистрированных транслокаций на 100 клеток, c — возрастной контроль, D — доза (Гр).

Данные о величинах фоновых частот аберраций хромосом у непосредственно жителей г. В. нам не известны (скорее всего, такие исследования никем не проводились). Поэтому у детей были использованы результаты, приведенные в статье И.Е. Воробцовой и соавт. [12]. В этой работе FISH-методом были исследованы хромосомы в культурах лимфоцитов периферической крови 14 детей/подростков в возрасте от 3 до 19 лет, что сопоставимо с возрастом детей из г. В., который колебался примерно от полных 3 до 15 лет. Индивидуально ни у одного из детей не было обнаружено отличия от возрастного контроля. При групповом сравнении проведенный статистический анализ показал отсутствие статистически значимого различия между соответствующими средними частотами (t-критерий Стьюдента для малых выборок с разными дисперсиями: $t = 1{,}99$ при $t_{05} = 2{,}15$). Однако наблюдалось существенное различие величин дисперсий частот транслокаций в этих двух группах при сравнении по критерию Фишера: $F = 7{,}44$ при $F_{01} = 4{,}14$, что свидетельствует об увеличенной вариабельности индивидуальных значений. Причина различия дисперсий неясна. Она может быть объяснена как наличием отличий между фоновыми частотами транслокаций жителей г. В. и использованного контроля, так и влиянием облучения в минимальных дозах, приведшим к обнаруженному увеличению дисперсии без сдвига среднего значения.

Таким образом, отсутствие статистически значимого повышения средних уровней аберраций хромосом как при индивидуальным, так при групповом анализе полученных данных на фоне обнаруженных различий в величинах дисперсий позволяет сделать заключение об отсутствии достоверных данных о существенном переоблучении группы обследованных детей из г. В.

В связи с отсутствием местного контроля также были использованы сведения литературы по фоновой частоте FISH-регистрируемых транслокаций у людей разного возраста, приведенные уже в другой работе [13]. Это было сделано специально, чтобы избежать возможности ошибочного отрицания переоблучения, так как обнаруженные в ней средние фоновые частоты транслокаций были ниже, чем в работе [12]. Кроме того, в работе [13] были обследованы более возрастные пациенты (каковые имелись и в нашем исследовании), чем в работе [12]. У 4 обследуемых (№ 4, 6, 14 и 21) не удалось проанализировать достаточное число клеток для вынесения достоверного суждения о частоте хромосомных аберраций. Только у обследуемой № 13 частота FISH-регистрируемых транслокаций достоверно превышала фоновые значения (сравнении по точному критерию Фишера [11], $p = 0{,}0035$). Расчетная доза равнялась 0,34 Зв. Однако

обследованная № 13 проживала не по адресу, где был обнаружен источник, а в другом доме (ул. О-а, д. 5, а не д. 3). Поэтому вовлеченность ее в расследуемую ситуацию выглядит сомнительной. Так как FISH-регистрируемые транслокации могут служить показателем действия любых источников ионизирующего излучения, то необходимо было бы исключить фактор предыдущего, например, терапевтического радиационного воздействия. Такое расследование провести не удалось.

У остальных обследуемых лиц обнаруженные частоты FISH-регистрируемых транслокаций находились в пределах фоновых колебаний или было найдено не более одной транслокации, что не может свидетельствовать об отклонении от контрольных значений. Сравнение по критерию Стьюдента с попарно связанными вариантами (средние контрольные величины против обнаруженных частот у отдельных индивидуумов, за исключением № 13) не показало статистически достоверного группового отличия обнаруженных частот транслокаций от фоновых значений, приведенных в упомянутой работе [13].

В целом полученные цитогенетические данные, с нашей точки зрения, соответствуют результатам определения мощностей доз в различных точках на местности. Действительно, судя по всему, наибольшая мощность дозы наблюдалась в квартире № 5 по ул. О-ва, д. 3. Тогда, заведомо утрируя ситуацию, если в течение всех суток находиться: 1) у окна (точка 11), то полученная доза составит 12,96 мЗв за первые сутки, 388,8 мЗв за месяц и 4730,4 мЗв за год; 2) в ванной (точка 23), то полученная доза составит 0,60 мЗв за первые сутки, 17,9 мЗв за месяц и 217,2 мЗв за год; 3) в центре комнаты (точка 21), то полученная доза составит 0,10 мЗв за первые сутки, 2,44 мЗв за месяц и 37,14 мЗв за год. Понятно, что это совершенно фантастические допущения, но к реальности при всех возможных перемещениях людей (во дворе и вне его) скорее всего ближе последний расчет, который демонстрирует, что полученные дозы находятся ниже порога чувствительности цитогенетических методов.

Результаты цитогенетического анализа у 16 человек, имеющих отношение ко второму случаю, представлены в табл. 5. Данная таблица по своей форме в нашей лаборатории является стандартной и в ней отражены все виды аберраций хромосом, которые обычно идентифицируются при использовании классического метода окраски хромосом, а не только тех, которые были обнаружены в данном исследовании. Как можно видеть, в культурах лимфоцитов периферической крови пяти обследованных лиц (№№ 1, 3, 5, 11 и 16) наблюдался настолько плохой клеточный рост, что не удалось проанализировать даже 100 метафаз. В то же время, независимо от числа просмотренных метафаз, ни в одном из случаев не удалось обнаружить ни одной из аберраций хромосом — индикаторов радиационного воздействия (дицентрики, центрические и ацентрические кольца, атипичные хромосомы). Были обнаружены только парные и хроматидные фрагменты, которые составляют подавляющую часть видов аберраций хромосом, наблюдаемых в контрольных популяциях. Более того, сравнение по t-критерию Стьюдента показало, что в обследуемой группе частота парных и хроматидных фрагментов статистически достоверно ниже, чем в контрольной когорте ($p = 0{,}032$ и 0,039 соответственно) при исключении индивидуумов, у которых было проанализированы меньше 100 метафаз. Таким образом, может быть сделан единственный вывод о соответствии цитогенетических данных произведенным физическим расчетам, свидетельствующим о крайней незначительности возможного радиационного воздействия. Очевидно, что, учитывая общность группы, этот вывод может быть распространен и на тех индивидуумов (№№ 1, 3, 5, 11 и 16), у кого не удалось провести полноценный цитогенетический анализ. Точно такой же вывод был сделан нами и в отношении обследуемых лиц по FISH-методу, у которых было просмотрено недостаточно метафаз.

На самом деле, в обеих описанных ситуациях изначально возникал вопрос о том, какой метод окраски хромосом использовать: классический или FISH. С нашей точки зрения, цитогенетическое исследование в подобных случаях надо производить обоими способами. Однако в обеих ситуациях возникало опасение в недостаточном количестве проанализированных клеток при таком дроблении материала, что, собственно говоря, и наблюдалось у некоторых обследованных лиц и без применения одновременно двух методов. Наш эмпирический опыт свидетельствует о том, что авиационная перевозка не способствует хорошему росту культур лимфоцитов и, по-видимому, здесь имеется индивидуальная вариабельность.

В отношении использования FISH-метода для биологической индикации дозы очень важным действительно является вопрос об определении фонового уровня транслокаций в каждой данной местности и ее конкретной зависимости от возраста обследуемых лиц. Проведение таких работ для указанной цели было бы действительно полезным, так как позволило бы ответить на вопрос о том, в чем причина наблюдаемых различий (работы [12, 13]): специфика популяций или разница в идентификации аберраций?

Хочется подчеркнуть, что данная работа не преследует цели выведения глубоких научных закономерностей. В большей степени это описание некоторого практического опыта, что также небесполезно.

Таблица 5

Частоты аберрантных клеток и аберраций хромосом в культурах лимфоцитов периферической крови у лиц, предположительно подвергшихся гамма-облучению от неучтенного источника в дефектоскопической организации

№ п/п	Ф.И.О.	Число клеток	Аберрации хромосомного типа (на 100 клеток)							Аберрации хроматидного типа (на 100 клеток)			
			Процент аберрантных клеток	Парные фрагменты	Дицентрики	Центрические кольца	Ацентрические кольца	Атипичные хромосомы	Всего	Процент аберрантных клеток	Хроматидные фрагменты	Хроматидные обмены	Всего
Персонал категории А													
1	Е.Д.Н.	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	К.В.А.	260	0,77	0,77	0	0	0	0	0,77	0,38	0,38	0	0,38
3	Р.И.Е.	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Т.В.С.	296	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	У.Ф.Е.	51	1,96	1,96	0	0	0	0	1,96	0	0	0	0
Персонал категории Б													
6	К.В.В.	298	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Ш.Е.В.	123	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Население													
8	В.М.А.	320	0,31	0,31	0	0	0	0	0,31	0	0	0	0
9	Л.И.А.	482	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	О.Е.С.	186	0,54	0,54	0	0	0	0	0,54	0	0	0	0
11	П.Г.Д.	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	П.Н.Н.	290	0,69	0,69	0	0	0	0	0,69	0,34	0,34	0	0,34
13	Р.М.В.	472	0	0	0	0	0	0	0	0,21	0,21	0	0,21
14	Т.Е.В.	500	0,2	0,2 (0,2)*	0	0	0	0	0,2	0	0	0	0
15	Т.С.Н.	248	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	У.В.М.	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Среднее ± m:													
Обследованные лица**			0,23 ± 0,09	0,23 ± 0,09	0	0	0	0	0,23 ± 0,09	0,15 ± 0,05	0,15 ± 0,05	0	0,15 ± 0,05
Контроль***			0,61 ± 0,13	0,61 ± 0,13	0,053 ± 0,037	0	0	0,053 ± 0,037	0,72 ± 0,12	1,34 ± 0,19	0,61 ± 0,13	0,079 ± 0,046	0,8 ± 0,13

Примечания:
* — кроме идентифицированного парного фрагмента, в другой клетке была обнаружена одна делетированная хромосома, которая, скорее всего, есть следствие образования второго парного фрагмента, который, по-видимому, оказался на значительном расстоянии от всей остальной метафазы и поэтому не мог быть включен в общий подсчет аберраций хромосом;
** — расчет среднего и стандартной ошибки среднего (m) выполнен без учета лиц, в культурах лимфоцитов которых было проанализировано меньше 100 метафаз (№№ 1, 3, 5, 11 и 16);
*** — результаты, полученные в нашей лаборатории при обследовании жителей г. Москвы (данные приведены в работе [14], лаборатория № 7)

Заключение

Подводя итог сказанному выше, следует констатировать, что, несмотря на обнаружение реальных неучтенных источников ионизирующего облучения, уровни аберраций хромосом при использовании как классического, так и FISH-методов окраски хромосом практически у всех обследованных людей (кроме одного) не превышали фоновых значений. Это свидетельствует о крайне низкой возможности существенного повреждения организмов лиц, вовлеченных в две рассмотренные ситуации, так как индукция аберраций хромосом относится к одному из самых чувствительных биологических показателей радиационного воздействия. Полученные цитогенетические данные в целом соответствовали имевшимся достаточно низким физическим дозовым оценкам.

Может возникнуть вопрос, а нужна ли вообще биологическая индикация дозы в таких или подобных случаях? Разумеется, нужна. Несмотря на высокую точность расчетной физической дозиметрии, по отношению к каждому возможно или реально пострадавшему индивидууму она основывается на определенных допущениях (был — не был в данном месте, сколько времени был, как стоял и т.п.), т.е. физическая дозиметрия в большой степени дает хотя и важное, но в определенной степени общее описание. Даже наличие дозиметра не страхует от возможных ошибок, т.к. он не всегда может находиться на работнике. Любая же биологическая, в том числе и

цитогенетическая, дозиметрия имеет дело с конкретным субъектом и полученным от него материалом. Поэтому, несмотря на все присущие ей сложности и неточности, биологическая индикация дозы дает соответствующую оценку именно для конкретного человека, что крайне ценно как с клинических, так и социальных позиций. Это и показали проведенные цитогенетические исследования в двух рассмотренных случаях обнаружения неконтролируемых источников ионизирующего излучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment: A Manual. — Vienna: International Atomic Energy Agency, 2001. Technical Reports series No. 405, 126 pp.
2. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. — Vienna: IAEA, 2011, 245 pp.
3. *Котеров А.Н.* От очень малых до очень больших доз радиации: новые данные по установлению диапазонов и их экспериментально-эпидемиологические обоснования // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2013, **58**, № 2, С. 5–21.
4. *Lucas J.N., Awa A., Straume T. et al.* Rapid translocation frequency analysis in human decades after exposure to ionizing radiation. // Int. J. Radiat. Biol., 1992, **62**, No. 1, P. 53–63.
5. *Mendelsohn M.L., Mayall B.H., Bogart E. et al.* DNA content and DNA-based centromeric index of 24 human chromosomes. // Science, 1973, **179**, No. 78, P. 1126–1129.
6. Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009). Санитарные правила и нормативы СанПинН 2.6.1.2523 — 09. — М., 2009, 70 с.
7. *Lloyd D.C., Edwards A.A., Moquet J.E. et al.* Doses in radiation accidents investigated by chromosome aberration analysis. XXI: Review of cases investigated, 1994–1996. — National Radiological Protection Board, 1996, NRPB-R291, 24 pp.
8. *Voisin P., Roy L., Banderitter M.* Why can't we find a better biological indicator of dose? // Radiation Protection Dosimetry, 2004, **112**, No. 4, P. 465–469.
9. *Edwards A.A., Lindholm C., Darroudi F. et al.* Review of translocations detected by FISH for retrospective biological dosimetry application // Radiat. Protect. Dosimetry, 2005, **113**, No. 4, P. 396–402.
10. *Ainsbury E.A., Bakhanova E., Barquinero J.F.* Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation exposures // Radiat. Protect. Dosimetry, 2011, **147**, No. 4, P. 573–592.
11. *Снигирева Г.П., Богомазова А.Н., Новицкая Н.Н. и соавт.* Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов. Медицинская технология №ФС-2007/015-У. — М., 2007, 29 с.
12. *Воробцова И.Е., Такер Дж.Д., Тимофеева И.М. и соавт.* Влияние возраста и облучения на частоту транслокаций и дицентриков, определяемых методом FISH, в лимфоцитах человека. // Радиац. биология. Радиоэкология, 2000, **40**, № 2, С. 142–148.
13. *Whitehouse C.A., Edwards A.A., Tawn E.J. et al.* Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations // Int. J. Radiat. Biol., 2005, **81**, No. 2, P. 139–145.
14. *Севанькаев А.В., Хвостунов И.К., Снигирева Г.П. и соавт.* Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях // Радиац. биология. Радиоэкология, 2013, **53**, № 1, С. 5–24.

Поступила: 15.05.2014

Принята к публикации: 18.06.2014