

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЕ АГЕНТСТВО (ФМБА РОССИИ)

**МЕДИЦИНСКАЯ
РАДИОЛОГИЯ
И
РАДИАЦИОННАЯ
БЕЗОПАСНОСТЬ**

**MEDICAL RADIOLOGY
AND
RADIATION SAFETY**

Meditinskaia Radiologiia i Radiatsionnaia Bezopasnost

2015

Том 60

№ 2

Периодический научный журнал. Издается с сентября 1956 года

Журнал включен в перечень ВАК ведущих рецензируемых научных журналов,
рекомендованных для опубликования результатов диссертационных исследований

Москва

Медицинская радиология и радиационная безопасность
Medical Radiology and Radiation Safety

Научный журнал Scientific Journal

Издатель:

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна»
Федерального медико-биологического агентства

Главный редактор В.В. УЙБА

Заместитель главного редактора:
А.С. Самойлов (оперативное руководство)

Редакционная коллегия (по рубрикам журнала):

Радиационная биология: А.А. Вайнсон (выпускающий редактор), П.К. Казымбет,
А.Н. Котеров

Радиационная безопасность: Р.М. Алексахин, С.С. Алексанин, Л.А. Ильин, И.П. Коренков

Радиационная медицина: А.Ю. Бушманов, А.К. Гуськова, С.И. Иванов

Лучевая терапия: А.В. Бойко, С.И. Ткачев

Лучевая диагностика: И.Е. Тюрин

Ядерная медицина: Б.Я. Наркевич (научный редактор)

Радиационная эпидемиология: А.П. Бирюков, В.Ф. Демин, В.К. Иванов, Н.К. Шандала

Радиационная физика, техника и дозиметрия: И.А. Гусев, С.М. Шинкарев

Зарубежные связи: В.Б. Назаров, В.В. Романов

Обзоры, краткие сообщения, письма в редакцию, дискуссии, хроника, юбилеи: ответственные по соответствующим рубрикам

Помощь практическому врачу: А.Ю. Бушманов

Все статьи в журнале печатаются бесплатно

Заведующий редакцией Э.С. Зубенкова

Компьютерная верстка В.В. Колесниченко

Адрес редакции журнала:

123098, Москва, ул. Живописная, 46

Телефон: (499) 190-95-51

Address of Editorial Board:

46, Zhivopisnaya st., 123098, Moscow, Russia

Phone: +7 (499) 190-95-51

E-mail: medradiol@fromru.com

Сайт журнала: <http://www.medradiol.ru>

СОДЕРЖАНИЕ № 2 – 2015

- РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ
- 5 Сингенные мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки в терапии длительно незаживающих лучевых язв кожи в эксперименте
К.В. Котенко, Б.Б. Мороз, Ю.Б. Дешевой, Т.А. Насонова, О.А. Добрынина, В.Г. Лебедев, А.В. Лырщикова, И.И. Ерёмин
- 9 Эмпериполез и механизмы формирования пострадиационной аплазии мегакариоцитарного ростка гемопоэза
Ю.Е. Квачева
- РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
- 15 Состояние радиационно-гигиенической обстановки в районе размещения АЭС
Н.К. Шандала, И.П. Коренков, В.В. Романов
- 22 Принципы подготовки медиков общего профиля для участия в оказании помощи при радиационных авариях и инцидентах
А.К. Гуськова
- РАДИАЦИОННАЯ МЕДИЦИНА
- 25 Состояние здоровья населения, проживающего вблизи Смоленской АЭС
А.М. Лягинская, В.В. Романов, И.М. Петоян, В.А. Осипов, А.П. Ермалицкий
- 37 Цитогенетические исследования в двух ситуациях обнаружения неконтролируемых источников ионизирующего излучения
В.Ю. Нугис, М.Г. Козлова
- 47 Сравнительный анализ информативности теста Ве-LPT по изучению стимуляции пролиферации лимфоцитов у лиц, контактировавших с бериллием
Е.Э. Западинская, О.А. Тихонова, И.И. Еремин, В.Ю. Нугис, Ю.А. Жгуттов, М.Г. Козлова
- ЛУЧЕВАЯ ДИАГНОСТИКА
- 56 Особенности костной денситометрии у женщин в постменопаузальном периоде
И.С. Захаров
- ЯДЕРНАЯ МЕДИЦИНА
- 60 Ядерно-физический метод детектирования химических элементов в биологических и других образцах на основе активации заряженными частицами
В.Ф. Демин, А.А. Анцифорова, Ю.П. Бузулуков, В.А. Демин, В.Ю. Соловьев
- ОБЗОР
- 66 Анализ радиобиологических данных для оценки канцерогенного риска малых доз ионизирующей радиации
Ю.Н. Корыстов
- НОВЫЕ КНИГИ
- 82 Ю.Г. Григорьев, Н.И. Хорсева. Мобильная связь и здоровье детей: оценка опасности применения мобильной связи детьми и подростками: рекомендации детям и родителям. — М., 2014, 230 с.
- 83 Гончаров С.Ф., Покровский В.И., Брико Н.И., Иванова Е.Б., Погодин Ю.И., Верещагин А.И., Фалеев М.И., Грязнева Т.Н. Рекомендации населению по защите в чрезвычайных ситуациях природного характера. — М.: ИД «ВЕЛТ», 2013, 560 с.
- 84 В.Н. Мальцев, Е.П. Пашков. Медицинская микробиология и иммунология. Под ред. В.В. Зверева.

CONTENTS № 2 – 2015

RADIATION BIOLOGY	5	Syngenic Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment of Persisted Radiation Skin Ulcers in the Experiment <i>K.V. Kotenko, B.B. Moroz, Yu.B. Deshevoy, T.A. Nasonova, O.A. Dobrynina, V.G. Lebedev, A.V. Lirshikova, I.I. Eremin</i>
	9	Emperipolesis and Mechanism of Post-Irradiation Megakaryocytopoietic Aplasia <i>Yu.E. Kvacheva</i>
RADIATION SAFETY	15	Radiation Situation at the NPP Area <i>T.K. Shandala, I.P. Korenkov, V.V. Romanov</i>
	22	Principles of Special Education of General Medical Practishinars for Participation in Radiation Situation <i>A.K. Guskova</i>
RADIATION MEDICINE	25	Health of the Population Resided Close to Smolensk NPP <i>A.M. Lyaginskaya, V.V. Romanov, I.M. Petoyan, V.A. Osipov, A.P. Ermalitskiy</i>
	37	Cytogenetic Researches in Two Situations of Unregulated Ionizing Radiation Source Finding <i>V.Yu. Nugis, M.G. Kozlova</i>
	47	Comparative Analysis of Be-LPT Test Informativity for Study of Lymphocyte Proliferation Stimulation in Persons Exposed to Beryllium <i>E.E. Zapadinskaja, O.A. Tihonova, I.I. Eremin, V.Yu. Nugis, Ju.A. Zhgutov, M.G. Kozlova</i>
DIAGNOSTIC RADIOLOGY	56	Feature of Bone Densitometry in Postmenopausal Women <i>I.S. Zakharov</i>
NUCLEAR MEDICINE	60	Nuclear Physical Methods for the Detection of Chemical Elements in Biological and Other Samples Using Charged Particles Activation* <i>V.F. Demin, A.A. Antsifirova, Yu.P. Buzulukov, V.A. Demin, V.Yu. Soloviev</i>
REVIEW	66	The Analysis of Radiobiological Data for the Estimation of the Carcinogenic Risk from Low Radiation Doses <i>Y.N. Korystov</i>
NEW BOOKS	82	Yu.G. Grigoriev, N.I. Horseva. Mobile Phones and Health of Children: Assessment of Hazards of Mobile Phones Used by Children And Teenagers: Recommendations for Children and Parents. – M., 2014, 230 p.
	83	Goncharov S.F., Pokrovsky V.I., Briko N.I., Ivanova E.B., Pogodin Yu.I., Vereshchagin A.I., Faleev M.I., Gryazneva T.N. «Recommendations for Population on Protection Measures in Natural Emergencies». – M.: PH «Velt», 2013, 560 c.
	84	V.N. Mal'tsev, E.P. Pashkov. «Medical microbiology and immunology». Ed. V.V. Zverev. –M.: «Practical Medicine», 2014

**К.В. Котенко, Б.Б. Мороз, Ю.Б. Дешевой, Т.А. Насонова,
О.А. Добрынина, В.Г. Лебедев, А.В. Лыршикова, И.И. Еремин**

**СИНГЕННЫЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ
СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ В ТЕРАПИИ ДЛИТЕЛЬНО
НЕЗАЖИВАЮЩИХ ЛУЧЕВЫХ ЯЗВ КОЖИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

**K.V. Kotenko, B.B. Moroz, Yu.B. Deshevoy, T.A. Nasonova, O.A. Dobrynina,
V.G. Lebedev, A.V. Lirshikova, I.I. Eremin**

**Syngenic Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment
of Persisted Radiation Skin Ulcers in the Experiment**

РЕФЕРАТ

Цель: Исследование в эксперименте эффективности сингенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) при лечении тяжелых (глубоких) длительно незаживающих лучевых поражений кожи, вызванных относительно мягким рентгеновским излучением.

Материал и методы: Эксперименты были выполнены на крысах-самцах инбредной линии Wistar-Kyoto. Крыс облучали локально в пояснично-подвздошной области на рентгеновской установке РАП 100-10 в дозе 110 Гр (напряжение на трубке 30 кВ, ток 6,1 мА, фильтр Al толщиной 0,1 мм). Мощность дозы 17,34 Гр/мин. На 84-е сут после воздействия радиации были отобраны 27 крыс из 40 облученных с незажившими лучевыми язвами кожи. Эти животные были равномерно в соответствии с размерами и клиническим течением язв распределены в три группы. Двум группам крыс трансплантировали сингенные ММСК, выделенные из костного мозга и наработанные *in vitro*: однократно (на 85-е сут) или двукратно (на 85-е и 93-е сут). ММСК ($1,7 \times 10^6$ клеток на одну инъекцию) вводили под кожу вокруг лучевой язвы. Третья группа являлась облученным контролем.

Результаты: Показано, что двукратное введение сингенных культивированных ММСК стимулировало заживление длительно незаживающих лучевых язв, что четко прослеживалось в период с 93-е по 111-е сут после облучения.

Выводы: Полученные данные показывают, что сингенные ММСК могут быть эффективны при терапии глубоких длительно незаживающих лучевых язв кожи, так как способны в адекватной дозе индуцировать процессы восстановительной регенерации в поврежденной коже. Для получения лечебного эффекта необходимо, по крайней мере, двукратная (с интервалом в неделю) трансплантация ММСК.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, рентгеновское излучение, лучевые язвы кожи

ABSTRACT

Purpose: The effectiveness of syngenic multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) in treatment of persisted radiation skin ulcers caused by relatively soft x-ray was studied.

Material and methods: Experiments were carried out on rats by the inbred strain Wistar-Kyoto. Rats had been irradiated locally in lumbariliac region using x-ray machine RAP 100–110 with the dose of 110 Gy (30 kV tube voltage, current 6.1 ma, thick Al filter 0.1 mm). Dose rate is 17.3 Gy/min. 27 rats (from 40 being irradiated) with expanded radiation skin ulcers of the were selected on day 84 after exposure to radiation. This group of animals were divided into three groups (in accordance with the dimensions and clinical course of ulcers) Two groups of rats have been treated with transplantation of MMSC isolated from bone marrow and developed *in vitro*: once (in 85 days) or twice (on 85 and 93 days). MMSC (1.7×10^6 cells per injection) was injected under the skin around the radiation ulcer. The third group was the control.

Results: The double imposition of syngenic MMSC stimulated healing of persisted radiation ulcers, that became clear from 93 to 111 days after exposure.

Conclusion: The findings suggest that syngenic MMSC can be effective in the treatment of persisted radiation skin ulcers..

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, X-ray, radiation skin ulcers

Введение

Глубокие радиационные поражения кожи, обычно сопровождающиеся угнетением функции клеток иммунной системы, в том числе клеток костного мозга и селезенки, приводят к развитию длительно незаживающих хронических лучевых язв, которые очень трудно поддаются консервативному лечению [1–3].

Поэтому нередко пострадавшим требуется хирургическое вмешательство, которое не всегда возможно из-за состояния организма и может приводить к неблагоприятным последствиям.

Включение в стандартную схему лечения методов клеточной терапии с использованием активированных (культивированных) мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) костного моз-

га может являться перспективным способом лечения тяжелых лучевых ожогов. Экспериментальные и клинические данные показывают, что стволовые/прогениторные ММСК, выделенные из костного мозга и наработанные *in vitro*, могут использоваться для лечения различных заболеваний. Они способны также замещать и восстанавливать функции поврежденных тканей (кожи, хрящей, скелетных мышц, сердечной мышцы, нервной ткани, печени и др.). Этот эффект обусловлен способностью ММСК выделять цитокины и регуляторные пептиды, стимулирующие регенераторные процессы в пораженных органах и тканях. В лаборатории радиационной патологии ФМБЦ им. А.И. Бурназяна в эксперименте была установлена способность аллогенных ММСК, выделенных из костного мозга, улучшать течение поверхностных лучевых поражений кожи после β -облучения источником $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ [4]. Описаны случаи успешного применения ММСК при лечении поздних лучевых язв в клинике ФМБЦ, вызванных рентгеновским излучением [5, 6], что также свидетельствует о том, что использование культивированных (активированных) ММСК может быть весьма эффективным в схеме лечения тяжелых местных лучевых поражений.

Целью данного исследования является выявление в эксперименте эффективности культивированных сингенных ММСК костного мозга при лечении тяжелых (глубоких) длительно незаживающих лучевых поражений кожи, вызванных относительно мягким рентгеновским излучением.

Материал и методы

Эксперименты были выполнены на 40 крысах-самцах инбредной линии Wistar-Kyoto массой 240–260 г, полученных из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (г. Пущино). Животные этой линии генетически не отличаются друг от друга, что позволяет проводить трансплантации ММСК в сингенной системе.

Предварительно фиксированных в положении на животе крыс облучали локально в пояснично-подвздошной области на рентгеновской установке РАП 100-10 в дозе 110 Гр (напряжение на трубке 30 кВ, ток 6,1 мА, фильтр Al толщиной 0,1 мм). Мощность дозы 17,3 Гр/мин. Диаметр поля облучения на поверхности кожи — 3,2 см. Результаты дозиметрических измерений, проведенные с помощью тканеэквивалентного фантома, показали, что при таких условиях облучения в дозе 110 Гр доза рентгеновского излучения на глубине 2 мм была порядка 30 Гр, а на глубине 5–10 мм — не более 10 Гр. Эти условия облучения позволяли получать тяжелые лучевые поражения кожи с длительно незаживающими язвами у крыс породы Wistar [7].

Тяжесть течения лучевого поражения кожи оценивали в динамике как по клинической картине, так и с помощью планиметрического метода, позволяющего измерять площадь пораженного участка кожи. Для проведения измерений производили фотосъемку лучевой язвы цифровой фотокамерой Canon. Площадь лучевого поражения кожи рассчитывали с помощью компьютерной программы AutoCad 14.

На 84-е сут после воздействия радиации были отобраны 27 крыс с незажившими лучевыми язвами. Далее эти животные были равномерно (в соответствии с клиническим течением и размерами язв) распределены в три группы по 9 крыс в каждой: 1-я группа — облученный контроль, 2-я группа — крысам однократно вводили ММСК в дозе $1,7 \times 10^6$ через 85 сут после облучения, 3-я группа — крысам вводили ММСК в дозе $1,7 \times 10^6$ двукратно — через 85 и 93 сут после облучения. Суспензию ММСК в 1 мл стерильного раствора Хенкса вводили под кожу в 5 точек (по 0,2 мл на точку) вокруг лучевой язвы, отступив по 2 мм от края очага.

Работа по выделению клеток костного мозга и ведению культур ММСК выполнялись в асептических условиях в ламинарном боксе в соответствии с общими принципами проведения культуральных исследований.

Для клеточной терапии использовали сингенные ММСК, полученные нами ранее из костного мозга крыс линии Wistar-Kyoto и помещенные в криобанк. ММСК размораживали согласно стандартному протоколу, ресуспендировали в полной среде и высеивали в культуральные флаконы для наработки необходимого для трансплантации количества клеток. Полную среду готовили на основе среды Iscov'MDM+ Glutamax + Hepes (Sigma, США) с добавлением эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота — до 15 % концентрации (HyClone, США), гентамицина (50 мг/л) и амфотерицина Б (2,5 мг/л). Суспензию размороженных клеток помещали в пластиковые культуральные флаконы с дном площадью 75 см² (Nunc, Дания) из расчета порядка $1,0 \times 10^6$ клеток на флакон и культивировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе (Sanyo, Япония), в атмосфере с 5 % CO₂ и 95 % влажности. Процесс культивирования клеток оценивали в динамике визуально с помощью инвертированного микроскопа (Nikon, Япония), отмечая процент площади дна флакона, покрытого клетками. Клетки формировали на дне флакона монослой и имели фибробластоподобную морфологию. Характеристика клеточной культуры, проведенная методом непрямой иммунофлуоресценции, показала, что в 100 % клеток выявлялся виментин — белок цитоплазматического скелета стромальных клеток, коллаген I типа и коллаген III типа — белок межклеточного матрикса, син-

тезируемый ММСК различного уровня дифференцировки. Смену среды производили каждые три дня. При достижении культурой 80–90 % конфлюентности клетки снимали (трипсин+ ЭДТА) со дна флакона, отмывали от фермента, подсчитывали количество выращенных клеток и далее их использовали в нужной концентрации (разведение раствором Хенкса) для последующей трансплантации.

Полученный цифровой материал обрабатывался методом вариационной статистики. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Клинические проявления лучевого поражения кожи у крыс развивались не сразу. Только через 8–11 сут после облучения у животных наблюдали в зоне поражения симптомы сухого дерматита. К 12–15-м сут развивался влажный дерматит. К 3–4-ой неделе после воздействия ионизирующей радиации на коже крыс образовывались глубокие язвы, покрытые плотным струпом. Затем происходило постепенное, вяло текущее заживление язв. Процесс заживления лучевых язв четко прослеживался по изменению площади язв: так, на 27-е сут после облучения площадь была $3,51 \pm 0,11$; на 51 сут $1,81 \pm 0,13$; на 71-е сут $-1,51 \pm 0,09$ и на 83-е сут $1,20 \pm 0,13$ см² ($M \pm m$).

На 84-е сут после воздействия радиации были отобраны 27 крыс (из 40 облученных) с незажившими лучевыми язвами. Эти животные равномерно в соответствии с размерами и клиническим течением язв были распределены в три группы. Двум группам животных трансплантировали ММСК: однократно (на 85-е сут) или двукратно (на 85-е и 93-е сут).

Данные, представленные на рис. 1, показывают, что двукратное введение сингенных ММСК стимулировало заживление длительно незаживающих лучевых язв, что четко прослеживалось в период с 93-е по 111-е сут после облучения. Так, у леченых животных третьей группы площади лучевых язв с 104-е по 111-е сут были достоверно ($p \leq 0,05$) на 52–64 % меньше, чем у облученного контроля.

Важно отметить, что лечебный эффект проявился только при двукратной трансплантации. Известно, что для реализации своего потенциала трансплантированные ММСК должны попасть в соответствующее микроокружение или создать его [8]. По-видимому, первая трансплантация клеток создает благоприятный плацдарм (микроокружение) для реализации при повторной пересадке ММСК своего стимулирующего потенциала. Трансплантированные ММСК могут сформировать достаточно динамичную систему в дермальном слое кожи, состоящую из фибробластов, гистиоцитов, эндотелия, компонентов экстрацеллюлярного матрикса и цитокинов. При этом взаимо-

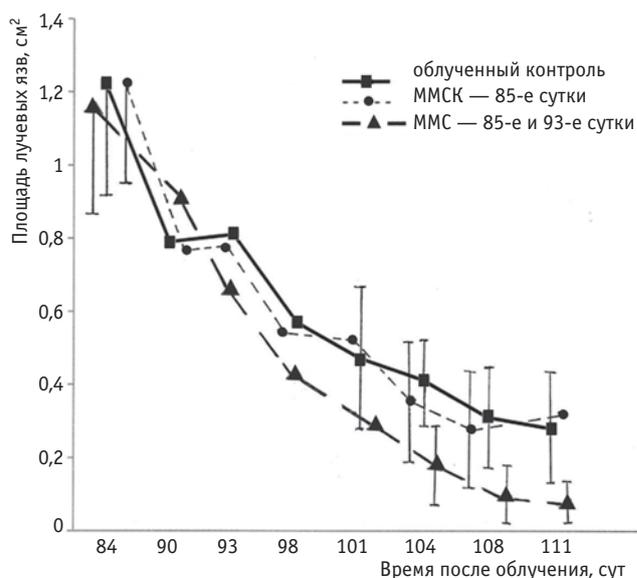


Рис. 1. Динамика процесса заживления лучевой язвы в условиях однократной (на 85-е сут) или двукратной (на 85-е и 93-е сут) трансплантации сингенных ММСК костного мозга в поздний период после облучения. Каждая точка на графиках представлена в виде средней арифметической для каждой группы. Вертикальные линии — доверительные интервалы, вычисленные при $p = 0,05$

действие ММСК между собой и с другими клетками осуществляется через специфические рецепторы и молекулы адгезии [9–16]. Возможно, что усиление регенерации кожных ран после повторного введения ММСК костного мозга является результатом перепрограммирования мезенхимальными стволовыми клетками функции клеток тканевого микроокружения, способствуя их рекапитуляции (омоложению), усилению секреции регуляторных пептидов и повышению регенераторного потенциала клеток в зоне длительно незаживающих лучевых язв.

Выводы

Представленные данные показывают, что сингенные ММСК могут быть эффективны при терапии глубоких длительно незаживающих лучевых язв, так как способны в адекватной дозе индуцировать процессы восстановительной регенерации в поврежденной коже. Для получения лечебного эффекта необходима по крайней мере двукратная (с интервалом в неделю) трансплантация ММСК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Радиационная медицина. Руководство для врачей-исследователей и организаторов здравоохранения. Под ред. Л.А. Ильина. — М.: ИздАТ, 2001, 2, 432 с.
2. Бушманов А.Ю., Надежина Н.М., Нугис В.Ю., Галстян И.А. Местные лучевые поражения кожи че-

- ловека: возможности биологической индикации дозы (аналитический обзор). // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2005, **50**, № 1, С. 37–47.
3. Селидовкин Г.Д. Медицинская помощь при радиационной аварии с источником цезия-137 в Бразилии (1987). // В кн. «Медицинские аспекты аварии на Чернобыльской атомной станции». — Киев: Здоровье, 1988, С. 180–185.
 4. Мороз Б.Б., Онищенко Н.А., Лебедев В.Г. и соавт. Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на течение местных лучевых поражений у крыс после локального β -облучения. // Радиационная биология. Радиоэкология, 2009, **49**, № 6, С. 688–693.
 5. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Надежина Н.М. и соавт. Трансплантация мезенхимальных клеток при лечении лучевых поражений кожи. // Патол. физиология и эксперим. терапия, 2011, № 1, С. 2–7.
 6. Котенко К.В., Еремин И.И., Мороз Б.Б. и соавт. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия, 2012, **7**, № 2, С. 97–102.
 7. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А. и соавт. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения. // Патол. физиология и эксперим. терапия, 2011, № 4, С. 121–123.
 8. Чертков И.Л., Гуревич О.А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. — М.: Медицина, 1984, 238 с.
 9. Clark R.A.F., Nielsen L.D., Welch M.P., McPherson J. Collagen matrices attenuate the collagen-synthetic response of cultured fibroblasts to TGF- β . // J. Cell. Sci., 1995, **108**, P. 1251–1261.
 10. Klein G. The extracellular matrix of the hematopoietic microenvironment. // Experientia, 1995, **51**, P. 914–926.
 11. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. // Science, 1997, **276**, P. 71–74.
 12. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. // Science, 1999, **284**, No. 2, P. 143–147.
 13. Reese J.S., Koc O.N., Gerson S.L. Human mesenchymal stem cells provide stromal support for efficient CD 34+ transduction. // J. Hematother. Stem Cell Res., 1999, **8**, P. 515–523.
 14. Conget P.A., Minguell J.J. Phenotypical and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. // J. Cell Physiol., 1999, **181**, P. 67–73.
 15. Cheng L., Qasba P., Vanguri P. et al. Human mesenchymal stem cells support megakaryocyte and proplatelet formation from CD 34+ hematopoietic progenitor cells. // J. Cell Physiol., 2000, **184**, P. 58–69.
 16. Minguell J.J., Erices A., Conget P. Mesenchymal stem cells. // Exp. Biol. Med., 2001, **226**, No. 6, P. 507–520.

Поступила: 03.12.2014

Принята к публикации: 05.02.2015

Ю.Е. Квачева

ЭМПЕРИПОЛЕЗ И МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТРАДИАЦИОННОЙ АПЛАЗИИ МЕГАКАРИОЦИТАРНОГО РОСТКА ГЕМОПОЭЗА

Yu.E. Kvacheva

Emperipolesis and Mechanism of Post-Irradiation Megakaryocytopoietic Aplasia

РЕФЕРАТ

Цель: Изучить эмпериполез мегакариоцитов костного мозга при остром радиационном воздействии на организм (в условиях эксперимента).

Материал и методы: Осуществлено патоморфологическое исследование костного мозга 28 собак, облученных в минимальной абсолютной летальной дозе LD_{100/45} 4 Гр. В стандартно приготовленных гистологических срезах, окрашенных с применением рутинных и специальных (ISEL, In Situ End Labeling) методик, оценивали параметры парциальной мегакариоцитогаммы, а также учитывали мегакариоцитарный эмпериполез (%), подсчитывая мегакариоциты с внедрившимися в пределы их цитоплазмы и на «территорию» ядра гемопоэтическими элементами.

Результаты: Изменения со стороны мегакариоцитопоэза, прослеживаемые *in situ*, имели двухфазовый характер. В течение первых 24 ч общее число мегакариоцитов в костном мозге собак достоверно возрастало при одновременном формировании большей популяции зрелых форм. В дальнейшем количество мегакариоцитарных клеток быстро снижалось: к окончанию третьих суток в 3 раза и более, а к седьмым суткам мегакариоциты в костном мозге не встречались. В процессе убывания их численности не удается выявить морфологические признаки апоптотической гибели (среди морфологически распознаваемых мегакариоцитов не идентифицировались ISEL-позитивные клетки, подобные наблюдаемым в красном и белом ростках), а также повышенного расходования пула мегакариоцитарных элементов на «производство» кровяных пластинок. Указанные количественные и качественные изменения популяции мегакариоцитов сопровождались увеличением интенсивности эмпериполеза при наличии морфологических признаков цитоллиза мегакариоцитарных элементов костного мозга.

Заключение: Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что в условиях острого радиационного поражения организма усиление мегакариоцитарного эмпериполеза влечет за собой негативные последствия: гибель зрелых клеток мегакариоцитарного ряда на фоне прекращения его «подпитки» из популяции коммитированных предшественников. Это дает основание считать, что рассматриваемый феномен может вносить самостоятельный вклад в развитие аплазии мегакариоцитарного ростка.

Ключевые слова: эмпериполез, мегакариоциты, пострадиационная аплазия, кровотворение, костный мозг

ABSTRACT

Purpose: To investigate the phenomenon of megakaryocytic emperipolesis (the interrelations between megakaryocytes and hemopoietic cells) *in situ* in the bone marrow of dogs under conditions of acute radiation injury.

Material and methods: Pathomorphologic study of the bone marrow samples of 28 animals exposed to external gamma-irradiation with a single dose of 4 Gy (LD_{100/45}) was undertaken. The indices of partial megakaryocytopoiesis and incidence of emperipolesis (%) were assessed in sections of the spinal vertebra stained with routine and special (In Situ End Labeling, ISEL) histological methods.

Results: As a result of this study it was established that irradiation causes two-phase alterations in the total megakaryocytes (MKs) cellularity. Within the first 24 h (the 1st phase) there was an obvious increase of MKs number along with radiation-induced acceleration of committed precursors and accumulation of mature megakaryocytic cells. Within the 2nd post-exposure phase (3–7 days after irradiation) the total MKs cellularity was decreasing rapidly. This process was not found to be associated with bone marrow megakaryocytic apoptosis (MKs negativity to ISEL-staining). In addition there were no morphologic features of extensive platelet budding, and the number of naked MKs was not apparently increased. At the same time megakaryocytic emperipolesis was shown to be increased in all bone marrow slides studied and was revealed to be occurring via both non-cytolytic and cytolytic (28–35 %) morphologic variants.

Conclusion: On the basis of the results obtained here the phenomenon of megakaryocytic emperipolesis is suggested to be an independent mechanism of postirradiation aplasia of megakaryocytic lineage.

Key words: emperipolesis, megakaryocytes, post-irradiation aplasia, hemopoiesis, bone marrow

Введение

Механизмы формирования пострадиационной аплазии мегакариоцитарного ростка гемопоэза во многом остаются неясными. С одной стороны, в силу полиплоидной природы мегакариоцитов их приня-

то относить к клеточным элементам с высокой (т.н. «абсолютной») радиорезистентностью [1]. С другой стороны, хорошо известно, что для острых радиационных поражений характерно быстрое исчезновение мегакариоцитов из костного мозга без прямых морфологических свидетельств их гибели [2]. Можно

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

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

предположить, что такое состояние рассматриваемой проблемы во многом является следствием недостаточной изученности пострадиационного мегакариоцитопоза в аспекте морфологии *in situ*. В частности, одним из нерешенных остается вопрос о возможной патогенетической роли мегакариоцитарного эмпериполеза [3, 4].

Термин «эмпериполез» (*emperipoleosis*, греч. *em* — в, вовнутрь; *peri* — вокруг; *poleomai* — странствовать, блуждать, т.е. буквально «странствие вовнутрь и вокруг») был предложен в 1956 г. для обозначения морфологического феномена проникновения и временного пребывания одних клеток внутри других. В оригинальном описании Humble J.G. et al. [5] высказали предположение, что подобные межклеточные взаимоотношения, в отличие от фагоцитоза, имеют характер «мирного сосуществования» (симбиоз), т.е. не причиняют вреда ни одной из клеток-участниц. Впоследствии, однако, было установлено, что исходом эмпериполетического взаимодействия может стать гибель клетки-реципиента (например, цитолитиз гепатоцитов вследствие интериоризации лимфоцитов при хроническом активном гепатите [6]). И «мирный», и цитолитический (иногда именуемый также патологическим или цитотоксическим [4]) варианты эмпериполеза остаются предметом интенсивного изучения, в т.ч. в отношении мегакариоцитов костного мозга.

Ранее проведенные исследования костного мозга здоровых собак [7] показали, что наблюдаемые *in situ* взаимоотношения мегакариоцитов с клетками гемопоэза (преимущественно полинуклеарными лейкоцитами и лимфоцитами) характеризуются определенной этапностью развития и завершаются гибелью части морфологически распознаваемых клеточных элементов мегакариоцитарного роста, соответствуя, таким образом, варианту цитолитического эмпериполеза. На основании анализа морфологической картины, прослеженной в нескольких анатомических локализациях костного мозга, был постулирован системный характер рассматриваемого явления и высказано предположение о его физиологической целесообразности, связанной с нормальной регуляцией количественного и/или качественного состава популяции костномозговых родоначальников тромбоцитов (неэффективный мегакариоцитопоз).

В связи со сказанным представляет интерес изучение мегакариоцитарного эмпериполеза в условиях острого радиационного поражения организма, сведения о котором, представленные в литературе, крайне ограничены и противоречивы. Это и стало целью настоящего исследования.

Материал и методы

Группу подопытных животных составили 28 собак обоего пола в возрасте 1,5–2 лет, массой тела 10–12 кг, подвергнутых однократному тотальному воздействию равномерного γ -облучения Co^{60} на установке ЭГО-2 в минимальной абсолютно летальной дозе ($LD_{100/45}$) 4 Гр при мощности дозы 2,5 Гр/мин (продолжительность облучения составляла 93 с). Животных умерщвляли электротокком, осуществляя забор материала с «коротким шагом» между сроками наблюдения: через 30 мин, 3, 6, 18, 24 ч, 3 и 7 суток после радиационного воздействия. На каждый срок исследовали 4 собаки. Для гистологического исследования материал (костный мозг тела поясничного позвонка) фиксировали в 10 %-ом растворе нейтрального формалина, заливали в целлоидин-парафин. Кости декальцинировали в 25 %-ом растворе трилона Б (EDTA). Изготавливали срезы толщиной 3–4 мкм, окрашивание которых проводили с применением рутинных (азурII-эозин) и специальных (ISEL, *In Situ End Labeling*, т.н. концевое мечение *in situ*) методик. В последнем случае использовали коммерческий набор реагентов TACS TdT Kit (R&D Systems, Великобритания); подробности изложены в работе [8]. В каждом из изученных случаев учитывали мегакариоцитарные элементы, определяемые в общей сложности в 200 произвольно выбранных (т.н. случайных) полях зрения микроскопа, подразделяя обнаруживаемые клетки в соответствии с общепринятыми критериями [9] на мегакариобласты, промегакариоциты и зрелые мегакариоциты (парциальная мегакариоцитопоза). Помимо этого, учитывали мегакариоцитарный эмпериполез (%), подсчитывая мегакариоциты костного мозга с внедрившимися в пределы их цитоплазмы и на «территорию» ядра гемопоэтическими элементами [7]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента. Контролем служили необлученные животные (10) того же возраста и веса.

Результаты и обсуждение

Установлено, что динамика количественных изменений популяции морфологически определяемых элементов мегакариоцитопоза, прослеженная *in situ* в гистологических срезах костного мозга облученных в минимальной абсолютно летальной дозе 4 Гр собак, имела двухфазовый характер. В течение первых 24 ч (1-я фаза) общее содержание мегакариоцитов костного мозга (из расчета $M \pm m$ на 10 полей зрения микроскопа) достоверно возросло (таблица).

При этом поступление клеток в мегакариоцитарный рост из пула предшественников многократно снижалось, на что указывало прогрессирующее к 24

ч уменьшение абсолютного числа мегакариобластов. В то же время формировалась бóльшая популяция зрелых форм: к окончанию первых суток увеличивалось абсолютное содержание мегакариоцитарных элементов, морфологически идентифицированных как промегакариоциты и зрелые мегакариоциты; в соотношении с мегакариобластами доли первых и вторых возрастали на порядок (с 1:1,5:9,1 в контроле до 1:22,0:86,7 к 24 часам). Такая динамика показателей парциальной мегакариоцитограммы, очевидно, являлась отражением продолжавшегося «наращивания» плоидности гигантоядерных клеток костного мозга и свидетельствовала об их ускоренном созревании.

Тем не менее, несмотря на обнаруживаемое в течение первых суток после облучения в дозе 4 Гр увеличение общего содержания мегакариоцитов в костном мозге, в дальнейшем (2-я фаза) их численность быстро снижалась (таблица): к окончанию третьих суток — более, чем в 3 раза ($11,8 \pm 0,1$ против $39,6 \pm 0,6$ в контроле, $p < 0,05$), а к исходу недельного наблюдения (7-е сутки) родоначальники тромбоцитов в гистологических срезах костного мозга практически не встречались.

Основываясь на анализе морфологической картины костного мозга, причину этого явления трудно связать с повышенным расходом мегакариоцитов на «отшнуровывание» пластинок (т.е. усилением костномозгового тромбоцитопоза) или с их гибелью.

В частности, в миелоидной ткани облученных собак не наблюдалось интенсификации клазматоза (отщепления мегакариоцитами цитоплазматических фрагментов, формирующих тромбоциты) и увеличения содержания т.н. «голаядерных» (т.е. лишившихся своей цитоплазмы вследствие названного процесса) мегакариоцитарных клеток. Напротив, их среднее число в соотношении с нормальными (без признаков редукции цитоплазмы) мегакариоцитами костного мозга оставалось на уровне контроля (1–3 «голых ядра» на 10 нормальных клеток). Примечательно, что в эти же сроки наблюдения (первые 24 ч) «голые» ядра клеток-гигантов (в количестве 1–2 в стандартном поле зрения микроскопа при большом увеличении) обнаруживались в легких подопытных животных, что может свидетельствовать об усилении т.н. «легочного» тромбоцитопоза (т.е. выработки кровяных пластинок в сосудистом русле легких [10]).

В равной мере на материале наших наблюдений не представляется возможным связать убыль мегакариоцитов с их пострадиационной гибелью (ранним некробиозом). Насколько известно из доступных источников литературы, и ранее предпринимавшиеся попытки обнаружить некробиотические изменения мегакариоцитов у подвергшихся острому радиационному воздействию людей и экспериментальных жи-

вотных оказывались безуспешными [2]. В настоящем исследовании, выполненном с использованием методики концевое мечения *in situ* в целях идентификации интрамедуллярного апоптоза, ISEL-позитивные клеточные элементы не определялись среди морфологически распознаваемых клеток мегакариоцитарного ряда, в отличие от демонстрировавших ISEL-позитивность клеточных представителей эритроидного и миелоидного ростков кроветворения.

В этой связи интересны указания авторов работы [11] на особый характер апоптоза зрелых мегакариоцитов (без *ядерно*-соматического дробления). Другие исследователи [12] применительно к клеткам мегакариоцитарного ростка предлагают использовать термин *para-apoptosis* (т.е. нечто похожее, напоминающее или близкое), отмечая, что в отсутствие характерных морфологических признаков апоптоза доступными для регистрации оказываются лишь отдельные биохимические реакции каскада каспаз.

В рамках дискуссии по данному вопросу полагаем возможным высказать собственное предположение. Апоптотическая самодеструкция клеток, как известно, требующая значительных энергетических затрат на деградацию ядерной ДНК, весьма «неэкономична», а поэтому малоприемлема для полиплоидных клеточных гигантов, у 2/3 из которых содержание ДНК от 8 до 16 раз превышает таковое в обычных диплоидных клетках. Логично поэтому предположить, что для разрушения мегакариоцитов могут задействоваться другие пути, одним из которых, возможно, является эмпериполез. В условиях стабильного кроветворения, как было сказано выше, этот механизм может выступать в качестве инструмента неэффективного мегакариоцитопоза, по сути (но не по форме!) являясь аналогом неэффективного позза в других кроветворных ростках, реализуемого путем апоптоза. В то же время при экстремальных воздействиях на организм эмпериполез, очевидно, может быть причастен к патогенезу мегакариоцитарных дис- и аплазий. На это косвенно указывают данные, полученные в настоящем исследовании.

В охваченный наблюдением период времени (с 30 мин до 24 ч) в костном мозге собак, облученных в LD_{100/45}, установлено возрастание интенсивности мегакариоцитарного эмпериполеза (таблица). Одной из вероятных причин этого явления, на наш взгляд, может быть связанная с радиационным воздействием цитокиновая «какофония», поскольку известно, что нарушение баланса гемопоэтических факторов способствует его усилению [13].

Bobik R. и Dabrowski Z. [3], также обнаружившие возрастание интенсивности мегакариоцитарного эмпериполеза (с 15 % в контроле до 34 % в опыте) при изучении цитологических препаратов костного мозга

Таблица

Количество мегакариоцитов и отдельные параметры мегакариоцитограммы в костном мозге собак в различные сроки после общего внешнего гамма-облучения в дозе 4 Гр (LD_{100/45})

Время после облучения	Кол-во МГКЦ*	Параметры мегакариоцитограммы (пределы колебаний)			Эмпериоплез (%)
		Мегакариобласты	Промегакариоциты	Мегакариоциты	
30 мин	48,7 ± 0,4**	3,1 (1,5–4,7)	8,7 (5,6–12,6)	36,9 (30,0–41,8)	36,5 ± 2,0**
3 ч	55,4 ± 0,5**	5,0 (3,3–6,5)	12,7 (8,5–17,7)	37,8 (28,0–43,1)	37,2 ± 2,6**
6 ч	55,1 ± 0,4**	4,5 (2,5–8,3)	15,0 (11,2–18,3)	35,6 (32,5–39,3)	34,7 ± 1,8**
18 ч	37,9 ± 0,3	1,7 (1,4–1,9)	6,3 (3,1–8,2)	29,9 (23,8–37,8)	35,8 ± 1,9**
24 ч	45,0 ± 0,3**	0,4 (0–0,8)	8,8 (6,2–13,4)	34,5 (30,9–41,9)	36,1 ± 2,1**
3 сут	11,8 ± 0,1**	0,03 (0–0,1)	0,2 (0,05–0,25)	11,6 (10,4–12,6)	13,8 ± 3,7**
7 сут	0	0	0	0	–
Контроль	39,0 ± 0,6	28,2 ± 1,8	4,7 ± 1,4	3,1 ± 0,1	30,4 ± 0,8

Примечание:* $M \pm m$ мегакариоцитов (МГКЦ) на 10 полей зрения микроскопа;** – достоверные отличия от контроля, $p < 0,05$

сублетально облученных мышей, высказали мнение о его ассоциации с ранней перераспределительной реакцией клеток костномозгового резерва, объясняя этот феномен их форсированным, но «мирным» преодолением стенок синусоидных сосудов, в тесном контакте с которыми располагаются мегакариоциты. Возможно, это суждение справедливо применительно к конкретным условиям облучения и объекту экспериментальных исследований авторов упомянутой работы.

Вместе с тем в наших наблюдениях, выполненных на гистологических срезах костного мозга крупных лабораторных животных (собак), при помощи светооптической микроскопии удавалось выделить несколько морфологических вариантов межклеточного взаимодействия мегакариоцитов с клетками костного мозга, представленных следующими образцами.

Первый вариант характеризовался аккумуляцией клеток гемопоэза (преимущественно полинуклеарных гранулоцитов, среди которых нередко можно было видеть и лимфоидные элементы) в непосредственной близости от цитоплазматической мембраны мегакариоцита с внедрением в периферийные зоны его цитоплазмы (рис. 1, а). Преодолевая клеточную оболочку, «клетки-гости» (число которых в наших случаях варьировало от 1–2 до 15–20) проникали внутрь мегакариоцита, будучи окружены светлыми зонами.

Другой морфологический вариант эмпериполетического взаимодействия был представлен мегакариоцитами, у которых вторжение «пришельцев» распространялось также на «территорию» ядра (рис. 1, б). В этом случае по мере увеличения численности за-

полнявших мегакариоцит гранулоцитов и лимфоцитов, площадь первого многократно увеличивалась, границы становились неразличимыми, а от ядра оставались лишь небольшие разрозненные фрагменты (рис. 1 с). В конечном итоге на месте мегакариоцита обнаруживались локальные скопления гранулоцитов и лимфоцитов, напоминавшие «решето» (рис. 1, d), т.е. имел место мегакариоцитарный цитолиз.

Обозначенные выше морфологические варианты мегакариоцитарного эмпериполеза, по-видимому, представляют собой этапы его морфогенеза, поэтому установить их реальное количественное соотношение достаточно затруднительно. По нашим ориентировочным оценкам, морфологические признаки второго (разрушительного) варианта межклеточного взаимодействия прослеживались у 28–35 % клеток от общего числа мегакариоцитов, демонстрировавших эмпериполез в костном мозге облученных собак. У контрольных животных доля таких мегакариоцитарных элементов, по нашим наблюдениям, не превышала 10–12 %.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют предположить, что в условиях острого радиационного поражения организма усиление мегакариоцитарного эмпериполеза влечет за собой негативные последствия: гибель зрелых клеток мегакариоцитарного ряда на фоне прекращения его «подпитки» из популяции коммитированных предшественников. Это дает основание считать, что рассматриваемый феномен может вносить самостоятель-

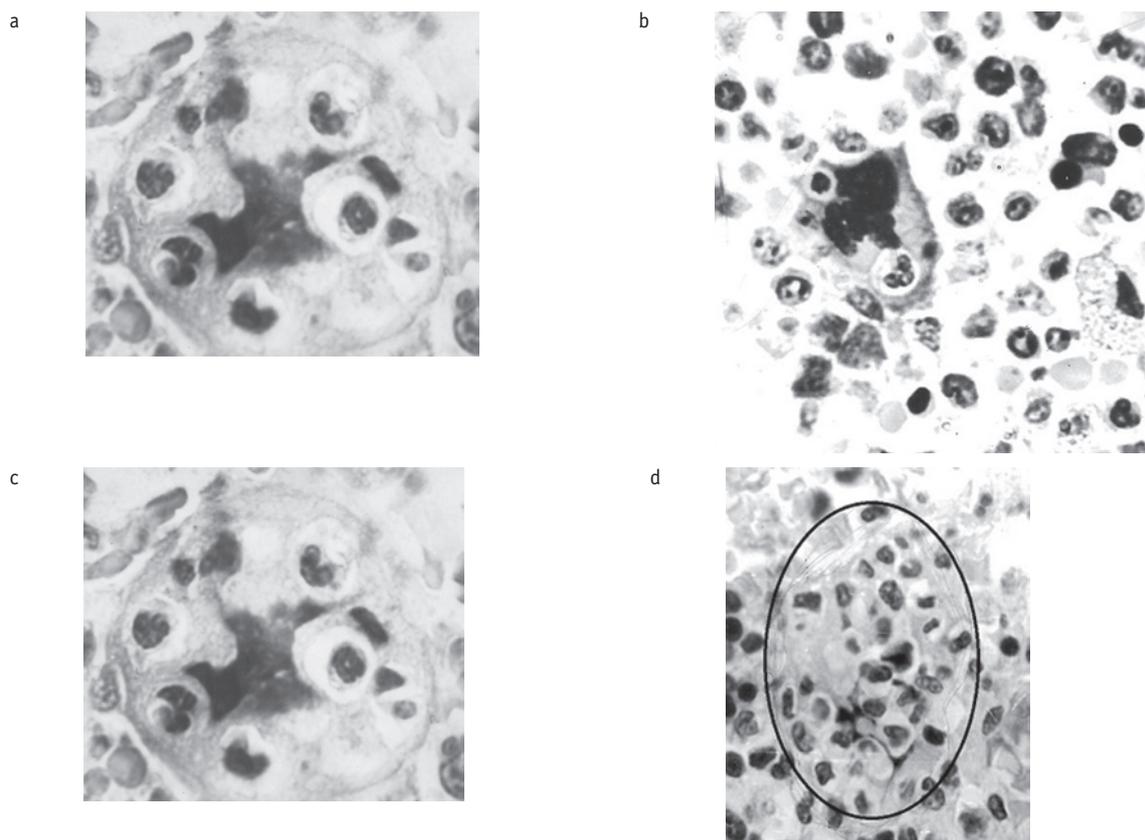


Рис. 1. а, b, с, d. Мегакариоцитарный эмпериполез в костном мозге собаки, облученной в дозе 4 Гр. Микрофотография (комментарии в тексте)

ный вклад в развитие аплазии мегакариоцитарного ростка, влияя, по-видимому, и на его восстановление. Так, в костном мозге людей с острой лучевой болезнью, скончавшихся спустя 4–14 недель после острого радиационного воздействия в результате аварии на Чернобыльской АЭС, при наличии морфологических признаков миелоидной регенерации интенсивность мегакариоцитарного эмпериполеза составляла 20–30 % [14]. Это согласуется с данными Calvo W. et al. [4], полученными в эксперименте на крупных лабораторных животных.

С указанным обстоятельством, по-видимому, может быть связано некоторое запаздывание по времени, в сравнении с другими кроветворными ростками, пострадиационного восстановления численности популяции мегакариоцитов. Из литературы [13, 15] известны в определенной степени обнадеживающие попытки терапевтической коррекции интенсивности данного феномена с положительной динамикой тромбоцитопении при ряде гематологических заболеваний, что создает теоретические предпосылки для поиска путей воздействия на цитолитический эмпериполез и в условиях лучевой патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Груздев Г.П., Чистопольский А.С., Суворова Л.А. Радиочувствительность и пострадиационная кинетика мегакариоцитарного роста костного мозга (анализ по данным последствий аварии на ЧАЭС). // Радиационная биология. Радиозэкол., 1996, **36**, Вып. 2, С. 250–263.
2. Иванов А.Е., Куршакова Н.Н., Шиходыров В.В. Патологическая анатомия лучевой болезни. — М.: Медицина, 1981, 303 с.
3. Bobik R., Dabrowski Z. Emperipolesis of marrow cells within megakaryocytes in the bone marrow of sublethally irradiated mice. // Ann. Haematol., 1995, **70**, No. 2, P. 91–95.
4. Calvo W., Alabi R., Nothdurft W., Flidner T.M. Cytotoxic immigration of granulocytes into megakaryocytes as a late consequence of irradiation. // Radiat. Res., 1994, **138**, No. 2, P. 260–265.
5. Humble J.G., Jayne W.H., Pulvertaft R.J. Biological interaction between lymphocytes and other cells. // Brit. J. Haematol., 1956, **2**, No. 3, P. 283–294.
6. Bechtelsheimer H., Gedgik P., Muller R., Klein H. Aggressive emperipolesis in chronic hepatitis. // Klin. Wochenschr., 1976, **54**, No. 3, P. 137–140.

7. Власов П.А., Квачева Ю.Е. Эмперипозез и взаимоотношения между мегакариоцитами и нейтрофильными гранулоцитами в костном мозге здоровых собак (морфологические аспекты). // Гематол. и трансфузиол., 1998, **43**, № 5, С. 23–25.
8. Квачева Ю.Е. Апоптотическая гибель клеток костного мозга в восстановительном периоде острой лучевой болезни и ее роль в патогенезе гематологического синдрома. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2002, **47**, №5, С. 17–22.
9. Соболева Т.Н., Владимирская Е.Б. Морфология клеток крови в нормальном кроветворении (методические рекомендации для врачей-лаборантов и гематологов). — М.: Издательство «Лабпресс», 2001, 32 с.
10. Zucker-Franklin D., Philipp C.S. Platelet production in the pulmonary capillary bed: new ultra-structural evidence for an old concept. // Amer. J. Pathol., 2000, **157**, No. 1, P. 69–74.
11. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Буторина Е.В. Тромбоцитопозез. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2007, С. 47–48.
12. Houwerzijl E.J., Blom N.R., van der Want J.J. et al. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. // Blood, 2004, **103**, No. 2, P. 500–506.
13. Migita M., Fukunaga Y., Watanabe A. et al. Emperipolesis of neutrophils by megakaryocytes and thrombocytopenia observed in a case of Kostmann's syndrome during intravenous administration of high-dose rhG-CSF. // Brit. J. Haematol., 1992, **80**, No. 3, P. 413–415.
14. Квачева Ю.Е., Власов П.А. Патоморфологическое исследование органов кроветворения погибших от острой лучевой болезни в результате аварии на Чернобыльской АЭС. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 1994, **39**, № 3, С. 12–14.
15. Aslan D. Emperipolesis in immune thrombocytopenic purpura. // Ind. J. Pathol. Microbiol., 2009, **52**, No. 2, P. 289–290.

Поступила: 07.04.2014

Принята к публикации: 18.06.2014

Н.К. Шандала¹, И.П. Коренков¹, В.В. Романов²

Состояние радиационно-гигиенической обстановки в районе размещения АЭС

N.K. Shandala¹, I.P. Korenkov¹, V.V. Romanov²

Radiation Situation at the NPP Area

РЕФЕРАТ

Цель: Оценка состояния радиационно-гигиенической обстановки в районах размещения АЭС и установление «нулевого» фона для объектов окружающей среды.

Материал и методы: В ходе проведения радиационно-гигиенического мониторинга (РГМ) был разработан специальный регламент, включающий: выбор объектов наблюдения (воздух, почва, пищевые продукты), установление мест и периодичность отбора проб. В 48 населенных пунктах в районах размещения АЭС отобрано более 600 проб объектов окружающей среды и местных пищевых продуктов, которые исследованы с применением гамма-спектрометрических, радиохимических и радиометрических методов.

Результаты: Показано, что радиационно-гигиеническая обстановка в районах АЭС остается удовлетворительной:

- мощность эквивалентной дозы гамма-излучения — в пределах колебания естественного фона (0,08–0,15 мкЗв/ч);
- удельная активность ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в воде открытых водоемов не превышает 0,04 и 0,01 Бк/л соответственно;
- содержание ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в местных пищевых продуктах в 100–1000 раз ниже допустимых уровней;
- содержание ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в пищевых продуктах в зонах наблюдения АЭС такое же, как и в аналогичных пищевых продуктах других регионов;
- максимальные годовые индивидуальные эффективные дозы внутреннего облучения не превышают 10 мкЗв/год.

Выводы: Многолетний опыт эксплуатации АЭС (Нововоронежской и Калининской) показывает, что в нормальном режиме работы радиоактивное загрязнение мало по сравнению с естественным фоном и не оказывает значимого влияния на дозы облучения населения и объекты окружающей среды.

Ключевые слова: зона наблюдения, объекты окружающей среды, местные пищевые продукты, население, эффективные дозы облучения

ABSTRACT

Purpose: Radiation survey around NPPs and establishing “zero” background for the environment.

Material and methods: In the course of radiation hygienic monitoring, the special regulation has been developed. This regulation includes: selection of media for surveillance (air, soil, and foodstuffs), identification of sampling areas and frequency. In 48 settlements around NPPs, more than 600 samples for study have been collected. These samples were studied using gamma spectrometry, radiometry and radiochemistry methods.

Results: Radiation and health physics situation in the areas surrounding NPPs remains satisfactory:

- gamma dose rate is within the natural background variation range (0.08–0.15 μSv/h);
- specific activity of ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in water of open reservoirs does not exceed 0.04 and 0.01 Bq/l, respectively;
- concentration of ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in local foodstuffs is 100 – 1000 times lower than the permissible levels;
- concentrations of ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in foodstuffs within the NPPs supervision areas are the same as those in the similar foodstuffs of other regions;
- the highest annual individual effective internal doses do not exceed 10 μSv /year.

Conclusions: Long-term experience in the operating NPP (Novovoronezh and Kalinin) shows that in case of route operation, radioactive contamination is low in comparison with natural background and there is no significant effect on the radiation dose to population and environment.

Key words: surveillance area, environmental media, local foodstuffs, population, effective dose

Введение

Необходимость представления гарантий безопасного развития атомной энергетики для населения страны является насущным требованием времени, поскольку ряд радиационных аварий, особенно на Чернобыльской АЭС и на японской АЭС Фукусима-1, заставляют специалистов по защите окружающей среды и населения с большой предосторожностью относиться к введению в строй новых объектов атомной энергетики. В условиях отечественного ренессанса

атомно-энергетического комплекса России актуально осуществление специального радиационно-гигиенического мониторинга в районах действующих и строящихся АЭС. Такая информация необходима для оценки последствий многолетней эксплуатации АЭС и для выяснения масштабов воздействия на проживающее в их районах население и окружающую среду. Кроме того, основным требованием общественности в современных условиях является необходимость представления доказательных оценок гарантированной безопасности как для работающего на АЭС пер-

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: shandala-fmbc@bk.ru
² Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Россия

¹ A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia. E-mail: shandala-fmbc@bk.ru
² Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia



Рис. 1. Карта-схема пунктов радиационно-гигиенического мониторинга АЭС

сонала, так и для постоянно проживающего в зоне влияния АЭС населения. Получение подобных оценок требует проведения широкомасштабных радиационно-гигиенических и эпидемиологических исследований на разных этапах жизненного цикла АЭС.

Цель работы — оценка состояния радиационно-гигиенической обстановки в районах размещения АЭС и установление «нулевого» фона для объектов окружающей среды.

В данной работе приводятся результаты, полученные на основе многолетнего радиационно-гигиенического мониторинга объектов окружающей среды, а также характеристика облучения населения, проживающего в районах размещения трех российских АЭС — Волгодонской, Калининской и Нововоронежской.

Волгодонская АЭС. Проект строительства Волгодонской АЭС был утвержден в 1979 г. Тогда же началось строительство двух блоков, один из которых был подготовлен к пуску в 1990 г. Однако пусковые работы были приостановлены в связи с требованием общественного движения. В течение почти десяти лет Волгодонская АЭС находилась на консервации. В 1982 г. Институтом биофизики Минздрава СССР (ныне ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России) были начаты исследования радиационно-гигиенической обстановки в районе строящейся Волгодонской АЭС [1, 2]. В марте 2001 г. состоялся физический пуск. В настоящее время функционируют два энергоблока с реакторами ВВЭР-1000 электрической мощностью в 2 тыс. МВт.

Калининская АЭС. Функционирует четыре энергоблока с реакторами ВВЭР-1000 электрической мощностью по 1 тыс. МВт, которые были введены в эксплуатацию в 1984, 1987, 2005 и 2012 гг. В 1982–1983 гг.

Институтом биофизики в районе расположения Калининской АЭС проведены работы по оценке «нулевого фона». Были изучены природно-климатические и хозяйственные характеристики прилегающих территорий и произведена оценка радиационного состояния окружающей среды [3].

Нововоронежская АЭС. На протяжении 50-летнего периода в эксплуатации находились пять блоков: два несерийных реактора ВВЭР-210 (первый блок с 1964 г.) и ВВЭР-365 (второй блок с 1969 г.); 2 серийных головных реактора ВВЭР-440 (третий блок с 1971 г. и четвертый блок с 1972 г.); пятый блок головной серии ВВЭР-1000 с 1980 г. В 1984 и 1990 гг. соответственно первый и второй блоки были выведены из эксплуатации.

Исследования на Нововоронежской АЭС сводились к радиационно-гигиенической оценке возникших много лет назад на станции (в 1972 и в 1985 гг.) нештатных ситуаций, связанных с утечкой ^{60}Co и ^{137}Cs из хранилища жидких отходов. В связи с этим проведена оценка влияния ^{60}Co на окружающую среду и население, проживающее в прибрежных районах у Дона.

На рис. 1 схематически изображены контролируемые районы и районы сравнения соответственно на Волгодонской и Калининской АЭС. Как видно на карте, радиационно-гигиенический мониторинг на Волгодонской АЭС проводился на контролируемой территории в г. Волгодонске и четырех районах — Волгодонском, Цимлянском, Дубовском и Зимовниковском. В качестве района сравнения был выбран Миллеровский район, расположенный от площадки АЭС на расстоянии более 224 км в северо-западном направлении с наветренной стороны. Миллеровский район был выбран по согласо-

ванию с Ростовским центром госсанэпиднадзора. Исследования на Калининской АЭС проводились в зоне наблюдения станции — г. Удомле и Удомельском районе, в районе г. Вышний Волочек, как контроль влияния АЭС — в Осташковском районе сравнения.

При выборе района сравнения исходили из следующих обстоятельств:

а) сходные гигиенические характеристики:

- тип почв и почвообразующих пород;
- виды произрастающей растительности;
- химический состав воды поверхностных водоемов и подземных вод;
- условия производства пищевых продуктов;
- уровни содержания естественных радионуклидов и (или) глобальных радионуклидов;

б) расположенность вне влияния эксплуатируемой АЭС;

в) особенности медицинской помощи (обеспеченность врачами, специалистами, необходимым оборудованием и др.).

Материал и методы

Методологической основой работы был исследовательский радиационно-гигиенический мониторинг, под которым понимается проведение комплексного динамического наблюдения и контроля параметров радиационно-гигиенической обстановки в районах расположения АЭС [4, 5].

При проведении радиационно-гигиенического мониторинга нами разработан специальный регламент, включающий выбор объектов наблюдения (воздух, почва, вода, пищевые продукты), установление мест и периодичности отбора проб, характер измеряемых радиационных параметров, а также выбор района сравнения [6, 7]. Указанные на рис. 1 контролируемые населенные пункты были выбраны и утверждены в соответствии с официальными регулирующими документами, а также действующим регламентом радиационного контроля окружающей среды на АЭС [8–10].

В ходе радиационно-гигиенического мониторинга на единой методологической основе решались следующие задачи:

- 1) Получение в динамике необходимой, достаточной, достоверной информации о контролируемых радиационных параметрах окружающей среды.
- 2) Получение в динамике достаточной и достоверной информации о содержании радионуклидов в пищевых продуктах и воде.
- 3) Изучение структуры питания населения по материалам обследования бюджетов домохозяйств Госкомстатом России.

4) Оценка доз внешнего и внутреннего облучения населения за счет как техногенного, так и природного облучения.

5) Информирование населения о радиационной обстановке в районе размещения АЭС.

Отобранные из контрольных точек пробы объектов окружающей среды исследовали с помощью гамма-спектрометрического, радиохимического и радиометрического методов [11, 12]. При гамма-спектрометрическом анализе пробы помещались в сосуд Маринелли объемом 0,5 литра. Минимально-детектируемая активность для ^{137}Cs составляла 0,1–0,25 Бк. Определение ^{90}Sr производили радиохимическим методом, по оксалатной методике и методике экстракцией моноизооктиловым эфиром метилфосфоновой кислоты иттрия-90. Минимально измеряемая активность для ^{90}Sr составляла 0,1 Бк.

Всего было отобрано и исследовано более 700 проб объектов окружающей среды и местных пищевых продуктов в 40 населенных пунктах как в зонах наблюдения, так и в районах сравнения, прудах-охладителях и других прилегающих к АЭС водных акваториях.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены сводные параметры радиационно-гигиенической обстановки, сложившейся в зонах наблюдения трех АЭС к 2013 г. Радиационно-гигиеническая обстановка, сложившаяся в зонах наблюдения АЭС, остается удовлетворительной и устойчивой:

- мощность эквивалентной дозы гамма-излучения на открытой местности находится в пределах колебаний фона для подобных территорий;
- удельная активность ^{90}Sr и ^{137}Cs в воде открытых водоемов — в пределах колебаний содержания радионуклидов в водоемах центрального региона России;
- содержание ^{90}Sr и ^{137}Cs в питьевой воде — ниже уровня вмешательства [13] соответственно в 125 и в 250 раз; общая альфа- и бета-радиоактивность ниже допустимых уровней, установленных нормативами;
- содержание ^{90}Sr и ^{137}Cs в пищевых продуктах — в 100–1000 раз ниже допустимых уровней [14];
- содержание ^{90}Sr и ^{137}Cs в пищевых продуктах и питьевой воде в зонах наблюдения АЭС — такое же, как и в аналогичных пищевых продуктах других регионов страны [15–17].

Показатели радиационной обстановки, сложившейся в зоне наблюдения Волгодонской АЭС, приняты и зафиксированы в качестве «фоновых» на период «начало промышленной эксплуатации». Следует за-

Таблица 1

Сводные параметры радиационно-гигиенической обстановки в зонах наблюдения Волгоградской, Калининской и Нововоронежской АЭС

Параметр и размерность	Волгоградская АЭС	Калининская АЭС	Нововоронежская АЭС	Гигиеническая оценка
Мощность эквивалентной дозы гамма-излучения, мкЗв/ч	0,1–0,15	0,08–0,14	0,09–0,13	В пределах колебания фона данной территории
Вода открытых водоемов, Бк/л				
⁹⁰ Sr	< 0,03	0,03	0,005	Центральный регион России (0,005–0,02)
¹³⁷ Cs	< 0,04	0,004	0,01	Центральный регион России (0,001–0,01)
Питьевая вода, Бк/л				
Общая альфа-радиоактивность	< 0,1	0,03	< 0,15	0,1 (СанПиН 2.1.4.1074-01)
Общая бета-радиоактивность	0,1–0,4	0,27	0,1	1,0 (СанПиН 2.1.4.1074-01)
⁹⁰ Sr	< 0,03	< 0,003	< 0,003	5,0 [13]
¹³⁷ Cs	< 0,04	< 0,01	0,002	11,0 [13]
Основные пищевые продукты, ⁹⁰Sr / ¹³⁷Cs, Бк/кг (л)				
Хлеб	0,04 / 0,05	0,7 / 0,14	0,07 / 0,04	20 / 40
Молоко	0,04 / 0,06	0,15 / 0,17	0,06 / 0,07	25 / 100
Мясо (разных видов)	0,10 / 0,10	0,10 / 0,23	0,03 / 0,14	50 / 160
Рыба пресноводная	0,16 / 0,17	0,7 / 0,63	0,25 / 0,48	100 / 130
Картофель	0,11 / 0,11	0,16 / 0,08	0,17 / 0,17	40 / 120
Овощи и бахчевые	0,14 / 0,06	0,22 / 0,08	0,06 / 0,11	40 / 120
Индивидуальная эффективная доза, мкЗв/год				
За счет поступления ⁹⁰ Sr и ¹³⁷ Cs с рационом и питьевой водой	7,1	8,1	9,9	Глобальные выпадения (в среднем по России) не более 10 мкЗв/г [17]
За счет газоаэрозольных выбросов АЭС	0,04·10 ⁻³	0,6	1,8	Годовая доза для населения не должна превышать 10 мкЗв/г (СП АС–99) [18]

метить, что эффективные дозы за счет газоаэрозольных выбросов ВОАЭС существенно меньше, чем для других станций [2].

При работе АЭС в атмосферу могут попадать инертные радиоактивные газы ¹³¹I, ⁵⁴Mn, ⁵⁸, ⁶⁰Co, ⁹⁰Sr, ¹³⁴, ¹³⁷Cs. Однако при нормальном режиме работы АЭС фактический выброс указанных радионуклидов составляет лишь доли процентов от допустимых. Дозы внешнего облучения населения (годовые дозы, измеренные с помощью интегрирующих дозиметров) в рассматриваемый период за пределами промплощадок АЭС практически не увеличиваются с течением времени и не изменяются с увеличением расстояния. Они, в основном, обусловлены местными колебаниями радиационного фона и радионуклидами глобального происхождения. Таким образом, основной фактор радиационной обстановки в районе размещения АЭС — суммарная эффективная доза внутреннего и внешнего облучения на население из-за ничтожно малого ее значения практически не поддается измерению приборами и может быть оценена лишь расчетным путем.

В табл. 2 представлены значения максимальной годовой индивидуальной эффективной дозы облучения населения, проживающего в районах Калининской и Нововоронежской АЭС в период 1999–2013 гг., рассчитанные с учетом фактических

Таблица 2

Максимальные годовые индивидуальные эффективные дозы облучения населения за счет выбросов Калининской и Нововоронежской АЭС, мкЗв

АЭС	1999	2000	2005	2010	2013
Калининская	0,09	0,08	0,18	0,11	0,09
Нововоронежская	0,45	0,5	0,41	0,49	0,32

радиоактивных газоаэрозольных выбросов АЭС в атмосферу. Из анализа данных этой таблицы следует, что годовые дозы облучения населения от радиоактивных выбросов АЭС за указанный период времени значительно (на 2–3 порядка величины) ниже имевшейся регулируемой дозовой квоты, равной 200 мкЗв/г. В настоящее время нормативная граничная доза за счет газоаэрозольных выбросов для населения составляет 10 мкЗв/г [18].

В табл. 3 представлены результаты расчета относительного вклада различных долгоживущих радионуклидов в годовую эффективную дозу облучения населения от аэрозольных выбросов АЭС. Как следует из приведенных в табл. 2 данных, видно, что основной вклад в годовую эффективную дозу облучения лиц из различных возрастных групп от аэрозольного выброса вносят радионуклиды ⁶⁰Co, ⁹⁰Sr, ¹³⁴Cs и

Таблица 3

Вклад различных долгоживущих радионуклидов в дозу облучения различных групп населения от аэрозольных выбросов Калининской и Нововоронежской АЭС, %

Нуклид	Возрастная группа				
	1–2 года	2–7 лет	7–12 лет	12–17 лет	Взрослые
Калининская АЭС					
⁵⁴ Mn	0,39	0,40	0,49	0,24	0,25
⁵⁸ Co	0,13	0,11	0,10	0,056	0,050
⁶⁰ Co	36	36	38	21	15
⁹⁰ Sr	1,7	1,7	5,0	4,0	1,6
¹³⁴ Cs	24	23	22	29	34
¹³⁷ Cs	38	40	35	45	50
Нововоронежская АЭС					
⁵⁴ Mn	1,5	1,4	1,7	1,3	1,5
⁵⁸ Co	1,0	0,90	0,85	0,67	0,67
⁶⁰ Co	74	73	76	60	52
⁹⁰ Sr	0,59	0,55	1,7	1,9	0,90
¹³⁴ Cs	8,0	7,8	6,6	13	16
¹³⁷ Cs	15	16	13	23	29

¹³⁷Cs. Вклад ⁵⁴Mn и ⁵⁸Co в значения этой величины не превышает нескольких процентов, т.е. пренебрежимо мал. По этой причине, а также принимая во внимание постоянство относительного вклада долгоживущих радионуклидов в суммарную активность аэрозольного выброса, на АЭС с реакторами ВВЭР достаточно проводить контроль поступления долгоживущих радионуклидов в атмосферу по активности ⁶⁰Co, ⁹⁰Sr, ¹³⁴Cs и ¹³⁷Cs.

Для оценки доз внутреннего облучения населения за счет радионуклидов, поступающих с рационом человека, необходимо иметь данные о содержании радиоактивных веществ в пищевых продуктах и о среднестатистическом потреблении отдельных продуктов питания (кг/сут, кг/г), т.е. структуру питания населения данного региона. Структура питания населения — это потребление отдельных пищевых продуктов, входящих в семь основных пищевых групп:

- 1) хлебные продукты;
- 2) молоко и молочные продукты (в пересчете на молоко);
- 3) картофель;
- 4) овощи и бахчевые;
- 5) фрукты и ягоды;
- 6) мясо и мясопродукты (в пересчете на мясо);
- 7) рыба и рыбопродукты (в пересчете на рыбу).

При расчете доз внутреннего облучения населения за счет глобальных выпадений в качестве исходных уровней потребления использована оценка реальных диет сельского и городского населения Ростовской, Тверской и Воронежской области. Опыт

оценки доз внутреннего облучения за счет техногенных источников излучения показал, что необходимым является учет реального потребления пищевых продуктов в течение 5–10 лет. Такой подход позволит сделать правильное заключение о структуре питания в изучаемом районе с учетом его характера и динамичности.

Поступление радионуклидов с пищевыми продуктами населению контролируемых территорий Волгодонской, Калининской и Нововоронежской АЭС, а также в районах сравнения было рассчитано на основании фактических показателей содержания ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в пищевых продуктах, представленных в табл. 1, и по возрастной структуре пищевого рациона.

При расчете поступления радионуклидов с компонентами рациона учитывалась также питьевая вода, потребление которой составляет (в сутки):

- 1,4 л — для взрослых и детей в возрасте от 12 до 17 лет;
- 0,9 л — для детей от 7 до 12 лет;
- 0,7 л — для детей от 2 до 7 лет;
- 0,5 л — для детей от 1 года до 2 лет.

В табл. 4 и 5 приведены эффективные дозы внутреннего облучения населения исследуемых регионов, обусловленные поступлением с рационом ⁹⁰Sr и

Таблица 4

Эффективные дозы внутреннего облучения населения, проживающего в зоне наблюдения Волгодонской АЭС на период начала эксплуатации (2002 г.), мкЗв/год

Возрастная группа	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	Всего
Население городов Волгодонска и Цимлянска			
1–2 года	0,44	2,92	3,4
2–7 лет	0,42	2,28	2,7
7–12 лет	0,60	4,24	4,8
12–17 лет	0,82	5,24	6,0
Взрослые	0,90	2,08	3,0
Сельское население зоны наблюдения ВоАЭС			
1–2 года	0,53	3,49	4,0
2–7 лет	0,49	2,66	3,1
7–12 лет	0,70	4,91	5,6
12–17 лет	0,95	6,11	7,0
Взрослые	1,04	2,41	3,5
г. Миллерово (район сравнения)			
1–2 года	0,35	2,23	2,6
2–7 лет	0,34	1,76	2,1
7–12 лет	0,50	3,14	3,6
12–17 лет	0,67	4,27	4,9
Взрослые	0,75	1,64	2,4
Сельское население Миллеровского района сравнения			
1–2 года	0,41	2,56	3,0
2–7 лет	0,38	1,97	2,4
7–12 лет	0,56	3,51	4,0
12–17 лет	0,75	4,74	5,5
Взрослые	0,83	1,82	2,7

Таблица 5

Эффективные дозы внутреннего облучения за счет поступления радионуклидов с пищевыми продуктами и питьевой водой населению в зонах наблюдения Калининской и Нововоронежской АЭС в 2013 г., мкЗв/г

Возрастные группы	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	Всего
Калининская АЭС			
Городское население, г. Удомля — 4 км от КаАЭС			
7–12 лет	0,84	5,4	6,2
12–17 лет	0,97	6,1	7,1
Взрослые ^{1*}	1,1	2,4	3,5
Взрослые ^{2**}	2,3	2,5	4,8
Сельская местность, ЗН КАЭС— 3–25 км от КАЭС			
7–12 лет	0,96	5,7	6,7
12–17 лет	1,2	6,7	7,9
Взрослые *	1,3	2,7	4,0
Взрослые **	2,4	2,7	5,1
Рыбаки	2,9	3,1	5,6
Нововоронежская АЭС			
Городское население г. Нововоронеж — 4 км от НВ АЭС			
1–2	0,49	6,5	7,5 ^{3***} / 7,0
2–7	0,48	4,5	5,4 / 5,1
7–12	0,73	8,8	9,9 / 9,6
12–17	0,79	8,2	9,1 / 8,9
Взрослые	0,90	3,3	4,3 / 4,2
Сельская местность ЗН НВ АЭС— 3–20 км от НВ АЭС			
1–2	0,53	5,7	6,8 / 6,3
2–7	0,51	4,9	5,8 / 5,4
7–12	0,71	9,2	10 / 9,9
12–17	0,80	8,7	9,7 / 9,5
Взрослые	0,92	3,5	4,5 / 4,4
Рыбаки	1,14	4,0	5,3 / 5,2

* без учета потребления грибов

** с учетом потребления грибов

*** первая цифра — оценки, учитывающие реальный вклад ⁶⁰Со в индивидуальную дозу внутреннего облучения

¹³⁷Cs, т.е. за счет глобальных выпадений, а не работы АЭС. Указанные дозы рассчитаны с учетом содержания радионуклидов в рационе и дозового коэффициента по возрастам.

Из анализа эффективных доз внутреннего облучения населения за счет глобальных выпадений следует, что:

- различия в дозах облучения одинаковых возрастных групп городского (города Волгодонск, Удомля и Нововоронеж) и сельского населения незначительны и не превышают 20 %;
- эффективные дозы внутреннего облучения лиц из критической группы населения (дети от 7 до 17 лет) не превышают 10 мкЗв/г; а для взрослых людей — 7 мкЗв/г;

- эффективные дозы внутреннего облучения лиц из критической группы населения (рыбаки) примерно на 15 % выше, чем у взрослых сельских жителей.

Практически по всем известным моделям расчета критическим пищевым продуктом, потребление которого дает доминирующий вклад (свыше 80 %) в дозу внутреннего облучения от сброса радионуклидов в поверхностные воды на Нововоронежской АЭС, является рыба. Критическими пищевыми продуктами, потребление которых дает доминирующий вклад (около 60 %) в дозу внутреннего облучения на Калининской АЭС за счет ¹³⁷Cs, являются молоко и грибы; в отношении ⁹⁰Sr — хлеб, молоко, картофель и овощи. В зоне наблюдения Волгодонской АЭС на период «первый год работы» в качестве критических пищевых продуктов, за счет которых формируется почти половина дозы внутреннего облучения за счет ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr, зафиксированы картофель и овощи.

Заключение

Многолетний опыт радиационно-гигиенического мониторинга показывает, что в нормальном режиме работы радиоактивное загрязнение в регионах изученных АЭС весьма мало по сравнению с естественным фоном и практически не оказывает значимого влияния на дозы облучения населения и объекты окружающей среды.

Таким образом, можно сделать вывод об экологической безопасности для населения и окружающей среды безаварийного функционирования российских энергоблоков с реакторами ВВЭР.

В последующем планируется продолжение проведения радиационно-гигиенического мониторинга на единой методологической основе для решения следующих задач:

- сравнительная оценка рисков от факторов радиационной и нерадиационной природы, возникающих при работе АЭС;
- создание банка данных по параметрам радиационно-гигиенической обстановки;
- оценка эффективных доз облучения населения, обусловленных работой АЭС в последующие годы;
- оценка влияния радиоактивных выбросов и сбросов АЭС на гидробиологические объекты окружающей среды (пруд-охладитель, Цимлянское водохранилище, р. Дон, озера Удомельского района и др.);
- изучение структуры питания с учетом местных особенностей потребления населением пресноводной рыбы.

Разрабатываемый радиационно-гигиенический мониторинг в районах размещения АЭС:

- а) должен являться необходимой частью общегосударственной системы социально-гигиенического мониторинга;
- б) должен давать своевременную объективную оценку воздействия АЭС на окружающую среду и население;
- в) может быть распространен также и на другие радиационно-опасные объекты на территории страны.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Книжников В.А., Жаков Ю.А., Мельников Н.В. и соавт. Радиационная обстановка в районе размещения Ростовской АЭС до пуска ее в эксплуатацию. Отчет / Институт биофизики МЗ СССР и Ростовская областная санитарно-эпидемиологическая станция МЗ РСФСР. — М., 1989, 61 с.
2. Радиационно-гигиенический мониторинг Волгодонской АЭС (первый год эксплуатации). Под ред. Л.А. Ильина и М.Б. Мурина. — М.: ГНЦ-ИБФ, 2003, 50 с.
3. Книжников В.А., Жаков Ю.А., Новикова Н.Я. и соавт. Радиационная обстановка в районе размещения Калининской АЭС до начала ее работы. Отчет о НИР. — М.: ИБФ МЗ РФ, 1983, 40 с.
4. Ильин Л.А., Шандала Н.К., Савкин М.Н. и соавт. Мониторинг радиационно-гигиенической обстановки в районах размещения АЭС. // В кн.: «Гигиеническая наука и практика на рубеже XXI века». Материалы IX Всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей, Москва, 17–19 окт. 2001 г. — М.: МЗ РФ, 2001, Том II, С. 565–569.
5. Ильин Л.А., Шандала Н.К., Савкин М.Н. и соавт. Место и роль радиационно-гигиенического мониторинга в системе социально-гигиенического мониторинга. // Гигиена и санитария, 2004, № 5, С. 9–15.
6. Шандала Н.К., Петухова Э.В., Иванов Е.А. и соавт. Оценка радиационно-гигиенической обстановки и доз облучения населения в зонах наблюдения некоторых АЭС России. // В кн.: «Экологическая безопасность, техногенные риски и устойчивое развитие». Сб. научн. трудов конф. Ядерного общества России, Москва, 23–27 июля 2002 г. — М.: РАН, 2002, С. 322–325.
7. Ильин Л.А., Шандала Н.К., Савкин М.Н. и соавт. Состояние и перспективы мониторинга радиационно-гигиенической обстановки в районах АЭС. // Бюлл. по атомной энергии, 2004, № 4, С. 56–62; № 5, С. 66–71.
8. Санитарные правила проектирования и эксплуатации атомных станций (СП АС-99) Санитарные правила. СП 2.6.1.27-2000. — М., 2000, 70 с.
9. Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности ОСПОРБ-99/2010.
10. Внедрение показателей радиационной безопасности о состоянии объектов окружающей среды, в т.ч. продовольственного сырья и пищевых продуктов в систему социально-гигиенического мониторинга. Методические указания. — М.: Минздрав России, 2004, 24 с.
11. Методические рекомендации по санитарному контролю за содержанием радиоактивных веществ в объектах внешней среды. Под ред. А.Н. Марья. — М.: Институт биофизики МЗ СССР, 1980, 336 с.
12. Коренков И.П., Польский О.Г., Коренков А.П., Тихомиров В.А. Руководство по методам контроля за радиоактивностью окружающей среды. — М.: Медицина, 2002, 394 с.
13. Нормы радиационной безопасности. НРБ-99/2009.
14. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. СанПиН 2.3.2.1078-01 — М.: ФГУП «ИнтерСЭН», 2002, 168 с.
15. Шандала Н.К., Петухова Э.В., Савкин М.Н. и соавт. Результаты радиационного мониторинга в г. Москве. // Гигиена и санитария, 2001, № 1, С. 26–30.
16. Shandala N.K., Petuhova E.V., Novikova N.Ya. et al. Monitoring of radiation-hygiene situation in areas of disposition of nuclear power plants. // 11th International Congress on the International Radiation Protection Association, Madrid, 2004, P. 259–260.
17. Шандала Н.К., Коренков И.П., Котенко К.В., Новикова Н.Я. Глобальные и аварийные выпадения ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr. — М.: Медицина, 2009, 208 с.
18. Санитарные правила проектирования и эксплуатации атомных станций СП АС-03. СанПин 2.6.1.24-03. — М.: 2004, 66 с.

Поступила: 12.01.2015

Принята к публикации: 04.02.2015

А.К. Гуськова

Принципы подготовки медиков общего профиля для участия в оказании помощи при радиационных авариях и инцидентах

A.K. Guskova

Principles of Special Education of General Medical Practishinars for Participation in Radiation Situation

РЕФЕРАТ

Радиационный фактор прочно вошел в жизнь современного человека. Численность контактирующих с ним контингентов достигает нескольких сотен тысяч. Доля территорий с повышенным радиационным фоном составляет около половины общей площади. Механизм отягчения техногенным облучением различный, вследствие чего возрастает значение динамики уровней доз. Определены наиболее полезные базовые специальности медицинских работников для участия в радиационных инцидентах. Рекомендуются программы и формы их обучения.

Ключевые слова: *ионизирующее излучение, техногенные источники нормативы, реальные дозы, категории территорий, базовые специальности, формы обучения*

ABSTRACT

Radiation factor has come to stay in modern life. The quantity of contingents contacting is about of some hundreds of thousands. The part of areas with increased radiation field is about 1/2. The mechanism of aggravation caused by irradiation from man made sources is different. The significance of the dose level changes is described. The most useful basic specialties of health-care workers are defined. Certain programs and forms of training are recommended.

Key words: *ionizing radiation, technogenic sources, guidelines, real doses, categories of areas, basic specialties, forms of training*

Радиационный фактор прочно вошел в жизнь современного человека. Это касается и России. Выделяются профессиональные контингенты и территории с повышенным техногенным облучением. Численность профессионалов, работающих в области получения источников атомной энергии и а также с другими видами использования энергии ионизирующего излучения, очень велика. Она составляет несколько сотен тысяч человек.

Значительную долю территорий страны составляют регионы с отклоняющимися от средних нормативных величин фоном радиации. Это стало особенно актуально тогда, когда доза в 1 мЗв в год дополнительно к природному фону стала считаться показателем наличия техногенного облучения. Такой норматив возник после аварии ЧАЭС, имевшей место почти 29 лет тому назад. Его трудно научно обосновать, так же как и оценить дополнительный риск от него по отношению к природному фону (2–4 мЗв в год).

Не учитываются вариации природного фона в некоторых регионах страны, многократно превышающие средние значения.

Таким образом, даже в этот относительно благополучный период в атомной отрасли наличествуют контингенты и регионы, работа медиков в которых требует определенной профессиональной культуры. Она не может быть обеспечена деятельностью только сохранившихся немногих научных учреждений и медицинских кадров, имеющих реальный опыт работы в области радиационной медицины. Это ставит вопрос о систематической подготовке значительных по численности кадров всех медицинских работни-

ков как в обычных условиях, так и особенно в случаях возникновения крупномасштабной радиационной аварии. Исключить возможность последней, даже при высоком технологическом совершенствовании отрасли, нельзя. Таким образом, возникает целый ряд задач, касающихся широкого круга медицинских работников, которых придется привлечь к работе, требующей хотя бы минимума знаний в области радиационной медицины.

Можно назвать некоторые базовые специальности медиков, привлечение которых к работе в радиационных ситуациях наиболее целесообразно и обеспечивается во многом характером их повседневной деятельности. Одним из существенных сдвигов, весьма распространенных у людей, но лишь в очень малой степени связанных с воздействием излучения, является изменение картины крови. Поэтому понятно, что в качестве первых лиц, привлекаемых к работам подобного рода, станут интернисты-гематологи.

Имея в виду наибольшую реальность возникновения местных лучевых поражений, полезным может стать опыт хирургов-травматологов, владеющих диагностическими и лечебными приемами у пациентов соответствующего профиля. Вместе с тем, им необходимы специальные знания, позволяющие достоверно отличать поражения лучевой этиологии от вызванных другими причинами.

Каждое необычное событие (стихийное бедствие, катастрофа), особенно со своеобразием его психологического восприятия при действии излучения, закономерно требует привлечения к деятельности медицинских психологов и психиатров. Очень важно и то,

что ионизирующее излучение не имеет в организме специфических рецепторов для его восприятия. Это отличает радиацию от действия других неблагоприятных факторов, которые могут быть охарактеризованы тем или иным ощущением. Сведения о возможном действии радиации приходят через слово или восприятие видимой картины повреждения объектов с источниками радиации. При этом воспринимается как ощущение результат трансформации энергии излучения и возникающие при этом повреждения органов и систем организма. Примеры значимости воздействия на человека отдельных систем информации весьма многочисленны, в т.ч. и при возникновении Чернобыльской аварии. Было показано также влияние нерадиационных факторов. Однако выявлено и ограниченное число лиц, давших подобные реакции, в случае привлечения к их исследованию квалифицированных психиатров.

Из среднего медицинского персонала наиболее полезную основу создает их обычная деятельность в медицинских учреждениях инфекционного профиля или других подразделениях, требующих строгого учета опасности инфекций и значимости доступных мероприятий, обеспечивающих асептический режим.

Это не значит, что не должны привлекаться и другие медицинские специальности, но первоочередными являются указанные выше.

Несомненно, что при наличии исходных благоприятных предпосылок, связанных с особенностями профессии, необходимо заблаговременное продуманное обучение медиков общего профиля для подготовки их к работе в специальных условиях, связанных с воздействием радиации на организм человека и окружающую среду. Подобный аспект должен быть предусмотрен и в образовании гигиенистов различного профиля, поскольку радиация является реальным фактором окружающей среды каждого человека.

Накоплен значительный опыт в плане количественной оценки радиационного фактора в среде обитания и в биологическом эффекте его действия на человека, животных, природу. Кратко систематизированные в доступной форме эти сведения должны войти в систему медицинского образования и последующей подготовки медиков к работе в многообразных радиационных ситуациях. К сожалению, в настоящее время в программах медицинских вузов изучение действия радиации ограничивается до сих пор сведениями, которые могут стать полезными только для рентгенолога и радиолога, применяющего облучение для целей диагностики и лечения. Оно отнюдь не предусматривает их готовность к оценке и нормированию действия излучения, предотвращающего его опасность для человека. Заметно редуцировались радиологические группы Роспотребнадзора. Радиационная тематика сохранилась в деятельности лишь немногих учреждений (Медицинской радио-

логический научный центр им. А.Ф. Цыба МЗ РФ, Институт радиационной гигиены им. П.В. Рамзаева Роспотребнадзора). Возник новый эффективно работающий в течение нескольких лет в структуре Академии наук РФ Институт проблем безопасного развития атомной энергетики. Значительно сократился радиационный профиль в работе ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. Исчезли специализированные клинические отделения, позволявшие динамически наблюдать определенные контингенты, подвергавшиеся воздействию радиации. Функционирует, в основном, небольшая аналитико-консультативная группа, использующая в своих научных изысканиях накопленный ранее огромный опыт, минимально пополняемый в последние годы.

Непосредственное участие в работе профильных международных организаций осуществляется преимущественно работающими по международным программам уральскими учреждениями (Южно-Уральский ФМБЦ и Научно-практический центр радиационной медицины). Для подготовки национальных докладов, обобщающих документы и рекомендаций привлекаются отдельные сотрудники ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, в том числе Л.А. Ильин, А.К. Гуськова, И.А. Галстян, В.И. Краснюк, А.Ю. Бушманов, Н.К. Шандала.

Все указанное выше требует совершенствования подготовки общемедицинских кадров по радиационной медицине с максимальным использованием немногих сотрудников, имеющих подобный опыт, деятельность которых высоко оценена международной научной общественностью. Могут быть сформированы программы для медиков общего профиля, реализуемые 1–2 раза в год. Они должны быть краткосрочными, доступными по форме и в то же время содержащими все минимально необходимые сведения, которые бы делали действия этих медиков наиболее адекватными к каждой конкретной радиационной ситуации.

Наиболее целесообразны, по нашему опыту, не лекции, а активные семинары с завершающими занятиями комментариями опытных педагогов, подводящими итоги семинара. Необходимо сообщить слушателям и краткие сведения о механизме действия ионизирующего излучения и количественных характеристиках этого воздействия — дозах облучения. Необходимо, чтобы характеристика доз во внешней среде сочеталась со сведениями о возможных уровнях облучения действующих в этой среде людей. Следует привести классификацию диапазонов доз с типичными для них клиническими проявлениями:

- отсутствие определяемых изменений;
- лабораторные признаки реакций наиболее радиочувствительных физиологических систем;
- собственно лучевая болезнь с общими и местными проявлениями.

Эти диапазоны должны быть сопоставлены с принятыми нормативами для того, чтобы врач мог ориентировочно оценить опасность для человека и среды по уровню этих доз. Именно по такому показателю мониторинга сведений почвенных дозиметров была оценена Ю.А. Израэлем масштабность радиационной аварии на Чернобыльской АЭС. Карта экспозиционных доз гамма-излучения промплощадки и прилегающей территории через 9–12 часов от момента возникновения аварии стала основным ориентиром для работы и решений правительственной комиссии.

К сожалению, во всей истории атомной промышленности характерно отсутствие такой своевременной информации, адресованной непосредственным участникам событий. Информация адресуется, в основном, правительственным учреждениям и лицам, принимающим те или иные решения для регионов страны.

Другим существенным недостатком является то, что ограниченная и неполная информация, непосредственно следующая за событием, в дальнейшем, не пересматривается. Понятно, что неполная информация в начальные сроки решения принимается при наиболее неблагоприятном предположении о величине доз и степени опасности. Однако в дальнейшем, по мере уточнения информации на основе естественной динамики спада уровней облучения, степень опасности может быть пересмотрена. Как правило, сохраняется первоначальное категорирование затронутых радиацией территорий и контингентов, хотя для многих из них уровни облучения становятся значительно меньшими, зачастую приближаясь к природному фону. Подобная динамика имела место и при испытаниях ядерного оружия и их прекращении, а также и при крупномасштабных радиационных авариях (ВУРС, авария ЧАЭС). Это далеко не всегда учитывалось в последующие годы при стратификации зон и контингентов.

Минимальные социальные льготы отнюдь не компенсировали трудности в жизни людей и только закрепляли их в психологическом восприятии себя как «пожизненных жертв радиации».

Следует отметить, что подобные попытки пересмотра экологии отдельных регионов предпринимались в последнее время в виде специальных проектов МАГАТЭ, а также в практических решениях некоторых стран (Белоруссия). Однако представление изменений для категорий территории не сопровождается пересмотром судьбы проживающих на них лиц.

Следующей неперменной темой семинара должно явиться изложение и обсуждение правил диагностики основных типов лучевых поражений, возникающих в различных радиационных ситуациях. Должны быть охарактеризованы основные типичные формы, требующие тех или иных решений на месте

аварии в определении показаний к эвакуации и системе неотложных диагностических и лечебных мер у пострадавших. С точки зрения ограничения числа пострадавших особую актуальность приобретает поведение непосредственных участников аварии. Именно нарушение этих правил повлекло за собой высокую численность лиц с лучевой болезнью при аварии ЧАЭС. Примерно у четверти лиц, находившихся в момент аварии на промплощадке, возникло предположение о возможности развития у них лучевой болезни, которое было впоследствии подтверждено у 134 человек. Из них 108 наиболее тяжелых пациентов было верифицировано в клинике Института биофизики МЗ СССР и 26 — в медицинских учреждениях Киева.

Должно быть усвоено положение, что лицам, заподозрившим возможность радиационной аварии, следует как можно скорее покинуть аварийное помещение, маркировать вход в него как опасный и предотвратить приближение к нему других людей, находящихся на промплощадке. Возврат или оставление в аварийной зоне мотивируются лишь нуждаемостью в срочной помощи одному из участников или возможностью осуществления краткосрочной манипуляции на системах водо- и энергоснабжения, позволяющих минимизировать последствия аварии. Должно быть оговорено, что показаниями для направления в медучреждения могут явиться как сведения о предполагаемой пороговой дозе облучения, так и клинические проявления, сходные с проявлениями лучевой болезни. Именно так было при аварии ЧАЭС. Пациенты с ОЛБ идентифицировались по дозам, лишь позднее — по правилам их биологической индикации или результатам измерений, проведенных уже в стационаре при жизни или уже после смерти.

Очень важным является также обсуждение на семинаре с медиками проблемы оценки состояния здоровья и рационального трудоустройства лиц, перенесших лучевую болезнь и местные лучевые поражения. Должны быть определены оптимальные сроки выписки из стационара, необходимость дальнейшего повторного обследования и лечения и возможность рационального трудоустройства. Последнее не столько необходимо в плане привлечения к труду таких немногочисленных кадров, сколько полезно для их социальной активности. Полезно осведомить слушателей о многолетнем опыте длительного наблюдения за пациентами, перенесшими лучевую болезнь.

Посещение семинаров должно быть обязательным. Сведения об успешном зачете необходимо учитывать при их аттестации по основной специальности.

Поступила: 14.07.2014

Принята к публикации: 05.02.2015

**А.М. Лягинская¹, В.В. Романов², И.М. Петоян¹, В.А. Осипов¹,
А.П. Ермалицкий¹**

**СОСТОЯНИЕ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ,
ПРОЖИВАЮЩЕГО ВБЛИЗИ СМОЛЕНСКОЙ АЭС**

**A.M. Lyaginskaya¹, V.V. Romanov², I.M. Petoyan¹, V.A. Osipov¹,
A.P. Ermalitskiy¹**

Health of the Population Resided Close to Smolensk NPP

РЕФЕРАТ

Цель: Апробация системы контроля возможного радиационного воздействия на здоровье населения, проживающего в зоне размещения радиационно-опасных объектов.

Материал и методы: В рамках социально-гигиенического мониторинга выполнено исследование здоровья населения, проживающего вблизи Смоленской АЭС, включающее оценки здоровья взрослых, детей и оценки репродуктивного здоровья. Основные исследования относятся к пятилетнему периоду 2003–2007 гг., по отдельным показателям они были продолжены до 2012 г.

Результаты: Полученные данные позволяют сделать выводы о благополучном состоянии здоровья взрослого и детского населения, проживающего вблизи Смоленской АЭС. Исследование показало отсутствие связи негативных тенденций в изменении отдельных показателей здоровья взрослого и детского населения с влиянием АЭС.

Ключевые слова: *здоровье населения, смертность, заболеваемость, репродуктивное здоровье, Смоленская АЭС*

ABSTRACT

Purpose: Conducting testing control system for possible radiation effects on the health of population resided in radiation hazard zone.

Material and methods: In the framework of public monitoring the health assessment of people (adults and children) including evaluation of reproductive health of population resided close to Smolensk NPP, have been carried out. Basic research related to the five-year period of 2003–2007, on separate indicators continued until 2012.

Conclusion: The data obtained allow to draw conclusion that the health of the population resided near Smolensk NPP can be considered as about of the prosperous state in comparison with general population of the country. The study found no association of negative trends in the individual health outcomes of children and adults with the influence of nuclear power plant.

Key words: *population health, mortality, morbidity, reproductive health, Smolensk NPP*

Введение

Перспективы атомной энергетики в стране предполагают наличие адекватного медико-гигиенического сопровождения программы ее развития, главной задачей которого является обеспечение безопасности населения, проживающего вблизи АЭС, и минимизация техногенной нагрузки на окружающую среду. Внешним звеном этой системы является прогноз возможных изменений в состоянии здоровья населения и окружающей среды и оценка возможного риска этих изменений за счет техногенной нагрузки.

Реальный радиационный риск для населения от работающих в штатном режиме АЭС маловероятен. Тем не менее, контроль за здоровьем населения, проживающего в зоне радиационного риска, является обязательным условием безопасной работы АЭС и регламентируется законом РФ о радиационной безопасности населения [1].

На объектах и территориях, обслуживаемых ФМБА России, контроль состояния здоровья населения, проживающего вблизи радиационно-опасных

предприятий, осуществляется в рамках утвержденного приказом ФМБА России [2] социально-гигиенического мониторинга, предусматривающего обязательный объем и структуру показателей популяционной оценки здоровья населения.

Впервые в рамках социально-гигиенического мониторинга выполнено исследование здоровья населения, проживающего вблизи Смоленской АЭС, включающее оценки здоровья взрослых, детей и оценки репродуктивного здоровья. Целью работы являлось выявление возможного влияния указанной АЭС на здоровье населения.

Материал и методы

В соответствии с основной целью работы — контролем появления возможных радиационных эффектов — в качестве основных показателей популяционного здоровья использованы:

- медико-демографические характеристики населения (численность и половозрастная структура);

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: fmbc-fmba@bk.ru

² Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Россия

¹ A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia. E-mail: fmbc-fmba@bk.ru

² Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

- смертность: частота и причины (общая, детская, младенческая, в том числе от злокачественных новообразований, их частота и структура);
- заболеваемость с впервые установленным диагнозом (общая, детская, младенческая, в том числе от злокачественных новообразований);
- детская инвалидность;
- репродуктивный потенциал (репродуктивное здоровье, рождаемость, перинатальная смертность), частота рождения детей с патологией, в том числе с врожденными пороками развития (ВПР).

Для получения необходимой информации и оценок показателей здоровья использовали данные медицинской статистики — отчетные формы 7, 12, 19, 30, 31 и 32.

Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартных методов, принятых при анализе медико-биологических данных [3]. Для всех изучаемых показателей рассчитаны интенсивные показатели (на 1 тыс., на 100 тыс.). При обработке данных использован регрессионный анализ, позволяющий оценить рост или убывание исследуемого показателя за единицу времени в выбранном для анализа временном интервале.

Основные исследования относятся к пятилетнему периоду 2003–2007 гг., по отдельным показателям они были продолжены до 2012 г.

Таблица 1

Численность и возрастная структура населения (в % от общей численности)

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Относительные единицы (Все население)									
0 — до года	0,9	0,9	1,0	0,9	1,0	1,0	0,1	0,0	0,79
0–14	15,5	14,7	15,8	15,2	15,7	15,4	0,5	0,1	0,29
15–17	6,1	5,7	6,7	5,1	4,7	5,7	0,8	–0,3	0,68
18–60	69,4	70,5	69,0	68,5	69,8	69,4	0,8	–0,1	0,25
60+	9,0	9,1	8,6	11,2	9,9	9,5	1,0	0,4	0,58
Абсолютные величины (Все население)									
0–60+	33416	35582	32081	31848	31863	32958,0	1604,3	–684,0	0,67
0 — до года	292	323	328	302	324	313,8	15,8	4,3	0,43
0–14	5193	5224	5067	4840	5002	5065,2	155,1	–76,6	0,78
15–17	2032	2032	2139	1637	1494	1866,8	283,0	–147,1	0,82
18–60+	26191	28326	24875	25371	25367	26026,0	1369,8	–460,3	0,53
Абсолютные величины (Мужчины)									
0–60+	15857	16892	15224	14914	15015	15580,4	819,7	–366,2	–0,71
0 — до года	146	161	164	151	162	156,8	7,9	2,2	0,44
0–14	2612	2612	2533	2420	2498	2535,0	81,3	–42,0	0,82
15–17	1016	1016	1069	818	747	933,2	141,5	–73,6	0,82
18–60+	12229	13264	11622	11676	11770	12112,2	687,0	–250,6	0,58
Абсолютные величины (Женщины)									
0–60+	17590	18690	16855	16898	16842	17375,0	799,6	–328,8	0,65
0 — до года	146	161	164	151	162	156,8	7,9	2,2	0,44
0–14	2612	2612	2533	2420	2498	2535,0	81,3	–42,0	0,82
15–17	1016	1016	1069	818	747	933,2	141,5	–73,6	0,82
18–60+	13962	15062	13253	13660	13597	13906,8	693,2	–213,2	0,49

1. Медико-демографическая характеристика населения

Медико-демографические данные о населении — численность и рождаемость — характеризуют воспроизводство популяции и используются для расчета интенсивных показателей, являющихся неотъемлемой частью анализа здоровья населения.

В 2003–2007 гг. в общей структуре населения численность детского населения (до 14 лет) составляла 15,4 %, вместе с подростками (0–17 лет) — 20,5 %. Численность населения нетрудоспособного возраста (старше 60 лет) — 9,5 %, трудоспособного возраста (18–59 лет) — 70 % (табл. 1). Наметилась тенденция к росту числа лиц нетрудоспособного возраста с 8,9 % в 2003–05 гг. до 10,5 % в 2006–07 гг. и уменьшения числа лиц репродуктивного возраста с 38,2 % в 2003 г. до 36,4 % в 2006–07 гг.

В общей численности населения трудоспособного возраста численность женщин в среднем была на ~7 % больше, чем мужчин (52 % и 45 % соответственно).

Рождаемость в наблюдаемый период составляла в среднем $9,9 \pm 1,1$ на 1 тыс. чел. Динамика рождаемости имела выраженную тенденцию к росту. Показатель смертности варьировал от 8,4 до 10,6 на 1 тыс. чел., в среднем смертность в наблюдаемый период составила $9,7 \pm 0,9$ на 1 тыс. чел. Прирост населения имел положительную тенденцию. Коэффици-

Таблица 2

Показатели рождаемости и смертности (на 1 тыс.) и естественного прироста/убывания населения

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Рождаемость на 1 тыс. чел.	8,7	9,1	10,8	9,7	11,3	9,9	1,1	0,6	0,83
Смертность на 1 тыс. чел.	9,8	8,4	10,4	9,4	10,6	9,7	0,9	0,3	0,47
Прирост/убыль населения	-1,05	0,67	0,34	0,38	0,66	0,20	0,71	0,31	0,69
K (рождаемость/смертность)	0,89	1,08	1,03	1,04	1,06	1,02	0,07	0,03	0,63

Таблица 3

Динамика смертности взрослого населения по основным классам болезней, на 100 тыс.

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего	1268	1056	1343	1175	1332	1235	120,4	24,9	0,33
Инфекционные	34,4	7,1	24,1	19,7	15,8	20,2	10,1	-2,5	0,38
Новообразования	198,5	144,7	233,2	177,4	240,5	198,9	39,7	11,6	0,46
Органов кровообращения	652,9	550,7	699,5	603,1	717,5	644,7	68,8	18,1	0,42
Органов дыхания	30,5	42,4	28,1	15,8	27,6	28,9	9,5	-3,2	0,54
Органов пищеварения	64,9	74,1	32,2	51,2	67,0	57,9	16,6	-1,9	0,18
Мочеполовая система	11,5	10,6	16,1	3,9	15,8	11,6	4,9	0,2	0,06
Врожденные аномалии	0,0	10,6	0,0	3,9	3,9	3,7	4,3	0,1	0,05
Травмы и отравления	156,5	169,5	229,1	197,1	177,4	185,9	28,3	6,9	0,39
Прочие	118,4	45,9	80,4	102,5	67,0	82,8	28,6	-4,6	0,26

циент K, характеризующий отношение рождаемости к смертности, в среднем был выше единицы (табл. 2).

В целом динамика показателя воспроизводства населения имеет слабую положительную тенденцию роста.

2. Здоровье взрослого населения

В современной практике изучения здоровья населения основное внимание уделяется всестороннему анализу причин смерти и заболеваемости по данным обращаемости за медицинской помощью.

Смертность относится к показателям, характеризующим в том числе и возможные отдаленные эффекты облучения населения в малых дозах (стохастические), к которым относятся, прежде всего, злокачественные новообразования.

Заболеваемость является одним из важных показателей здоровья населения, позволяющим оперативно оценивать эффективность взаимодействия человека и окружающей среды, принимать решения, связанные с управлением факторами риска, его определяющими, принимать обоснованные решения по медико-социальной реабилитации населения.

Основными показателями заболеваемости являются:

- общая заболеваемость взрослого и детского населения;
- заболеваемость злокачественными новообразованиями взрослого и детского населения.

2.1. Смертность от основных заболеваний

Средние показатели смертности взрослого населения в анализируемый период оставались ниже, чем по Российской Федерации в целом — $1235 \pm 120,4$ и $1637,6$ на 100 тыс. чел. соответственно (табл. 3). Первое место в причинах смерти занимали болезни органов кровообращения — 52,2 % (644,7 на 100 тыс. чел.), второе место — новообразования — 16,1 % (198,9 на 100 тыс. чел.), третье место — травмы и отравления — 15,1 % (185,9 на 100 тыс. чел.), четвертое место — болезни органов пищеварения — 4,6 % (57,9 на 100 тыс. чел.). Такое ранжирование причин смерти взрослого населения соответствует распределению причин смерти населения страны в целом (рис. 1).

В целом, динамика смертности населения имеет негативную тенденцию к росту (тренд +24,9). В причинах смертности негативная тенденция характерна для болезней органов кровообращения (тренд +18,1), новообразований (тренд +11,6), травм и отравлений (тренд +6,9).

Наблюдается положительная тенденция снижения смертности от болезней органов дыхания (тренд -3,2) и органов пищеварения (тренд -1,9).

2.2. Смертность от злокачественных заболеваний

С 40–50 гг. XX в. злокачественные заболевания занимают второе место после сердечно-сосудистых заболеваний в структуре причин смертности населения. В Российской Федерации они составляют 17 % от всех причин смерти. Смерть от злокачественных

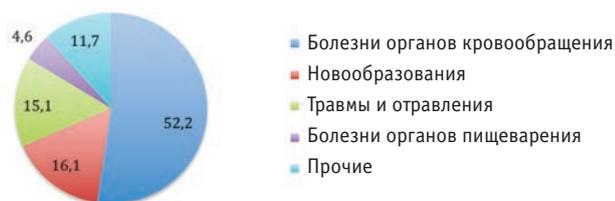


Рис. 1. Причины смерти взрослого населения



Рис. 2. Показатели смертности всего населения от злокачественных новообразований

Таблица 4

Показатели смертности населения в целом от злокачественных новообразований на 100 тыс. чел.

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего	179,5	148,3	221,1	157,7	232,6	187,8	37,6	11,6	0,49
Органы пищеварения	38,2	45,9	100,5	51,2	59,1	59,0	24,4	4,7	0,31
Трахеи, бронхи, легкое	45,8	24,7	48,2	19,7	55,2	38,7	15,6	1,4	0,14
Молочная железа	7,6	10,6	16,1	19,7	7,9	12,4	5,3	1,0	0,29
Шейка и тело матки, яичники	15,3	14,1	16,1	23,6	27,6	19,3	5,9	3,4	0,91
Предстательная железа	3,8	3,5	4,0	0,0	0,0	2,3	2,1	-1,1	0,85
Мочевые пути	3,8	3,5	12,1	7,9	0,0	5,5	4,6	-0,3	0,11
Щитовидная железа	0,0	3,5	0,0	0,0	3,9	1,5	2,1	0,4	0,34
Злокачественные лимфомы	3,8	10,6	0,0	7,9	3,9	5,2	4,1	-0,2	0,10
Лейкемии	0,0	3,5	0,0	0,0	11,8	3,1	5,1	2,0	0,62
Прочие	61,1	31,8	24,1	27,6	47,3	38,4	15,5	-3,2	0,03

новообразований в исследуемой когорте также занимает второе место в причинах смерти всего населения с частотой $187,8 \pm 39,7$ на 100 тыс. чел. и составляют 16,1 % в общей структуре смертности. Смертность от злокачественных новообразований в анализируемый период характеризуется слабой тенденцией к росту (табл. 4).

В структуре смертности от новообразований первое место занимают заболевания органов пищеварения — 31,4 % (59,0 на 100 тыс. чел.), второе — заболевания органов респираторной системы — 20,1 % (38,7 на 100 тыс. чел.) и третье — заболевания женской репродуктивной системы — 10,2 % (19,3 на 100 тыс. чел.) (рис. 2).

Смертность от злокачественных новообразований прямо пропорциональна возрасту — с увеличением возраста растет и число случаев смерти от этого класса болезней. Показатель смертности от новообразований выше у мужчин, чем у женщин (183,5 и 128,1 на 100 тыс. чел. соответственно). В структуре причин смертности от новообразований у мужчин первое место занимали новообразования органов дыхания (62,3 на 100 тыс. чел.), второе — органов пищеварения (52,8 на 100 тыс. чел.), третье — органов мочеполовой системы (15,1 на 100 тыс. чел.). У женщин структура соответственно — на первом месте новообразования органов пищеварения (62,3 на 100 тыс. чел.), молочной железы (21,9 на 100 тыс. чел.) и ор-

ганов мочеполовой системы (19,6 на 100 тыс. чел.) (табл. 5).

Таблица 5

Показатели смертности мужчин и женщин от новообразований различных локализаций на 100 тыс. чел.

Локализация опухолей	Мужчины	Женщины	Все население
Органы пищеварения:	52,8	62,3	58,6
из них желудок	18,9	31,2	25,6
Трахеи, бронхи, легкое	62,8	5,8	33,5
Молочная железа	1,3	21,9	12,2
Шейка и тело матки, яичники	0,0	19,6	10,4
Предстательная железа	6,3	0,0	3,0
Мочевые пути	15,1	3,5	9,1
Щитовидная железа	0,0	0,0	1,2
Лейкозы	5,0	2,3	3,7
Лимфатическая и кроветворная ткани	10,1	3,5	6,7
Прочие	30,2	9,2	18,3
Всего	183,5	128,1	157,0

2.3. Общая заболеваемость

Заболеваемость является важнейшим количественным и качественным показателем здоровья популяции, характеризующим распространенность, структуру и динамику зарегистрированных болезней

Таблица 6

Общая и по классам болезней заболеваемость взрослого населения на 1 тыс. чел.

Заболевания по классам болезней (МКБ-10)	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего заболеваний	459,8	338,0	476,6	535,9	602,1	492,5	81,9	43,9	0,85
Инфекционные и паразитарные	20,5	22,0	25,5	36,1	36,3	28,1	7,6	4,6	0,95
Новообразования	19,5	11,2	14,8	13,6	21,5	16,1	4,3	0,7	0,24
Крови и кроветворных органов	0,6	0,8	0,3	0,2	0,5	0,5	0,2	-0,1	0,60
Эндокринной системы	21,8	17,7	15,2	13,4	16,9	17,0	3,2	-1,4	0,71
Психические расстройства	4,4	3,2	3,6	3,0	3,1	3,5	0,6	-0,3	0,80
Нервной системы	0,9	1,2	3,1	3,5	3,5	2,4	1,3	0,7	0,93
Болезни глаз	26,2	13,9	29,5	33,8	36,4	28,0	8,8	4,0	0,72
Болезни уха	46,5	36,3	49,4	55,5	51,2	47,8	7,2	2,8	0,62
Системы кровообращения	15,2	13,2	19,3	20,6	22,9	18,2	4,0	2,3	0,91
Органов дыхания	163,9	162,1	197,5	198,8	221,1	188,7	25,2	15,1	0,95
Органов пищеварения	10,7	8,8	9,7	14,1	12,7	11,2	2,2	0,9	0,68
Кожи и подкожной клетчатки	24,3	29,9	25,0	43,3	42,5	33,0	9,3	5,0	0,85
Костно-мышечной системы	29,9	19,5	23,6	36,3	40,4	30,0	8,6	3,8	0,69
Мочеполовой системы	34,9	24,1	23,1	18,7	25,3	25,2	5,9	-2,5	0,66
Врожденные заболевания	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,0	0,32
Другие признаки	1,5	0,9	1,3	2,3	5,2	2,2	1,7	0,9	0,80
Травмы и отравления	38,9	23,0	35,6	42,5	62,4	40,5	14,3	6,7	0,74

населения. Общая заболеваемость взрослого населения (18–60 лет и старше) представлена в табл. 6.

Уровень первичной заболеваемости населения составлял в среднем $492,5 \pm 81,9$ на 1 тыс. чел., что ниже среднего значения данного показателя по РФ ($713,1$ на 1 тыс. чел.). Выявляется негативная тенденция роста общей заболеваемости с $459,8$ в 2003 г. до $602,1$ на 1 тыс. чел. в 2007 г. (тренд $+43,9$).

В структуре заболеваемости первое место занимают болезни органов дыхания ($188,7 \pm 25,2$), второе место — болезни уха ($47,8 \pm 7,2$), третье — болезни кожи и подкожной клетчатки и костно-мышечной ткани ($33,0 \pm 9,0$ и $30,0 \pm 8,6$ на 1 тыс. чел. соответственно) (рис. 3). Динамика роста общей заболеваемости обусловлена, в основном, ростом заболеваемости органов дыхания, болезней уха, кожи и подкожной клетчатки, а также заболеваний костно-мышечной системы.



Рис. 3. Структура заболеваемости взрослого населения

2.4. Заболеваемость злокачественными новообразованиями

Заболеваемость взрослого населения злокачественными новообразованиями составляет $317,0$ на 100 тыс. чел. населения и характеризуется устойчивой тенденцией к росту (тренд $+57,5$) с $213,8$ в 2003 г. до $441,2$ на 100 тыс. чел. в 2007 г. (табл. 7).

Таблица 7

Заболеваемость взрослого населения злокачественными новообразованиями на 100 тыс. чел.

Злокачественные новообразования	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего заболеваний	213,8	254,2	301,5	374,4	441,2	317,0	91,6	57,5	0,99
Органов пищеварения	61,1	53,7	104,5	67,0	95,9	76,4	22,4	8,3	0,59
Шейки матки, тела матки, яичников	34,4	46,6	28,1	35,5	53,7	39,6	10,3	2,8	0,42
Органов дыхания	15,3	35,8	32,2	39,4	42,2	33,0	10,6	5,7	0,86
Молочной железы	49,6	17,9	32,2	59,1	49,9	41,7	16,5	4,2	0,40
Щитовидной железы	0,0	7,2	0,0	27,6	30,7	13,1	15,0	8,2	0,86
Лейкозы	3,8	0,0	0,0	7,9	3,8	3,1	3,3	0,8	0,38
Прочие	49,6	93,1	104,5	138,0	165,0	110,0	44,0	27,5	0,99

Таблица 8

Показатели смертности детей по данным ЗАГС на 1 тыс. детей

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Ранняя неонатальная смертность	6,8	9,3	9,1	0,0	3,1	5,7	4,0	1,7	0,66
Младенческая смертность	13,7	12,4	9,1	3,3	6,2	8,9	4,3	-2,4	0,89
Общая детская смертность	1,2	1,9	1,2	0,4	0,6	1,1	0,6	-0,3	0,72

Таблица 9

Основные причины младенческой и детской смертности

Причины	Младенческая смертность		Детская смертность	
	на 1 тыс.	удельный вес, %	на 1 тыс.	удельный вес, %
Все причины	9,8	100	1,1	100
Новообразования	–	–	0,1	10
Болезни органов дыхания	1,3	13,3	0,1	10
Перинатальные состояния	2,5	25,5	0,2	20
ВПР	3,2	32,6	0,3	30
Травмы и отравления	2,5	25,5	0,2	20
Другие причины	0,3	3,1	0,1	10

Показатели заболеваемости злокачественными новообразованиями в стране по данным отчетной статистики составили 352 на 100 тыс. чел. населения и также имеют тенденцию к росту.

В структуре заболеваемости ведущее место занимают патологии органов пищеварения (76), второе место — заболевания молочной железы (41) и женских половых органов (39,6), третье место — органов дыхания (33,0 на 100 тыс. чел. соответственно).

Структура заболеваемости злокачественными новообразованиями исследуемой когорты не отличается от структуры заболеваемости этой патологией населения страны в целом, а общая частота — ниже.

3. Здоровье детского населения

Детский организм, находящийся в стадии роста и развития, отличается высокой чувствительностью к воздействию различных неблагоприятных факторов окружающей среды, вследствие чего дети в условиях потенциального риска радиационного воздействия рассматриваются как критическая группа населения.

3.1. Смертность

В структуре детской смертности основную долю (80–85 %) занимает младенческая (смертность до года), 50–80 % которой составляют перинатальные потери (мертворождения и ранняя неонатальная смертность).

Общая детская смертность в наблюдаемый период составила $1,1 \pm 0,6$ на 1 тыс. детей, ранняя неонатальная смертность — $5,7 \pm 4,0$ на 1 тыс. живых ново-

рожденных, младенческая смертность — $8,9 \pm 2,4$ на 1 тыс. чел. (табл. 8).

Все показатели детской смертности имели положительную тенденцию снижения: $-1,7$; $-2,4$; $-0,3$ соответственно для ранней неонатальной, младенческой и общей смертности.

Основными причинами младенческой смертности явились врожденные пороки развития (ВПР) — 3,2 (32,6 %), травмы и отравления, а также перинатальные состояния — по 2,5 (25,5 %) и болезни органов дыхания — 1,3 на 1 тыс. (13,3 %) (табл. 9). Подобная картина сохраняется и для основных причин общей детской смертности: врожденные пороки развития — 0,3 (30 %), травмы и отравления, а также перинатальные состояния — по 0,2 (20 %) и болезни органов дыхания — 0,1 на 1 тыс. детей (10 %).

3.2. Детская инвалидность

Хронические болезни и детская инвалидность — маркеры здоровья населения.

Основными причинами инвалидности детей являются хронические заболевания, обуславливающие 80–90 % всех случаев, ВПР — 10–17 % случаев и травмы и отравления — 1,5–3 % случаев.

Ведущее место среди заболеваний, приводящих к инвалидности, занимают ВПР, болезни нервной системы и психические расстройства. За последнее десятилетие в стране общая заболеваемость и заболеваемость по отдельным классам болезней выросла на 6–27 %, имеет негативную тенденцию и рост инвалидности.

Таблица 10

Детская инвалидность и ее причины

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.
Всего детей-инвалидов (абс.)	76	50	69	52	55	60,4	10,5
Всего детей-инвалидов, на 1 тыс., в т. ч. по причинам:	14,6	11,3	11,8	10,7	11,0	11,9	1,6
Заболевания	9,4	7,5	7,6	6,3	7,1	7,6	1,1
ВПР	5,2	3,8	3,7	4,0	3,6	4,1	0,7
Травмы и отравления	0	0	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
С впервые установленным диагнозом	1,5	1,5	1,8	1,7	2,6	1,8	0,5



Рис. 4. Основные заболевания, обуславливающие инвалидность детей

Детская инвалидность в период составляла в среднем 11,9 на 1 тыс. детей, что значительно ниже оценок по стране в целом (21,2 на 1 тыс. детей) (табл. 10). Динамика детской инвалидности имеет тенденцию к снижению (тренд –0,8).

В причинах инвалидности детей в г. Десногорске ведущее место занимают заболевания — 64 %, второе место — ВПР (34,5 %), третье — травмы и отравления (1,5 %).

В структуре заболеваний, приведших к инвалидности детей, основными являются заболевания нервной системы (26,3 %), психические расстройства (15,8 %), эндокринные расстройства (10,5 %), болезни уха (7,9 %), новообразования (7,9 %) и болезни глаз (6,3 %), составляющие в общей структуре заболеваний 75 % (рис. 4).

3.3. Общая заболеваемость

По данным официальной статистики, на протяжении последних 10 лет среди детей России сохраняется тенденция к росту заболеваемости на 2–4 % в год, увеличивается распространенность хронической патологии, снижается количество здоровых детей во всех возрастных группах. С 2003 по 2007 г. общая заболеваемость детей возросла на 9 %, в т. ч. на 10 % — новообразованиями, на 9,5 % — ВПР, на 2 % — болезнями костно-мышечной системы, болезнями крови и кроветворных органов. Общий уровень первичной заболеваемости детей 0–14 лет в 2007 г.

Таблица 11

Общая и по классам болезней заболеваемость детского населения на 1 тыс. детей

Основные заболевания	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего заболеваний	2161,9	1700,4	1598,8	1621,7	1743,7	1765,3	229,3	–91,5	0,63
Инфекционные и паразитарные	215,7	112,7	149,8	133,5	142,1	150,8	38,8	–12,6	0,51
Новообразования	2,7	3,3	1,4	2,7	1,4	2,3	0,8	–0,3	0,59
Крови и кроветворных органов	3,5	7,3	3,9	4,5	9,6	5,8	2,6	1,0	0,58
Эндокринной системы	7,7	4,6	8,7	4,3	8,6	6,8	2,2	0,2	0,11
Психические расстройства	12,1	11,9	9,9	16,7	14,6	13,0	2,7	1,0	0,58
Нервной системы	13,9	18,0	18,4	20,2	27,6	19,6	5,0	3,0	0,93
Болезни глаз	101,5	104,5	28,2	9,9	14,6	51,7	47,3	–26,8	0,90
Болезни уха	63,7	46,9	68,1	57,4	55,6	58,3	8,1	–0,6	0,11
Системы кровообращения	2,9	6,5	2,6	1,7	2,8	3,3	1,9	–0,5	0,43
Органов дыхания	1424,0	1154,3	1098,7	1149,4	1231,5	1211,6	127,9	–39,0	0,48
Органов пищеварения	64,9	54,2	54,7	55,4	48,2	55,5	6,0	–3,2	0,85
Кожи и подкожной клетчатки	89,7	82,5	36,7	63,8	47,6	64,1	22,5	–10,3	0,72
Костно-мышечной системы	10,4	5,9	3,7	4,5	22,6	9,4	7,8	2,3	0,47
Мочеполовой системы	12,5	14,5	37,7	27,7	26,8	23,8	10,4	4,2	0,64
Перинатальные состояния	40,4	28,5	36,3	27,5	27,4	32,0	6,0	–2,7	0,14
Врожденные заболевания	3,5	2,7	3,6	4,8	2,6	3,4	0,9	0,0	0,06
Другие признаки	23,9	6,3	11,2	12,4	10,4	12,8	6,6	–2,1	0,50
Травмы и отравления	68,9	35,8	25,3	25,2	49,6	41,0	18,6	–4,9	0,42

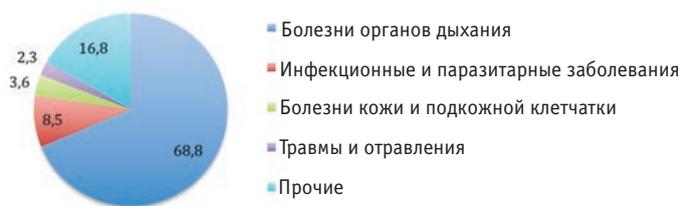


Рис. 5. Основная структура детской заболеваемости

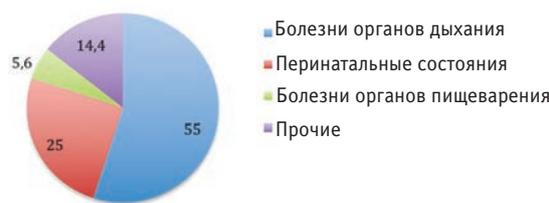


Рис. 6. Структура заболеваемости детей до года

составил 1826,6 на 1 тыс. детей. В структуре первичной заболеваемости первое место занимают болезни органов дыхания (59,4 %), второе место — травмы и отравления (5,9 %), третье место — болезни кожи и подкожной клетчатки (5,3 %).

Частота общей заболеваемости детей несколько ниже заболеваемости детей в целом по России и имеет тенденцию к снижению, в отличие от тенденции роста по РФ. Общая заболеваемость детей имела тенденцию к снижению с 2161,9 до 1743,7 (тренд –91,5) и составила в среднем 1765,3 на 1 тыс. детей (табл. 11).

В структуре заболеваемости детей 1-е место занимают болезни органов дыхания (68,6 %), 2-е место — инфекционные и паразитарные заболевания (8,5 %), 3-е место — болезни кожи и подкожной клетчатки (3,6 %), 4-е место — болезни уха (3,3 %), 5-е место — болезни органов пищеварения (3,1 %). Травмы и отравления занимают 7-е место (2,3 %). Таким образом, в г. Десногорске в структуре детской заболеваемости первые три места занимают болезни органов дыхания, инфекционные и паразитарные заболевания и болезни кожи и подкожной клетчатки, а по РФ — болезни органов дыхания (59,4 %), травмы и отравления (5,9 %), болезни кожи и подкожной клетчатки (5,3 %). Обращает внимание более высокая доля заболеваний органов дыхания, а также инфекционных и паразитарных болезней (рис. 5).

Заболеваемость детей на первом году жизни во многом определяет развитие ребенка и является важным показателем здоровья детей.

Заболеваемость детей до года в период 2003–2007 гг. в среднем составила 2472,4 на 1 тыс. детей, и имела тенденцию к снижению с 2737,6 на 1 тыс. чел. в 2003 г. до 2194,4 в 2007 г. (тренд –132). В структуре за-

болеваний 55 % занимают болезни органов дыхания, 25 % — перинатальные состояния, 5,6 % — болезни органов пищеварения, что соответствует структуре младенческой заболеваемости по РФ в целом (62, 19,5 и 5,0 % соответственно) (рис. 6).

3.4. Заболеваемость злокачественными новообразованиями

По данным официальной статистики, распространенность среди детского населения злокачественных новообразований в 2005 г. составила 11,2 на 100 тыс. детей. В структуре онкологических заболеваний у детей первое место занимают гемобластозы (53,6 %), 2-е место (13,2 %) — опухоли центральной нервной системы, почек, костей и мягких тканей. Среди гемобластозов наиболее частым является острый лимфолейкоз (36,2 %), лимфо- и ретикуло-саркомы (24,7 %), лимфогрануломатозы — 16,4 % и другие острые лейкозы (16,4 %). В возрастном аспекте заболевания распределяются следующим образом: 23,2 % в возрасте 0–4 года, 23,1 % в возрасте 5–9 лет и 20,5 % в возрасте 10–14 лет.

Заболеваемость детей 0–14 лет злокачественными заболеваниями в 2003–2007 гг. составила 15,7 на 100 тыс. детей и имела тенденцию к снижению (тренд –9,6) (табл. 12). В структуре новообразований гемобластозы занимают 60,5 %, опухоли головного мозга — 39,5 %.

4. Репродуктивное здоровье

Показателем, отражающим состояние здоровья популяции в целом, является ее репродуктивное здоровье. Изменения показателей репродуктивного здоровья наиболее полно отражают комплекс неблаго-

Таблица 12

Заболеваемость злокачественными новообразованиями детей (0–14 лет)

Злокачественные новообразования	Календарный год					2003–2007 гг.	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.
Всего новообразований (абс. число)	2	1	0	1	0	4	
Всего новообразований, на 100 тыс. детей	38,5	19,1	0,0	20,7	0,0	15,7	16,2
Опухоли головного мозга	38,5	0,0	0,0	0,0	0,0	7,7	17,2
Гемобластозы	19,3	19,1	0,0	20,7	0,0	11,8	10,8

гоприятных факторов, воздействующих на организм человека.

Оценка репродуктивного здоровья является неотъемлемой частью оценки состояния здоровья населения. Охрана и контроль состояния репродуктивного здоровья относятся к одному из важнейших направлений в разработке защитных и реабилитационных мероприятий для населения, проживающего в регионах размещения предприятий атомной энергетики.

В числе основных показателей репродуктивного здоровья оцениваются:

- показатель рождаемости;
- здоровье беременных женщин;
- частота и характер неблагоприятных исходов беременностей (самопроизвольные аборты, мертворождения, ранняя неонатальная смертность);
- состояние новорожденных (росто-весовые показатели новорожденных);
- заболеваемость новорожденных.

Рождаемость. Показатели рождаемости приведены выше в табл. 2.

4.1. Заболеваемость беременных женщин

Заболеваемость беременных женщин основными заболеваниями, осложняющими течение беременности, в среднем составила 1357,8 на 1 тыс. беременных

и имела тенденцию к снижению с 1598,9 в 2003 г. до 1216,3 в 2007 г. (тренд –70,8).

В структуре заболеваемости первое место занимали заболевания анемией $677,6 \pm 97,6$ (49,9 %), второе место — гестозы с частотой 267,5 (19,7 %), третье место — заболевания мочеполовой системы — 195,5 (14,4 %), четвертое место — заболевания системы кровообращения с частотой 128,5 на 1 тыс. беременных (9,5 %) (табл. 13).

В целом распространенность заболеваний у беременных сопоставима с аналогичными данными по РФ за период 2006–07 гг., приводимыми НИИ общественного здоровья РАМН (табл. 14).

4.2. Неблагоприятные исходы беременностей

Частота неблагоприятных исходов беременностей (НИБ), оцениваемая по показателям самопроизвольных абортов, мертворождений и ранней неонатальной смертности в 2003–2007 гг. у женщин в среднем составляла 46,6 на 1 тыс. беременных и имела тенденцию к снижению с 56,1 в 2003 г. до 33,7 в 2007 г. (тренд –15,2). В структуре НИБ ведущее место занимали самопроизвольные аборты 33,6 на 1 тыс. беременностей (72 %), второе место — мертворождения с частотой 7,6 на 1 тыс. родившихся (16,3 %), третье место — ранняя неонатальная смертность с частотой

Таблица 13

Заболеваемость беременных женщин основными заболеваниями, осложняющими течение беременности на 1 тыс. беременных

Основные заболевания	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего женщин под наблюдением	187	264	220	246	245				
Всего заболеваний, в т. ч.	1598,9	1333,3	1250,0	1390,2	1216,3	1357,8	151,2	–70,8	0,74
Гестозы	411,8	197,0	227,3	187,0	314,3	267,5	95,0	–20,5	0,34
Венозные осложнения	42,8	26,5	0,0	36,6	0,0	21,2	20,2	–7,5	0,59
Болезни мочеполовой системы	246,0	185,6	190,9	166,7	187,8	195,4	29,8	–13,5	0,72
Анемии	764,7	787,9	613,6	662,6	559,2	677,6	97,6	–53,6	0,87
Болезни щитовидной железы	42,8	18,9	45,5	8,1	8,2	24,7	18,3	–8,0	0,69
Болезни системы кровообращения	90,9	109,8	172,7	126,0	142,9	128,5	31,3	12,0	0,61

Таблица 14

Структура заболеваемости женщин в период беременности в РФ в 2006–07 гг.

Заболевание	Распространенность, %			Ранговое место
	2006	2007	Ср. знач.	
Анемия	41,6	39,0	40,3	1
Мочеполовой системы	21,3	20,0	20,7	2
Системы кровообращения	10,9	10,5	10,7	4
Гестозы	21,5	19,3	20,4	3
Прочие	5,2	8,8	7,0	



Рис. 7. Структура НИБ

Таблица 15

Частота и структура неблагоприятных исходов беременностей (НИБ), на 1 тыс. беременных

Неблагоприятные исходы беременности	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего беременных	351	364	344	397	355				
Самопроизвольные аборты	42,7	38,5	29,1	35,3	22,5	33,6	12,7	-6,7	0,84
Мертворождения	7,2	6,2	6,1	9,6	9,0	7,6	0,9	0,2	0,37
Ранняя неонатальная смерть	6,2	10,1	8,5	0,0	2,2	5,4	4,2	-1,8	0,68
Всего НИБ	56,1	54,8	47,8	44,9	33,7	46,6	15,5	-8,2	0,94

той 5,4 на 1 тыс. родившихся живыми (12 %) (табл. 15, рис. 7).

Общая частота НИБ у беременных женщин ниже, чем в среднем по РФ — 46,6 и 73,8 на 1 тыс. соответственно. Ниже частота самопроизвольных абортов — 33,6 и 56,7 соответственно, ранней неонатальной смертности — 5,4 и 11,8 соответственно, мертворождений — 5,4 и 8,6 на 1 тыс. беременных соответственно.

4.3. Состояние новорожденных

Состояние новорожденных, оцениваемое по показателям массы тела — с малым весом (500–2499 г), с нормальным весом (2500–3499 г) и с большим весом (3500 г и более) — в целом соответствует статистике распределения новорожденных по весовым критери-

ям: 55 % с нормальным весом, 40,7 % с весом более 3500 г и 4,3 % с весом ниже 2500 г (табл. 16).

За исследуемый период наблюдается тенденция к снижению числа рождений детей с малым весом с 56,1 в 2003 г. до 48,5 на 1 тыс. детей в 2007 г. (тренд -0,8) и, соответственно, а также рост числа рождений детей с большим весом с 358,3 в 2003 г. до 447,1 на 1 тыс. детей в 2007 г. (тренд +18,4). Рост рождения детей с крупным весом отмечается в и целом по РФ — с 32 % в 2003 г. до 48 % в 2007 г.

Заболеваемость новорожденных составила 437,2 на 1 тыс. родившихся, что не противоречит популяционным оценкам по РФ (табл. 17).

В последние годы по стране в целом у 50 % новорожденных регистрируются те или иные заболевания. В структуре заболеваний новорожденных первое

Таблица 16

Состояние новорожденных детей на 1 тыс. живых новорожденных

Состояние новорожденных	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего живых новорожденных	321	297	354	367	454				
С малым весом (500–2499 г)	56,1	33,7	33,9	40,9	48,5	42,6	9,7	-0,8	0,13
С норм. весом (2500–3499 г)	585,7	542,1	590,4	528,6	504,4	550,2	37,1	-17,6	0,75
С большим весом (3500 г и более)	358,3	424,2	375,7	430,5	447,1	407,2	38,1	18,4	0,76
Недоношенные	40,5	33,7	31,1	40,9	44,1	38,0	5,4	1,4	0,42

Таблица 17

Общая частота и структура заболеваемости и состояний новорожденных на 1 тыс. новорожденных

Заболевания	Календарный год					2003–2007 гг.		Тренд	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.	b	R ²
Всего живых новорожденных	321	297	354	367	454				
Всего родилось больными, на 1 тыс.	514,0	447,8	457,6	414,2	352,4	437,2	59,5	-35,7	0,90
Общая частота заболеваний, в т. ч.:	657,3	622,9	610,2	585,8	453,7	586,0	78,3	-44,4	0,65
Гипотрофия	174,5	198,7	163,8	111,7	152,0	160,1	32,1	-13,2	0,87
Родовая травма	46,7	40,4	0,0	0,0	2,2	17,9	23,6	-12,9	0,93
Гипоксия и асфиксия	130,8	87,5	90,4	73,6	59,5	88,4	26,8	-15,7	0,29
Синдром дыхательных расстройств	12,5	26,9	11,3	10,9	28,6	18,0	8,9	1,6	0,50
в т. ч. врожденная пневмония	6,2	20,2	8,5	10,9	26,4	14,4	8,6	3,1	0,20
Анемия	3,1	3,4	0,0	0,0	2,2	1,7	1,6	-0,5	0,02
Гемолитическая болезнь	34,3	16,8	50,8	30,0	35,2	33,4	12,2	1,5	0,13
Врожденные пороки развития	28,0	26,9	14,1	35,4	24,2	25,7	7,7	0,1	0,90
Прочие болезни	227,4	222,2	279,7	324,3	149,8	240,7	65,7	-5,3	0,65

место занимает гипотрофия (задержка внутриутробного развития) (27,3 %), второе место — гемолитическая болезнь (5,7 %), третье место — ВПР (4,4 %) и четвертое место — синдром дыхательных расстройств (2,8 %).

В период 2003–2007 гг. отмечается выраженная положительная динамика снижения общей заболеваемости новорожденных с 514,0 в 2003 г. до 352,4 в 2007 г. на 1 тыс. детей (тренд +59,5).

5. Состояние критических органов и систем

Щитовидная железа. В методических рекомендациях по проведению экспертных и прогнозных оценок состояния здоровья для оценки состояния щитовидной железы рекомендуется использовать данные отчетной статистической формы № 63. В данном исследовании отчетная форма № 63 не анализировалась. Заключение о состоянии щитовидной железы сделано на основании анализа данных о заболеваниях щитовидной железы злокачественными новообразованиями у взрослых лиц и детей (табл. 18).

Средняя частота злокачественных новообразований щитовидной железы в анализируемый период составила $13,1 \pm 15,0$ на 100 тыс. чел., что выше чем по стране в целом — 5,0–10,0 на 100 тыс. чел. Выявлена отчетливая тенденция к росту заболеваемости (тренд +8,2). У детей в анализируемый период злокачественных заболеваний щитовидной железы не зарегистрировано.

Гемобластозы (лейкозы). По имеющимся данным за период 2003–2007 гг., заболеваемость лейкозами детей в среднем составила 8,0 на 100 тыс. (табл. 18), что выше средней статистической оценки заболеваемости детей лейкозом по стране в целом — 5,0 на 100 тыс. детей.

Таблица 18

Заболеваемость злокачественными новообразованиями щитовидной железы и гемобластозами (лейкозами) взрослого населения и детей на 1 тыс. взрослых и детей соответственно

Категория населения	Календарный год					2003–2007 гг.	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.
Злокачественные новообразования щитовидной железы							
Взрослые	0	7,2	0	27,6	30,7	13,1	15,0
Дети	0	0	0	0	0	–	–
Гемобластозы (лейкозы)							
Взрослые	1,9	1,9	0	7,9	3,8	3,1	3,3
Дети	0	19,1	0	20,7	0	8,0	–

Заболеваемость лейкозами взрослого населения составляет $3,1 \pm 3,3$ на 100 тыс. населения, что ниже статистических оценок по стране — 5,5 на 100 тыс.

населения. В динамике 2003–2007 гг. выявляется слабая тенденция к росту (тренд +0,8).

6. Генетическое здоровье

В рамках экспертных оценок здоровья населения в качестве показателей генетического здоровья рассматривается общая частота врожденных пороков, выявляемая у детей при рождении.

Общая частота ВПР у новорожденных оценивается величиной 25,7 на 1 тыс., что ниже уровня, предложенного НКДАР для расчета радиационного риска — 60 на 1 тыс., и ниже, чем заболеваемость по стране в целом — 42,0 на 1 тыс. В течение 2003–2007 гг. показатель ВПР характеризуется стабильностью с небольшими колебаниями в отдельные годы (табл. 19).

Таблица 19

Частота ВПР при рождении на 1 тыс. новорожденных

Показатель	Календарный год					2003–2007 гг.	
	2003	2004	2005	2006	2007	Среднее	с. о.
Всего ВПР при рождении	9	8	5	13	11		
Частота ВПР при рождении	28,0	26,9	14,1	35,4	24,2	25,7	7,7

7. Оценка здоровья населения

Полученные показатели здоровья взрослого населения (табл. 3, 6, 7), здоровья детского населения (табл. 11, 12), репродуктивного здоровья (табл. 13–17), состояния критических органов и систем (табл. 18) и генетического здоровья населения (табл. 19), проживающего вблизи АЭС, позволяют оценить общее состояние здоровья взрослого и детского населения — см. табл. 20.

Анализ основных показателей здоровья населения, проживающего вблизи АЭС, характеризует общее состояние взрослого и детского населения в целом как благополучное. Вместе с тем необходимо отметить негативные тенденции в динамике общей заболеваемости взрослого населения и заболеваемости злокачественными заболеваниями взрослого населения.

Негативная тенденция роста общей смертности и заболеваемости населения во многом определяется старением населения. В период с 2003–2007 гг. число лиц нетрудоспособного возраста (старше 60 лет) возросло с 8,9 % до 10,5 %, а число лиц репродуктивного возраста уменьшилось с 38,2 % до 36,4 %.

Анализ тренда большинства других показателей (не зависящих от старения населения), указывает на положительную тенденцию в динамике здоровья населения.

Выявленная относительно высокая частота детских лейкозов не является достоверной статистиче-

Таблица 20

Заключительные оценки показателей здоровья населения

Таблицы данных	Показатель	Оценка по сравнению с РФ	Тренд	Тенденции
Таблица 2	Коэффициент рождаемость/смертность (воспроизводство)	ниже	+0,03	Позитивная
Таблица 3	Смертность взрослого населения	ниже	+24,9	Негативная
Таблица 6	Общая заболеваемость взрослых	ниже	+43,9	Негативная
Таблица 7	Злокачественные заболевания взрослых	ниже	+57,5	Негативная
Таблица 8	Детская смертность	ниже	-0,3	Позитивная
Таблица 11	Общая заболеваемость детей	ниже	-91,5	Позитивная
Таблица 12	Злокачественные новообразования детей	выше	-7,6	Позитивная
Таблица 13	Заболеваемость беременных	не отличается	-70,8	Позитивная
Таблица 15	Неблагоприятные исходы беременностей	ниже	-8,2	Позитивная
Таблица 17	Заболеваемость новорожденных	не отличается	-44,4	Позитивная
Таблица 18	Рак щитовидной железы у взрослых	выше	+8,2	Негативная
Таблица 18	Лейкозы у взрослых	не отличается	+0,8	Негативная
Таблица 18	Лейкозы у детей	выше	-	-
Таблица 19	ВПР у новорожденных	ниже	+0,1	-

ски значимой оценкой в связи с недостаточным наблюдением этой редкой патологии.

Продолженные наблюдения (до 2012 г.) состояния здоровья критической группы населения — новорожденных детей — не выявили негативных тенденций изменения состояния здоровья этой группы населения по сравнению с периодом 2003–2007 гг. (табл. 21).

Таблица 21

Сравнительные данные состояния новорожденных в период 2003–2007 гг. и 2008–2012 гг. на 1 тыс. новорожденных

Показатель	2003–2007 гг.		2008–2012 гг.	
	Абс. число	на 1 тыс.	Абс. число	на 1 тыс.
Всего детей	1593		1233	
Перинатальная смертность	10	6,5 ± 2,6	13	10,5 ± 3,8
Родились с патологией	697	437,2 ± 59,5	518	420,1 ± 14,1
ВПР	41	25,7 ± 7,7	25	20,3 ± 3,6

Выводы

1. Полученные данные по оценке здоровья населения позволяют сделать выводы о благополучном состоянии здоровья взрослого и детского населения, проживающего вблизи Смоленской АЭС. Исследование показало отсутствие связи негативных тенденций в изменении отдельных показателей здоровья взрослого и детского населения с влиянием АЭС.

2. Методический подход для получения комплексной оценки здоровья населения был использован при разработке методических указаний «Экспертные и прогностические оценки состояния здоровья населения в районах размещения атомных станций».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Федеральный закон № 3-ФЗ от 9.01.1996 г. «О радиационной безопасности населения».
2. Приказ ФМБА России № 1793 от 30.12.2002 г. «Об организации социально-гигиенического мониторинга на объектах и территориях, обслуживаемых ФМБА России».
3. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика (пособие для врачей). — М.: Медицина, 1974, 384 с.
4. Щепин О.П., Коротких Р.В., Щепин В.О., Медик В.А. Здоровье населения — основа развития здравоохранения. Под ред. О.П. Щепина. — М.: Национальный НИИ общественного здоровья РАМН, 2009, 376 с.
5. Осипов В.А., Лягинская А.М., Петоян И.М. и соавт. Врожденные пороки развития у детей персонала Смоленской АЭС и их связь с профессиональным облучением отцов. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2014, **59**, № 4, С. 18–24.

Поступила: 02.02.2015

Принята к публикации: 09.02.2015

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 aberrаций 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: aberrации 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 aberrаций 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

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

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

месте и о конкретном времени пребывания жильцов в местах повышенного гамма-фона отсутствовали. Поэтому возникла необходимость в проведении цитогенетической индикации дозы.

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 (ХСР — 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

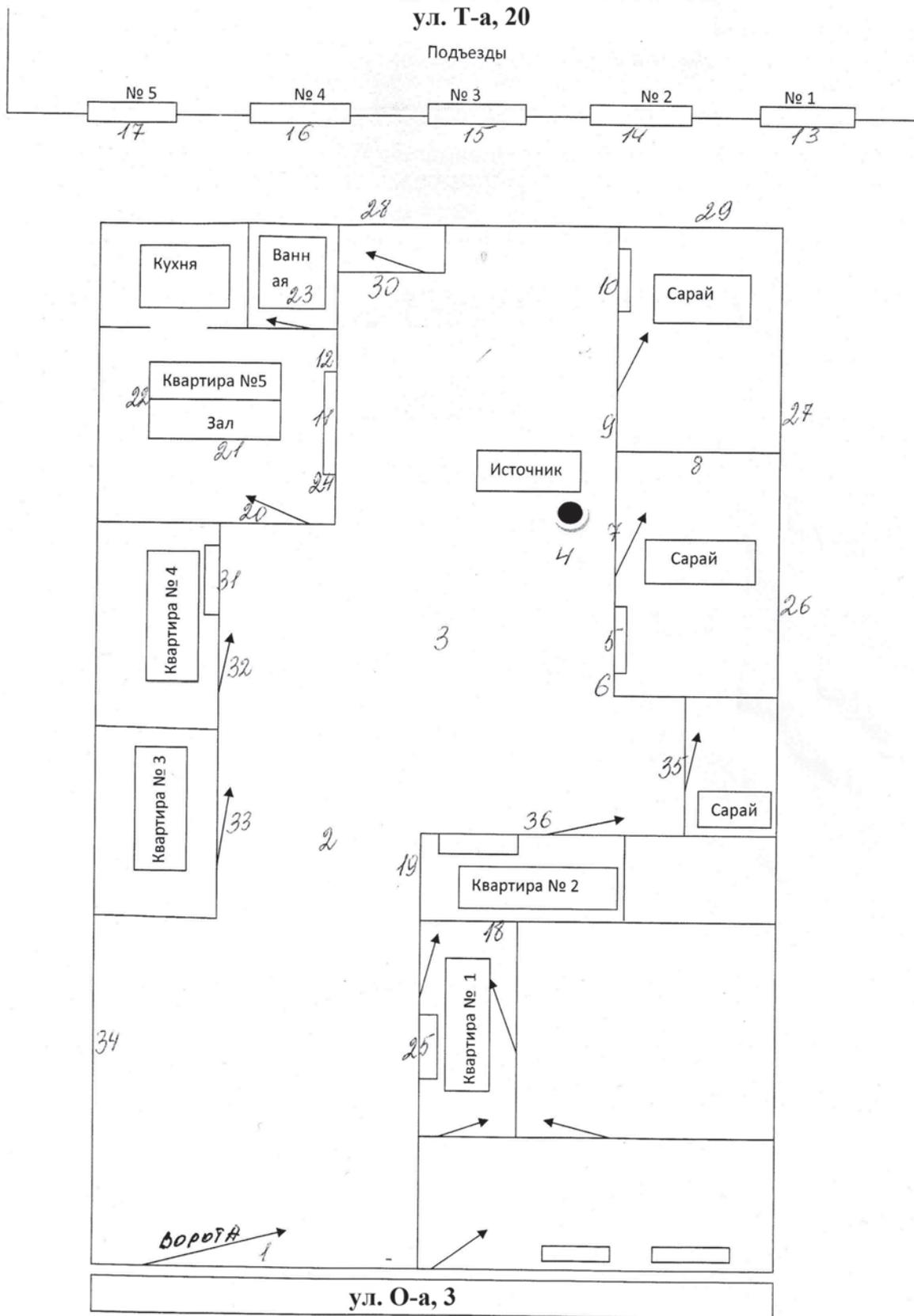


Рис. 1. Схема точек измерения мощности дозы гамма-излучения на местности в г. В.

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 работ-

ников 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 варьируются 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 aberrаций 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 aberrации 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	Коли- чество клеток	Число транслока- ций	Частота транс- локаций на 100 клеток	Частота транс- локаций на 100 клеток на весь геном	Средняя фоновая геномная частота транслокаций на 100 клеток \pm SE (размах колебаний) для дан- ного возраста*	Индивидуаль- ная дозовая оценка
1	М.Н.С.	О-а, 3-1	34	ж	580	2	0,34	1,09	0,504 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 0,084 (0–3,478)	мало клеток
7	Б.Д.В.	О-а, 3-4	20	ж	417	0	0	0	0,337 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 0,250 (0,29–2,609)	мало клеток
15	Ч.Е.А.	Т-а, 20-45	21	ж	581	0	0	0	0,337 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 0,084 (0–3,478)	мало клеток
22	Д.Т.К.	Т-а, 20-49	46	ж	323	0	0	0	0,681 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 \pm 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 оценки 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:

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

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 индивидуальном, 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 парно 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 aberrаций 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 ме-

тафаз. В то же время, независимо от числа просмотренных метафаз, ни в одном из случаев не удалось обнаружить ни одной из aberrаций хромосом — индикаторов радиационного воздействия (дидцентрики, центрические и ацентрические кольца, атипичные хромосомы). Были обнаружены только парные и хроматидные фрагменты, которые составляют подавляющую часть видов aberrаций 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 проанализировано 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 aberrаций?

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

Таблица 5

Частоты aberrантных клеток и aberrаций 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 aberrантных клеток	Парные фрагменты	Дицентрики	Центрические кольца	Ацентрические кольца	Атипичные хромосомы	Всего	Процент aberrантных 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 aberrаций 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 aberrаций 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 aberrаций хромосом относится к одному из самых чувствительных биологических показателей радиационного воздействия. Полученные цитогенетиче-

ские 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. *Комаров 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. // Радиационная 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. *Севаньяев А.В., Хвостунов И.К., Снегирева Г.П. и соавт.* Сравнительный анализ результатов цитогенетических обследований контрольных групп лиц в различных отечественных лабораториях // Радиационная биология. Радиоэкология, 2013, **53**, № 1, С. 5–24.

Поступила: 15.05.2014

Принята к публикации: 18.06.2014

**Е.Э. Западинская, О.А. Тихонова, И.И. Еремин, В.Ю. Нугис,
Ю.А. Жгуты, М.Г. Козлова**

Сравнительный анализ информативности теста Be-LPT по изучению стимуляции пролиферации лимфоцитов у лиц, контактировавших с бериллием

**E.E. Zapadinskaja, O.A. Tihonova, I.I. Eremin, V.Yu. Nugis,
Ju.A. Zhgutov, M.G. Kozlova**

Comparative Analysis of Be-LPT Test Informativity for Study of Lymphocyte Proliferation Stimulation in Persons Exposed to Beryllium

РЕФЕРАТ

Цель: Разработать критерии и алгоритм диагностики хронической бериллиевой болезни с помощью лабораторных методов *in vitro* для своевременного выявления лиц, предрасположенных к развитию данного пневмокозиоза.

Материал и методы: В настоящее время тест пролиферации лимфоцитов с бериллием (BeLPT тест) является основным методом для выявления состояния гиперчувствительности к бериллию при скрининге работников бериллиевых производств. В России данная методика не получила широкого применения. В настоящем исследовании цитометрический BeLPT тест был использован для измерения пролиферации лимфоцитов в группах пациентов, подвергшихся воздействию бериллия (24 человека) и контрольных пациентов, не контактировавших с бериллием (18 человек). Параллельно было изучено влияние бериллия на пролиферацию лимфоцитов периферической крови в ФГА-стимулированных культурах методом дифференцированного окрашивания сестринских хроматид (флуоресцент + Гимза). Данный метод позволяет определять содержание метафаз первого, второго и последующих митозов в культурах и ранее не использовался для определения сенсибилизации людей к бериллию. Основным критерием отбора пациентов в основную группу наблюдения являлся документально подтвержденный факт контакта с соединениями бериллия.

Результаты: Специфическая сенсибилизация у больных основной группы с помощью теста BeLPT была выявлена только у одного человека. Следующие результаты были получены с помощью метода флуоресцент + Гимза: как в основной, так и контрольной группах наблюдалась тенденция к ускорению пролиферации лимфоцитов в культуре при добавлении BeSO_4 в конечной концентрации 1 мкМ. Однако при больших концентрациях BeSO_4 (10 и 100 мкМ) в группе больных-носителей бериллия в среднем наблюдался возврат к тому же уровню пролиферации, как и в культурах без бериллия. Напротив, в контрольной группе стимулирующий эффект сохранялся.

Выводы: 1. Пока нет возможности достоверно оценить информативность BeLPT теста, т.к. в России нет стандартного протокола данной методики и общепринятых вариантов расшифровки результатов анализа.

2. Для повышения достоверности полученных результатов и более точной интерпретации эффективности BeLPT теста необходимо увеличить число наблюдений (число лиц в когортах).

Ключевые слова: хроническая бериллиевая болезнь, пролиферация лимфоцитов, тест BeLPT, метод флуоресцент + Гимза

ABSTRACT

Purpose: A development of criteria and algorithm of chronic beryllium disease diagnosis using non-invasive laboratory techniques for the early detection of individuals predisposed to this pneumoconiosis.

Material and methods: Currently beryllium lymphocyte proliferation testing (BeLPT) is the main method for beryllium hypersensitivity status detection in screening of beryllium production workers in many countries. This technique is not widely used in Russia. In the present study flow cytometric BeLPT was used to measure lymphocyte proliferation in the groups of beryllium-exposed patients (main group — 24 persons) and beryllium-unexposed individuals (control group — 18 persons). Simultaneously we studied the beryllium effect on peripheral blood lymphocyte proliferation in PHA-stimulated cultures by differential staining of sister chromatids (fluorescence + Giemsa). This method allows to determine the content of first, second and subsequent mitosis in cultures. It has not been used for the determination of beryllium sensitization of people. The principal criterion for the selection of patients in the observation group was the documented fact of contact with beryllium compounds.

Results: Specific sensitization in beryllium-exposed patient by BeLPT was found for only one person. The use of the method of fluorescence + Giemsa revealed in both groups of persons a tendency to lymphocyte proliferation stimulation in cultures after BeSO_4 addition up to 1 μM final concentration. However, the same level of lymphocyte proliferation was observed at higher concentrations of BeSO_4 (10 and 100 μM) for beryllium-exposed patients. In contrast, the control group stimulating effect was held on.

Conclusions: 1. Up to now it is not possible to estimate reliably the informativity of BeLPT because the absence in Russia of the standard protocol for this method use and its results conventional interpretation.

2. It is necessary to increase the number of observations (number of persons in cohorts) to improve the reliability of the results obtained and more accurate interpretation of BeLPT effectiveness.

Key words: chronic beryllium disease, lymphocyte proliferation, Be-LPT test, fluorescent plus Giemsa method

Введение

Хронический бериллиоз отличается от большинства пневмокониозов, поскольку является иммунологической клеточной реакцией гиперчувствительности замедленного типа. В связи с этим, с целью выявления сенсibilизации и иммунологической толерантности среди лиц, имеющих контакт с бериллием (Be) и его соединениями, а также для обследования больных с кожными и легочными поражениями, используются иммуноаллергологические тесты. К ним относят определение антибериллиевых антител в реакции связывания комплемента, определение лимфоцитов с рецепторами к бериллию и E-розеткоусилением под влиянием бериллия. К сожалению, ни один из них не отличается высокой информативностью, чувствительностью и специфичностью. К недостаткам кожной пробы Куртиса (накожные аппликации растворимых солей бериллия) относят вероятность вызвать активизацию болезни у больных бериллиозом, а у здорового человека — повышенную чувствительность к этому металлу. Определенные сложности вызывает и трансбронхиальная биопсия и биопсии легких. По данным американских коллег, из 240 трансбронхиальных биопсий только в 80 случаях получен положительный результат, при этом рекомендуется брать не менее 5 кусочков, что увеличивает риск перфорации и кровотечения [1].

В 1989 г. было предложено изучать пролиферацию лимфоцитов бронхоальвеолярного лаважа или крови, как реакцию на проникновение бериллия в организм (BeLPT тест) [2, 3]. Положительная реакция лимфоцитов крови (стимуляция пролиферации) в итоге постановки данного теста свидетельствует о сенсibilизации человека к бериллию.

Последние перекрестные исследования показывают, что число людей, сенсibilизированных к бериллию (5–21 %), и число больных хроническим бериллиозом (3–21 %), по данным различных авторов, находится в широких границах [4]. Столь неоднозначные показатели в частоте случаев предрасположенности к хронической бериллиевой болезни стали одной из причин, обусловивших проведение данной работы.

Специализированный тест пролиферации лимфоцитов с бериллием (BeLPT тест) выявляет избыточную реакцию иммунной системы на бериллий [4]. Цитогенетический метод дифференциального окрашивания сестринских хроматид (флуоресцент + Гимза — FPG-метод) позволяет определять содержание метафаз первого, второго и последующих митозов в культурах лимфоцитов и, таким образом, производить сравнительную оценку интенсивности их пролиферации. Ранее данный подход использовали, например, для изучения радиационно-индуцирован-

ной задержки пролиферации клеток в культурах лимфоцитов периферической крови людей после облучения *in vitro* в различных дозах [5]. Нам неизвестны работы, в которых данная методика применялась бы у больных бериллиозом.

В ходе работы планировалось проверить гипотезу о возможности подтвердить наличие сенсibilизации человека к бериллию с помощью двух различных методик, при условии совпадения результатов. Данный подход в диагностике позволил бы избежать таких инвазивных диагностических методов, как торакотомия и трансбронхиальная пункционная биопсия легкого, обязательных для морфологического подтверждения диагноза.

По данным литературы, в настоящее время существует два варианта интерпретации BeLPT теста. В первом случае результаты тестов BeLPT рассматривают как ненормальные (AB), пограничные (BL) или нормальные (NL) [6]. Лица, у которых выявлены аномальные результаты теста BeLPT, подвергаются более высокому риску развития хронического бериллиоза.

Для выполнения теста BeLPT Т-лимфоциты инкубируют в среде с сульфатом бериллия, используя раствор трех концентраций в течение двух периодов времени. В результате в общей сложности получают шесть различных проб инкубации. Затем сравнивают результаты, полученные в ходе инкубации с сульфатом бериллия и без него. Относительные уровни для BeLPT интерпретируются следующим образом: (А) нормальный результат теста (NL) — 0 из 6 инкубаций с Be повышены; (Б) пограничный результат теста (BL) — 1 из 6 инкубаций с Be повышены; (В) аномальные результаты теста (AB) — 2 или больше инкубаций с Be повышены. Однако, по данным литературы, отмечено, что нет единого мнения относительно оценки результатов данного лабораторного метода, поскольку продолжительность периода инкубации и концентрация растворов сульфата бериллия в лабораториях различны [7].

В связи с существующими разногласиями относительно результатов теста и несоответствием статистических данных эксперты предложили следующие критерии BeLPT теста, а именно: (А) один ненормальный результат, (Б) один ненормальный и один пограничный результат и (С) два аномальных результата [8]. По данной методике два аномальных результата принято использовать как «золотой стандарт» в исследовании сенсibilизации к бериллию. Считают, что уровень экспозиции бериллия оказывает влияние на интерпретацию результатов данного анализа [8]. Мнения исследователей в области заболеваний, вызванных бериллием, относительно эффективности BeLPT теста неоднозначны и противоречивы. Описаны случаи, когда значения BeLPT теста колеба-

лись с течением времени у одного и того же больного с хроническим бериллиозом, доказанным в результате биопсии [9]. Встречаются публикации, в которых указывают на положительный результат BeLPT теста приблизительно у 1 % лиц, никогда не контактировавших с бериллием [10].

Таким образом, основываясь на данных литературных источников, можно заключить, что к настоящему времени нет определенности в стандартах проведения BeLPT теста и, соответственно, критериев специфичности и чувствительности данного метода. Этот аргумент еще раз подтверждает необходимость отработки методики постановки BeLPT теста с целью адаптации его для практической медицины в России. Следует отметить, что, по данным литературы, к сегодняшнему дню принято рассматривать три категории эффектов, возникающих при воздействии бериллия: 1) бериллиоз (хроническое заболевание); 2) субклиническое течение бериллиоза, характеризующееся аномальным результатом теста BeLPT и биопсией легкого, но без клинических проявлений; 3) сенсбилизация к бериллию (BES) — аномальный BeLPT тест [11].

Материал и методы

Для выполнения поставленных задач было сформировано две группы больных: основная (N = 24) и контрольная (N = 18). Основным критерием отбора пациентов в основную группу наблюдения являлся документально подтвержденный факт контакта с соединениями бериллия. Подбор больных для контрольной группы наблюдения проводился из числа пациентов с патологией бронхо-легочной системы, не имевших контакт с бериллием и сопоставимых по полу, возрасту, основному и сопутствующим диагнозам. Алгоритм обследования пациентов основной и контрольных группах включал сбор анамнеза, пальпацию, перкуссию и аускультацию; лабораторные исследования крови и мочи; радиологические методы исследования легких (рентгенография, компьютерная и магнитно-резонансная томография); исследование функции дыхания (спирометрия, бодиплетизмография, изучение диффузионной способности легких). По показаниям проводилась бронхоскопия с исследованием смывов из трахеобронхиального дерева, ЭКГ, ЭхоКГ.

Исследование стимуляции пролиферации лимфоцитов периферической крови под воздействием бериллия проводили двумя методами: а) с помощью теста BeLPT и б) FPG-методикой. Периферическую кровь получали венопункцией из кубитальной вены пациентов в стерильные вакутейнеры фирмы Vестон Dickinson (США) объемом 10 мл с гепарином лития.

Тест пролиферации лимфоцитов с бериллием (BeLPT)

В настоящей работе применили современный вариант данного теста без использования меченая ДНК делящихся клеток ^3H -тимидином. Новый подход основан на использовании 5(6)-карбоксифлуоресцеин диацетат N-сукцинимидил эфира (CFSE) и цитофлуорометрии. Данное вещество проникает в клетки, ковалентно связывается с аминогруппами (NH_2) белков и под действием эстераз превращается в сильно флуоресцирующую субстанцию [12]. Образовавшаяся связь сохраняется во время всего жизненного цикла клетки, и по снижению флуоресценции можно следить за ее последующими делениями. Этот вариант предположительно может оказаться более чувствительным, чем стандартный метод BeLPT [13]. В нашем исследовании была применена модификация методики, приведенной в работе [14]. В соответствии с ней из крови методом градиентного центрифугирования выделялись лимфоциты, которые затем окрашивали CFSE и культивировали в среде с бериллием в концентрации 10 и 100 мкМ на протяжении 7 сут. В качестве контроля использовались лимфоциты, культивировавшиеся в тех же условиях, но без добавления бериллия, а также лимфоциты, культивировавшиеся в тех же условиях с добавлением митогена фитогемагглютинаина (ФГА), но без бериллия. Повышение пролиферативного ответа на ФГА может свидетельствовать о наличии инфекции или какой-либо аутоиммунной патологии. Для анализа пролиферативной активности культур Т-лимфоцитов, относящихся к иммунофенотипически очерченным субпопуляциям, было выполнено проточное цитофлуориметрическое исследование, для проведения которого культуры клеток окрашивались антителами, конъюгированными с флуоресцентными метками CD3-APC, CD4-PE и CD8-PE-Cy5,5.

Методика дифференцированного окрашивания сестринских хроматид

Предварительно на материале от некоторых пациентов было показано, что культивирование лимфоцитов без стимуляции ФГА с добавлением сульфата бериллия (BeSO_4) или без него не приводит к появлению митозов. Поэтому лимфоциты периферической крови больных-носителей бериллия и контрольной группы культивировали в темноте при температуре 37 °С в среде RPMI-1640 (9 мл), содержащей фитогемагглютинин (ФГА) (фирма «ПанЭко», Россия), антибиотики стрептомицин и пенициллин (растворены предварительно в среде RPMI-1640) и 5-бромдезоксигуанидин (20 мкг/мл) (фирма Sigma, США). Кровь от каждого пациента использовалась для постановки трех вариантов культур: без BeSO_4

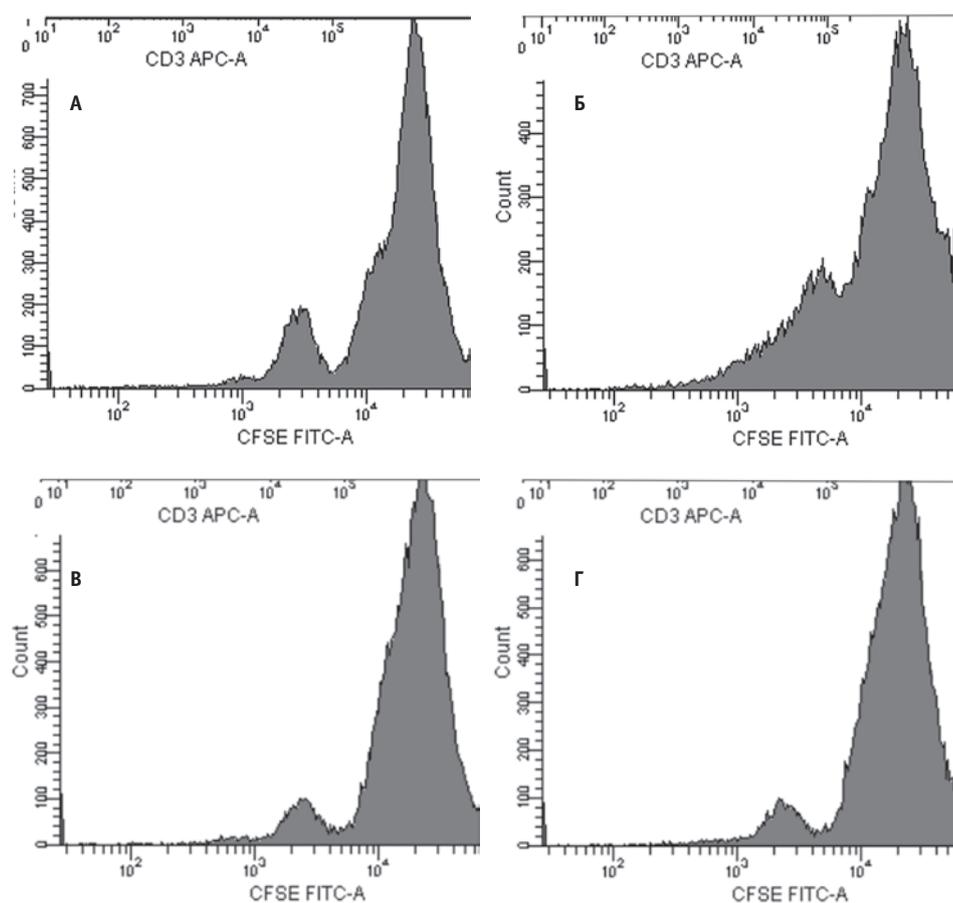


Рис. 1. Пример изучения на проточном цитофлуориметре пролиферации меченных CFSE CD3⁺-Т-лимфоцитов одного из контрольных пациентов (пояснения в тексте):

- А — контрольная проба,
- Б — проба с добавлением ФГА;
- В — проба с добавлением BeSO₄ в концентрации 10 мкМ;
- Г — проба с добавлением BeSO₄ в концентрации 100 мкМ

и с ним в двух конечных концентрациях 1 и 10 мкМ или 10 и 100 мкМ. Продолжительность инкубации культур составляла 72 ч. За 2,5 ч до конца инкубации в культуру добавляли колхицин (0,5 мкг/мл). Для идентификации клеток в первом и последующих митозах в культуре применяли модификацию FPG-методики [5]. Препараты хромосом обрабатывали в течение 10 мин 0,004 %-ным раствором акрифлавина. Краситель смывали водопроводной водой, препараты покрывали 0,07 М раствором двузамещенного фосфорнокислого натрия и в течение 20 мин облучали ультрафиолетовым светом на расстоянии 10–15 см от источника (лампа для кварцевания). Затем препараты погружали на 5 мин в насыщенный раствор гидроокиси бария, промывали их в водопроводной воде и окрашивали азур-эозином. Клетки первого митоза в культуре идентифицировали по одинаковой окраске сестринских хроматид (как на препаратах с «рутинной» окраской хромосом). В клетках второго митоза в каждой хромосоме одна сестринская хроматида имела темную, а другая — светлую окраску. В метафазах последующих генераций могло наблюдаться два варианта окраски: 1) увеличивалось количество светлых хроматид так, что могли появляться хро-

мосомы, состоящие из двух сестринских хроматид; 2) наблюдалось три варианта окраски сестринских хроматид: светлая, более темная и еще более темная. При анализе препаратов определялось процентное содержание клеток различных генераций в культуре.

Результаты и обсуждение

В результате исследования стимуляции пролиферации лимфоцитов с бериллием (BeLPT) было отмечено, что у всех больных, кроме одного пациента из основной группы, добавление бериллия в лунку с контрольным образцом существенно не изменяло пролиферацию лимфоцитов независимо от концентрации сульфата бериллия. Во всех пробах с ФГА у всех больных из контрольной группы, кроме одного, наблюдалось достоверное увеличение пролиферативной активности лейкоцитов. На рис. 1 показано, что у данного больного из группы контроля пролиферативная активность лимфоцитов примерно одинакова как в эталонном образце (А), так и в пробах с ФГА (Б) и бериллием (В, Г). Снижение пролиферативного ответа на ФГА свидетельствует о наличии иммунодефицита, однако причины его могут быть различными.

Таблица 1

Процент метафаз первого, второго и последующих митозов в культурах лимфоцитов периферической крови носителей бериллия и представителей контрольной группы

№ п/п	Ф.И.О.	Возраст	Пол	Концентрация BeSO ₄ в культуре, мкМ	Число сосчитанных метафаз	Процентное содержание в культуре метафаз		
						первого митоза	второго митоза	последующих митозов
Носители бериллия								
1	А.В.Н.	69	м	0	200	87,5	11,5	1
				1	200	94	6	0
				10	50	100	0	0
2	А.В.М.	77	м	0	200	66	21	13
				1	200	48,5	23	28,5
				10	200	78	16,5	5,5
3	А.В.В. 1	70	м	0	200	17	22	61
				1	200	10,5	14,5	75
				10	200	19	16	65
4	З.А.В.	56	м	0	200	26	29	45
				1	200	20	25	55
				10	200	11,5	21	67,5
5	К.П.М.	81	м	0	200	67,5	27,5	5
				1	200	66	30	4
				10	38	94,7	5,3	0
6	К.А.В.	85	м	0	0	—	—	—
				1	0	—	—	—
				10	0	—	—	—
7	К.А.А.	64	ж	0	0	—	—	—
				1	0	—	—	—
				10	0	—	—	—
8	М.В.К. 1	62	м	0	200	98,5	1,5	0
				1	200	79,5	19,5	1
				10	200	88,5	11	0,5
9	М.В.К. 2	62	м	0	200	10,5	24,5	65
				1	200	5	24,5	70,5
				10	200	8	27	65
10	М.А.В.	71	ж	0	200	94,5	4	1,5
				1	200	40	12,5	47,5
				10	110	93,6	6,4	0
11	М.Н.П.	82	ж	0	200	8,5	18	73,5
				1	200	42,5	36	21,5
				10	200	34,5	40	25,5
12	О.Г.И.	76	ж	0	200	46,5	19	34,5
				1	200	29,5	28,5	42
				10	200	17	27,5	55,5
13	П.Б.А.	82	м	0	200	88,5	6,5	5
				1	200	45,5	28	26,5
				10	200	74	12,5	13,5
14	Р.А.А.	81	м	0	166	100	0	0
				1	200	27	42	31
				10	200	78	19,5	2,5
15	С.Л.А.	73	ж	0	200	37	13,5	49,5
				1	200	23	31	46
				10	200	25,5	26,5	48
16	Т.Н.А.	75	ж	0	200	17,5	13,5	69
				1	200	16,5	26	57,5
				10	200	9,5	11,5	79
17	У.В.М.	83	м	0	200	100	0	0
				1	200	35	49,5	15,5
				10	200	87	11	2
18	Х.Р.Ф.	71	ж	0	200	34	30	36
				1	200	19	25	56
				10	200	26,5	30	43,5
19	Ш.Р.А.	74	ж	0	200	54	12,5	33,5
				1	200	31,5	27	41,5
				10	200	84	2	15
20	А.В.В. 2	69	м	0	200	54	29,5	16,5
				10	200	55	30	15
				100	200	59,5	29,5	11

№ п/п	Ф.И.О.	Возраст	Пол	Концентрация BeSO_4 в культуре, мкМ	Число сосчитанных метафаз	Процентное содержание в культуре метафаз		
						первого митоза	второго митоза	последующих митозов
21	Б.Г.И.	84	ж	0	200	56	31,5	12,5
				10	200	30,5	26	43,5
				100	200	74	18	8
22	К.М.В.	66	м	0	200	100	0	0
				10	200	61	24,5	14,5
				100	100	84	7	9
23	М.Н.И.	75	ж	0	200	64,5	17	18,5
				10	200	74,5	10,5	15
				100	42	95,2	0	4,8
24	П.О.В.	83	ж	0	0	—	—	—
				10	0	—	—	—
				100	0	—	—	—

Контрольная группа								
1	Б.В.М.	51	м	0	0	—	—	-
				1	0	—	—	—
				10	0	—	—	—
2	Б.Г.И.	70	м	0	200	34,5	17,5	48
				1	200	14,5	20,5	65
				10	200	35	14,5	50,5
3	Е.Л.Н.	56	ж	0	200	97,5	0,5	2
				1	200	17,5	21	61,5
				10	200	38	37,5	24,5
4	И.Е.А.	49	м	0	200	64	16,5	19,5
				1	200	50	25	25
				10	200	58	11	31
5	Л.Р.П.	64	ж	0	200	13	24	63
				1	200	17	21	62
				10	200	18,5	15	66,5
6	П.Л.А.	57	м	0	145	97,9	0,7	1,4
				1	200	91	2	7
				10	200	100	0	0
7	С.И.И.	73	м	0	200	82,5	5,5	12
				1	200	21,5	19,5	59
				10	200	31	22	47
8	Ф.А.А.	64	ж	0	200	47	23	30
				1	200	35,5	30	34,5
				10	200	20,5	19,5	60
9	Б.З.П.	77	ж	0	75	93,3	4	2,7
				10	200	60,5	14	25,5
				100	200	72	8	20
10	К.В.Н.	63	м	0	0	—	-	-
				10	0	—	—	—
				100	0	—	-	-
11	К.Г.А.	73	ж	0	200	94,5	2	3,5
				10	200	75	6,5	18,5
				100	200	86	2,5	11,5
12	К.О.Е.	71	м	0	200	82,5	1,5	16
				10	200	35,5	4	60,5
				100	200	63	4	33
13	М.А.Г.	74	ж	0	200	96,5	1,5	2
				10	200	63,5	24	12,5
				100	100	71	15	14
14	С.М.С.		м	0	47	100	0	0
				10	200	49,5	32,5	18
				100	200	50,5	28	21,5
15	С.В.И.	65	м	0	200	59	6,5	34,5
				10	200	42	37,5	20,5
				100	100	48	31	21
16	Т.А.В.	73	ж	0	200	87,5	5	7,5
				10	200	73,5	5	21,5
				100	200	61	22,5	16,5
17	Ч.А.В.	44	м	0	200	74	6	20
				10	200	28	35	37
				100	200	56	9	35
18	Я.А.Г.	67	м	0	200	89,5	3	7,5
				10	200	75,5	12	12,5
				100	0	—	—	—

Таблица 2

Выявление по величине p (уровню значимости) достоверности различий в содержании клеток первой и последующих поколений в культурах лимфоцитов с разной концентрацией внесенного BeSO_4 у одних и тех же представителей носителей бериллия и контрольной группы

№ п/п	Ф.И.О.	Величина p при сравнении содержания клеток первой и последующей поколений в культурах с разной указанной концентрацией BeSO_4 (*)				
		0–1 мкМ	0–10 мкМ	0–100 мкМ	1–10 мкМ	10–100 мкМ
Носители бериллия						
1	А.В.Н.	0,0249 (+)	0,0038 (+)	—	0,0687 (+)	—
2	А.В.М.	0,0004	0,0075 (+)	—	0,0000 (+)	—
3	А.В.В.1	0,0591	0,6027 (+)	—	0,0165 (+)	—
4	З.А.В.	0,1540	0,0002	—	0,0196	—
5	К.П.М.	0,7502	0,0007 (+)	—	0,0004 (+)	—
6	К.А.В.	—	—	—	—	—
7	К.А.А.	—	—	—	—	—
8	М.В.К.1	0,0000	0,0000	—	0,0141 (+)	—
9	М.В.К.2	0,0397	0,3882	—	0,2236 (+)	—
10	М.А.В	0,0000	0,7557	—	0,0000	—
11	М.Н.П.	0,0000 (+)	0,0000 (+)	—	0,1002	—
12	О.Г.И.	0,0005	0,0000	—	0,0031	—
13	П.Б.А.	0,0000	0,0002	—	0,0000 (+)	—
14	Р.А.А	0,0000	0,0000 (+)	—	0,0000 (+)	—
15	С.Л.А.	0,0023	0,0131	—	0,5597 (+)	—
16	Т.Н.А.	0,7901	0,0192	—	0,0374	—
17	У.В.М.	0,0000	0,0000	—	0,0000 (+)	—
18	Х.Р.Ф.	0,0007	0,1025	—	0,0736 (+)	—
19	Ш.Р.А.	0,0000	0,0000 (+)	—	0,0000 (+)	—
20	А.В.В.2	—	0,8408 (+)	0,2669 (+)	—	0,3630 (+)
21	Б.Г.И.	—	0,0000	0,0002 (+)	—	0,0000 (+)
22	К.М.В.	—	0,0000	0,0000	—	0,0001 (+)
23	М.Н.И.	—	0,0299 (+)	0,0001 (+)	—	0,0025 (+)
24	П.О.В.	—	—	—	—	—
Контрольная группа						
1	Б.В.М.	—	—	—	—	—
2	Б.Г.И.	0,0000	0,9164 (+)	—	0,0000 (+)	—
3	Е.Л.Н.	0,0000	0,0000	—	0,0000 (+)	—
4	И.Е.А.	0,0000	0,0560	—	0,1085 (+)	—
5	Л.Р.П.	0,2626 (+)	0,1311 (+)	—	0,6946 (+)	—
6	П.Л.А.	0,0117	0,0742 (+)	—	0,0000 (+)	—
7	С.И.И.	0,0000	0,0000	—	0,0308 (+)	—
8	Ф.А.А.	0,0195	0,0000	—	0,0003	—
9	Б.З.П.	—	0,0000	0,0001	—	0,0150 (+)
10	К.В.Н.	—	—	—	—	—
11	К.Г.А.	—	0,0000	0,0042	—	0,0055 (+)
12	К.О.Е.	—	0,0000	0,0000	—	0,0000 (+)
13	М.А.Г.	—	0,0000	0,0000	—	0,1961 (+)
14	С.М.С.	—	0,0000	0,0000	—	0,8415 (+)
15	С.В.И.	—	0,0001	0,0210	—	0,3237 (+)
16	Т.А.В.	—	0,0004	0,0000	—	0,0077
17	Ч.А.В.	—	0,0000	0,0002	—	0,0000 (+)
18	Я.А.Г.	—	0,0002	—	—	—

Примечание:

Жирным шрифтом выделены величины $p < 0,05$.

(*) — знак (+) указывает, что в культуре с большей концентрацией BeSO_4 содержится больше клеток первого митоза, чем в культуре с меньшей концентрацией

Таблица 3

Средний процент клеток в первом митозе в культурах с различным содержанием BeSO_4 у носителей бериллия и в контрольной группе

Концентрация BeSO_4 в культуре, мкМ	Количество культур	Средний процент клеток в первом митозе	Стандартная ошибка среднего значения
Носители бериллия			
0	21	58,5	7,0
1	17	37,2	5,8
10	21	54,7	7,2
100	4	78,2	7,6
Контрольная группа			
0	16	75,8	6,4
1	7	35,3	10,5
10	16	50,2	5,8
100	8	63,4	4,4

При выполнении FPG-методики проводили подсчет клеток различных генераций в культурах лимфоцитов лиц из контрольной группы и группы пациентов-носителей бериллия, включая больных бериллиозом.

В табл. 1 представлены результаты оценки процентного содержания метафаз первого, второго и последующих митозов в исследованных культурах лимфоцитов представителей основной и контрольной группы. Как можно видеть, у 3 носителей бериллия и у 2 пациентов из контрольной группы посадки культур лимфоцитов периферической крови оказались полностью неудачными.

В табл. 2 приведены данные по выявлению статистической значимости различий содержания клеток первой и последующих генераций в культурах лимфоцитов с разным количеством внесенного BeSO_4 у одних и тех же пациентов индивидуально. Для статистической обработки использовали критерий χ^2 или точный критерий Фишера, если одна из вариантов была меньше 5 [13].

В усредненном виде содержание клеток в первом митозе в культурах разного типа дано в табл. 3. Сравнение по t-критерию Стьюдента не выявило статистически значимых различий между двумя группами ни при одной из использованных концентраций BeSO_4 , включая 0 мкМ (уровень значимости p варьировал от 0,085 до 0,864). Учитывая высокую индивидуальную вариабельность в норме содержания клеток различных генераций в культурах лимфоцитов периферической крови разных индивидуумов [14], такой результат не вызывает удивления. В то же время, при использовании t-критерия Стьюдента с попарно связанными вариантами было показано, что в контрольной группе процент клеток в первом

митозе в культурах без BeSO_4 статистически значимо превышал таковой в культурах с концентрацией данного препарата 10 и 100 мкМ ($p = 0,0002$ и $0,0015$ соответственно). При концентрации BeSO_4 1 мкМ содержание клеток первой генерации также было ниже, чем при 0 мкМ, но находилось на грани статистической значимости ($p = 0,061$). В группе носителей бериллия аналогичная разница в том же направлении была существенна ($p = 0,011$). Однако при больших концентрациях BeSO_4 отличий от культур без бериллия по числу клеток в первом митозе не наблюдалось ($p = 0,365$ и $0,408$).

Таким образом, с нашей точки зрения, как в основной, так и контрольной группах наблюдается тенденция к ускорению пролиферации лимфоцитов в культуре при добавлении BeSO_4 в конечной концентрации 1 мкМ. Однако при больших концентрациях BeSO_4 в группе больных-носителей бериллия в среднем наблюдается возврат к тому же уровню пролиферации, как и в культурах без бериллия. Напротив, в контрольной группе стимулирующий эффект сохраняется, т.е. ситуация противоположна ожидавшейся. По-видимому, это обусловлено тем, что при действии ФГА количество стимулированных лимфоцитов оказывается больше, чем при специфической стимуляции бериллием. В то же время возможна дополнительная стимуляция бериллием разных групп лимфоцитов, отвечающих на действие ФГА, более выраженная в контрольной группе и ограниченная в группе лиц, которые уже имели контакт с бериллием, т.е. имеет место гипотетическая неспецифическая общая реакция системы Т-лимфоцитов, впервые встретившихся с этим металлом.

Заключение

Подводя итог проделанной части работы и принимая во внимание полученные результаты, а также литературные данные, считаем, что:

1. На настоящем этапе работы нет возможности достоверно оценить результаты использованного нами BeLPT теста, поскольку в России нет стандартного протокола данной методики и общепринятых вариантов расшифровки результатов анализа.
2. Существует необходимость увеличить число наблюдений (число лиц в когортах) для дальнейшего изучения эффективности BeLPT теста на основе применения CFSE.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Newman L.S.I, Mroz M.M., Balkissoon R., Maier L.A. Beryllium sensitization progresses to chronic beryllium disease: a longitudinal study of disease risk. // Amer. J. Respir. Crit. Care Med., 2005, **171**, No. 1, P. 54–60.
2. Newman L.S., Kreiss K., King T.E. Jr. et al. Pathologic and immunologic alterations in early stages of beryllium disease. Re-examination of disease definition and natural history. // Amer. Rev. Respir. Dis., 1989, **139**, No. 6, P. 1479–1486.
3. Kreiss K., Newman L.S., Mroz M.M., Campbell P.A. Screening blood test identifies subclinical beryllium disease. // J. Occup. Med., 1989, **31**, No. 7, P. 603–608.
4. Schuler C.R.I, Virji M.A., Deubner D.C. et al. Sensitization and chronic beryllium disease at a primary manufacturing facility. Part 3: Exposure-response among short-term workers. // Scand. J. Work Environ. Health, 2012, **38**, No. 3, P. 270–281.
5. Пяткин Е.К., Нугус В.Ю. Использование методики дифференциального окрашивания сестринских хроматид для изучения пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови человека в культуре в норме и после γ -облучения *in vitro*. // Радиобиология, 1980, **20**, № 6, С. 871–876.
6. Middleton D., Kowalski P. Advances in identifying beryllium sensitization and disease. // Int. J. Environ. Res. Public Health, 2010, No. 7, P. 115–124.
7. Deubner D.C., Goodman M., Iannuzzi J. Variability, predictive value, and uses of the beryllium blood lymphocyte proliferation test (BLPT): Preliminary analysis of the ongoing workforce survey. // Appl. Occup. Environ. Hyg., 2001, **16**, No. 5, P. 521–526.
8. Middleton D.C., Lewin M.D., Kowalski P.J. et al. The BeLPT: Algorithms and interpretations. // Amer. J. Ind. Med., 2006, **49**, No. 1, P. 36–44.
9. Maier L.A. Beryllium health effects in the era of the beryllium lymphocyte proliferation test. // Appl. Occup. Environ. Hyg., 2001, **16**, No. 5, P. 514–520.
10. Kreiss K., Wasserman S., Mroz M.M., Newman L.S. Beryllium disease screening in the ceramics industry: blood lymphocyte test performance and exposure-disease relations. // J. Occup. Med., 1993, **35**, No. 3, P. 267–274.
11. Newman L.S., Mroz M.M., Balkissoon R., Maier L.A. Beryllium sensitization progresses to chronic beryllium disease: a longitudinal study of disease risk. // Amer. J. Respir. Crit. Care Med., 2005, **171**, No. 1, P. 54–60.
12. Wallace P.K., Tario J.D. Jr., Fisher J.L. et al. Tracking antigen-driven responses by flow cytometry: monitoring proliferation by dye dilution. // Cytometry, 2008, **73A**, No. 11, P. 1019–1034.
13. Milovanova T.N. Comparative analysis between CFSE flow cytometric and tritiated thymidine incorporation tests for beryllium sensitivity. // Cytometry, 2007, **72B**, No. 4, P. 265–275.
14. Milovanova T.N., Popma S.H., Cherian S. et al. Flow cytometric test for beryllium sensitivity. // Cytometry, 2004, **60B**, No. 1, P. 23–30.
15. Снугирева 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.
16. Crossen P.E., Morgan W.F. Analysis of human lymphocyte cell cycle time in culture measured by sister chromatid differential staining. // Exp. Cell. Res., 1977, **104**, No. 2, P. 453–457.

Поступила: 16.10.2014

Принята к публикации: 19.12.2014

И.С. Захаров**ОСОБЕННОСТИ КОСТНОЙ ДЕНСИТОМЕТРИИ У ЖЕНЩИН
В ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ****I.S. Zakharov****Feature of Bone Densitometry in Postmenopausal Women**

РЕФЕРАТ

Цель: Провести комплексную оценку показателей минеральной плотности кости (МПК) у женщин постменопаузального периода методами двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии и количественной компьютерной томографии.

Материал и методы: В исследование вошли 210 женщин, находящихся в возрасте 50 лет и старше. Обследуемые были разделены на четыре возрастные группы: 50–59 лет ($n = 73$), 60–69 лет ($n = 58$), 70–79 лет ($n = 53$), 80 лет и старше ($n = 26$). Всем женщинам с интервалом 1–2 недели проводилась денситометрия поясничного отдела позвоночника методами двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (ДРА) и количественной компьютерной томографии (ККТ).

Результаты: В I возрастной группе (50–59 лет) не было выявлено значимых отличий в количестве случаев остеопороза при проведении ДРА и ККТ (15,1 % и 20,5 % соответственно, $p = 0,1$). Начиная со II возрастной группы (60–69 лет) при ККТ-денситометрии количество случаев выявления остеопороза было значимо выше, чем при двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (24,1 % — ДРА и 44,8 % — ККТ, $p = 0,001$). При изучении связи между результатами денситометрии, проведенной методами ДРА и ККТ, во всех возрастных группах выявлена положительная умеренная корреляция, однако с увеличением возраста сила связи уменьшалась (I группа: $r = 0,68$, $p = 0,001$; II группа: $r = 0,57$, $p = 0,001$; III группа: $r = 0,40$, $p = 0,003$; IV группа: $r = 0,40$, $p = 0,04$).

Выводы: С увеличением возраста пациенток наблюдалось расхождение результатов денситометрии в зависимости от используемого метода. Учитывая, что ДРА, при наличии дегенеративных процессов позвоночника, показывает завышенные значения МПК, женщинам после 60-летнего возраста рекомендуется проводить денситометрию методом количественной компьютерной томографии с целью повышения качества диагностики остеопороза.

Ключевые слова: минеральная плотность кости, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, количественная компьютерная томография, постменопаузальный остеопороз

ABSTRACT

Purpose: The comprehensive assessment of indicators of bone mineral density in postmenopausal women by dual-energy X-ray absorptiometry and quantitative computed tomography.

Material and methods: The study group comprised 210 women who are 50 years of age or older. Examinees were divided into four age groups: 50–59 ($n = 73$) 60–69 ($n = 58$), aged 70–79 years ($n = 53$), 80 years old and older ($n = 26$). The densitometry of the lumbar spine by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and quantitative computed tomography (QCT) were conducted for all women with an interval of 1–2 weeks

Results: In the group I (50–59) there were no significant differences in the incidence of osteoporosis during DXA and QCT (15.1 % and 20.5 %, respectively, $p = 0.1$). Beginning with the group II (60–69 years) QCT osteoporosis incidence was found much higher than in the dual-energy x-ray absorptiometry (24.1 % — DXA and 44.8 % — QCT, $p = 0.001$). In the study of the relationship between the results of densitometry conducted by DXA and QCT, in all age groups a positive moderate correlation, but with increasing age of the coupling strength decreased revealed (I group: $r = 0.68$, $p = 0.001$; II group: $r = 0.57$, $p = 0.001$; III group: $r = 0.40$, $p = 0.003$; IV group: $r = 0.40$, $p = 0.04$).

Conclusion: With age increasing the discrepancy of densitometry results depending on the method used was observed. Taken into account that the DXA, the presence of degenerative processes of the spine, shows higher values of the BMD, women after 60 years of age are recommended densitometry by quantitative computed tomography to improve the quality of diagnosis of osteoporosis.

Key words: bone mineral density, dual energy X-ray absorptiometry, quantitative computed tomography, postmenopausal osteoporosis

Введение

Увеличение среднего популяционного возраста населения неизбежно приводит к росту распространенности патологии, связанной с инволюционными процессами, происходящими в организме. Одним из заболеваний, обусловленных возрастными изменениями, является постменопаузальный остеопороз, возникающий на фоне снижения уровня эстрогенов у женщин после наступления менопаузы. Ряд исследований показал прямую корреляцию между распро-

страненностью данной патологии и возрастом женщин [1–3].

Важной характеристикой остеопороза является потеря костной массы, диагностическим критерием которой является снижение минеральной плотности кости (МПК). Существует связь между уровнем МПК и вероятностью переломов.

В диагностике остеопороза ведущее место занимают лучевые методы, позволяющие оценивать МПК. К ним относятся двухэнергетическая рентге-

новская абсорбциометрия (ДРА) и количественная компьютерная томография (ККТ). Рентгеновская денситометрия позволяет оценивать двухмерное распределение МПК, а КТТ-денситометрия — объемное (трехмерное) распределение МПК.

В настоящее время дискуссия о преимуществах трехмерной костной денситометрии над двухмерной остается открытой. КТТ-денситометрия имеет возможность проводить пространственное исследование трабекулярной и кортикальной кости по отдельности и избегать наложений окружающих тканей. При проведении ДРА у пациентов с образованием костной мозоли после перенесенного перелома позвонков, кифосколиозом, обызвествлением межпозвоночных дисков, образованием краевых остеофитов, обызвествлением аорты возникает завышение показателей МПК позвонков. Важным преимуществом ККТ является большая диагностическая точность у лиц с дегенеративными изменениями позвонков.

Несмотря на указанные достоинства ККТ, работы, посвященные трехмерной денситометрии, немногочисленны [4–6]. Встречаются лишь единичные исследования, сравнивающие ККТ-денситометрию с рентгеновской [7–9]. Наибольшая потеря костной массы у женщин происходит после наступления менопаузы. В связи с этим, исследование минеральной плотности кости различными методами денситометрии у женщин в возрасте 50 лет и старше, а также сравнительная оценка результатов рентгеновской и ККТ-денситометрии являются актуальными.

Цель работы — провести комплексную оценку показателей минеральной плотности кости у женщин постменопаузального периода методами двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии и количественной компьютерной томографии.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 210 женщин в возрасте 50 лет и старше. Обследуемые были разделены на четыре группы, представленные в табл. 1.

Исследование соответствовало этическим нормам Хельсинской декларации Всемирной медицин-

Таблица 1

Распределение обследованных женщин по возрастным группам

Возраст, лет	I группа (50–59)	II группа (60–69)	III группа (70–79)	IV группа (80 лет и старше)
Количество обследованных женщин	73	58	53	26

ской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Проводимая работа была одобрена этическим комитетом ГБОУ ВПО КемГМА Минздрава России.

Всем женщинам с интервалом 1–2 недели проводилась денситометрия методами ДРА и ККТ. Двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия осуществлялась на костном денситометре Lunar-DPX-NT (GE Healthcare, Великобритания). Трехмерная денситометрия проводилась на компьютерном томографе Somatom Emotion (Siemens, Германия) в режиме Osteo. Сканировались второй-четвертый поясничные позвонки.

Для оценки уровня МПК методом ДРА у женщин применялся T-критерий — количество стандартных отклонений от средних значений пика МПК молодых женщин. Согласно существующим рекомендациям, T-критерий, находящийся в пределах от –1 до –2,4, свидетельствует об остеопении, а при остеопорозе T-критерий соответствует –2,5 SD и ниже [10].

Результаты ККТ оценивались на основании показателей минеральной плотности трабекулярной кости [11]:

- норма — МПК более 120 мг/см³;
- остеопения — МПК находится в диапазоне 80–120 мг/см³;
- остеопороз — МПК находится ниже уровня 80 мг/см³.

Статистическая обработка осуществлялась с использованием программы Statistica 6.1. Нормальность распределения эмпирических показателей определялась с помощью метода Колмогорова–Смирнова

Таблица 2

Количество выявленных случаев остеопороза методами ДРА и ККТ в различных возрастных группах

	ДРА	ККТ	ϕ^*	p
I группа (n = 73)	11 (15,1 %)	15 (20,5 %)	0,858	0,1
II группа (n = 58)	14 (24,1 %)	26 (44,8 %)	2,375	0,001
III группа (n = 53)	22 (41,5 %)	31 (58,5 %)	1,761	0,03
IV группа (n = 26)	12 (46,2 %)	20 (76,9 %)	2,322	0,01

Примечание:

ϕ^* — угловое преобразование Фишера; p — уровень значимости

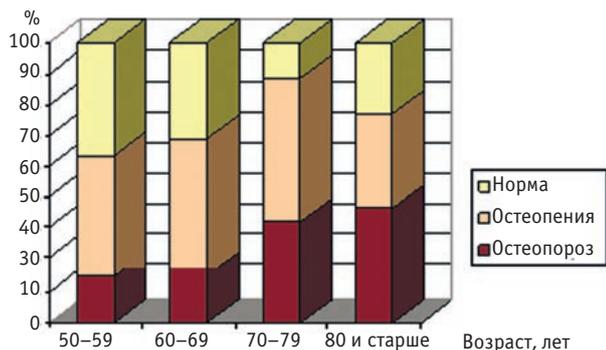


Рис. 1. Частота выявления остеопороза и остеопении методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии у женщин в постменопаузе

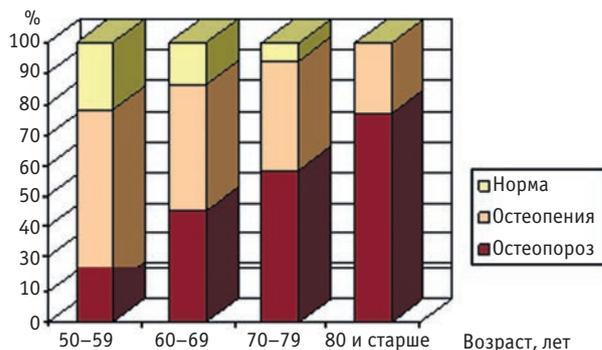


Рис. 2. Частота выявления остеопороза и остеопении методом количественной компьютерной томографии у женщин в постменопаузе

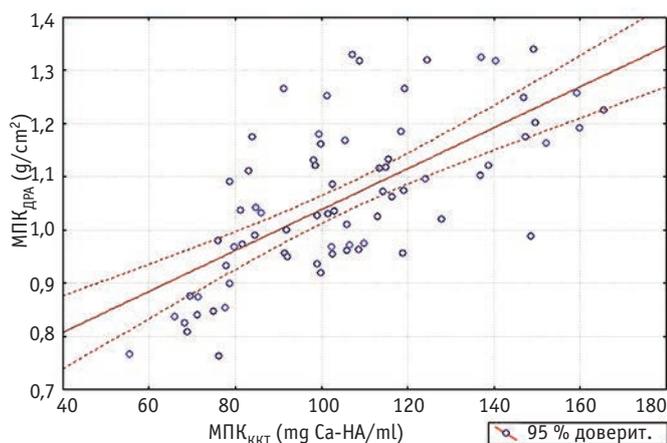


Рис. 3. Корреляция показателей минеральной плотности кости при проведении ДРА и RRN (возрастная группа 50–59 лет). Корреляция $r = 0,67986$ ($p = 0,001$) МПК ДРА ($г/см^2$)

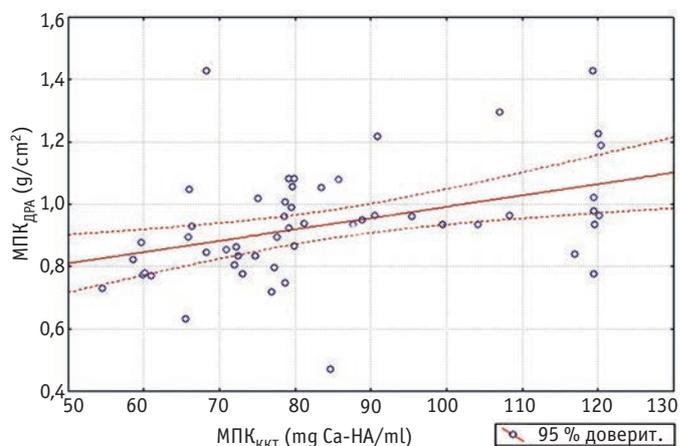


Рис. 4. Корреляция показателей минеральной плотности кости при проведении ДРА и RRN (возрастная группа 60–69 лет). Корреляция $r = 0,56887$ ($p = 0,001$)

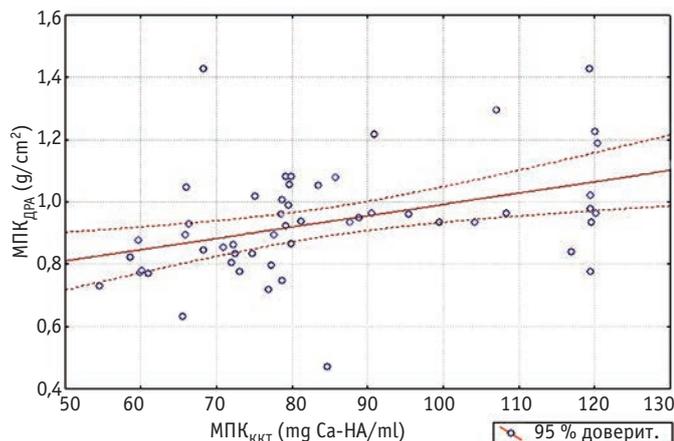


Рис. 5. Корреляция показателей минеральной плотности кости при проведении ДРА и RRN (возрастная группа 70–79 лет). Корреляция $r = 0,40239$ ($p = 0,003$)

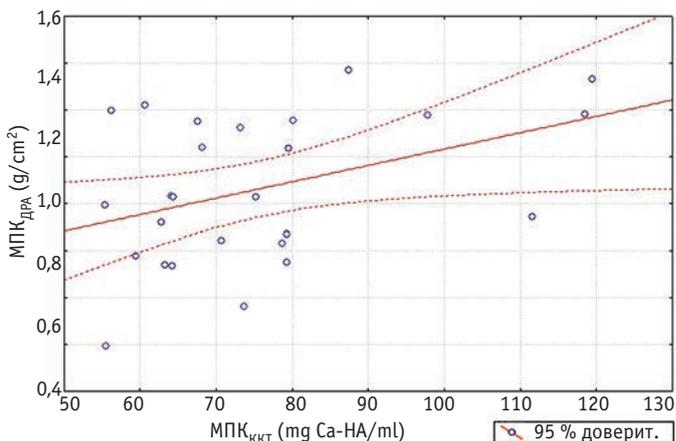


Рис. 6. Корреляция показателей минеральной плотности кости при проведении ДРА и RRN (возрастная группа 80 лет и старше). Корреляция $r = 0,40388$ ($p = 0,04$)

с уровнем значимости, равным 0,05 ($p = 0,05$). Сопоставление двух выборок по частоте встречаемости признака проводилось путем вычисления критерия χ^2 -углового преобразования Фишера. Связь между результатами различных методов денситометрии изучалась корреляционным методом (расчет коэффициента корреляции). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Методом ДРА в I возрастной группе остеопороз диагностировался у 15,1 %, остеопения — у 47,9 % женщин; во II группе — у 24,1 % и 44,8 %, в III группе — у 41,5 % и 47,2 %, в IV группе 46,2 % и 30,8 % соответственно (рис. 1).

При проведении денситометрии методом ККТ в I группе остеопороз был выявлен у 20,5 %, остеопения — у 57,5 % обследованных; во II группе — у 44,8 % и 41,4 %, в III группе — у 58,5 % и 35,8 %, в IV группе у 76,9 % и 23,1 % соответственно (рис. 2).

Согласно данным, приведенным в табл. 2, видно, что у женщин после 60 лет результаты ДРА и ККТ значимо отличались. Вероятно, это связано с возрастными дегенеративными процессами, происходящими в позвонках, и, как следствие, завышением показателей МПК при проведении ДРА.

При изучении связи между результатами денситометрии, проведенной методами ДРА и ККТ, во всех возрастных группах выявлена положительная умеренная корреляция, однако с увеличением возраста сила связи уменьшалась (рис. 3–6).

Выводы

1. У женщин постменопаузального периода с увеличением возраста частота выявления остеопороза методом ККТ выше, чем при ДРА.
2. Начиная с возрастной группы 60–69 лет, имеются значимые отличия в результатах ДРА и ККТ, что, вероятно, связано с дегенеративными изменениями, происходящими в позвонках и, как следствие, завышением показателей МПК при проведении ДРА.
3. При сравнении результатов ДРА и ККТ выявлена положительная корреляция умеренной силы, которая с увеличением возраста уменьшалась.

Таким образом, денситометрия, проводимая методом количественной компьютерной томографии, должна быть рекомендована женщинам после 60 лет с целью повышения качества диагностики остеопороза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и костно-мышечная система. — Киев, 2004, 512 с.
2. Сметник В.П. Медицина климактерия. — Ярославль: ООО «Издательство Литера», 2006, 848 с.
3. Захаров И.С., Колтинский Г.И., Ушакова Г.А. и соавт. Распространенность остеопенического синдрома у женщин в постменопаузе. // Медицина в Кузбассе, 2014, XIII, № 3, С. 32–36.
4. Абдрахманова Ж.С. Костная денситометрия и компьютерная томография в оценке пороговых значений минеральной плотности тел позвонков как фактора риска их переломов. — Томск: Автореф. дисс. канд. мед. наук, 2006, 19 с.
5. Власова И.С., Терновой С.К., Сорокин А.Д. Минеральная плотность позвонков у российской популяции по результатам количественной компьютерной томографии. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 1998, 43, № 6, С. 36–42.
6. Чурилов С.Л. Количественная компьютерная томография в диагностике и мониторинге лечения остеопении и остеопороза у больных с некоторыми ревматическими заболеваниями. — С.-Пб.: Автореф. дисс. канд. мед. наук, 2007, 24 с.
7. Bansal S.C., Khandelwal N., Rai D.V. et al. Comparison between the QCT and the DEXA scanners in the evaluation of BMD in the lumbar spine. // J. Clinical and Diagnostic Res., 2011, 5, No. 4, P. 694–699.
8. Pickhardt P.J., Lee L.J., del Rio A.M. et al. Simultaneous screening for osteoporosis at CT colonography: bone mineral density assessment using MDCT attenuation techniques compared with the DXA reference standard. // J. Bone Miner Res., 2011, Sep, 26, No. 9, P. 2194–203.
9. Yu W., Gluer C.C., Grampp S. et al. Spinal bone mineral assessment in postmenopausal women: a comparison between dual X-ray absorptiometry and quantitative computed tomography. // Osteoporos Int., 1995, 5, No. 6, P. 433–439.
10. These are the Official Positions of the ISCD as updated in 2013. Available at: <http://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult> (accessed April 24, 2014).
11. ACR–SPR–SSR practice parameter for the performance of quantitative computed tomography (QCT) bone densitometry. Available at: <http://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PCTS/guidelines/QCT.pdf> Res. 32 — 2013, Amended 2014 (Res. 39).

Поступила: 16.01.2015

Принята к публикации: 05.02.2015

V.F. Demin^{1,2}, A.A. Antsiferova², Yu.P. Buzulukov², V.A. Demin^{2,1},
V.Yu. Soloviev¹

NUCLEAR PHYSICAL METHOD FOR THE DETECTION OF CHEMICAL ELEMENTS IN BIOLOGICAL AND OTHER SAMPLES USING ACTIVATION BY CHARGED PARTICLES*

В.Ф. Демин^{1,2}, А.А. Анцифорова², Ю.П. Бузулуков², В.А. Демин^{2,1},
В.Ю. Соловьев¹

Ядерно-физический метод детектирования химических элементов в биологических и других образцах на основе активации заряженными частицами*

ABSTRACT

Purpose: To develop a method of radioactive tracers by the activation by charged particles for the studying quantitative content of chemical elements and nanoparticles in biological samples and in the environment.

Material and methods: Theoretical analysis and test experiment were carried out to study the possibility of using various nuclear methods for detection of chemical elements and nanoparticles in biological and other samples, using the activation of different isotopes by a charged particles flux. The characteristics of the products and the various nuclear reactions, taken from the IAEA's nuclear databases, have been considered. The irradiation of natural isotopes of titanium by fast neutron flux produces radioactive isotopes ⁴⁶Sc and ⁴⁷Sc (with half-life $T_{1/2}$, respectively, equal to 83.8 and 3.35 days), by fast protons flux — ⁴⁸V ($T_{1/2} = 16$ days) and by alpha-particles flux — ⁵¹Cr ($T_{1/2} = 27.7$ days). The flux of fast protons after interaction with the natural isotopes of platinum mixture generates radioactive isotope ¹⁹⁵Au ($T_{1/2} = 186$ days), with the isotopes of iron — ⁵⁶Co ($T_{1/2} = 77.7$ days), with the isotopes of manganese — ⁵⁴Mn ($T_{1/2} = 312$ days), with europium isotopes — ¹⁵¹Gd ($T_{1/2} = 124$ days) and ¹⁵³Gd ($T_{1/2} = 241.6$ days). We also consider the possibility of exposure to iron isotopes by fast deuterons flux with the formation of isotope ⁵⁶Co. All radioactive isotopes are gamma-emitters and are suitable for the measuring on gamma-spectrometers. Particular attention is paid to the detection of nanoparticles of titanium dioxide, which takes one of the first places in the list of priority nanomaterials. For estimate the proportion of silver nanoparticles or another nanoparticles passing through the blood-brain barrier, evaluation of the content of iron in the blood can give a key information.

Results: The use of such methods in addition to the traditional neutron activation analysis expands the list of chemical elements, which can be successfully detected by the nuclear activation. This expansion includes such elements as titanium, iron, platinum, manganese, europium and some others.

Key words: nuclear-physical methods, radioactive tracer, charged particles, biokinetics, laboratory animals, the environment, nanoparticles

РЕФЕРАТ

Цель: Разработка метода радиоактивных индикаторов на основе активации заряженными частицами для исследования биокинетики химических элементов и наночастиц в биологических образцах и окружающей среде.

Материал и методы: Проведен теоретический анализ и тестовый эксперимент по исследованию возможности применения различных ядерно-физических методов детектирования химических элементов в биологических и других образцах, в том числе в составе наночастиц, с использованием активации различных изотопов потоком заряженных частиц. Проанализированы продукты различных ядерных реакций. При облучении природных изотопов титана потоком быстрых нейтронов образуются радиоактивные изотопы ⁴⁶Sc и ⁴⁷Sc (с периодами полураспада $T_{1/2}$ равными соответственно 83,8 и 3,35 дня), потоком быстрых протонов — ⁴⁸V ($T_{1/2} = 15,98$ дня), а альфа-частицами — ⁵¹Cr ($T_{1/2} = 27,7$ дня). При облучении быстрыми протонами природной смеси изотопов платины образуется радиоактивный изотоп ¹⁹⁵Au ($T_{1/2} = 186,12$ дня), изотопов железа — ⁵⁶Co ($T_{1/2} = 77,7$ дня), изотопов марганца с образованием изотопа ⁵⁵Mn ($T_{1/2} = 312,1$ дня), изотопов европия — изотопы гадолиния ¹⁵¹Gd и ¹⁵³Gd ($T_{1/2}$ составляет, соответственно, 124 и 241,6 дня). Рассмотрена также возможность облучения изотопов железа быстрыми дейтронами с образованием того же изотопа ⁵⁶Co. Все образующиеся радиоактивные изотопы являются гамма-излучателями и имеют удобные для целей измерения на гамма-спектрометре энергетические линии. Особое внимание уделяется детектированию наночастиц из двуокиси титана, занимающими одно из первых мест в списке приоритетных наноматериалов. При количественной оценке доли наночастиц серебра или других наночастиц, проходящих через гематоэнцефалический барьер, оценка содержания железа в крови может дать недостающую ключевую информацию. При выборе оптимальной процедуры проведения эксперимента получаемые радиоактивные продукты будут иметь активность ниже минимально значимой активности.

Результаты: Применение рассмотренных ядерно-физических методов в дополнение к традиционному нейтронно-активационному анализу существенно расширяет список химических элементов, на такие как титан, железо, платина, магний, европий и др., для детектирования которых они могут быть успешно применены.

Ключевые слова: ядерно-физические методы, радиоактивный индикатор, заряженные частицы, биокинетика, лабораторные животные, окружающая среда, наночастицы

*Applied research is carried out with financial support from the state on behalf of the Russian Ministry of Education and Science (RFMEFI60414X0114)

* Прикладные научные исследования проводятся при финансовой поддержке государства в лице Минобрнауки России (RFMEFI60414X0114)

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна ФМБА России, Москва. E-mail: vfdemin_kiae@mail.ru
² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

¹ A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia. E-mail: vfdemin_kiae@mail.ru
² National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

Introduction

Accelerated development of nanotechnology increases the amount of products containing nanoparticles (NPs). Only in the food industry currently more than 200 products with nanomaterials are used. Exponential growth of the amount of products with nanomaterials requires an assessing not only their useful properties, but also the degree of risk to humans and the environment that creates the problem of ensuring their safety for human health and the environment.

A key way in solving this problem is to study biokinetics (absorption, biodistribution, metabolism and excretion) of nanoproducts in animals and humans. The basis of this research is a quantitative measurement of the NPs mass content in biological samples.

Quantitative measurement of NPs content in living organisms and material / waste of nanotechnology presents considerable difficulties because of the high demands for sensitivity and accuracy. These difficulties in the most concentrated form manifest in quantitative measurements of NPs content in complex, multi-component and polydisperse systems, such as tissues of living organisms.

One of the most promising methods for measuring the mass of inorganic NPs is a method of radioactive tracers, based on neutron activation of the atomic nuclei. In previous years, NRC "Kurchatov Institute" in collaboration with the Moscow Institute of Nutrition performed a significant amount of work on the development of the method and its application to the study of biokinetics of NPs, such as silver, zinc dioxide, gold and selenium. For the first two types of NPs the techniques were developed and certified in GOST R system [1]. These techniques are recommended for use in Rospotrebnadzor' document MR 1.2.0048-11 [2].

Method of detecting chemical elements contained in the NPs based on thermal neutron activation is applicable to a limited number of such elements. They include silver (Ag), zinc (Zn), selenium (Se), cerium (Ce), lanthanum (La), iron (Fe), gold (Au), iridium (Ir). The most serious limitation is imposed on the number of elements in the biokinetics' study in the experiments on laboratory animals due to possible requirements on their duration. In studies of trace elements and hazardous pollutants in the environment, agricultural and food products, this list may be expanded considerably. Practical needs in quantifying the content of trace elements in the various materials demands significant expansion of this list.

In different practical fields (scientific research, medicine, nanotechnology) there is a need for methods of detecting other elements such as titanium (Ti), platinum (Pt), europium (Eu) and some others. In addition, not for all elements, listed in the first list, and not in all options of research the high sensitivity of the measurement in the application of the neutron activation method can be ensured. For example, such situation may occur in

measuring the iron content in the samples due to the low content of isotope ^{58}Fe (0.28 %) in the natural isotope mixture. The measurement sensitivity may fall due to long time isotope activation with relatively short half-life, for example, $^{195}\text{Pt}_{78}$ with $T_{1/2} = 4$ days. In connection with this, we started the study of the possibility of using the elements' activation in nanomaterials by irradiation with fast charged particles (p, d, ^3He , ^4He) paying particular attention to proton irradiation. Preliminary theoretical analysis and experimental research using beams of fast charged particles of the cyclotron in NRC "Kurchatov Institute" promises the hope of the viability of this method of activation as applied to biological and environmental research.

Material and methods

The method of radioactive tracers based on neutron activation was developed many decades ago for the purpose of biochemical and physico-chemical analysis.

Radiotracer method based on the neutron activation was developed several decades ago to conduct biochemical and physico-chemical analysis. This method is unique in its features of sensitivity and accuracy (see review paper [3]). It is one of the widely used technologies from the standpoint of its sensitivity [1, 3–7].

Originality and features of modern development of the radiotracer method are as follows:

- the scope of the application nanoparticles/nanomaterials with specific chemical elements, support research on their bio- and toxico-kinetics;
- the application of modern highly sensitive gamma-spectrometric equipment;
- development of standardized measurement techniques to ensure the reliability and accuracy of measurement; one embodiment of this method (the method of comparison with a standard sample) allows to receive the result of measurement with a high precision (with a relative error less than 15 %);
- it is possible to determine the mass content of biophilic elements (e.g., zinc, selenium) in biological tissues and organs, in contrast to many other methods;
- it is possible to measure directly the mass content in solid samples, while many other methods require prior sample transformation into a liquid or gaseous state;
- determination of the mass content of nanomaterials can be produced both in micro- and macro-samples up to several centimeters in all three dimensions;
- if the activated isotope has a sufficiently long half-life (a few ten-day periods), this method can be applied to biological and other experiments lasting for tens — hundreds of days, commensurate with the time of process of transport of nanomaterials in experimental animals or objects of the environment;

- the possibility of using not only thermal neutrons flow but also charged particles flow for the isotope activation significantly expands the scope of the nuclear-physical methods.
- NRC “Kurchatov Institute” has a certified equipment necessary for the application of nuclear-physical methods of measuring the mass of chemical elements (research nuclear reactor IR-8 with a thermal neutron flux of at least 10^{12} neutrons/s \times cm², cyclotron, modern multichannel analyzers of gamma-spectra, etc.).

Activation analysis options

As in the embodiment of neutron activation analysis two modifications of the method are used: the absolute and relative measurements [1, 4, 7]. In absolute method, the mass content of the investigated element in the sample is calculated by the known nuclear properties of the target and activated radioactive isotope and the value of the flux density of charged particles during irradiation and others. In this case, the measurements can contribute significantly to systematic and random components of uncertainty into the results.

The absolute method is used for the preliminary assessment of activity of the samples. Using the results of this evaluation, a scenario of the experiment using nuclear-physical methods of detection of nanomaterials in the samples is determined. In particular, the exposure time of the sample by neutrons or charged particles, the holding time after the exposure and the time of measuring the activity on a gamma-spectrometer are determined.

In the relative method of measuring, the content of the element in the sample is determined by comparison of the radiation activity of the test sample and the standard sample with a known content of an element after simultaneous exposure of test and standard samples to the activating particles' flow. In this case, the measurement' result does not depend on the variation of the value of the particle flux density. Thus, the measurement uncertainty in the relative activation analysis method is much smaller. To use it, the standard samples with known content of the element must be prepared.

Depending on the goals and objectives of the study, as well as on the biological properties of the sought-for element (whether it is a biophil element, i.e., is it contained in the body in a natural amount, or it is not biophil) one of two experiment' variants on laboratory animals is chosen:

- 1) co-activating irradiation of the test and standard samples with subsequent gamma-spectrometric analysis;
- 2) preliminary preparation of the radiolabeled material containing a tested chemical element in a particular physico-chemical form by irradiation of primary non-radioactive material; administration of radioactively labeled material in the test medium (animal' organism

or some other sample); gamma-spectrometric analysis of the sample with the tested radiolabeled element.

For such elements as Pb, Ag, Au, As, etc. one may use both types of the experiments. For biophilic elements (Fe, Zn, Se, Ti, etc.), when a varying amount of the element is contained in the animal organs, in the biological studies only the second type of the experiment may be recommended — with the radiolabel material.

When studying the penetrability of the blood-brain barrier by investigated NPs it is necessary also to determine the iron content in the blood and brain samples. Knowing the NPs concentration in the peripheral blood one can estimate the NPs content in the blood veins of the brain of laboratory animals. And then the NPs fraction passing through the blood-brain barrier can be determined. Determination of iron in the blood is carried out by the same method of radioactive tracers: activation of iron isotopes.

Theoretical analysis of the activation method with charged particles

This analysis was performed for a number of elements relevant from scientific and practical points of view.

Titanium. One of the first places in the list of priority nanomaterials is taken by titanium Ti, used usually in the form of titanium dioxide TiO₂ [8]. For this element there are no radioactive isotopes, activated by the thermal neutron flux, with the required properties. Because of the special needs in developing a method of detecting nanomaterials with this element the method of activation of titanium in fast neutrons flux was investigated.

Upon irradiating natural isotopes of titanium with fast neutrons, radioisotopes ⁴⁶Sc and ⁴⁷Sc are produced in the reaction (n, p) with the necessary properties for gamma-spectrometry measurements ($T_{1/2}$ are 83.8 and 3.35 days respectively). In this study the secondary beam of fast neutrons, generated in the cyclotron of NRC “Kurchatov Institute”, was used. The study has shown that it was impossible to obtain high detection sensitivity with a titanium content of nanomaterials due to the relatively small cross section of the (n, p) reaction and insufficient power of the secondary beam of fast neutrons.

In this regard, the development of another method of detecting the content of titanium nanomaterials was initiated. That method is based on the activation of titanium by fast protons to form radioactive isotope ⁴⁸V in reactions (p; n, 2n, ..) on natural titanium isotopes. Radioisotope ⁴⁸V has a sufficiently long half-life ($T_{1/2} = 16$ days) and two gamma-lines 1.31 and 0.98 MeV with a single output for each decay. Preliminary theoretical analysis of this method showed its satisfactory characteristics.

Both methods of analysis — absolute and relative ones — are equally applicable to activation of the target by fast protons.

The evaluation of the titanium activation with the absolute method has demonstrated the possibility of the radioactive label ^{48}V formation with sufficient activity. In this evaluation the characteristics of the proton beam of the cyclotron and the available literature' nuclear data on the target nuclei and radioisotope ^{48}V were considered. Nuclear data were taken from the IAEA's nuclear databases, see fig. 1 with the data on the cross section of proton activation of natural titanium isotopes. Thus, the possibility to achieve a sufficient sensitivity of detection of nanomaterials with titanium can be real.

We also considered the option of activating titanium with fast alpha particles. Fig. 2 shows the cross section of the reaction $^{nat}\text{Ti}(\alpha,x)^{51}\text{Cr}$ with the release of the radioactive isotope ^{51}Cr ($T_{1/2} = 27.7$ days, $E_\gamma = 0.32$ MeV). The cross section for this reaction is higher than for the activation by protons and ^{51}Cr radiolabel has almost two times longer half-life, than ^{48}V .

Platinum. When irradiating natural platinum isotope mixture in the fast protons beam, reactions (p; n, 2n, ..) form radioisotope ^{195}Au , having a half-life $T_{1/2} = 186.1$ days and gamma-line with energy 0.099 MeV. For a sufficiently long time' experiments (tens — hundreds of days), this activation option can give the desired results in the terms of sensitivity and accuracy.

Iron. The irradiation of a natural mixture of iron isotopes by fast protons produces radioactive isotopes of cobalt in the reactions $^{nat}\text{Fe}(p,x)^{56,57,58}\text{Co}$. Radioisotope ^{56}Co presents the greatest interest. It is formed from the main natural isotope ^{56}Fe (91.75 % content in the natural isotope mixture), has a half-life $T_{1/2} = 77.7$ days and gamma ray line of energy 0.847 and 1.24 MeV (respectively with the quantum yields per unit of radioisotope decay $n_\gamma = 1; 0.67$).

The option of activating iron isotopes by fast deuterons is also of interest. In reactions $^{nat}\text{Fe}(d,x)^{56}\text{Co}$ radioisotope ^{56}Co is generated. Fig. 3 shows the dependence of the reaction cross section on the energy of the deuterons. In these options with the existing technical characteristics of the cyclotron one can achieve better results than with irradiation by thermal neutrons.

Europium. Upon irradiation of natural europium with fast protons, reactions $^{151}\text{Eu}(p,n)^{151}\text{Gd}$ and $^{153}\text{Eu}(p,n)^{153}\text{Gd}$ generate radioactive isotopes of gadolinium ^{151}Gd and ^{153}Gd with half-life, respectively, 124 and 241.6 days and gamma ray lines 0.154; 0.243 and 0.097, 0.103 MeV respectively. This option is suitable for the detection of europium in various nanomaterials.

Manganese. Manganese has the single natural isotope, ^{55}Mn . Its irradiation by fast protons creates in the reaction $^{55}\text{Mn}(p;p,n)^{54}\text{Mn}$ radioisotope ^{54}Mn with a half-life $T_{1/2} = 312.1$ days and gamma line with energy 0.835 MeV.

Description of the experiment. Test experiment was performed with irradiation of TiO_2 NPs in the form of

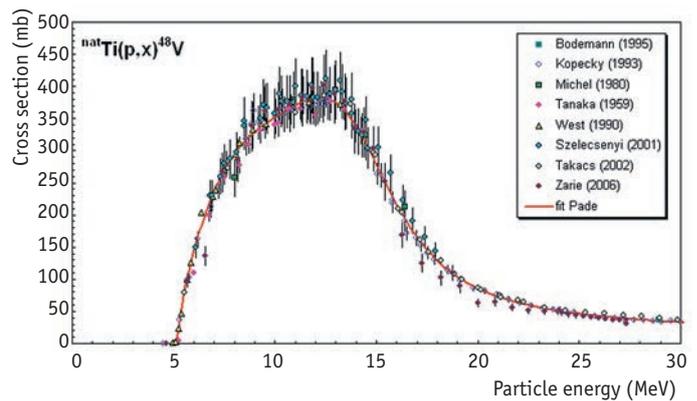


Fig. 1. Cross section of reaction $\text{Ti}(p,x)^{48}\text{V}$ on the natural mixture of isotopes of titanium depending on the energy of the protons (IAEA, Nuclear Databases)

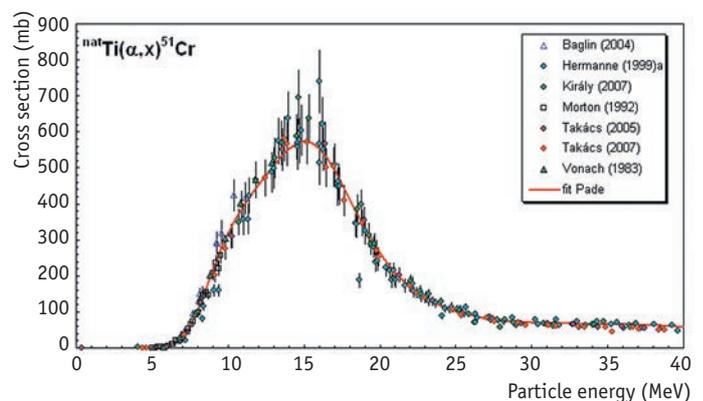


Fig. 2. Cross section of reaction $\text{Ti}(\alpha,x)^{51}\text{Cr}$ on the natural mixture of isotopes of titanium depending on the energy of the alpha-particles (IAEA, Nuclear Databases)

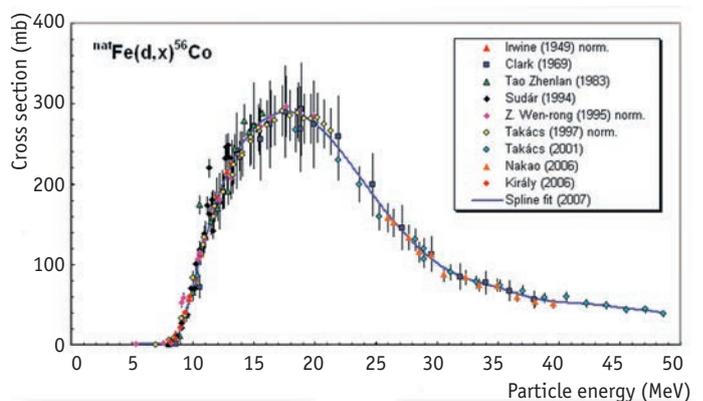


Fig. 3. Cross section of reaction $\text{Fe}(d,x)^{56}\text{Co}$ on the natural mixture of isotopes of iron depending on the energy of the deuterons (IAEA, Nuclear Databases)

powder rutile (Sigma-Aldrich, USA — Germany) by the proton beam of the cyclotron. According to the study on the transmission electron microscope TEM, the rutile was presented partially by aggregated nanorods with a diameter of 5–10 nm and a length of 40–50 nm [6].

For planning the experiment, the theoretical calculations were made with the absolute method. Taking into account the rather high cross section of natural titanium isotopes' activation by fast protons and characteristics of the proton beam of the cyclotron, the following parameters were chosen for the irradiation of ampoules with TiO_2 : proton beam power with an energy of 32 MeV — 0.1 mA, exposure time — 28 minutes. For the irradiation the sample was prepared containing 0.6 g of titanium dioxide powder (0.36 g of titanium) in a sealed tube, made of quartz glass.

Fig. 4 shows the spectrum of gamma-lines after proton activation of the sample with TiO_2 obtained on gamma-spectrometer in NRC “Kurchatov Institute”.

After opening the ampoule 0.58 g of powder were dissolved in 25 cm^3 of water and, after vigorous stirring, the solution was aliquoted in the tubes in amount of 1 cm^3 . Thus, each tube contained 23.2 mg of rutile NPs. Measurements on gamma-spectrometer have shown that activity of radioisotope ^{48}V in tubes corresponded to 4.4 kBq, which gives a specific activity about 190 Bq / mg. One should take into consideration a nonuniformity of irradiation of rutile mass in the tube due to relatively short free path of the protons and the narrowness of the proton beam. Homogeneity of samples was provided by dissolving them in water and stirring.

Two tubes were subjected to centrifugation at 18.000 rpm for deposition of particles and nanoparticles and

evaluation of the possible content of ^{48}V ions in solution. After merging the liquid of the two tubes in one other tube, its activity was measured.

Results and discussion

In the reaction with the fast protons radionuclides ^{48}V produced possess high recoil energy. It was necessary to determine the ^{48}V amount which can be outside the nanoparticles volume. Behavior of radioisotopes ^{48}V and NPs themselves are different in the body of the animal.

Measured activity of the test tube with liquid from the two initial test tubes after centrifugation was equal to 7.1 Bq. Its initial activity was 8.8 kBq. Thus, the activity of the isotope ions did not exceed $0.8 \cdot 10^{-3}$ of initial NPs activity. This testifies to the low yield of radioisotope ^{48}V outside NPs after proton irradiation.

The main purpose of developing MRI on the basis of the activation by charged particles is to provide a reliable and sensitive method for measuring the content of NPs with TiO_2 and other substances in the studies of NPs distribution kinetics in experimental animals. For NPs loaded with silver, zinc and selenium, these experiments were carried out using thermal neutron activation [1, 5, 6]. Previous experience in this part of the experimental work with animals and of gamma-spectrometry analysis is fully applicable in experiments with activation by the charged particles.

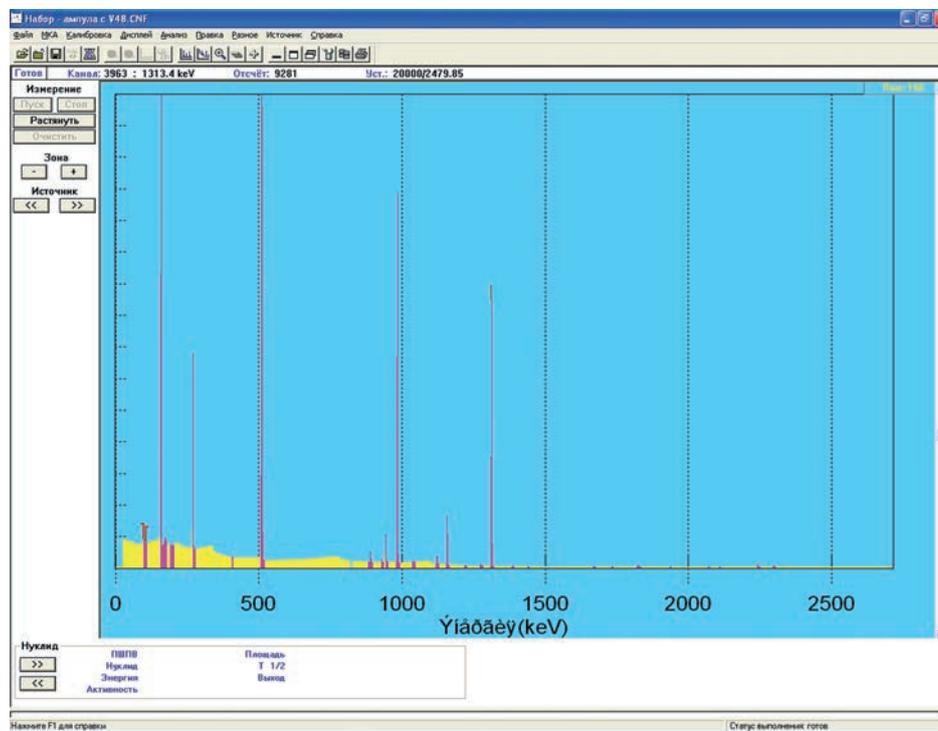


Fig. 3. Cross section of reaction $\text{Fe}(d,x)^{56}\text{Co}$ on the natural mixture of isotopes of iron depending on the energy of the deuterons (IAEA, Nuclear Databases)

The main attention of past and planned experiments on NPs biokinetics was given to per oral way of NPs administration. It is appropriate to note that the earlier MRI method, based on the activation by accelerated protons, was applied in Germany to determination of titanium oxide distribution after its inhalation by rats [8].

During the session with the optimal proton irradiation of test samples and gamma-spectrometry analysis one can expect that the detection limit of titanium in the sample can be reduced to a few — tens of nanograms.

The sensitivity of the detection method of titanium in various samples 2–3 orders of magnitude higher with activation by cyclotron' fast protons than by fast neutrons generated in the same cyclotron.

Titanium is not biophilic element. Nevertheless, it is present in small amounts in some animal tissues [9]. For this reason, the biological experiments with titan containing materials should be made using the 2nd option (see above): pre-production of radioactive-labeled material containing the desired chemical element.

Conclusion

Summing up, it can be noted that the theoretical analysis and test experiments have shown the possibility of effective application of nuclear physics methods to measure the NPs content in biological, environmental and other samples containing a number of scientifically and practically significant elements, using the activation of source isotope by fast charged particles. Application of this method of activation, in addition to the method of thermal neutron activation extends the list of the NPs and the chemical elements, to which nuclear physical method of detection can be successfully applied.

Experimental verification of the possible release of the radioisotope ^{48}V beyond the NPs volume because of the relatively high energy recoil in the reaction (p, x) shows that this output is negligible, and its impact on the accuracy of measurement of the NPs with TiO_2 is insignificant. A similar result can be expected for other elements using activation by accelerated charged particles. Such test was carried out only for the activation of the elements by fast protons. According to available data, some of which is shown above, the reaction cross sections with other charged particles (d, ^3He , ^4He) have the same order of magnitude as the reactions with protons. This means that, if it is necessary for activation of the studied elements, these charged particles may also be used.

Nuclear-physical methods of detecting the trace elements in different samples based on neutron activation has continuously been used in various research institutes,

see e.g. [3, 7]. But ecological and hygienic control of these micronutrients is still comprise an actual scientific and practical problem.

LIST OF REFERENCES

1. *Demin V.A., Demin V.F., Buzulukov Yu.P. et al.* Formation of certified reference materials and standard measurement guides for development of traceable measurements of mass fractions and sizes of nanoparticles in different media and biological matrixes on the basis of gamma ray and optical spectroscopy. // *Nanotechnologies in Russia*, 2013, **8**, No. 5–6, P. 347–356.
2. Methodological recommendations MR 1.2.0048-11 “Procedures and methods for determining organotropona and toxicokinetic parameters of engineered nanomaterials in tests on laboratory animals”. — M.: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2011, 33 pp.
3. *Frontasyeva M.V.* Neutron activation analysis for the life sciences. A Review. // *Phys. Part. Nucl.*, 2011, **42**, No. 2. P. 332–378.
4. *Kuznetsov R.A.* Activation analysis. — M.: Atomizdat, 1974, 343 pp.
5. *Buzulukov Yu.P., Arianova E.A., Demin V.F. et al.* Bioaccumulation of silver and gold nanoparticles in organs and tissues of rats studied by neutron activation analysis. // *Biol. Bulletin*, 2014, **41**, No. 3, P. 255–263.
6. *Gmshinski I.V., Khotimchenko S.A., Popov V.O. et al.* Nanomaterials and nanotechnologies: methods of analysis and control. // *Russian Chem. Rev.*, 2013, **82**, No. 1, P. 48–76.
7. *Gorbunov A.V., Lyapunov S.M., Okina O.I. et al.* Assessment of human organism's intake of trace elements from staple foodstuffs in central region of Russia. Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna, 2004.
8. *Kreyling W.G., Wenk A., Semmler-Behnke M.* Quantitative biokinetic analysis of radioactively labelled, inhaled titanium dioxide nanoparticles in a rat model. <http://www.uba.de/uba-info-medien-e/4022.html>.
9. *Sigubayashi K., Todo H., Kimura E.* Safety evaluation of titanium dioxide nanoparticles by their absorption and elimination profiles. // *J. Toxicol. Sci.* 2008, **33**, No. 3. P. 293–298.

Поступила: 11.12.2015

Принята к публикации: 04.02.2015

Ю.Н. Корыстов

АНАЛИЗ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА МАЛЫХ ДОЗ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

Y.N. Korystov

The Analysis of Radiobiological Data for the Estimation of the Carcinogenic Risk from Low Radiation Doses

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение
2. Об экспериментальном обосновании линейной беспороговой дозовой зависимости стохастических эффектов радиации
3. Передача мишени дозы, поглощённой вне клетки: факторы, которые могут увеличить объём мишени и снизить эффективную дозу
 - 3.1. Эффект облучённой среды
 - 3.2. Эффект свидетеля
4. Индуцируемая радиацией нестабильность генома
5. Репарация ДНК и элиминация мутантных клеток: факторы, которые могут уменьшить объём мишени и увеличить эффективную дозу
 - 5.1. Роль репарации ДНК в радиационном канцерогенезе
 - 5.2. Стимуляция противоопухолевого иммунитета и апоптоза малыми дозами радиации: активация элиминации трансформированных клеток и подавление роста опухолей
6. Зависимость стохастических эффектов радиации от мощности дозы
7. Влияние малых доз ионизирующей радиации на канцерогенез: экспериментальные данные
8. Выводы

Ключевые слова: ионизирующее излучение, малые дозы, радиационно-индуцированные опухоли

CONTENTS

1. Introduction
2. About experimental basis of linear-no-threshold dose dependence of stochastic effects of radiation
3. Transfer energy absorbed outside cell to target: the factors that can increase target volume and decrease the effective dose
 - 3.1. Effect of irradiated medium
 - 3.2. Bystander effect
4. Radiation induced genome instability
5. DNA reparation and elimination of mutated cells: the factors that can decrease the target volume and increase the effective dose
 - 5.1. Role of DNA reparation in radiation carcinogenesis
 - 5.2. Stimulation of anticancer immunity and apoptosis with low radiation doses
6. Dependence of stochastic effects of radiation on dose rate
7. Influence of low doses of ionizing radiation on carcinogenesis: experimental data
8. Conclusion

Key words: ionizing radiation, low doses, radiation-induced tumors

1. Введение

Нормирование риска стохастических эффектов малых доз ионизирующей радиации — проблема, решение которой имеет важные социальные и экономические последствия. Большинство исследователей и экспертов сходятся на том, что малыми следует считать дозы до 100 мГр включительно [1]. Возможно, это значение верхней границы малых доз занижено (см. раздел 7). В настоящее время в большинстве стран, за единственным, по-видимому, исключением, Франции, основой для нормирования является концепция линейной беспороговой дозовой зависимости стохастических эффектов радиации (линейная беспороговая концепция — linear-no-threshold, LNT) [2]. Идейным основоположником LNT считается Мёллер, который в 1930 г. предположил, что частота мутаций точно пропорциональна поглощённой дозе

[3]. Эта гипотеза была основана на том, что количество попаданий (в клетку) линейно возрастает с поглощённой дозой. Клеточные и организменные процессы, модифицирующие результат попаданий, были в то время неизвестны. В 1958 г. LNT была принята как методическая инструкция для оценки эффектов малых доз радиации [4]. С этого года и по настоящее время LNT базируется на следующих положениях: любая доза, сколько бы ни была она малой, увеличивает канцерогенный риск; риск на единицу дозы постоянен и не зависит от мощности дозы; риск аддитивен и увеличивается с дозой.

LNT была подвергнута критике сразу же после её принятия [4]. В дальнейшем несоответствие официально принятой методики нормирования малых доз ионизирующей радиации современной информации о проблеме отмечалось в возрастающем числе публикаций разных авторов [2, 5–16]. Накапливающееся

количество данных, не согласующихся с LNT, и авторов, не разделяющих принятую методику нормирования, не смущают апологетов этой концепции. Так, в обзоре [17] после обсуждения сложностей определения эффектов при малых дозах и множества факторов, на них влияющих, авторы, казалось бы, должны были прийти к тому, что они не могут дать рекомендации по нормированию стохастических эффектов малых доз радиации. Вывод, однако, был сделан совсем другой: «Мы продолжаем поддерживать хорошо обоснованную радиобиологическую концепцию о том, что не существует полностью безопасных доз радиации и что необходимо стремиться к как можно большему снижению доз радиации и повреждению». В последнее время, однако, мнение официальных организаций об обоснованности LNT уже не столь категорично: признаётся статистическая неопределённость эффектов в области малых доз, а использование LNT в нормировании аргументируется не её научной обоснованностью, а удобством [18]. В обзоре анализируются радиобиологические данные, имеющие прямое отношение к основам нормирования малых доз, и проведено обсуждение их соответствия с LNT.

2. Об экспериментальном обосновании линейной беспороговой дозовой зависимости стохастических эффектов радиации

В настоящем разделе мы рассмотрим вопрос о принятом нормировании малых доз ионизирующей радиации с другой точки зрения: не чему оно противоречит, а на каких данных основано. Например, на чём основано решение об одном из очередных снижений предельно допустимой дозы (ПДД). В обзоре [19] приводится следующее обоснование ПДД: «Для увеличения надёжности защиты против потенциальных радиационных повреждений концепция максимально допустимой дозы была разработана для двух главных популяционных групп. Ежегодное значение ПДД для стохастических эффектов в основной популяции, где вероятность биологических эффектов пропорциональна дозе (линейный беспороговый эффект) в 50 раз меньше (1 мЗв), чем рекомендовано для профессионалов, связанных с радиацией (50 мЗв). В Великобритании профессиональным стандартом является 20 мЗв, как эффективная доза [20]. Хотя значение ПДД оставалось постоянным в течение последних десятилетий, в 1991 г. было рекомендовано снизить его для популяции США в 5 раз [21], и эта рекомендация была принята в 1993 г. Это было обусловлено появлением новых данных по действию малых доз радиации на соматические и наследственные мутации у животных и клетках в культуре [22–25]».

При обсуждении приведенной выше цитаты, прежде всего, следует отметить, что ссылка на источник

[22] не конкретна, поскольку не указывается, какие именно данные, содержащиеся в источнике, требуют снижения ПДД. После прочтения этого тома я не обнаружил в нем таких экспериментальных данных или ссылок на них. В разделе «Рекомендации» указывается, что оценка канцерогенных рисков малых доз радиации была сделана экстраполяцией по LNT эффектов доз больше 0,1 Гр. Учебник самого К.Н. Прасада (K. N. Prasad) [24] вышел гораздо позже принятой рекомендации и, кроме того, в нём также не уточняется, какие именно данные имеет в виду автор. Таким образом, основанием для рекомендации снижения ПДД в 1991 г. были не экспериментальные данные для малых доз, а экстраполяция эффектов больших доз к малым. Тогда работы [23, 25], выполненные позже, по-видимому, следует считать подтверждением рекомендации, данной в 1991 г.

Рассмотрим, насколько эти работы можно считать подтверждением рекомендации снижения ПДД. Обе они выполнены на культурах клеток *in vitro*. Сопоставление радиационных выходов образования γ -H2AX сайтов (γ -H2AX foci formation) в работе, выполненной на культуре клеток [25] (36 Гр) и в работе [26] (7,4 Гр), в которой клетки (лимфоциты) облучали в крови, показывает, что при облучении клеток в крови выход γ -H2AX сайтов 5 раз меньше.

В работе [23] показана активация K^+ каналов в нормальных и опухолевых клетках после облучения в дозе 10 сГр. Активация K^+ каналов не имеет отношения к таким стохастическим эффектам как мутации или индукция опухолей и обусловлена воздействием радиации на плазматическую мембрану, которая является гораздо большей мишенью, чем ДНК. Однако эти данные могут иметь прямое отношение к интерпретации данных, полученных в работе [25] и последующих за ней более поздних работ, выполненных этим же методом (см. ниже).

В работе [25] исследовали иммунофлуоресцентным методом образование в клетках γ -H2AX сайтов (участков фосфорилирования гистона H2AX по серину 139). Эта работа в ряде обзоров считается прямым доказательством линейной беспороговой дозовой зависимости повреждений ДНК — двунитевых разрывов (ДР). Авторы полагают, что один γ -H2AX сайт однозначно соответствует одному ДР ДНК, потому что образуется исключительно в результате ДР. В работе показана линейная зависимость образования γ -H2AX сайтов от дозы в интервале от 1 мГр до 80 Гр. В работе [26], в которой лимфоциты облучали *in vitro* в крови, минимальной была взята доза 25 мГр, и она давала некоторый недостоверный прирост γ -H2AX сайтов. При облучении же животных увеличения γ -H2AX сайтов не обнаруживалось даже после 100 мГр [27].

В последующие годы, с развитием методики регистрации флуоресценции, программ обработки результатов и использования ещё одного маркера ДР ДНК, а именно белка, связывающегося с p53 (p53 binding protein — 53BP1), появились работы, в которых была показана линейная дозовая зависимость образования γ -H2AX сайтов от 2,5 мГр на клетках *in vitro*, и зарегистрировано увеличение 53BP1 уже после 10 мГр облучения животных [28]. Количество сайтов, связывающих маркерные белки, зависит от времени после облучения, типа клеток и маркерного белка. Так, в работе [25] показано, что в одном типе клеток количество γ -H2AX сайтов максимально через 3 мин после облучения, а через 15 мин уже снижено. На другом типе клеток количество γ -H2AX сайтов увеличивается к 15 мин после облучения и лишь затем снижается.

Полная кинетика изменения количества 53BP1 локусов после облучения в интервале доз 0,1–2 Гр в эпителиальных клетках человека была изучена в работе [29]. Показано, что в этом типе клеток количество 53BP1 локусов максимально через 0,5 ч, а через 24 ч эти локусы исчезают после всех доз (недостовверное превышение над контролем через 24 ч отмечается лишь для дозы 2 Гр).

Уменьшение количества локусов, связывающих маркерные белки, интерпретируется авторами перечисленных выше работ как репарация ДР ДНК. Известно, что причиной стохастических эффектов радиации, в том числе и канцерогенеза, являются не те повреждения ДНК, которые возникают после облучения, а те из них, которые остаются после завершения всех репарационных процессов. Однако, судя по приведенным в работах [25–29] данным, оставшиеся после завершения репарации (до 72 ч) повреждения не регистрируются этими методами даже при дозе 1 Гр.

Кроме того, существуют работы, показывающие, что γ -H2AX локусы могут возникать не только в местах образования ДР ДНК. Во введении к работе [30] авторы пишут, что пока мало уверенности в том, что данная модификация гистонов может быть обусловлена разрывами ДНК и ещё меньше её в том, что фосфорилирование H2AX гистонов зависит исключительно от разрывов ДНК. В экспериментальной части работы показано, что после обработки нескольких типов клеток гипотонией, не приводящей к значимому снижению выживаемости (менее 10 %) и не индуцирующей ДР ДНК, образуется от 80 до 200 γ -H2AX сайтов на клетку. Такое количество γ -H2AX сайтов возникает при облучении клеток в дозах 2 и 5 Гр. Фосфорилирование H2AX гистонов при действии гипотонии обусловлено изменением структуры хроматина, не связанным с ДР ДНК.

Неоправданность однозначной привязки γ -H2AX сайтов к ДР ДНК следует также из других работ. Так, в работе [31] показано, что после действия на клетки ультрафиолетового излучения лишь малая часть γ -H2AX сайтов обусловлена ДР ДНК. Результаты работ [30, 31] показывают, что увеличение фосфорилирования H2AX гистонов с дозой ионизирующей радиации может быть обусловлено не только образованием ДР ДНК, а и другими факторами. Одним из таких факторов является модификация структуры хроматина, вызванная изменением водно-солевого баланса в клетке в результате нарушения проницаемости мембран и активности Na^+ и K^+ каналов [23].

Таким образом, анализ некоторых работ, используемых для обоснования официально утверждённого нормирования радиационного риска, показывает, что поскольку γ -H2AX и 53BP1 сайты образуются не только на ДР ДНК, то эти данные не могут служить прямым обоснованием ни принятой ПДД, ни беспороговой линейной концепции оценки риска.

3. Передача мишени дозы, поглощённой вне клетки: факторы, которые могут увеличить объём мишени и снизить эффективную дозу

3.1. Эффект облучённой среды

При возможности передачи дозы, поглощённой в других клетках или в среде (в случае культивирования клеток *in vitro*), регистрируемой мишени, дополнительные повреждения ДНК могут возникать и в отсутствие попаданий в неё или в ближайшую к ней воду. Рассмотрим, в каких случаях реализуется передача мишени дозы, поглощённой в среде или в соседних клетках.

Существенное значение передача к клеткам дозы, поглощённой средой, может иметь при облучении клеток, культивируемых *in vitro*. При культивировании клеток млекопитающих суммарный объём клеток пренебрежимо мал по отношению к объёму водной среды, в которой они выращиваются и облучаются. Обычно это отношение около 0,01 %. Соответственно, большая часть дозы (99,99 %), полученная такой системой, поглощается средой. Возникшие при радиолизе воды радикалы взаимодействуют друг с другом (рекомбинация), с кислородом и с компонентами среды (соли, органические соединения, белки). Несмотря на присутствие в среде органических соединений, большая часть дозы в среде поглощается водой и большая часть радикалов воды рекомбинирует или взаимодействует с кислородом. В результате этих реакций образуется стабильный продукт радиолиза воды — перекись водорода. Перекись водорода проходит через клеточные мем-

браны так же легко, как вода, и, попав в клетку, может вызвать повреждение ДНК.

Этот эффект перекиси водорода может быть снижен добавлением в среду органических соединений, перехватывающих первичные радикалы воды и взаимодействующих с перекисью водорода, или сыворотки крови, содержащей разлагающий перекись водорода фермент каталазу. В работе [32] исследовали влияние облучения (9 Гр) на количество АФК в двух типах клеток млекопитающих в культуре в зависимости от концентрации в питательной среде сыворотки крови. Было показано, что при отсутствии в среде сыворотки количество АФК в клетках после облучения увеличено в 3 раза по сравнению с контролем. С добавлением в среду сыворотки эффект снижается и при содержании сыворотки 10 % практически исчезает. Увеличение АФК в клетках после их облучения в солевом растворе (без органических соединений) регистрируется уже при малых дозах (100 мГр) [33, 34]. В работах [32, 35] было показано, что это увеличение обусловлено перекисью водорода, образовавшейся при облучении в солевом растворе и проникшей в клетки.

Существуют также данные о том, что при облучении водных растворов белков в присутствии кислорода в белках возникают долгоживущие окисленные продукты (гидроперекиси и катехолы), время полураспада которых составляет часы [36]. Распад окисленных продуктов белков происходит при их взаимодействии с металлами переходной валентности с образованием АФК (ОН·), которые могут повреждать макромолекулы, в том числе и ДНК [37–40]. В цитированных выше работах образование свободных радикалов регистрировали методом ЭПР после облучения растворов белков в дозах несколько кГр. В последнее время появились работы, в которых этот процесс регистрируется методом хемилюминесценции при дозах несколько Гр [41]. Вопрос о возможности образования таких продуктов при малых (меньше 100 мГр) дозах радиации не исследован и не известно, может ли он вносить какой-либо вклад в поражение мишени при пороговой дозе радиации.

Таким образом, при облучении клеток в культуре может осуществляться перенос к клеткам дозы, поглощённой в среде, перекисью водорода и, возможно, радикалами белков. Эти процессы могут существенно снизить биологически эффективные дозы в культуре клеток (особенно при облучении без сыворотки крови или с содержанием сыворотки в среде меньше 10 %) по сравнению с дозами, оказывающими такие же эффекты при облучении тканей или организма. Приведенные в настоящем разделе данные указывают на неоправданность прямого переноса доз из опытов на культуре клеток на животных и человека.

3.2. Эффект свидетеля

Эффект свидетеля — передача дозы от облучённой к необлучённой клетке. При такой передаче поглощённой дозы биологически эффективная доза может быть ниже рассчитанной по вероятности попадания в ДНК клетки с прилегающей к ней водой. Существует два метода демонстрации этого эффекта: 1) на необлучённые клетки воздействуют средой, в которой облучались клетки и 2) облучается часть клеток микропучком частиц и регистрируются повреждения в клетках, не попавших в пучок (необлучённых). Сразу же следует отметить, что в этих постановках опытов облучается и среда, а, как отмечалось выше, в культуре клеток она поглощает до 10^4 раз больше энергии, чем клетки. Поэтому в обоих случаях эффект свидетеля может быть, на самом деле, эффектом облучённой среды.

В настоящем разделе мы рассмотрим возможный вклад облучённой среды в эффект свидетеля, и не только при малых дозах. Другие аспекты проблемы проанализированы в обзоре А.Н. Котерова [42]. Автор резюмировал, что повреждающий эффект свидетеля для малых доз редкоизионизирующего излучения не зарегистрирован для нормальных клеток *in vitro*, не обнаружен он также *in vivo*. Вывод об отсутствии повреждающего эффекта свидетеля при малых дозах для нормальных клеток был сделан по большинству работ. Однако автор отмечает также исключение: имеется повреждающий эффект свидетеля на нормальных фибробластах при малых дозах [43]. В этой работе клетки облучали в питательной среде с 20 % сыворотки и сразу после облучения в эту среду с облучёнными клетками, прикреплёнными к дну, помещали необлучённые клетки на миллиметровом фильтре (размер пор 1 микромметр — пропускает молекулы, в том числе белки, но не клетки). Показан эффект свидетеля по различным критериям от дозы 0,1 Гр, который частично снимается добавлением в среду каталазы и супероксиддисмутазы. Эффект антиоксидантных ферментов показывает, что часть эффекта была обусловлена АФК, и эти АФК были образованы не облучёнными клетками, как думают авторы, а возникли при облучении среды. Часть эффекта, не модифицируемая каталазой, по-видимому, обусловлена продуктами радиолиза компонентов среды, особенно, белков сыворотки (см. 3.1).

Данные по эффекту свидетеля на клетках *in vitro* в широком диапазоне доз противоречивы: часть работ демонстрирует эффект свидетеля по различным критериям [44–47], в других работах его обнаружить не удаётся [48–50]. Мало того, некоторые авторы [46], обзорная статья которого цитируется как одна из основополагающих для доказательства эффекта свидетеля, через 7 лет публикует экспериментальную рабо-

ту, которая демонстрирует отсутствие доказательств реальности эффекта свидетеля [50].

Рассмотрим в качестве примера одну из первых работ, в которых показан эффект свидетеля. В этой работе [45] кератиноциты облучали γ -квантами в дозах 0,5 и 5 Гр в питательной среде с 7 % сыворотки. После облучения среду фильтровали для предотвращения переноса клеток и добавляли к необлучённым клеткам. Регистрировали концентрацию кальция и АФК в клетках и мембранный потенциал в митохондриях. После добавления облучённой среды увеличиваются концентрации кальция и АФК в клетках и снижается мембранный потенциал митохондрий. Снижение мембранного потенциала регистрируется с задержкой по сравнению с первыми двумя показателями. Авторы делают вывод, что сигнал, который вызвал эти изменения, поступил в среду от облучённых клеток. Для обоснования этого вывода, однако, необходим ещё один контроль, которого нет в работе: нужно было к необлучённым клеткам добавить кондиционированную клетками среду, облучённую без клеток. Если бы в этом варианте облучённая среда не действовала, тогда авторы вправе были бы сделать такой вывод. В более поздних работах, получивших отрицательные результаты по эффекту свидетеля на клетках *in vitro* [48], авторы приходят к мнению, что состав среды (присутствие или отсутствие в среде сыворотки) может быть критическим условием в обнаружении эффекта свидетеля.

Морган в обзоре 2003 г. [46] ссылается на работу [51] как на доказательство того, что эффект свидетеля не является эффектом облучённой среды. В работе [51] облучённые протонами 4 МэВ из ускорителя и необлучённые клетки культивировали совместно в double-mylar dishes (облучённые на одной стороне, необлучённые — на другой). Было показано, что в необлучённых клетках, культивируемых совместно с облучёнными (1, 10, 100 Гр), снижается выживаемость через 48 ч совместного инкубирования, но не через 1 ч. Выход мутаций не увеличивается в необлучённых клетках в любом варианте. Если на облучаемой стороне чашки клеток не было (этот вариант рассматривается, как облучение среды), то и снижения выживаемости в необлучённых клетках не было. Обсуждая эти данные, прежде всего, следует отметить, что в других работах по эффекту свидетеля снижение выживаемости всегда сопровождается увеличением повреждений ДНК и, соответственно, мутаций. В этой работе такая корреляция отсутствует. Это указывает на то, что гибель необлучённых клеток в этих опытах была обусловлена каким-то другим, не генотоксическим фактором. Таким фактором может быть гипоксия, возникающая в необлучённых клетках в присутствии облучённых. Известно, что кисло-

род поглощается в радиационно-химических реакциях и клетками. Эти процессы подробно рассмотрены в монографии [52]. При определённой концентрации клеток на подложке и толщине слоя среды над клетками после облучения (дополнительное поглощение кислорода) может возникнуть гипоксия, приводящая к гибели клеток вследствие энергодифицита. При этом не будут увеличены повреждения ДНК и мутации.

Возникновение гипоксии в вариантах опыта, в которых снижается выживаемость необлучённых клеток, объясняет все результаты, полученные в работе [51]:

- 1) Наличие эффекта по выживаемости облучённых клеток и отсутствие эффекта по выходу мутаций.
- 2) Отсутствие эффекта при кратковременной (1 ч) инкубации облучённых клеток с необлучёнными — гипоксия и энергодифицит за 1 ч не достигают критических для выживания клеток значений.
- 3) Отсутствие эффекта, когда облучается подложка без клеток — количество клеток уменьшено в два раза и гипоксия в необлучённых клетках не возникает.

Такая интерпретация данных приводит к выводу, что в работе [51] показано не отсутствие роли облучённой среды в эффекте свидетеля, а отсутствие эффекта свидетеля. Приведенное выше обсуждение указывает на то, что эффект свидетеля на клетках *in vitro* (когда он есть), скорее всего, является эффектом облучённой среды, который был рассмотрен в предыдущем разделе.

В 2008 г. вышла работа, в которой впервые было показано, по мнению авторов, наличие эффекта свидетеля по критерию индукции опухолей радиацией *in vivo* [27]. В обзорах по эффектам малых доз радиации (см., например, [8]), она в этом качестве и цитируется. В работе [27] новорожденных мышей через 2 дня после рождения облучали рентгеновским пучком в дозе 3 Гр полностью или только тело с экранированием головы и определяли γ -H2AX сайты и апоптозные клетки в мозжечке и гибель мышей в результате развития в мозжечке опухоли (медуллобластомы). Значения всех исследованных критериев увеличены в варианте опыта с облучением только тела по сравнению с необлучённым контролем. Авторы делают вывод, что они впервые показали эффект свидетеля *in vivo* по критерию радиационного канцерогенеза.

Следует отметить, что использованная доза (3 Гр) отнюдь не малая. При этой дозе происходит массовая гибель клеток в крови, тимусе, селезёнке, лимфоузлах и костном мозге. Эти клетки осуществляют иммунный надзор всех тканей организма, в результате которого частота возникновения опухолей снижается в 100 раз [53]. Поэтому не удивительно, что при по-

давлении иммунитета облучением (все эти клетки поражаются при облучении тела) увеличивается вероятность образования опухолей в головном мозге. Увеличение γ -H2AX сайтов и апоптозных клеток при облучении тела могло быть обусловлено разными причинами: продуктами распада за счёт массовой гибели клеток после облучения тела, доставленными в голову кровью; увеличением в крови концентрации стресс-гормонов (глюкокортикоидных) и других стресс-факторов (белков, пептидов); изменением активности лимфоидных клеток крови и др. При малых дозах 100–300 мГр нет массовой гибели лимфоидных клеток, не меняется спектр гормонов в крови и, по-видимому, не будет увеличения частоты опухолей и повреждения клеток в мозжечке от облучённого тела. В работе [27] вместо обсуждения этих известных и реальных причин наблюдаемого эффекта рассматривается только один фантастический механизм. Предполагается, что радиационное повреждение передаётся от облучённых к необлучённым клеткам через межклеточные контакты (от тела в мозжечок через миллиарды клеток разных типов!). Для подтверждения такого объяснения приводятся данные опыта, в котором ингибитор протеинкиназы С (форболовый эфир-ТРА), снижающий межклеточную коммуникацию через контакты, уменьшает количество γ -H2AX сайтов и апоптозных клеток в необлучённом мозжечке. Известно, однако, что протеинкиназа С является ключевым элементом множества сигнальных каскадов клеток, в том числе и сигнализации, запускающей гибель по типу апоптоза, поэтому эти данные нельзя рассматривать как доказательство предложенного механизма. Таким образом, данные, полученные в работе [27], не являются доказательством реальности передачи поглощённой клетками дозы необлучённым клеткам *in vivo*.

4. Индуцируемая радиацией нестабильность генома

Нестабильность генома — увеличение образования спонтанных мутаций ДНК и поломок хромосом в клетках. В настоящее время причины этого явления хорошо изучены при трансформации клеток и при действии некоторых генотоксических факторов. Ими являются мутации в генах, кодирующих точность и количество синтезируемой ДНК, репарацию ДНК, а также в генах, кодирующих белки, обеспечивающие регуляцию процессов в контрольной точке (check-point) клеточного цикла [54–56]. После облучения, как и после воздействия других генотоксических мутагенных факторов, нестабильность генома увеличивается у потомков клеток, подвергнутых воздействию. Эффект таких мутаций проявляется в потомках, потому что в клетке, на которую воздействовали,

все белки, кодируемые мутировавшими генами, ещё нормальные и мутация не проявляется в ней самой.

Другой особенностью индуцированной радиацией нестабильности генома, по сравнению с частотой мутаций определённых генов, является на порядок больший процент образования клонов с нестабильностью генома после облучения клеток *in vitro*. Этот факт объясняется тем, что стабильность генома обеспечивается сотнями генов, и в определённых условиях мутация в любом из них может привести к нестабильности генома. Определённые условия — это как раз использование для исследования культивируемых клеток, большинство линий которых являются трансформированными, характеризующимися определённой степенью нестабильности генома в норме (без воздействия).

Сложная многокомпонентная система, обеспечивающая стабильность генома, очевидно, многократно дублирована для повышения надёжности. В трансформированных культивируемых клетках накоплено уже столько мутаций, что резерв надёжности преодолён, поэтому любая новая мутация генов, стабилизирующих геном, приводит к экспериментально регистрируемому снижению стабильности генома. Облучение в такой же дозе нормальных (нетрансформированных) клеток может вообще не повышать образование мутаций в потомках, поскольку дефектность функций мутантных белков компенсируется. Иллюстрацией к изложенным выше соображениям является работа [57]. В этой работе нестабильность генома определяли по хроматидному типу aberrаций. Было показано, что доза 2 Гр γ -излучения индуцировала нестабильность генома в опухолевых лимфобластоидных клетках ТК6. В то же время в нормальных диплоидных фибробластах линии AG1521A нестабильность генома не регистрировалась по критерию нестабильности хромосом вплоть до дозы γ -излучения 5 Гр.

Наиболее полный анализ экспериментальных работ и гипотез по индуцированной радиацией нестабильности генома был сделан в серии публикаций А. Н. Котерова [6, 58–62]. Автор пришёл к выводу, что для индукции нестабильности генома радиацией существует порог по дозе, равный 0,5 Гр. В обзорах приводятся также некоторые работы (5 из сотен), в которых были зарегистрированы эффекты при дозах меньше 0,5 Гр. А. Н. Котеров дезавуирует эти работы тем, что в них использовались трансформированные клетки с большой исходной нестабильностью генома. К этому можно добавить, что в части из них мог реализоваться также эффект облучённой среды (см. 3.1). Кроме того, результаты этих работ могли быть искажены и другими факторами.

Рассмотрим, например, работу [63], которая цитируется как единственный отечественный пример индукции нестабильности генома при дозах меньше 0,5 Гр. В работе было показано снижение числа клеток (клетки HeLa рака шейки матки человека) в колониях после облучения в дозах 10, 20 и 40 сГр, но при этом размер колоний облучённых клеток был больше контрольных. При цитировании этой работы обращается внимание на первый факт (уменьшение числа клеток в колониях), но умалчивается о втором факте — увеличенном размере облучённых колоний. Во-первых, следует отметить, что само по себе снижение числа клеток в колонии — ещё не свидетельство нестабильности генома. Нужно доказать, что это снижение было обусловлено повышенной вероятностью гибели клеток, а не задержкой деления. Во-вторых, результаты этой работы внутренне противоречивы: с уменьшением числа клеток в колонии увеличивается её размер. В действительности для одного типа клеток соотношение между количеством клеток в колонии и её размером не обратное, а прямое: больше клеток — больше размер. Авторы объясняют больший размер колоний при меньшем количестве клеток «разрыхлённостью» колоний. Причина этой «разрыхлённости», очевидно, кроется в методике обработки колоний перед подсчётом в них клеток и определением размеров. Колонии клеток после 8–9 суток роста промывали водой, затем окрашивали и снова промывали. По-видимому, при промывке колоний гипотонической водой часть клеток разрушалась и/или откреплялась, причём, чем больше размер колоний, тем больший должен быть гидродинамический удар при промывке и, следовательно, больший процент клеток терялся. При этом пограничные клетки не откреплялись, поскольку представляют монослой, устойчивый к гидродинамическому удару, и контур колоний сохранялся. Результатом этого стало меньшее количество клеток в больших колониях. Таким образом, меньшее количество клеток в колониях облучённых клеток — артефакт, а увеличенный размер колоний облучённых клеток — реальный результат работы. Этот результат согласуется с данными другой работы, где было показано увеличение размеров колоний после облучения в дозах 10–20 сГр [64].

Таким образом, анализ одной из работ, цитируемых как доказательство индукции нестабильности генома при малых дозах, показал, что снижение числа клеток в облучённых колониях является не следствием облучения, а, скорее всего, привнесено методикой обработки колоний. Резюмируя изложенные выше соображения и факты, отметим два важных для нормирования малых доз вывода: 1) индуцированная радиацией нестабильность генома не является немишенным эффектом радиации и 2) она не проявляется

при дозах меньше 0,5 Гр и, следовательно, может не учитываться при нормировании стохастических эффектов малых доз радиации.

5. Репарация ДНК и элиминация мутантных клеток. Факторы, которые могут уменьшить объём мишени и увеличить эффективную дозу

5.1. Роль репарации ДНК в радиационном канцерогенезе

Основным стохастическим эффектом малых доз радиации является увеличение частоты злокачественных новообразований. В соответствии с теорией соматических мутаций, причиной возникновения опухолей являются мутации в ДНК соматических клеток, способных к делению [65, 66]. Причина мутаций — изменение (повреждение) ДНК. В настоящее время идентифицирован ряд повреждений ДНК, ответственных за определённые канцерогенные мутации. Так, окисление гуанина в 8-оксигуанин ответственно за мутации, приводящие к различным опухолям человека [67], вставки и делеции оснований — к раку толстой кишки и некоторым другим опухолям [68], ДР ДНК — к раку молочной железы и яичников [68].

Большая часть как спонтанных, так и возникающих при облучении повреждений ДНК устраняется системами репарации ДНК и снижает, соответственно, образование в клетках мутаций. По оценке [69], в клетке человека репарируются около 10^4 спонтанных повреждений ДНК в сутки. В клетках эукариот известно несколько главных систем репарации, специфичных для определённого типа повреждений [68, 70]:

- 1) репарация одонитевых разрывов ДНК;
- 2) репарация участков с несоответствующим спариванием оснований (mismatch repair — MMR);
- 3) эксцизионная репарация нуклеотидов (nucleotide excision repair — NER);
- 4) эксцизионная репарация оснований (base excision repair — BER);
- 5) гомологичная рекомбинационная репарация (homologous recombination repair — HR);
- 6) репарация, соединяющая не гомологичные концы нитей ДНК (non-homologous end joining — NHEJ).

Два последних типа репарации устраняют ДР ДНК. При действии радиации возникают те же типы повреждений ДНК, что и спонтанно, но с увеличенной вероятности образования ДР ДНК, обусловленным кластерным распределением ионизаций и АФК при поглощении кванта ДНК и прилегающей к ней водой.

При прохождении трека через ДНК повышена вероятность одновременного возникновения повреждений в двух нитях ДНК, что приводит к прямому ДР ДНК (совпадение одностранных разрывов в двух нитях), или он возникает в процессе репарации при эксцизии повреждений и перекрытии брешей. В связи с увеличением вероятности образования ДР ДНК при облучении возрастает роль репарации именно этих повреждений в снижении эффекта радиации. ДР ДНК, возникающие в G_0 , G_1 и ранней S фазах клеточного цикла, репарируются NHEJ, а ДР, возникающие в клетках, находящихся в поздней S и G_2 фазах, репарируются HR системой [71]. HR система репарирует ДР безошибочно, в то время как при восстановлении непрерывности генома системой NHEJ возникают ошибки. Как образно отмечено в обзоре [71], восстановление ДР системой NHEJ оставляет в ДНК «информационный шрам». Таким образом, NHEJ репарация предотвращает разрыв хромосомы, грозящей потерей клеткой тысяч генов и гибелью, но создаёт при этом в ДНК участок, являющийся источником мутаций.

Поскольку большая часть стволовых клеток обновляющихся клеточных популяций в организме (эпителий, кровь) находится в фазе G_0 и лишь очень малая их часть в любой момент времени пролиферирует, то ДР ДНК в стволовых клетках должны устраняться системой NHEJ, которая сама генерирует мутации. Часть возникающих в результате репарации ДР повреждений ДНК устраняется другими системами репарации, а другая часть увеличивает выход мутаций. Дефекты в различных системах репарации существенно увеличивают спонтанный и индуцированный канцерогенез у животных и человека [68], что свидетельствует о значительном снижении за счет репарации повреждений ДНК и трансформирующих клетки мутаций, несмотря на то, что одна из этих систем сама генерирует мутации.

Малые дозы радиации активируют как постоянно действующие в клетке системы репарации (конститутивные), так и могут запускать систему репарации, которая в норме не работает (индуцибельную). В работе [72] показано, что облучение опухолевых клеток человека в дозе 250 мГр за 4 ч до облучения 2 Гр примерно в два раза увеличивает скорость репарации тиминовых гликолей, возникающих после облучения в дозе 2 Гр. После облучения клеток малыми дозами радиации (10–500 мГр) увеличивается скорость репарации также ДР ДНК. Это обусловлено тем, что ДР ДНК, возникающие при малых дозах радиации, активируют ещё одну систему репарации ДНК, главным элементом которой является poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) [73–75]. Эта система репарирует ДР ДНК, предотвращая разрывы хромосом, и является

причиной адаптивного ответа (снижения поражения клеток после предварительной малой дозы облучения) и гормезиса (малые дозы радиации уменьшают образование мутаций и опухолей ниже контрольного уровня). Благодаря активации индуцибельной системы репарации ДР ДНК, малые дозы радиации не только не увеличивают частоту неопластической трансформации клеток *in vitro*, но даже снижают её по сравнению с необлучёнными клетками [76]. По разным данным, предварительное облучение в малых дозах уменьшает выход мутаций, в том числе и трансформирующих мутаций, от последующих, больших в 2–4 раза доз радиации [77–79].

Таким образом, конститутивные и индуцибельные системы репарации ДНК устраняют большую часть повреждений ДНК, что приводит к уменьшению объёма мишени и существенному увеличению биологически эффективной дозы. Очевидно также, что стимуляция репарации малыми дозами радиации должна вызвать отклонение дозовой зависимости выхода мутаций от прямой линии, экстраполированной из области больших доз. Стимуляция репарации малыми дозами радиации может проявляться и в зависимости эффекта от интенсивности облучения, что будет рассмотрено отдельно.

5.2. Стимуляция противоопухолевого иммунитета и апоптоза малыми дозами радиации: активация элиминации трансформированных клеток и подавление роста опухолей

Иммунный надзор является одним из главных противоопухолевых факторов организма [53, 80, 81]. Показано, что трансформированные клетки экспрессируют на поверхности опухолевые антигены, которые распознаются Т-лимфоцитами и натуральными клетками-киллерами как чужие и трансформированные клетки и уничтожаются с участием макрофагов [81]. Регуляторную роль в этом процессе играют такие цитокины, как интерферон- γ и фактор некроза опухолей. В обзоре [82] приведены результаты опытов, показывающие, что при облучении животных в дозах 20–500 мГр увеличивается активность противоопухолевой защиты организма: возрастает количество и активность Т-лимфоцитов и макрофагов, а также продукция интерферона- γ и фактора некроза опухолей. Свидетельства активации противоопухолевой защиты подкрепляются прямыми данными подавления канцерогенеза и роста опухолей малыми дозами радиации [82–84]. Приведём некоторые примеры этих, в настоящее время уже многочисленных, экспериментов.

Малые дозы радиации подавляют рост опухолей, индуцированных большими дозами, и снижают частоту возникновения опухолей после облучения

в больших дозах. Однократное облучение мышей СВА/Н дозой 1 Гр увеличивало вероятность возникновения миелоидного лейкоза и приводило к существенному сокращению средней продолжительности жизни (СПЖ). Если же за сутки до 1 Гр мышей облучали в дозе 100 мГр, то СПЖ увеличивалась за счёт более медленного развития лейкоза [85]. При фракционированном облучении мышей C57BL/6J в дозе 1,75 Гр однократно в неделю в течение 4 нед доля мышей с лимфомами увеличивалась до 43,3 % через 6 мес. Если же большие дозы предварялись малыми (75 мГр) за 6 или 12 ч перед большой дозой, то доля мышей с лимфомами снижалась до 15 и 17 % соответственно [86]. Этот эффект малых доз радиации обусловлен активацией противоопухолевого иммунитета [82].

Облучение мышей за 24 ч до имплантации меланомы В16 и рака лёгких Льюис в дозе 75 мГр снижало размер опухолей в два раза, увеличивало продолжительность жизни мышей на 40 % и снижало на 40 % гибель мышей-опухоленосителей за 30 сут [87]. Эта доза снижала также в 4 раза метастазирование меланомы В16 в лёгкие [87]. Метастазирование опухоли в лёгкие и лимфоузлы подавлялось также после облучения крыс в дозе 200 мГр [88]. Метастазирование снижалось на 70 % по сравнению с контролем. При этом инфильтрация опухолей лимфоцитами увеличивалась в 9 раз, а количество цитотоксических Т-лимфоцитов в селезёнке — на 176 %.

Малая доза (75 мГр) увеличивала эффективность лучевой терапии подкожно перевитой карциномы лёгких Льюис (суммарная локальная доза 30 Гр, 3 раза по 5 Гр в неделю) [89]. При замене второй и третьей локальной дозы за каждую неделю общим облучением мышей в дозе 75 мГр и, соответственно, снижении суммарной дозы с 30 до 10,3 Гр подавление роста опухолей оказалось таким же, как при дозе 30 Гр.

Малые дозы стимулируют противоопухолевый иммунитет также и у человека. В работе [90] показано увеличение эффективности химиотерапии лимфомы Ходжкина в сочетании с облучением пациентов (полностью или только грудной клетки) дозами 0,1 Гр три раза в неделю или 0,15 Гр два раза в неделю. При воздействии малыми дозами радиации у пациентов увеличивался противоопухолевый иммунитет, а 9-летняя выживаемость возрастала до 84 % против 50 % без облучения.

Другим антиканцерогенным фактором малых доз облучения является стимуляция гибели клеток по типу апоптоза, что элиминирует клетки, потенциально несущие трансформирующие мутации. В одной из первых работ на эту тему была показана стимуляция апоптоза в криптах кишечника мышей при дозах от 10 мГр [91]. Максимум апоптозных клеток в криптах

отмечался через 3 ч, а затем их количество уменьшалось, по-видимому, за счёт их элиминации. Индукция апоптоза в другой быстро обновляющейся ткани — тимусе — была изучена в работе [82]. Показано увеличение доли апоптозных клеток в тимусе после облучения мышей в дозах 25–75 мГр. Максимум увеличения наблюдался через 1 ч после облучения, а через 12 ч доля апоптозных клеток снижалась до уровня ниже контрольного при дозах 50 и 75 мГр, что автор объясняет стимуляцией облучением элиминации апоптозных клеток.

Таким образом, установлено, что малые дозы радиации стимулируют противоопухолевый иммунитет и апоптоз, что приводит к повышению эффективности уничтожения трансформированных клеток в организме и, следовательно, к снижению вероятности образования опухолей. Активация иммунитета и апоптоза малыми дозами радиации проявляется также в подавлении роста и метастазирования уже существующих опухолей. В свете этих данных малые дозы радиации предстают как существенный антиканцерогенный фактор, что указывает на существенную переоценку стохастических эффектов малых доз радиации с помощью прямой экстраполяции эффектов больших доз.

6. Зависимость стохастических эффектов радиации от мощности дозы

Общие принципы влияния фактора интенсивности излучения на такие эффекты радиации, как хромосомные аберрации и репродуктивная гибель клеток, были сформулированы в классической монографии Ли [92]. Если эффект радиации обусловлен одиночным попаданием, то нет зависимости от мощности дозы. При двух и более ударных эффектах поражающее действие радиации возрастает с увеличением мощности дозы в определённом интервале, который определяется скоростью восстановления повреждений клеткой. Зависимость от мощности дозы начинается в этом случае при такой мощности, когда ко времени второго попадания в мишень в ней ещё не репарируются (или репарируются не полностью) последствия первого попадания. В монографии Ли эти положения иллюстрируются экспериментальным материалом. При действии редкоизирующего рентгеновского излучения нет зависимости от мощности дозы для хроматидных разрывов, образующихся в результате одного попадания. Для образования хроматидных и хромосомных обменов необходимо 2 разрыва и соответственно 2 попадания, и эти эффекты зависят от мощности дозы. Зависимость от мощности дозы наблюдается при мощностях больше 10–20 сГр/мин. В то же время при действии на клетки нейтронов, хроматидные обмены не зависят от мощ-

ности дозы во всём исследованном диапазоне, что, по-видимому, означает разрыв двух хроматид одним попаданием плотноионизирующего излучения.

Определение дозы, при которой происходит в среднем одно попадание в мишень с учетом скорости репарации повреждений, позволяет решить проблему мощности дозы в общем виде для указанных выше эффектов радиации. При дозах, равных и меньших дозы одного попадания, эти эффекты радиации вообще не должны зависеть от мощности дозы, поскольку при любой мощности произойдет только одно попадание в мишень. При дозах, больших пороговой, эффект будет увеличиваться при интенсивности излучения, превосходящей скорость репарации повреждений. Такие повреждения ДНК, как модифицированные основания и ОР ДНК репарируются быстро: время репарации половины окисленных оснований в клетках человека составляет 8 мин [93], ОР ДНК — 5 мин [94]. Полная репарация этих повреждений происходит за 36 мин [13]. При дозах, больших одного попадания, и мощности дозы, превосходящей скорость репарации, возрастает вероятность второго попадания в клетку, в которой ещё не ликвидированы последствия первого попадания и, следовательно, увеличивается вероятность образования ДР ДНК и эффектов, ими обусловленными. ДР ДНК репарируются медленно: около 24 ч [95] в клетках млекопитающих.

Поскольку ДР — это уже окончательное повреждение, то наличие или устранение конститутивной репарацией ДР от первого попадания в клетку при втором попадании не влияет на общий их выход и, следовательно, конститутивная репарация ДР не должна сказываться на зависимости радиационных эффектов от мощности дозы. Однако это справедливо только для покоящихся клеток (например, стволовых), если первое попадание не запускает их в деление. Такая ограниченность применения сформулированного выше вывода обусловлена тем, что две конститутивные системы репарации ДР не равнозначны и действуют они в разных фазах клеточного цикла (см. выше). NHEJ система, генерирующая мутации, функционирует в G_0 , G_1 и ранней S фазах цикла, а безошибочная система HR в поздней S и G_2 фазах. При большой мощности все попадания произойдут одновременно, и ДР будут репарироваться какой-то одной системой. Со снижением мощности дозы увеличивается время между попаданиями в одну клетку. За это время клетка может продвинуться по циклу, может быть стимулирована к делению от первого попадания или остановиться в продвижении по циклу (задержка). В результате эффективность (безошибочность) репарации первого и последующих

ДР может измениться и появиться эффект мощности дозы.

Направленность эффекта зависит от того, в какой фазе клеточного цикла произойдет второе попадание, и какая система его будет устранять. Если за время ко второму попаданию клетка перейдет из G_0 , G_1 и ранней S к поздней S и G_2 , то при такой мощности дозы эффект будет меньше, чем при большей мощности. При обратном переходе клетки по циклу зависимость эффекта от мощности дозы будет обратной. Хорошо известно, что ионизирующая радиация влияет на продвижение клеток по циклу. Дозы больше 500 мГр вызывают значимую остановку продвижения по циклу [96], обусловленную активацией ДР ДНК генов, контролирующих прохождение клеточного цикла [55]. В то же время меньшие дозы (10–50 мГр) могут стимулировать пролиферацию клеток [64, 97]. Следовательно, знак эффекта мощности дозы будет зависеть также от дозы.

Индукцибельная репарация ДР, стимулируемая малыми дозами радиации, — дополнительный фактор зависимости клеточных радиационных эффектов от мощности дозы. По данным, приведенным в обзоре [75], репарация активируется через 3 ч после малой дозы, и эта активация сохраняется около 2 сут. Поэтому, если второе попадание произойдет в этом временном интервале, то возникшие от него ДР будут репарированы с большей вероятностью, чем от первого.

Наложение на клеточные эффекты малых доз радиации такой организменной реакции, как стимуляция иммунитета, ещё более усложняет зависимость образования трансформирующих клетку мутаций в организме от интенсивности излучения. Во-первых, сама стимуляция иммунитета зависит от мощности дозы. Показано, что рентгеновское облучение мышей в дозах 77–106 мГр достоверно стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов при мощности дозы 12,7 мГр/мин и меньше, но эти дозы неэффективны при мощности 200 мГр/мин [97]. В обзоре [97] приводится большое количество экспериментальных данных, показывающих изменения рецепторов на поверхности клеток, концентрации сигнальных молекул в клетках и цитокинов в крови после воздействия малых доз радиации. При дозе 75 мГр эти изменения в тканях являются массовыми, поскольку не только достоверно регистрируются, но и могут достигать 300 % от уровня контроля. Максимум изменений наблюдается через 12–24 ч после облучения, и к 48 ч большинство показателей возвращается к уровню контроля. Массовый характер и кинетика изменений в тканях показывает, что попадание должно произойти в большинстве клеток организма в течение около 1 ч. Это, по-видимому, нижний предел мощности дозы, ниже

которого стимуляция иммунитета будет снижаться и исчезать. Чем может быть обусловлен верхний предел мощности дозы для стимуляции иммунитета (200 мГр/мин), пока не ясно. Возможно, сигнал от клеток на генерализованную стимуляцию иммунитета должен быть не кратковременным, как при мощности дозы 200 мГр (меньше 30 с), а протяжённым во времени и нарастающим по интенсивности, что происходит при меньших мощностях дозы.

Таким образом, мощность дозы влияет на величину эффектов сложным образом, обусловленным репарацией повреждений ДНК, продвижением клеток по циклу между попаданиями и активацией противоопухолевого иммунитета.

7. Влияние малых доз ионизирующей радиации на канцерогенез: экспериментальные данные

Из приведенного выше обсуждения следует, что эффективность радиации в области малых доз должна быть существенно ниже предсказанной линейной экстраполяцией эффектов больших доз. Поскольку точный количественный учёт факторов, снижающих эффективность малых доз радиации, пока невозможен и, следовательно, не реальна теоретическая оценка пороговой дозы, то следует обратиться к экспериментам на животных, в которых исследовались стохастические эффекты малых доз радиации.

Некоторое представление о пороговой дозе и вкладе репарации ДР ДНК и иммунитета в величину пороговой дозы дают опыты на нормальных в отношении репарации ДНК и иммунитета мышцах и мышцах, дефектных по репарации ДР и к тому же иммунодефицитных [98, 99]. Было показано, что после облучения нормальных мышей в дозе 1 Гр частота возникновения лимфом не увеличивается. Для мышей, дефектных по репарации ДР и иммунитету, порог действующей дозы снижается до 100 мГр. Эти опыты показывают, что репарация ДР и иммунитет могут снижать пороговую дозу на порядок. По-видимому, это — минимальная оценка вклада репарации ДР и иммунитета в величину пороговой дозы, поскольку мышей облучали однократно с большой мощностью дозы: 80 мГр/мин при дозах меньше 0,5 Гр и 0,5 Гр/мин для доз больше 0,5 Гр. В обоих случаях клетки получали пороговую дозу за 1–2 мин, а индуцибельная система репарации ДР начинает активироваться только через 3 ч и значимая часть ДР может реализоваться в микроядра и хромосомные aberrации без её участия. Кроме того, существуют данные, что иммунитет не активируется при мощности дозы 200 мГр/мин и больше, то есть в случае облучения нормальных мышей (мощность дозы 500 мГр/мин) вклад ак-

тивации иммунитета в величину пороговой дозы может быть минимальным.

В работе [100], выполненной на самках линии мышей, у которых к 17 мес жизни у 73 % животных развиваются опухоли молочной железы, облучение было фракционированным: 40 мГр 3 раза в неделю (через день) в течение 4 нед (суммарная доза 600 мГр за месяц). Облучение начинали в 8-месячном возрасте и к 17 месяцам доля животных с опухолями снижалась до 40 %. Если же облучение сочетали с ограничением диеты (до 70 % по калорийности), то доля мышей с опухолями падала до 16 %. В последнем варианте опыта 80 % опухолей, возникающих до этого срока, быстро регрессировали вследствие их инфильтрации большим количеством цитотоксических Т-лимфоцитов. Приведенные данные показывают антиканцерогенное действие дозы 600 мГр при фракционированном облучении, когда индуцибельная репарация ДР ДНК и стимуляция иммунитета могут существенно повлиять на регистрируемый эффект.

Рассмотренные выше работы выполнены на линиях мышей с генетическими дефектами, благодаря которым за время жизни у большей части животных возникает определённый тип опухолей: у более чем 90 % мышей — лимфома в линии, использованной в работах [98, 99] и у 70–80 % мышей — опухоль молочной железы [100]. Использование таких линий мышей позволяет ограничиться сотней мышей в варианте опыта для получения достоверного результата и не делать тотальный анализ трупов животных для выяснения причин смерти. Существуют в литературе и более трудоёмкие работы по радиационному канцерогенезу, выполненные на диких типах мышей. Так, в работе [9] был подведен итог многолетних исследований по индукции солидных опухолей у мышей малыми дозами радиации, которыми считали дозы 170 мГр или меньше для нейтронов и 320 мГр или меньше для рентгеновского излучения. Анализ данных показал, что в этом интервале доз радиации частота возникновения опухолей неотличима от таковой в контрольной (необлучённой) популяции. В работе [101] проведен мета-анализ 262 экспериментов на животных разных видов по влиянию малых доз радиации (разного качества) на канцерогенез с целью выявления доказательств радиационного гормезиса (снижения канцерогенеза). Авторы констатируют наличие гормезиса в некоторых опытах, однако воздерживаются от окончательного вывода, ссылаясь на малое количество данных с дозами 0,1 Гр и меньше, а также на недостаточное количество животных в группах для надёжной регистрации эффекта. В одной из итоговых таблиц (4) приводятся данные разных авторов по воздействию дозы 250 мГр на канцерогенез. Частота большей части типов опухолей снижается после этой

дозы, а для некоторых типов опухолей (в основном, лейкозов) частота увеличивается.

Рассмотрим данные работы [102], которая цитируется в обзоре [101], как пример увеличения частоты лейкозов при дозе 250 мГр. Она выполнена на мышах линии RF/Un, для которой характерен большой уровень спонтанного канцерогенеза: в контроле опухоли обнаружены у 66 % животных. В контрольной группе было 554 мыши, при дозах от 250 до 1000 мГр — в группах по 95 мышей. В контроле миелоидный лейкоз обнаружен у 3 ± 1 % мышей, тимусный лейкоз у 10 ± 1 %. После редкоизирующего облучения в дозе 250 мГр: 3 ± 2 и 16 ± 4 % соответственно. Это (10–16) малодостоверное из-за величины ошибок среднего, увеличение авторы этой работы, а вслед за ними и авторы анализа [101], принимают за факт действительного увеличения частоты лейкозов при дозе 250 мГр. При этом упускается из виду, что в той же таблице приведен результат облучения в дозе 500 мГр, при котором никакого изменения частоты лейкозов по сравнению с контролем вообще нет: 3 ± 2 % миелоидный лейкоз и 10 ± 3 % тимусный лейкоз. Очевидно, что вывод об увеличении частоты лейкозов при дозе 250 мГр недостоверен из-за малого количества животных и ошибочен.

Авторы анализа [101] включили в рассмотрение заведомо недостоверный результат, полученный к тому же на линии мышей, по-видимому, дефектных по репарации ДНК или иммунитету. Следовательно, недостатком проведенного в работе [101] анализа является то, что авторы не провели предварительного отбора данных. Необходимо было исключить из анализа недостоверные результаты, а также эксперименты, проведенные на породах и линиях животных, дефектных по репарации ДНК, иммунитету, апоптозу, т.е. характеризующихся высоким спонтанным уровнем канцерогенеза. Кажется также неоправданным включение в анализ работ по канцерогенезу при внутриутробном облучении [103], когда происходят многократные деления всех клеток, в том числе и несущих трансформирующие мутации, а собственной иммунной системы ещё нет. Возможно, при таком подходе результаты мета-анализа [101] были бы более показательными.

Таким образом, данные, полученные на животных, не дефектных по антиканцерогенной защите, показывают, что дозы редкоизирующего излучения до 300 мГр не оказывают значимого канцерогенного действия. При облучении в этом дозовом интервале и ниже может проявляться противоопухолевый эффект.

8. Выводы

Напомним основные положения LNT, которые уже приводились во введении: любая доза, сколько бы ни была она малой, увеличивает канцерогенный риск; риск на единицу дозы постоянен и не зависит от мощности дозы; риск аддитивен и увеличивается с дозой. Проведенный в работе анализ радиобиологических данных, показывает, что ни одно из этих трёх положений LNT им не соответствует. Эти данные позволили, однако, выделить основные положения, которые должны учитываться при оценке канцерогенного риска малых доз радиации.

1. Данные на клетках *in vitro* нельзя использовать для оценки канцерогенного риска вследствие возможности существенного вклада облучённой среды в регистрируемый эффект и отсутствия иммунного надзора за трансформированными клетками.

2. Нет доказательств эффекта свидетеля *in vivo*, т.е. увеличения эффективности поглощённой дозы за счёт передачи поглощённой энергии от клетки к клетке в организме.

3. Нестабильность генома не индуцируется дозами меньше 500 мГр в нормальных клетках.

4. Доказано существование несколько механизмов снижения эффективности поглощённой дозы: репарация ДНК, стимуляция репарации ДНК, апоптоза и иммунитета малыми дозами радиации.

6. Мощность дозы влияет на величину эффектов сложным образом, обусловленным репарацией повреждений ДНК, продвижением клеток по циклу между попаданиями и активацией противоопухолевого иммунитета.

7. Данные, полученные на животных, не дефектных по антиканцерогенной защите, показывают, что дозы редкоизирующего излучения до 300 мГр не оказывают канцерогенного действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Dauer L.T., Brooks A.L., Hoel D.G. et al. Review and evaluation of updated research on the health effects associated with low-dose ionising radiation. // Radiat. Prot. Dosimetry, 2010, **140**, No. 2, P. 103–136.
3. Muller H.J. Radiation and genetics. // Amer. Nat., 1930, **64**, P. 220–257.
4. Brues A.M. A critique of the linear theory of carcinogenesis: present data on human leukemogenesis by radiation indicate that a nonlinear relation is more probable. // Science, 1958, **128**, P. 693–699.

5. Ильин Л.А. Реалии и мифы Чернобыля. — М.: ALARA limited, 1994, 445 с.
6. Котеров А.Н. Малые дозы радиации: факты и мифы. Книга первая. Основные понятия и нестабильность генома. — М.: Изд-во ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2010, 283 с.
7. Петин В.Г., Пронкевич М.Д. Анализ действия малых доз ионизирующего излучения на онкозаболеваемость человека. // Радиация и риск, 2012, **21**, № 1, С. 38–56.
8. Auerbeck D. Does scientific evidence support a change from the LNT model for low-dose radiation risk extrapolation? // Health Phys., 2009, **97**, No. 5, P. 493–504.
9. Di Majo V., Rebessi S., Pazzaglia S. et al. Carcinogenesis in laboratory mice after low doses of ionizing radiation. // Radiat. Res., 2003, **159**, No. 1, P. 102–108.
10. Lacoste-Collin L., Jozan S., Cancès-Lauwers V. et al. Effect of continuous irradiation with a very low dose of gamma rays on life span and the immune system in SJL mice prone to B-cell lymphoma. // Radiat. Res., 2007, **168**, No. 6, 725–732.
11. Luckey T.D. Atomic bomb health benefits. // Dose–Response, 2008, **6**, No. 4, P. 369–382.
12. Mitchel R.E.J., Jackson J.S., McCann R.A. et al. Adaptive response modification of latency for radiation-induced myeloid leukemia in CBA/H mice. // Radiat. Res., 1999, **152**, No. 3, P. 273–279.
13. Pollycove M., Feinendegen L.E. Radiation-induced versus endogenous DNA damage: possible effect of inducible protective responses in mitigating endogenous damage. // Hum. Exp. Toxicol., 2003, **22**, No. 6, P. 290–306.
14. Prise K.M. New advances in radiation biology. // Occupat. Medicine, 2006, **56**, No. 3, P. 156–161.
15. Suzuki K., Yamashita S. Low-dose radiation exposure and carcinogenesis. // Jpn. J. Clin. Oncol., 2012, **42**, No. 7, P. 563–568.
16. Vaiserman A.M. Radiation hormesis: historical perspective and implications for low-dose cancer risk assessment. // Dose–Response, 2010, **8**, No. 2, P. 172–191.
17. Prasad K.N., Cole W.C., Haase G.M. Health risks of low dose ionizing radiation in humans: a review. // Exp. Biol. Med., 2004, **229**, No. 5, P. 378–382.
18. United Nations. UNSCEAR 2008. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Sources and effects of ionizing radiation. Volume II. Annex D. Health effects due to radiation from Chernobyl accident. — United Nations. New York, 2011, P. 45 — 220.
19. Prasad K.N., Cole W.C., Haase G.M. Radiation protection in humans: extending the concept of as low as reasonably achievable (ALARA) from dose to biological damage. // Brit. J. Radiol., 2004, **77**, No. 914, P. 97–99.
20. ICRP Publication 60: 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. // Annals of the ICRP 1991, 21(1–3).
21. Standards for protection against radiation—Nuclear Regulatory Commission. Final rule. Federal Register. 1991; 56:23360–474.
22. Biological effects of ionizing radiation BEIR V. National Academic Press: Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiation, Washington, DC, 1990.
23. Kuo S.S., Saad A.H., Koong A.C. et al. Potassium-channel activation in response to low doses of gamma-irradiation involves reactive oxygen intermediates in nonexcitatory cells. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993, **90**, No. 3, P. 908–912.
24. Prasad K.N. Handbook of Radiobiology. 2nd ed. — Boca Raton, FL: CRC Press, 1995, 352 pp.
25. Rothkamm K., Lohbrich M. From the cover: evidence for a lack of DNA double-strand break repair in human cells exposed to very low x-ray doses. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, **100**, No. 9, P. 5057–5062.
26. Golfier S., Jost G., Pietsch H. et al. Dicentric chromosomes and γ -H2AX foci formation in lymphocytes of human blood samples exposed to a CT scanner: a direct comparison of dose response relationships. // Radiat. Prot. Dosimetry, 2009, **134**, No. 1, P. 55–61.
27. Mancuso M., Pasquali E., Leonardi S. et al. Oncogenic bystander radiation effects in patched heterozygous mouse cerebellum. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2008, **105**, No. 34, P. 12445–12450.
28. Grudzinska S., Rathsa A., Conrada S. et al. Inducible response required for repair of low-dose radiation damage in human fibroblasts. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, **107**, No. 32, P. 14205–14210.
29. Neumaier T., Swenson J., Pham C. et al. Evidence for formation of DNA repair centers and dose-response nonlinearity in human cells. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2011, **109**, No. 2, P. 443–448.
30. Baure J., Izadi A., Suarez V. et al. Histone H2AX phosphorylation in response to changes in chromatin structure induced by altered osmolarity. // Mutagenesis, 2009, **24**, No. 2, P. 161–167.
31. de Feraudy S., Revet I., Bezrakovskaya V. et al. A minority of foci or pan-nuclear apoptotic staining of γ H2AX in the S phase after UV damage contain DNA double-strand breaks. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010, **107**, No. 15, P. 6870–6875.
32. Korystov Y.N., Shaposhnikova V.V., Korystova A.F. et al. Detection of reactive oxygen species induced by radiation in cells using the dichlorofluorescein assay. // Radiat. Res., 2007, **168**, No. 2, P. 226–232.

33. Wan X.S., Zhou Z., Kennedy A.R. Adaptation of the dichlorofluorescein assay for detection of radiation induced oxidative stress in cultured cells. // *Radiat. Res.*, 2003, **160**, No. 5, P. 622–630.
34. Wan X.S., Zhou Z., Ware J.H. et al. Standardization of a fluorometric assay for measuring oxidative stress in irradiated cells. // *Radiat. Res.*, 2005, **163**, No. 2, P. 232–240.
35. Korystov Y.N. About the role of extracellular radiation induced oxidants in cell oxidative stress at irradiation determined with the dichlorofluorescein assay. // *Radiat. Res.*, 2008, **170**, No. 3, P. 407–408.
36. Kumagai J., Nakama M., Miyazaki T. et al. Scavenging of long-lived radicals by (–)-epigallocatechin-3-O-gallate and simultaneous suppression of mutation in irradiated mammalian cells. // *Radiat. Phys. Chem.*, 2002, **64**, No. 4, P. 293–297.
37. Davies M.J., Fu S., Dean R.T. Protein hydroperoxides can give rise to reactive free radicals. // *Biochem. J.*, 1995, **305**, No. 2, P. 643–649.
38. Dean R.T., Gieseg S., Davies M.J. Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins. // *Trends Biochem. Sci.*, 1993, **18**, No. 11, P. 437–441.
39. Pattison D.I., Dean R.T., Davies M.J. Oxidation of DNA, proteins and lipids by DOPA, protein-bound DOPA, and related catechol(amine)s. // *Toxicology*, 2002, **177**, No. 1, P. 23–37.
40. Simpson J.A., Narita S., Gieseg S. et al. Long-lived reactive species on free-radical-damaged proteins. // *Biochem. J.*, 1992, **282**, No. 3, P. 621–624.
41. Bruskov V.I., Karp O.E., Garmash S.A. et al. Prolongation of oxidative stress by long-lived reactive protein species induced by X-ray radiation and their genotoxic action. // *Free Radical Res.*, 2012, **46**, No. 10, P. 1280–1290.
42. Котеров А.Н. Перспективы учета «эффекта свидетеля» при оценке радиационных рисков. // *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности?* 2011, №1(5), С. 7–20.
43. Yang, H., Asaad N., Held K.D. Medium-mediated intercellular communication is involved in bystander responses of X-ray irradiated normal human fibroblasts. // *Oncogene*. 2005, **24**, No. 12, P. 2096–2103.
44. Hu B., Wu L., Han W. et al. The time and spatial effects of bystander response in mammalian cells induced by low dose radiation. // *Carcinogenesis*, 2006, **27**, No. 2, P. 245–251.
45. Lyng F.M., Seymour C.B., Mothersill C. Oxidative stress in cells exposed to low levels of ionizing radiation. // *Biochem. Soc. Transact.*, 2001, **29**, No. 2, P. 350–353.
46. Morgan W.F. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation: I. Radiation-induced genomic instability and bystander effects *in vitro*. // *Radiat. Res.*, 2003, **159**, No. 5, P. 567–580.
47. Shao C., Furusawa Y., Kobayashi Y. et al. Bystander effect induced by counted high-LET particles in confluent human fibroblasts: a mechanistic study. // *FASEB J.*, 2003, **17**, No. 11, P. 1422–1427.
48. Groesser T., Cooper B., Rydberg B. Lack of bystander effects from high-LET radiation for early cytogenetic end points. // *Radiat. Res.*, 2008, **170**, No. 6, P. 794–802.
49. Fournier C., Barberet P., Pouthier T. et al. No evidence for DNA and early cytogenetic damage in bystander cells after heavy-ion microirradiation at two facilities. // *Radiat. Res.*, 2009, **171**, No. 5, P. 530–540.
50. Sowa M.B., Goetz W., Baulch J.E. et al. Lack of evidence for low-LET radiation induced bystander response in normal human fibroblasts and colon carcinoma cells. // *Int. J. Radiat. Biol.*, 2010, **86**, No. 2, P. 102–113.
51. Zhou H., Suzuki M., Geard C.R. et al. Effects of irradiated medium with or without cells on bystander cell responses. // *Mutat. Res.*, 2002, **499**, No. 2, P. 135–141.
52. Эйбус Л.Х., Корыстов Ю.Н. Кислород в радиобиологии. — М.: Энергоатомиздат, 1984, 176 с.
53. Петров Р.В. Иммунология. — М.: Медицина, 1982, 368 с.
54. Coleman W.B., Tsongali G.J. Multiple mechanisms account for genomic instability and molecular mutation in neoplastic transformation. // *Clin. Chem.*, 1995, **41**, No. 5, P. 644–657.
55. Khanna K.K. Cancer risk and the ATM gene: a continuing debate. // *J. Nat. Cancer Inst.* 2000, **92**, No. 10, P. 795–802.
56. Truong L.N., Wu X. Prevention of DNA re-replication in eukaryotic cells. // *J. Mol. Cell Biol.*, 2011, **3**, No. 1, P. 13–22.
57. Dugan L.C., Bedford J.S. Are chromosomal instabilities induced by exposure of cultured normal human cells to low- or high-LET radiation? // *Radiat. Res.*, 2003, **159**, No. 3, P. 301–311.
58. Koterov A.N. Genomic instability at exposure of low dose radiation with low LET. Mythical mechanism of unproved carcinogenic effects. // *Int. J. Low Radiation (Paris)*, 2005, **1**, No. 4, P. 376–451.
59. Котеров А.Н. Отсутствие фактов нестабильности генома после облучения в малых дозах радиацией с низкой ЛПЭ клеток без явных дефектов и организма вне *in utero* // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2006, **46**, № 5, С. 585–596.
60. Котеров А.Н. Радиационно-индуцированная нестабильность генома при действии малых доз радиации в научных публикациях и в документах международных организаций последних лет. // *Мед. радиол. и радиац. безопасность*, 2009, **54**, № 4, С. 5–13.
61. Котеров А.Н. История мифа о нестабильности генома при малых дозах радиации. Научная точка,

- вероятно, поставлена. // Мед. радиол. и радиац. безопасность, 2014, **59**, № 1, С. 5–19.
62. *Котеров А.Н.* Новые факты об отсутствии индукции нестабильности генома при малых дозах радиации с низкой ЛПЭ и соответствующие выводы о пороге эффекта в сообщении НКДАР-2012 (письмо в редакцию). // Радиационная биология. Радиоэкология, 2014, **54**, № 3, С. 309–312.
 63. *Альферович А.Л., Готлиб В.Я., Пелевина И.И.* Изменение пролиферативной активности клеток при действии радиации в малых дозах. // Изв. РАН. Сер. Биология, 1995, № 1, С. 15–18.
 64. *Korystov Y.N., Eliseeva N.A., Kublik L.N. et al.* The effect of low-dose irradiation on proliferation of mammalian cells *in vitro*. // Radiat. Res., 1996, **146**, No 3, P. 329–332.
 65. *Fialkov P.J.* Clonal origin of human tumors. // Biochim. Biophys. Acta, 1976, **458**, No. 3, P. 283–321.
 66. *Trosko J.E., Chang C.C.* The role of mutagenesis in carcinogenesis. // Photochem. Photobiol. Rev., 1978, **3**, No. 1, P. 135–168.
 67. *Bruner S.D., Norman D.P., Verdine G.L.* Structural basis for recognition and repair of the endogenous mutagen 8-oxoguanine in DNA. // Nature, 2000, **403**, No. 6772, P. 859–866.
 68. *Fleck O., Nielsen O.* DNA repair. // J. Cell Sci., 2004, **117**, No. 4, P. 515–517.
 69. *Lindahl T.* Instability and decay of the primary structure of DNA. // Nature, 1993, **362**, No. 6422, P. 709–715.
 70. *Fortini P., Dogliotti E.* Base damage and single-strand break repair: mechanisms and functional significance of short- and long-patch repair subpathways. // DNA Repair, 2007, **6**, No. 4, P. 398–409.
 71. *Lieber M.R.* The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. // J. Biol. Chem., 2008, **283**, No. 1, P. 1–5.
 72. *Le X.C., Xing J.Z., Lee J. et al.* Inducible repair of thymine glycol detected by an ultra sensitive assay for DNA damage. // Science, 1998, **280**, No. 5366, P.1066–1069.
 73. *Shadley J.D., Afzal V., Wolff. S.* Characterization of the adaptive response to ionizing radiation induced by low doses of X rays to human lymphocytes. // Radiat. Res., 1987, **111**, No. 3, P. 511–517.
 74. *Wiencke J.K., Afzal V., Olivieri G. et al.* Evidence that the [3H] thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. // Mutagenesis, 1986, **1**, No. 5, P. 375–380.
 75. *Wolf S.* The adaptive response in radiobiology: evolving insights and implications. // Environ. Health Persp., 1998, **106**, No. 5, P. 277–283.
 76. *Redpath J.L.* Radiation induced neoplastic transformation *in vitro*: evident for a protective effect at low doses of low LET radiation. // Cancer Metastasis Rev. 2004, **23**, No. 3–4, P. 333–339.
 77. *Azzam E.I., Raaohorst G.P., Mitchel R.E.J.* Radiation-induced adaptive response for protection against micronucleus formation and neoplastic transformation in C3H 10t_{1/2} mouse embryo cells. // Radiat. Res., 1994, **138**, No. 1s, P. S28–S31.
 78. *Rigaud O., Papadopoulou D., Moustacchi E.* Decreased deletion mutation in radioadapted human lymphoblasts. // Radiat. Res., 1993, **133**, No. 1, P. 94–101.
 79. *Zhou P.K., Liu X.Y., Sun W.Z. et al.* Cultured mouse SR-1 cells exposed to low dose of y-rays become less susceptible to the induction of mutagenesis by radiation as well as bleomycin. // Mutagenesis, 1993, **8**, No. 2, P. 109–111.
 80. *Dunn G.P., Bruce A.T., Ikeda H. et al.* Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. // Nature Immunol., 2002, **3**, No. 11, P. 991–998.
 81. *Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J.* Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. // Science, 2011, **331**, No. 6034, P. 1565 – 1570.
 82. *Liu S.Z.* Nonlinear dose-response relationship in the immune system following exposure to ionizing radiation: mechanisms and implications. // Nonlinearity Biol. Toxicol. Med., 2003, **1**, No. 1, P. 71–92.
 83. *Liu S.Z.* Biological effects of low level exposures to ionizing radiation: Theory and practice. // Hum. Exp. Toxicol., 2010, **29**, No. 4, P. 275–281.
 84. *Pollycove M.* Radiobiological basis of low-dose irradiation in prevention and therapy of cancer. // Dose–Response, 2007, **5**, No. 1, P. 26–38.
 85. *Mitchel R.E.J.* Low doses of radiation reduce risk *in vivo*. // Dose–Response, 2007, **5**, No. 1, P. 1–10.
 86. *Li X.Y., Li X.J., He R.H. et al.* Influence of low dose radiation on the carcinogenic effect of high dose radiation. // Chin. J. Radiol. Med. Protect., 2003, **23**, No. 2, P. 411–413. (in Chinese).
 87. *Liu S.Z.* Cancer control related to stimulation of immunity by low-dose radiation. // Dose–Response, 2007, **5**, No. 1, P. 39–47.
 88. *Hashimoto S., Shirato H., Hosokawa M. et al.* The suppression of metastases and the change in host immune response after low-dose total-body irradiation in tumor-bearing rats. // Radiat. Res., 1999, **151**, No. 6, P. 717–724.
 89. *Jin S.Z., Pan X.N., Wu N. et al.* Whole-body low dose irradiation promotes the efficacy of conventional radiotherapy for cancer and possible mechanisms. // Dose–Response, 2007, **5**, No. 4, P. 349–558.
 90. *Sakamoto K., Myogin M., Hosoi Y.* Fundamental and clinical studies on cancer control with total or upper

- half body irradiation. // *J. Jpn. Soc. Ther. Radiol. Oncol.*, 1997, **9**, No. 1, P. 161–175.
91. *Potten C.S.* Extreme sensitivity of some intestinal crypt cells to X and γ -irradiation. // *Nature*, 1977, **269**, No. 5628, P. 518–521.
 92. *Лу Д.Е.* Действие радиации на живые клетки. — М: Госатомиздат, 1963, 288 с.
 93. *Jaruga P., Dizdaroglu M.* Repair of products of oxidative DNA base damage in human cells. // *Nucleic Acid Res.*, 1996, **24**, No. 8, P. 1389–1394.
 94. *Frankenberg-Schwager M.* Induction, repair and biological relevance of radiation-induced DNA lesions in eukaryotic cells. // *Radiat. Environ. Biophys.*, 1990, **29**, No. 4, P. 273–292.
 95. *Lobrich M., Rief N., Kuhne M. et al.* *In vivo* formation and repair of DNA double-strand breaks after computed tomography examinations. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, **102**, No. 25, P. 8984–8989.
 96. *Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А.* Радиобиология человека и животных. — М.: Высш. Шк., 2004, 549 с.
 97. *Liu S.Z.* On radiation hormesis expressed in the immune system. // *Crit. Rev. Toxicol.*, 2003, **33**, No. 3–4, P. 431–441.
 98. *Ishii-Ohba H., Kobayashi S., Nishimura M. et al.* Existence of a threshold-like dose for gamma-ray induction of thymic lymphomas and no susceptibility to radiation-induced solid tumors in SCID mice. // *Mutat. Res.*, 2007, **619**, No. 1–2, P. 124–133.
 99. *Tanooka H.* Threshold dose—response in radiation carcinogenesis: an approach from chronic beta-irradiation experiments and a review of non tumor doses. // *Int. J. Radiat. Biol.*, 2001, **77**, No. 5, P. 541–551.
 100. *Makinodan T.* Cellular and subcellular alteration in immune cells induced by chronic, intermittent exposure *in vivo* to very low dose of ionizing radiation (ldr) and its ameliorating effects on progression of autoimmune disease and mammary tumor growth. // In: *Low Dose Irradiation and Biological Defense Mechanisms*. Ed: *Sugahara T., Sagan L.A., Aoyama T.* — Amsterdam: Excerpta Medica, 1992, P. 233–237.
 101. *Crump K.S., Duport P., Jiang H. et al.* A meta-analysis of evidence for hormesis in animal radiation carcinogenesis, including a discussion of potential pitfalls in statistical analyses to detect hormesis. // *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.*, 2012, **15**, No. 3, P. 210–231.
 102. *Upton A.C., Randolph M L., Conklin, J.W. et al.* Late effects of fast neutrons and gamma-rays in mice as influenced by the dose rate of irradiation: Induction of neoplasia. // *Radiat. Res.*, 1970, **41**, No. 3, P. 467–491.
 103. *Benjamin S.A., Lee A.C., Angleton G.M. et al.* Mortality in beagles irradiated during prenatal and postnatal development. II. Contribution of benign and malignant neoplasia. // *Radiat. Res.*, 1998, **150**, No. 3, P. 330–348.

Поступила: 09.10.2014

Принята к публикации: 05.02.2015

Ю.Г. Григорьев, Н.И. Хорсева. Мобильная связь и здоровье детей: оценка опасности применения мобильной связи детьми и подростками: рекомендации детям и родителям. — М., 2014, 230 с.

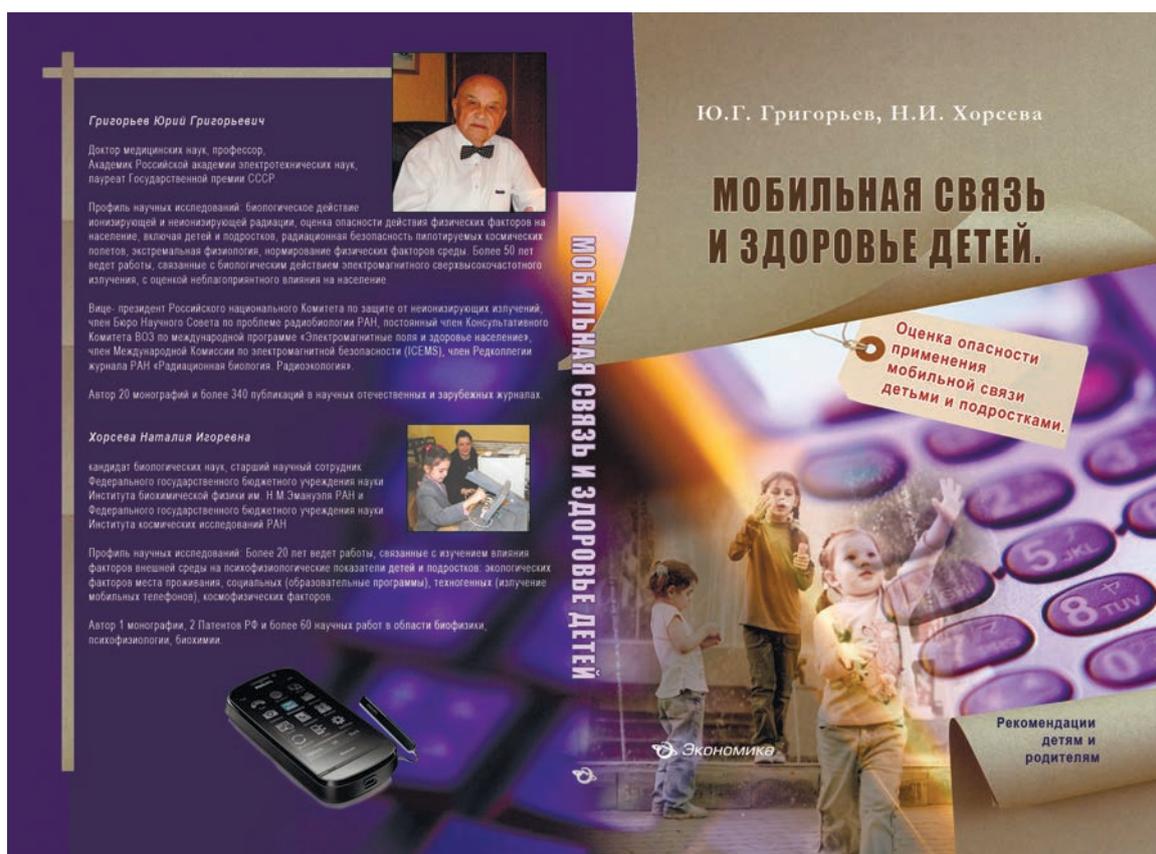
Yu.G. Grigoriev, N.I. Horseva. Mobile Phones and Health of Children: Assessment of Hazards of Mobile Phones Used by Children And Teenagers: Recommendations for Children and Parents. — М., 2014, 230 p.

В настоящее время активным обладателем мобильного телефона, который является открытым и неконтролируемым источником ЭМП, становится ребенок. Впервые дети и подростки попали в группу риска, к которой ранее относили только работающих специалистов — профессионалов по эксплуатации радаров и других СВЧ-источников промышленного назначения.

Возникла ситуация, требующая оценки опасности для здоровья детей — пользователей мобильными телефонами, организации постоянного гигиениче-

ского контроля и разработки целого комплекса профилактических мероприятий.

В книге рассмотрено современное состояние проблемы (один из авторов книги является постоянным членом Консультативного комитета ВОЗ по проблеме «ЭМП и здоровье населения» уже на протяжении более 15 лет). Представлены результаты 6-летнего наблюдения за школьниками — пользователями мобильными телефонами. Даны рекомендации родителям и детям по снижению воздействия ЭМП на мозг при использовании мобильных телефонов.



**Гончаров С.Ф., Покровский В.И., Брико Н.И., Иванова Е.Б.,
Погодин Ю.И., Верещагин А.И., Фалеев М.И., Грязнева Т.Н.
Рекомендации населению по защите в чрезвычайных ситуациях
природного характера. — М.: ИД «ВЕЛТ», 2013, 560 с.**

**Goncharov S.F., Pokrovsky V.I., Briko N.I., Ivanova E.B., Pogodin Yu.I.,
Vereshchagin A.I., Faleev M.I., Gryazneva T.N.
«Recommendations for Population on Protection Measures in Natural
Emergencies». — М.: PH «Velt», 2013, 560 с.**

Книга «Рекомендации населению по защите в чрезвычайных ситуациях природного характера» – это полезное руководство по выживанию в различных экстремальных условиях.

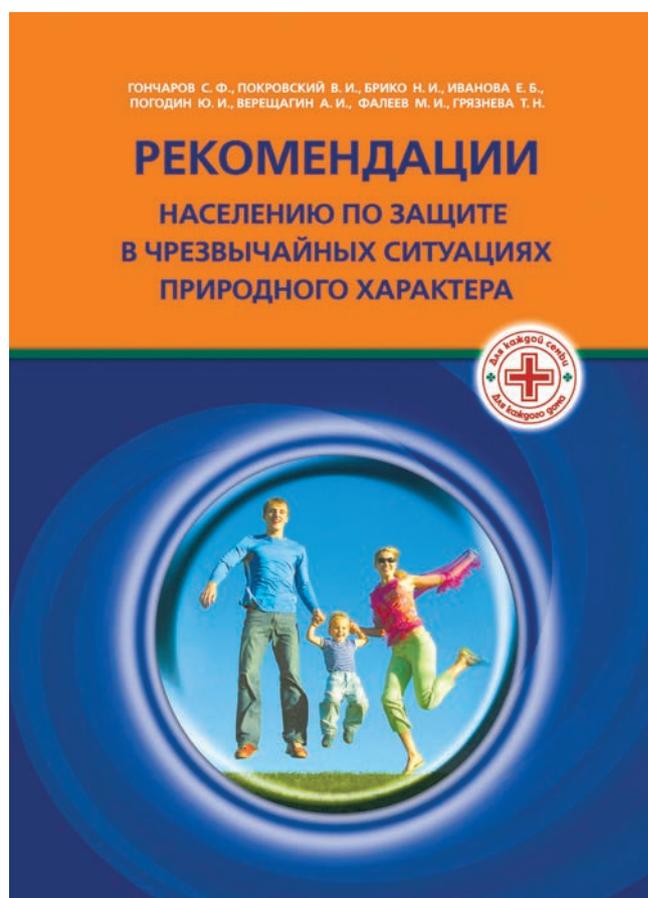
В издании подробно описаны причины и следствия чрезвычайных ситуаций природного характера; даны рекомендации по поведению в них; приведены полезные советы и приёмы оказания первой помощи, способствующие спасению жизни, сохранению здоровья людей и профилактике болезней.

История развития человечества неразрывно связана с чрезвычайными ситуациями природного характера. Землетрясения, наводнения, снежные лавины, оползни, сели, ураганы, пожары и другие стихийные бедствия, имеющие масштабный характер, приводили и продолжают приводить к нарушению нормальной жизнедеятельности, гибели людей, разрушению и уничтожению материальных ценностей.

В чём заключается опасность стихийных бедствий? Что делать, если беда застала нас врасплох? Как действовать в ЧС и оказать первую помощь пострадавшим? Как уберечься от заражения инфекционными заболеваниями? На эти и многие другие вопросы отвечает наша новая книга.

Книга рассчитана на широкий круг читателей и будет полезна каждому дому, каждой семье.

Помните: если вы владеете современными приёмами само- и взаимопомощи, у вас намного больше шансов спасти себя и прийти на помощь другим!



В.Н. Мальцев, Е.П. Пашков. Медицинская микробиология и иммунология. Под ред. В.В. Зверева. – М.: «Практическая медицина», 2014

V.N. Mal'tsev, E.P. Pashkov. «Medical microbiology and immunology». Ed. V.V. Zverev. –M.: «Practical Medicine», 2014

Книга написана в соответствии с федеральными государственными образовательными стандартами. Она состоит из трёх частей: общей микробиологии, иммунологии и частой микробиологии. В первой части рассматривается морфология, физиология, генетика микробов, проблемы экологии, санитарной и клинической микробиологии. Большое внимание уделяется современным микробным вакцинам, химиотерапевтическим препаратам (в том числе антибиотикам), особенностям их химической структуры и механизму действия на микробы.

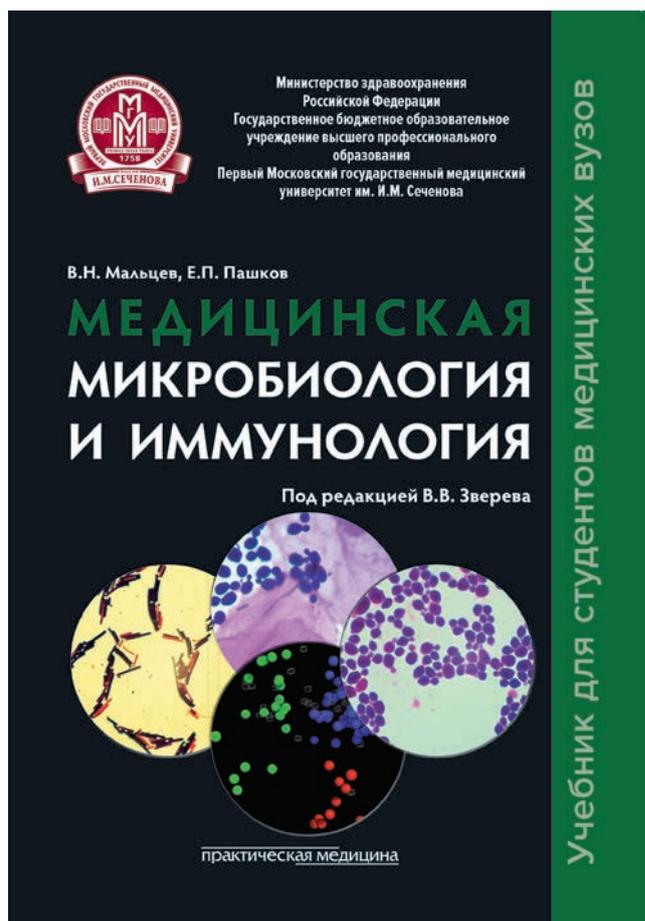
Вторая часть посвящена иммунологии. Подробно рассмотрены механизмы врожденного иммунитета (в том числе специфические его компоненты паттерн-распознающие рецепторы) и адаптивного иммунитета, особенности его функционирования на различных участках тела (местный иммунитет). Большое внимание уделяется иммуногенетике, взаимодействию иммунокомпетентных клеток, за счет межклеточных рецепторов и цитокинов при синтезе различных антител, формированию иммунного ответа, аллергии, аутоиммунных заболеваниях и отторжению трансплантата. Показаны успехи в создании антитоксических сывороток, содержащих антитела, для лечения дифтерии, столбняка, ботулизма, газовой гангрены.

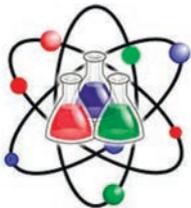
Третья часть посвящена частной микробиологии. В самостоятельные разделы выделены материалы о полезных микробах-эубиотиках, условно-патогенных и безусловно патогенных для человека возбудителях. При описании микробов-эубиотиков рассказывается о механизме действия лечебных препаратов, созданных на их основе.

При изложении материалов об условно-патогенных микробах подчеркивается, что их патогенность проявляется только при формировании в организме иммунодефицита, вызванного воздействием многих факторов, в том числе, ионизирующего излучения. В качестве возбудителей условно-патогенных инфекций представлены микробы - представители нормальной микрофлоры. Изложение материалов о безусловно патогенных для человека микробах идет по эпидемиологическому признаку: кишечные, ре-

спираторные и другие инфекции. При описании возбудителей выделяются факторы их агрессии, способствующие проникновению микробов в организм, и факторы их токсичности, оказывающие болезнетворный эффект. В книге уделяется большое внимание вирусу Эбола, возбудителям медленных инфекций: вирусам иммунодефицита, Т-клеточного лейкоза человека, онкогенным вирусам, а также прионам.

Книга рекомендована «Федеральным институтом развития образования» для студентов, обучающихся в медицинских, фармацевтических и стоматологических вузах.





**РОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
«МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ
ТОКСИКОЛОГИИ И РАДИОБИОЛОГИИ»
Санкт-Петербург, 4–6 июня 2015 г.**



TOXRAD-2015

Россия, 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54
Телефон: +7 (812) 702-63-47; 702-63-45; факс +7 (812) 702-63-63
e-mail: toxrad2015@gmail.com

ИНФОРМАЦИОННОЕ СООБЩЕНИЕ № 1

Уважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе Российской научной конференции «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии», которая планируется к проведению с 4 по 6 июня 2015 г. на базе Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России (г. Санкт-Петербург, ул. Оптиков, 54).

Учредители конференции: Министерство Российской Федерации по делам гражданской обороны, чрезвычайным ситуациям и ликвидации последствий стихийных бедствий, Федеральное медико-биологическое агентство, Отделение биологических наук Российской академии наук, Всероссийская общественная организация токсикологов, Российское радиобиологическое общество.

Организаторы конференции: Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, НИИ токсикологии ФМБА России, НПЦ «Фармзащита» ФМБА России, ООО «Специальная и медицинская техника», Научный совет РАН по радиобиологии.

В программу конференции будут включены следующие направления:

1. Характеристика химических веществ и ионизирующих излучений как источников опасности для человека и биоты. Современные подходы к их нормированию и количественной оценке.
2. Молекулярные и клеточные механизмы действия токсичных химических веществ и радиации.
3. Клиника, диагностика, профилактика и лечение химических и радиационных поражений.
4. Проблемы разработки, испытаний и внедрения антидотов и противолучевых средств.
5. Организация лечебно-профилактических, санитарно-гигиенических и защитных мероприятий при отравлениях и лучевых поражениях; оценка и управление рисками.
6. Экологические последствия химических и радиационных аварий (катастроф).
7. Проблемы подготовки кадров по токсикологии и радиобиологии.

В ходе конференции будут проведены пленарные и секционные заседания, стендовые сессии и круглые столы, посвященные наиболее актуальным проблемам токсикологии и радиобиологии. Научная программа конференции будет сформирована после получения тезисов докладов.

В ходе конференции будет развернута экспозиция по наиболее актуальным проблемам токсикологии и радиологии. Все участники конференции и выставки получают сертификаты.

Планируется проведение конкурса на лучшую научную работу среди молодых ученых (в возрасте до 35 лет). Победителям конкурса будут вручены дипломы лауреатов и призы.

Мы будем рады приветствовать всех специалистов, которых интересуют достижения фундаментальной и прикладной токсикологии и радиобиологии, вне зависимости от отрасли науки, ученых степеней и званий!

По вопросам участия в конференции и выставке следует обращаться к научному модератору – доктору медицинских наук профессору Гребенюку Александру Николаевичу, тел. +7-921-300-80-03; +7 (812) 702-63-45 или по электронной почте: toxrad2015@gmail.com, указывая в теме письма «Конференция ToxRad-2015 – тезисы (доклад, регформа, вопрос и пр.) ФИО: Иванова И.И.»