

Д.В. Гурьев<sup>1,2</sup>, О.А. Кочетков<sup>1</sup>, В.Г. Барчуков<sup>1</sup>, А.Н. Осипов<sup>1,2</sup>**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОРГАНИЧЕСКИХ И НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ТРИТИЯ**<sup>1</sup>Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва<sup>2</sup>Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва

Контактное лицо: А.Н. Осипов, andreyan.osipov@gmail.com

**РЕФЕРАТ**

Представлены сравнительные данные по биологическим эффектам неорганических (НТО) и органических (ОСТ) соединений трития на молекулярном, цитогенетическом и организменном уровнях. Приведены данные по относительной биологической эффективности (ОБЭ) ОСТ и НТО в зависимости от их распределения в клетках и тканях организма. Многочисленные исследования показывают, что расчет ОБЭ соединений трития на разных уровнях организации приводит к противоречивым данным, что связано с особенностями взаимодействия НТО и ОСТ с критическими биомолекулами в клетках, а также с пролиферативной активностью различных клеток и тканей организма. В экспериментах выявлено, что эффективность ОСТ намного выше, чем НТО, что связано с их быстрым включением в критические для клетки биомолекулы, включая белки и ДНК, с дальнейшим формированием значительного биологического эффекта. На основании данных, полученных в последнее время в разных лабораториях по действию соединений трития на молекулярном и клеточном уровнях, делается вывод о необходимости поиска нового подхода к нормированию НТО и ОСТ в окружающей среде.

**Ключевые слова:** тритий, органические соединения трития, оксид трития, НТО, ОСТ, ОБЭ, двунитевые разрывы ДНК,  $\gamma$ Н2АХ,  $^3\text{H}$ -тимидин, тритиевая вода, оценка риска

Для цитирования: Гурьев Д.В., Кочетков О.А., Барчуков В.Г., Осипов А.Н. Биологические эффекты органических и неорганических соединений трития. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2020;65(2):5-10.

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-2-5-10

**Введение**

Тритий ( $^3\text{H}$ ) — радиоактивный изотоп водорода, поступает в окружающую среду как из природных (взаимодействие космического излучения с атомами в атмосфере), так и техногенных (побочные продукты ядерной промышленности) источников. Тритий — источник  $\beta$ -частиц, излучает электроны с широким спектром энергий, максимум которых приходится на 18,6 кэВ при среднем значении 5,7 кэВ [1]. Средняя длина пробега  $\beta$ -частицы в воде составляет 0,56 мкм [2], что значительно меньше размеров ядра соматической клетки, поэтому при внешнем воздействии на организм тритий не представляет опасности в связи с невозможностью его проникновения через кожные покровы. При поступлении в организм с пищей, водой или вдыхаемым воздухом, а также через поврежденные покровы тела, тритий может стать источником риска при попадании его в клетки и ткани организма. Как изотоп водорода, тритий может входить в состав молекулы воды в виде оксида трития (НТО), а также в состав неорганических и органических соединений (ОСТ — органически связанный тритий). С точки зрения классической биохимии считается, что НТО ведет себя в живых клетках и организме как обычная вода [3], однако часть НТО способна обмениваться атомами водорода и, как следствие, включаться в различные органические молекулы, такие как азотистые основания, аминокислоты, липиды, углеводы и т. д. [4]. В отличие от НТО, ОСТ гетерогенно распределяются в клетках и тканях, что приводит к высоким микролокальным дозам и серьезным повреждениям органических молекул [5]. Способность ОСТ замещать водород в молекуле ДНК может привести к значительным повреждениям генетического материала [1, 6], а также увеличить период его выведения из организма и, тем

самым, определить высокий риск отдаленных последствий облучения.

Вышеуказанные биохимические характеристики НТО и ОСТ, сложность отслеживания клеточного и субклеточного распределения таких форм трития ведут к значительной неопределенности при оценке относительной биологической эффективности (ОБЭ) трития как  $\beta$ -излучателя. Показатель ОБЭ определяется экспериментально, он варьирует в зависимости от типа клеток и метода изучения. Исторически сложилось так, что стандартом для определения ОБЭ служит оценка уровня выживаемости клеток или их репродуктивной инактивации [7, 8], однако для оценки риска отдаленных последствий облучения в малых дозах, как, например, канцерогенез, определение уровня гибели клеток уходит на второй план. В этом случае необходимо оценивать степень повреждения ДНК, уровень хромосомных aberrаций [9, 10]. Существующие разногласия по ОБЭ различных форм трития основаны на широком диапазоне ее значений, полученных экспериментально [1, 11–14]. Значение ОБЭ показывает, насколько эффективен определенный тип излучения, вызывающий значимые биологические эффекты относительно эталонного фотонного излучения, такого как  $\gamma$ - или рентгеновского излучения. Международная комиссия по радиационной защите (МКРЗ) в настоящее время рекомендует ОБЭ принимать равным 1 для рентгеновского,  $\gamma$ -излучения и электронов всех энергий, включая  $\beta$ -частицы, источником которых является и тритий. Однако теоретические представления о структуре трека низкоэнергетического излучения, а также экспериментальные данные свидетельствуют о том, что ОБЭ для трития может быть выше более чем в два раза, чем для других излучений с низкой линейной передачей энергии (ЛПЭ) при оценке молекулярных и клеточных эффектов облучения. Следовательно, низкоэнергетические

$\beta$ -излучатели могут обладать большей биологической эффективностью на единицу поглощенной дозы и, таким образом, значение ОБЭ для трития, равное 1, может оказаться неприемлемым [15]. Такие противоречия приводят, например, к значительным различиям в стандартах по содержанию трития в питьевой воде между странами (например, 100 Бк/л в большинстве стран Европейского Союза, 7 000 Бк/л в Канаде, 7600 Бк/л в России, 30 000 Бк/л в Финляндии и более 76 000 Бк/л в Австралии) [16].

Таким образом, изучение биологического действия неорганических и органических соединений трития является одной из приоритетных задач современной радиобиологии и имеет большое практическое значение для безопасного развития атомной промышленности. До сих пор нет однозначного подхода к нормативному регулированию содержания неорганических и органических соединений трития в разных средах, который подразумевает корректную оценку биологической эффективности НТО и ОСТ на молекулярном, клеточном и организменном уровнях.

### **Генотоксические эффекты действия органических и неорганических соединений трития**

При поступлении в организм тритий относительно равномерно распределяется по всем органам и тканям в виде оксида трития (НТО) и его органических соединений (ОСТ). Так как НТО способен к обмену атомами водорода, то это ведет к их замещению в органических молекулах, включая ДНК. Кроме того, НТО также является источником и фактором облучения организма, так как замещает простую воду и распадается с выходом  $\beta$ -частиц и ядер гелия. Низкоэнергетические фотоны или электроны, подобные тем, которые возникают при распаде трития, обладают значительно большей ЛПЭ, чем высокоэнергетические фотоны или частицы. При биофизическом моделировании вычислено, что значения ОБЭ для  $\beta$ -частиц трития должны составлять 3,75 при использовании  $\gamma$ -квантов  $^{60}\text{Co}$  как эталонного излучения и всего 1,5 по сравнению с рентгеновским излучением 250 кВ [17]. Некоторые экспериментальные данные свидетельствуют, что ОБЭ НТО при сравнении с  $\gamma$ -квантами  $^{60}\text{Co}$  чаще всего лежат в пределах от 2 до 3 [15, 18, 19], тогда как при сравнении с рентгеновским излучением 200–250 кВ — от 1 до 2 [15, 20–22].

Известно, что двуниевые разрывы ДНК (ДР ДНК), вызываемые ионизирующим излучением, являются критическими и определяют дальнейшую судьбу клетки [23, 24]. Как показывают теоретические и экспериментальные исследования,  $\beta$ -частицы трития способны вызывать значительное количество ДР ДНК [25–28]. Репарация таких повреждений происходит медленно, в то время как некорректно отрепарированные ДР или не устраненные в ходе репарации приводят к цитогенетическим нарушениям, гибели клеток, нестабильности генома, инактивации генов супрессоров опухолей или активации онкогенов [23, 29, 30]. Расчеты показали, что выход ДР ДНК, индуцированных  $\beta$ -частицами трития, в ~1,3–2 раза выше, чем при воздействии  $\gamma$ -излучения  $^{60}\text{Co}$  [27, 28, 31]. Однако

эти расчеты были получены на основе экспериментальных данных при облучении выделенной ядерной или плазмидной ДНК, тогда как масштабных сравнительных экспериментальных исследований особенностей индукции ДР ДНК в эукариотических клетках, учитывающих микрораспределение соединений трития в клеточном ядре и в структуре хроматина, до настоящего времени не проводилось.

Наиболее чувствительным методом количественного анализа ДР ДНК считается иммуноцитохимическое определение фосфорилированного корового гистона H2AX ( $\gamma$ H2AX, маркерный белок репарации ДР ДНК), позволяющего детектировать увеличение количества ДР ДНК при дозах облучения всего в несколько мГр. Однако, несмотря на очевидные достоинства этого метода, до настоящего времени не проводилось детальных исследований закономерностей изменений количества фокусов белков репарации ДНК в клетках млекопитающих при воздействии различных соединений трития. Имеются лишь единичные работы в этой области. Показано, что воздействие НТО в малой дозе (16,72 мГр) вызвало в культуре клеток линии MG-63 (остеосаркома человека) статистически достоверное увеличение количества фокусов  $\gamma$ H2AX [32]. В другой работе при сравнительном исследовании влияния  $^3\text{H}$ -тимидина и  $^{14}\text{C}$ -тимидина на образование и репарацию ДР ДНК в клетках яичника китайского хомяка (линия СНО) показано, что  $^3\text{H}$ -тимидин более эффективен по сравнению с  $^{14}\text{C}$ -тимидином в тех же дозах [33]. Клетки, дефектные по белкам гомологичной рекомбинации, были чувствительны даже к малым дозам  $^3\text{H}$ -тимидина. Авторы приходят к заключению, что низкоэнергетическое  $\beta$ -излучение трития может индуцировать генетическую нестабильность при воздействии в малых дозах, нетоксичных для клеток [33].

В работе на мезенхимальных стволовых клетках человека при инкубации их в среде, содержащей  $^3\text{H}$ -тимидин с различной удельной радиоактивностью, показано значительное увеличение фокусов  $\gamma$ H2AX на фоне снижения пролиферативной активности клеток, что в дальнейшем при увеличении дозы останавливает процесс его включения в структуру ДНК [34]. При сравнительном изучении действия НТО,  $^3\text{H}$ -тимидина и рентгеновского излучения показано, что при воздействии  $^3\text{H}$ -тимидина индукция ДР ДНК в 6,5 раз выше, чем НТО, а в дозовом диапазоне 3,78–60,26 мГр ОБЭ НТО по сравнению с рентгеновским излучением была в 1,6 раза выше [35].

Обращают на себя внимание результаты молекулярно-генетического обследования персонала тритиевого производства РФЯЦ-ВНИИЭФ. Выявлено, что у людей, работавших с соединениями трития и получавшими относительно низкие дозы ( $\gamma$  90 % обследованных до 100 мЗв), нередко наблюдаются проявления радиационно-индуцированной нестабильности генома [36]. Отмечено увеличение количества разрывов ДНК, содержания внеклеточной ДНК, частоты клеточной гибели. Авторы полагают, что замещение водорода на тритий в ДНК или белках хроматина человека может являться триггером нестабильности генома, поддерживающимся в популяции клеток облученного организма на протяжении всей его жизни [36].

Таким образом, биологические эффекты, наблюдаемые при действии органических и неорганических соединений трития, тесным образом связаны с физическими характеристиками  $\beta$ -частиц (ЛПЭ, длина пробега и т.п.), с пролиферативной активностью клетки, что определяет структуру хроматина, и, как следствие, степень повреждения ДНК, ее способность к репарации. В этом случае значения ОБЭ с использованием  $\gamma$ - или рентгеновского излучения в качестве эталона для различных клеток и тканей будут иметь широкие пределы варьирования.

### Цитогенетические эффекты воздействия соединений трития

Принцип цитогенетического метода индикации повреждений генетического материала достаточно убедительно обоснован для количественной оценки действия мутагенных факторов различной природы. Полученная с помощью цитогенетических методов информация о «биологической» дозе имеет более широкое значение, т.к. кроме оценки радиационного воздействия на организм, она отражает и индивидуальную радиочувствительность, что в итоге позволяет спрогнозировать ранние и отдаленные последствия облучения.

Немногочисленные экспериментальные данные по оценке ОБЭ для НТО и ОСТ по цитогенетическим показателям (хромосомные aberrации, микроядра) не дают однозначного ответа, что связано с использованием различных подходов: широкий диапазон доз, хроническое и острое воздействие, различные пути поступления неорганических и органических соединений трития (инкубация культивируемых клеток в среде с различными концентрациями трития, добавление НТО в питьевую воду, внутрибрюшинное введение НТО и ОСТ и т.д.).

Так, при проведении обследования персонала, подвергавшегося на производстве хроническому воздействию  $\beta$ -излучения трития, установлено, что средняя частота нестабильных хромосомных aberrаций спустя 40 и более лет с момента начала работы достоверно превышает контрольный уровень. При этом частота встречаемости дицентриков и центрических колец как маркеров радиационного воздействия была в 2,25 раза выше этих показателей для контрольной группы и коррелирует с величиной поглощенной дозы (коэффициент корреляции равен 0,23;  $p \leq 0,05$ ). Анализ частоты стабильных хромосомных aberrаций (транслокаций) выявил, что этот показатель в 4 раза превышает контрольный уровень. Показана положительная корреляция между индивидуальными значениями транслокаций и поглощенной дозой ( $r = 0,65$ ,  $p \leq 0,01$ ). Были определены значения ОБЭ для  $\beta$ -излучения трития в диапазоне доз от 0,05 до 1 Гр по частоте встречаемости хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови. Так, максимальное значение ОБЭ (2,6) было получено в области малых доз (0,05 Гр). С увеличением дозы воздействия, значение ОБЭ снижается до 1 при дозе 1 Гр [37]. Также показано, что отношения величин поглощенных доз, вызывающих равный эффект в когортах профессионалов,

работавших с гамма-нейтронным (преимущественно с  $\gamma$ -) и  $\beta$ -излучением, составляют 3,0–3,3 и превышают значения, полученные *in vitro* по цитогенетическим критериям (стабильные хромосомные aberrации) в диапазоне малых доз. Данные исследований основывались на представлении, что тритий в организме находится в виде НТО. Вместе с тем, прогнозируемые дозы облучения работников различных производств, рассчитанные по моделям кинетики ОСТ и НТО при одинаковом поступлении в организм, различаются в 2–2,5 раза [37]. При анализе образцов крови у работников, подвергшихся воздействию трития в течение разного времени, было показано, что у 49 % испытуемых отмечается повышенный уровень хромосомных aberrаций [38].

Изучение цитогенетических показателей клеток костного мозга мышей, получавших в течение одного и восьми месяцев с питьевой водой НТО и ОСТ в различных концентрациях, не выявило значительных изменений, однако показано достоверное увеличение уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови этих животных при концентрациях ОСТ в питьевой воде 1 и 20 МБк/л. Показатель ОБЭ органических соединений трития по хромосомным aberrациям был значительно выше 1 в диапазоне кумулятивных доз трития ниже 10 мГр. Авторы утверждают, что тритий в форме органических соединений имеет более высокий генотоксический потенциал по сравнению с НТО и  $\gamma$ -излучением [2]. Так, при исследовании цитотоксического действия НТО в питьевой воде в очень низких концентрациях на спленоциты мышей не было выявлено значимых изменений, однако у этих мышей не было изменений в клеточной чувствительности к последующему дополнительному  $\gamma$ -облучению в более высокой дозе, т.е. не было радиоадаптивного ответа, который обычно наблюдается после облучения в малых дозах [39].

При инкубации лимфоцитов периферической крови человека в тритиевой воде (НТО), где суммарные дозы составили от 0,1 до 1,5 Гр, были получены данные по нестабильным хромосомным aberrациям и микроядрам [40]. Используя линейно-квадратичную модель для интерпретации полученных результатов, авторы рассчитали коэффициенты  $\alpha$  и  $\beta$  для НТО, которые оказались в 2,17 и 2,8 раза выше аналогичных показателей для  $\gamma$ - и рентгеновского излучения соответственно [40].

### Соматические эффекты воздействия НТО и ОСТ

Существующие на настоящий момент и потенциально будущие технологии ядерного синтеза, так или иначе, связаны с производством или использованием высоких концентраций трития, который обладает высокой летучестью, но, как считается, низкой токсичностью. Однако вопрос о биологическом действии соединений трития обращает на себя внимание международного сообщества в связи с перманентным выбросом изотопов в окружающую среду, преимущественно в воду, что имеет потенциальный риск негативного воздействия на здоровье человека [3, 4, 14–16, 41, 42].

Кинетика обмена соединений трития в органах и тканях характеризуется биологическим периодом полувыведения ( $T_{1/2b}$ ) — временем, в течение которого выделяется половина поступившего в организм радиоактивного вещества. Для организма человека  $T_{1/2b}$  в виде НТО составляет около 10 сут, а для ОСТ примерно 40 сут, но, возможно, до года и зависит от вида ОСТ [43]. Распределяясь во всех структурах организма и при одинаковом содержании трития, ОСТ представляют собой более серьезный фактор риска для человека, чем НТО, поскольку вероятность проникновения ОСТ в состав ДНК или другие биомолекулы значительно выше. Так, ОСТ, попадающий в организм с пищей, более вероятно войдет в состав биомолекул, чем тритий, который попадает в организм с питьевой водой в виде НТО.

В большинстве экспериментальных исследований по определению значения ОБЭ для соединений трития использовалась НТО, а в качестве экспериментальной системы — млекопитающие, причем дозы  $\beta$ - и эталонного излучения применялись достаточно высокие. Мало исследований проведено с ОСТ, в основном был использован  $^3\text{H}$ -тимидин. Экспериментальные данные по ОБЭ для трития можно классифицировать по основным группам в соответствии с изучаемыми параметрами, которые считаются релевантными для человека: смертность, способность к размножению, заболеваемость (включая канцерогенез) [44–46]. Большинство исследований выполнено на млекопитающих (80 % данных), *in vivo* на лабораторных животных (в основном мыши) или *in vitro* (клеточные линии человека и животных). Очень мало данных по ОБЭ трития, полученных в экспериментах на других животных или растениях. Это рыбы, насекомые (*Drosophila*), растения (*Vicia faba*) и водные беспозвоночные (*Ophryotrocha diadema*). В качестве эталонного излучения чаще использовали  $\gamma$ -излучение ( $^{60}\text{Co}$  или  $^{137}\text{Cs}$ ), реже рентгеновское излучение. Важно отметить, что во всех проведенных исследованиях эталонное излучение использовалось как источник внешнего облучения, в то время как  $\beta$ -частицы трития являются инкорпорированными. Большинство исследований указывают на значения ОБЭ для НТО в диапазоне от 1 до 1,9. Есть работы, где значения ОБЭ варьируют от 2 до 2,9

и лишь несколько работ предлагают значения выше трех (табл. 1) [46].

Как уже отмечено выше, работы по изучению эффективности ОСТ немногочисленны. Однако на основании данных, полученных при проведении экспериментов на мышах с добавлением разных концентраций НТО и ОСТ в питьевую воду, можно заключить, что НТО вызывает более выраженный биологический эффект, чем эквивалентные дозы  $\gamma$ -излучения, в то время как ОСТ приводят к еще более значительным эффектам, чем НТО, причем биологический ответ тканеспецифичен [47]. Следует отметить, что ОСТ был выбран в виде смеси меченых тритием трех видов аминокислот (глицин, пролин, аланин), так как аминокислоты являются важным компонентом клеточного метаболизма, а также для исключения выборочного встраивания трития в молекулу ДНК, как в случае с  $^3\text{H}$ -тимидином. Кроме того, не выявлено значимых биологических эффектов при добавлении в питьевую воду НТО и ОСТ в концентрации 0,01 МБк/л, что объясняется авторами пороговостью действия соединений трития.

Представляют интерес эксперименты *in vitro* с мышинными эмбрионами. Выявлено, что  $^3\text{H}$ -тимидин в 1000–5000 раз эффективнее, чем НТО [48]. Предполагается, что это связано с включением трития в азотистые основания, участвующие в синтезе ДНК, тем самым вызывая кластерные повреждения генетического материала [6]. Однако были получены данные, что встроенный в аминокислоты тритий обладает еще большей токсичностью. Так, сравнивая эмбриотоксичность  $^3\text{H}$ -тимидина и меченых тритием некоторых аминокислот (*in vitro*) было показано, что  $^3\text{H}$ -аргинин обладал наибольшей токсичностью [49]. По всей видимости, это связано с тем, что аргинин входит в состав гистонов, обеспечивающих компактную укладку ДНК в гетерохроматине и, тем самым, формирует источник облучения ДНК. Кроме того, показана высокая скорость встраивания аргинина в гистоновые белки на фоне короткой S-стадии клеточного цикла [50]. Аналогичные данные показаны для  $^3\text{H}$ -меченого триптофана, входящего в состав негистоновых белков хроматина [51].

Таблица 1

Обобщенные данные по ОБЭ НТО по детерминированным эффектам  
The summarized data on RBE of НТО for deterministic effects

Диапазон значений ОБЭ	Изученные параметры		Количество работ	Тест-система
	<i>in-vitro</i>	<i>in-vivo/ex-vivo</i>		
1–1,9	Смертность (эмбрионы, гемопоэтические клетки, половые клетки)	Смертность (мыши, мальки рыб, растения); Репродуктивный потенциал (фертильность и плодовитость); Клеточная смертность в различных тканях (селезенка, крипты кишечника, тимус)	Всего 25 (18 <i>in vivo</i> , 7 <i>in vitro</i> )	Водные беспозвоночные ( <i>Ophryotrocha diadema</i> ), растения ( <i>Vicia faba</i> ), рыбы (медака), мыши (SwissWebster, CBA/H, ICR, CF1, C57Bl/6, RFM/Nrs), эмбрионы (мышинные BC3F1, эмбрионы Golden hamster), линии клеток (L5178Y, C3H 10T1/2), клетки человека (костный мозг)
2–2,9	Смертность (гемопоэтические клетки, половые клетки)	Репродуктивный потенциал (выживаемость половых клеток), клеточная смертность в различных тканях (костный мозг, крипты кишечника)	Всего 11 (10 <i>in vivo</i> , 1 <i>in vitro</i> )	Мыши (C57Bl/6, RFM/Nrs, Swiss-Webster, DBA2), рыбы (медака), клетки человека (костный мозг)
$\geq 3$	–	Репродуктивный потенциал	Всего 1 ( <i>in vivo</i> )	Рыбы (медака)

**Заключение**

Таким образом, изучение особенностей формирования биологических эффектов при действии различных соединений трития является одной из актуальных проблем современной радиобиологии. Приоритетными остаются вопросы распределения трития в клетках, тканях и целостном организме как источника  $\beta$ -излучения, микродозиметрии в связи с гетерогенным его распределением в клетке, особенно ядре, а также изучение механизмов инициации формирования молекулярных и клеточных эффектов при действии различных соединений трития, что необходимо для нормирования концентраций различных

соединений трития. Эпидемиологические исследования, проводимые с целью получения конкретных оценок рисков последствий воздействия трития на здоровье людей, имеют ограничения из-за низкой статистической базы и отсутствия данных по поглощенным дозам для конкретных тканей. В связи с этим необходимы дополнительные научные данные, позволяющие понять системный биологический ответ на действие трития, включая канцерогенез и другие индуцированные тритием возраст-зависимые заболевания. Кроме того, новые экспериментальные данные, полученные по действию соединений трития на молекулярном и клеточном уровнях, требуют нового подхода к их нормированию в окружающей среде.

Medical Radiology and Radiation Safety. 2020. Vol. 65. No. 2. P. 5–10

Radiation Biology

**Biological Effects of Organic and Inorganic Compounds of the Tritium**D.V. Guryev<sup>1,2</sup>, O.A. Kochetkov<sup>1</sup>, V.G. Barchukov<sup>1</sup>, A.N. Osipov<sup>1,2</sup><sup>1</sup> A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia, andreyan.osipov@gmail.com<sup>2</sup> N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, Moscow, Russia**ABSTRACT**

The review represents comparative data on the biological effects of inorganic (HTO) and organic (OBT) compounds of tritium at the molecular, cytogenetic and system levels. The data of the relative biological effectiveness (RBE) of OBT and HTO depending on their distribution in the cells and tissues of the body are presented. Experimental studies show that the calculation of the RBE of tritium compounds at different levels of organization leads to contradictory data. Such observation is associated with the interaction both of HTO and OBT with critical biomolecules in the cells as well as the proliferative activity of different cells and tissues. The experiments revealed that the effectiveness of OBT is much higher than the HTO which is associated with their rapid inclusion in the critical biomolecules such as proteins and DNA with the further formation of a significant biological effect. Based on the recently obtained data in different laboratories on the effect of tritium compounds at the molecular and cellular levels, it is concluded that a new approach for HTO and OBT risk assessment is necessary.

**Key words:** tritium, organic compounds of the tritium, tritium oxide, HTO, OBT, RBE, DNA double-strand breaks,  $\gamma$ H2AX, <sup>3</sup>H-thymidine, tritiated water, risk assessment

**For citation:** Guryev DV, Kochetkov OA, VG Barchukov, Osipov AN. Biological Effects of Organic and Inorganic Compounds of the Tritium. Medical Radiology and Radiation Safety. 2020;65(2):5-10. (In Russ.).

DOI: 10.12737/1024-6177-2020-65-2-5-10

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES**

1. Review of risks from tritium: report of the independent Advisory Group on Ionising Radiation. Chilton: Health Protection Agency, Centre for Radiation, Chemical and Environmental Hazards; 2007.
2. Roch-Lefevre S, Gregoire E, Martin-Bodiot C, Flegal M, Freneau A, Blimkie M, et al. Cytogenetic damage analysis in mice chronically exposed to low-dose internal tritium beta-particle radiation. *Oncotarget*. 2018;9(44):27397-411.
3. Bannister L, Serran M, Bertrand L, Klokov D, Wyatt H, Blimkie M, et al. Environmentally Relevant Chronic Low-Dose Tritium and Gamma Exposures do not Increase Somatic Intrachromosomal Recombination in pKZ1 Mouse Spleen. *Radiat Res*. 2016;186(6):539-48.
4. Kim SB, Baglan N, Davis PA. Current understanding of organically bound tritium (OBT) in the environment. *J Environ Radioact*. 2013;126:83-91.
5. Harrison JD, Khursheed A, Lambert BE. Uncertainties in dose coefficients for intakes of tritiated water and organically bound forms of tritium by members of the public. *Radiat Prot Dosimetry*. 2002;98(3):299-311.
6. Chao TC, Wang CC, Li J, Li C, Tung CJ. Cellular- and microdosimetry of heterogeneously distributed tritium. *Int J Radiat Biol*. 2012;88(1-2):151-7.
7. Gerweck LE, Kozin SV. Relative biological effectiveness of proton beams in clinical therapy. *Radiother Oncol*. 1999;50(2):135-42.
8. Skarsgard LD. Radiobiology with heavy charged particles: a historical review. *Phys Med*. 1998;14 Suppl 1:1-19.
9. Снигирёва ГП, Хаймович ТИ, Нагиба ВН. Оценка относительной биологической эффективности трития по частоте хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови человека. *Радиационная биология. Радиозкология*. 2010;50(6):663-71. [Snigireva GP, Khaimovich TI, Nagiba VI. Assessment of relative biological effectiveness of tritium using chromosome aberration frequency in human blood lymphocytes. *Radiation Biol Radioecol*. 2010;50(6):663-71. (in Russ.)].
10. Brooks AL. Chromosome damage in liver cells from low dose rate alpha, beta, and gamma irradiation: derivation of RBE. *Science*. 1975;190(4219):1090-2.
11. Hamby DM. Uncertainty of the tritium dose conversion factor. *Health Phys*. 1999;77(3):291-7.
12. Peterson SR, Davis PA. Tritium doses from chronic atmospheric releases: a new approach proposed for regulatory compliance. *Health Phys*. 2002;82(2):213-25.
13. Lucas JN, Hill FS, Burk CE, Cox AB, Straume T. Stability of the translocation frequency following whole-body irradiation measured in rhesus monkeys. *Int J Radiat Biol*. 1996;70(3):309-18.
14. Protection of the public in situations of prolonged radiation exposure. The application of the Commission's system of radiological protection to controllable radiation exposure due to natural sources and long-lived radioactive residues. *Ann ICRP*. 1999;29(1-2):1-109.
15. Little MP, Lambert BE. Systematic review of experimental studies on the relative biological effectiveness of tritium. *Radiat Environ Biophys*. 2008;47(1):71-93.
16. Gueguen Y, Priest ND, Dublineau 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.

17. Ellett WH, Braby LA. The microdosimetry of 250 kVp and 65 kVp x-rays, <sup>60</sup>Co gamma rays, and tritium beta particles. *Radiat Res.* 1972;51(2):229-43.
18. 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.
19. Ueno AM, 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.
20. Kozłowski R, Bouffler SD, Haines JW, Harrison JD, Cox R. *In utero* haemopoietic sensitivity to alpha, beta or X-irradiation in CBA/H mice. *Int J Radiat Biol.* 2001;77(7):805-15.
21. Bocian E, Ziemb-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.
22. Kamiguchi Y, Tateno H, Mikamo K. Dose-response relationship for the induction of structural chromosome aberrations in human spermatozoa after *in vitro* exposure to tritium beta-rays. *Mutat Res.* 1990;228(2):125-31.
23. Osipov AN, Grekhova A, Pustovalova M, Ozerov IV, Eremin P, Vorobyeva N, et al. Activation of homologous recombination DNA repair in human skin fibroblasts continuously exposed to X-ray radiation. *Oncotarget.* 2015;6(29):26876-85.
24. Tsvetkova A, Ozerov IV, Pustovalova M, Grekhova A, Eremin P, Vorobyeva N, et al. GammaH2AX, 53BP1 and Rad51 protein foci changes in mesenchymal stem cells during prolonged X-ray irradiation. *Oncotarget.* 2017;8(38):64317-29.
25. Goodhead DT. Energy deposition stochasticity and track structure: what about the target? *Radiat Prot Dosimetry.* 2006;122(1-4):3-15.
26. Goodhead DT. Fifth Warren K. Sinclair Keynote Address: Issues in quantifying the effects of low-level radiation. *Health Phys.* 2009;97(5):394-406.
27. Alloni D, Cutaia C, Mariotti L, Friedland W, Ottolenghi A. Modeling dose deposition and DNA damage due to low-energy beta(-) emitters. *Radiat Res.* 2014;182(3):322-30.
28. Chen J. Estimated yield of double-strand breaks from internal exposure to tritium. *Radiat Environ Biophys.* 2012;51(3):295-302.
29. Kotenko KV, Bushmanov AY, Ozerov IV, Guryev DV, Anchishkina NA, Smetanina NM, et al. Changes in the number of double-strand DNA breaks in Chinese hamster V79 cells exposed to gamma-radiation with different dose rates. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):13719-26.
30. Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science.* 2008;319(5868):1352-5.
31. Moiseenko VV, Hamm RN, Waker AJ, Prestwich WV. Calculation of radiation-induced DNA damage from photons and tritium beta-particles. Part I: Model formulation and basic results. *Radiat Environ Biophys.* 2001;40(1):23-31.
32. Lobrich M, Shibata A, Beucher A, Fisher A, Ensminger M, Goodarzi AA, et al. GammaH2AX foci analysis for monitoring DNA double-strand break repair: strengths, limitations and optimization. *Cell Cycle.* 2010;9(4):662-9.
33. Saintigny Y, Roche S, Meynard D, Lopez BS. Homologous recombination is involved in the repair response of mammalian cells to low doses of tritium. *Radiat Res.* 2008;170(2):172-83.
34. Воробьева НЮ, Уйба ВВ, Кочетков ОА и др. Влияние <sup>3</sup>H-тимидина на индукцию двуниевых разрывов ДНК в мезенхимальных стволовых клетках человека. *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* 2018;63(1):28-34 [Vorobyeva NY, Uyba V, Kochetkov OA, Astrelina TA, Pustovalova MV, Grekhova AK, et al. <sup>3</sup>H-Thymidine Influence on DNA Double Strand Breaks Induction in Cultured Human Mesenchymal Stem Cells. *Medical Radiology and Radiation Safety.* 2018;63(1):28-34. (in Russ.)].
35. Воробьева НЮ, Кочетков ОА, Пустовалова МВ и др. Сравнительные исследования образования фокусов γH2AX в мезенхимных стволовых клетках человека при воздействии <sup>3</sup>H-тимидина, оксида трития и рентгеновского излучения. *Клеточные технологии в биологии и медицине.* 2018;3:205-8. [Vorobyeva NYu, Kochetkov OA, Pustovalova MV, Grekhova AK, Blohina TM, Yashkina EI, et al. Comparative study of γH2AX foci formation in human mesenchymal stem cells exposed to <sup>3</sup>H-thymidine, tritium oxide and X-rays. *Cell Technologies in Biology and Medicine.* 2018;3:205-8. (in Russ.)].
36. Korzeneva IB, Kostuyk SV, Ershova LS, Osipov AN, Zhuravleva VF, Pankratova GV, et al. Human circulating plasma DNA significantly decreases while lymphocyte DNA damage increases under chronic occupational exposure to low-dose gamma-neutron and tritium beta-radiation. *Mutat Res.* 2015;779:1-15.
37. Снигирёва ГП, Хаймович ТИ, Богомазова АН и др. Цитогенетическое обследование профессионалов-атомщиков, подвергавшихся химическому воздействию β-излучения трития. *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2009;49(1):60-6. [Snigireva GP, Khaimovich TI, Bogomazova AN, Gorbunova IN, Nagiba VI, Nikanorova EA, et al. Cytogenetic examination of nuclear specialists exposed to chronic beta-radiation of tritium. *Radiation Biol Radioecol.* 2009;49(1):60-6. (in Russ.)].
38. Milacic S. Changes in leukocytes caused by tritium contamination. *Health Phys.* 2004;86(5):457-9.
39. Flegal M, Blimkie M, Roch-Lefevre S, Gregoire E, Klokov D. The lack of cytotoxic effect and radioadaptive response in splenocytes of mice exposed to low level internal beta-particle irradiation through tritiated drinking water *in vivo*. *Int J Mol Sci.* 2013;14(12):23791-800.
40. Balakrishnan S, Rao BS. Cytogenetic Effects of Tritiated Water (HTO) in Human Peripheral Blood Lymphocytes *in vitro*. *Int J Human Genetics.* 2004;4(4):237-42.
41. Kiyono T. Molecular mechanisms of cellular senescence and immortalization of human cells. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.* 2007;11(12):1623-37.
42. Valentin J. Protection of the public in situations of prolonged radiation exposures: the application of the Commission's system of radiological protection to controllable radiation exposure due to natural sources and long-lived radioactive residues. Oxford: Published for the International Commission on Radiological Protection by Pergamon, 1999; 2000.
43. Hill RL, Johnson JR. Metabolism and dosimetry of tritium. *Health Phys.* 1993;65(6):628-47.
44. Clement CH. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. Oxford: Published for the International Commission on Radiological Protection by Elsevier; 2009.
45. Icrp. Annex D. Radiation Effects in Reference Animals and Plants. *Ann ICRP.* 2008;38(4):179-229.
46. Higley KA, Kocher DC, Real AG, Chambers DB. Relative biological effectiveness and radiation weighting factors in the context of animals and plants. *Ann ICRP.* 2012;41(3-4):233-45.
47. Priest ND, Blimkie MS, Wyatt H, Bugden M, Bannister LA, Gueguen Y, et al. Tritium (<sup>3</sup>H) Retention In Mice: Administered As HTO, DTO or as <sup>3</sup>H-Labeled Amino-Acids. *Health Phys.* 2017;112(5):439-44.
48. Muller WU, Streffer C, Molls M, Gluck L. Radiotoxicities of [<sup>3</sup>H] thymidine and of [<sup>3</sup>H]arginine compared in mouse embryos *in vitro*. *Radiat Res.* 1987;110(2):192-8.
49. Clerici L, Carroll MJ, Merlini M, Vercellini L, Campagnari F. The toxicity of tritium: the effects of tritiated amino-acids on preimplanted mouse embryos. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med.* 1984;45(3):245-50.
50. Muller WU, Heckeley N, Streffer C. Effects of cell cycle specific exposure to <sup>3</sup>H-thymidine or <sup>3</sup>H-arginine on development and cell proliferation of mouse embryos. *Radiat Environ Biophys.* 1996;35(4):267-71.
51. Killen HM, Carroll J. The effects of tritium on embryo development: the embryotoxic effects of [<sup>3</sup>H]tryptophan. *Int J Radiat Biol.* 1989;56(2):139-49.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки. **Financing.** The study had no sponsorship.

**Участие авторов.** Статья подготовлена с равным участием авторов.

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

**Поступила:** 26.11.2018. **Принята к публикации:** 12.03.2020.

**Article received:** 26.11.2018. **Accepted for publication:** 12.03.2020.