ISSN 1024-6177 (Print)
ISSN 2618-9615 (Online)

МЕДИЦИНСКАЯ РАДИОЛОГИЯ И РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

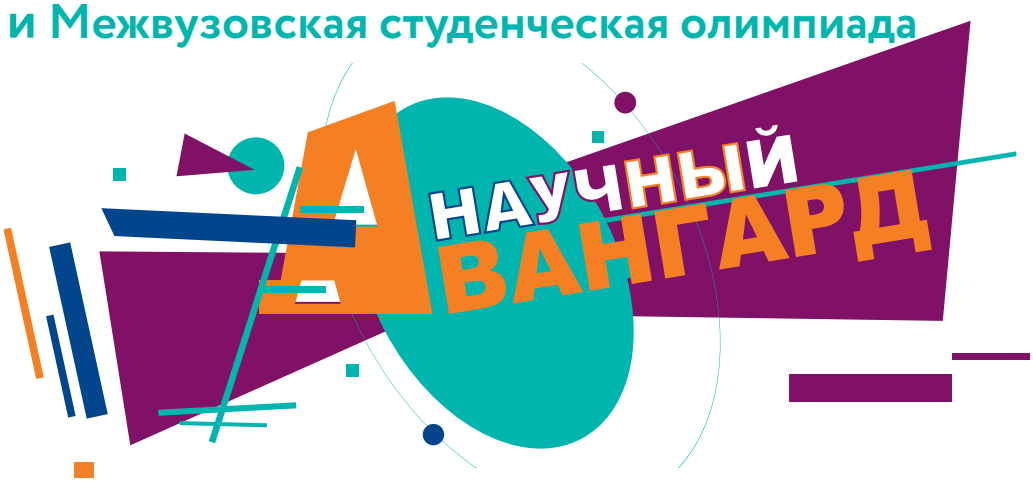
1956 — 2024

MEDICAL RADIOLOGY AND RADIATION SAFETY

2024 69 3

MEDITSINSKAIA RADIOLOGIIA I RADIATSIONNAIA BEZOPASNOST

VI Научно-практическая конференция и Межвузовская студенческая олимпиада



28 мая 2024 г на базе Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования (МБУ ИНО) состоялась VI научно-практическая конференция «Научный авангард», которая собрала на площадке молодых российских ученых.

В этом году конференцию приурочили к 100-летию со дня рождения выдающегося советского и российского ученого, врача-радиолога, профессора, члена-корреспондента Академии наук, лауреата Ленинской премии и премии Зиверта за защиту от излучений Ангелины Константиновны Гуськовой. Развитие отечественной науки по радиационной медицине было ее основным делом, она воспитала и вдохновила целую плеяду талантливых ученых, успешно работающих в ведущих учреждениях страны. В память о великом ученом зрителям продемонстрировали фильм.

Открыло пленарное заседание выступление хорового коллектива Центра. Затем с приветственным словом к участникам конференции от имени генерального директора ГНЦ ФМБЦ им.А.И. Бурназяна, члена-корреспондента РАН, д.м.н., профессора Александра Самойлова обратился первый заместитель директора по науке, д.м.н., профессор Андрей Бушманов.

«Рад приветствовать вас на VI научно-практической конференции «Научный авангард», где участники имеют возможность ознакомиться с новейшими достижениями науки, обменяться опытом, а также установить деловые контакты с коллегами. Скрупулезный труд, усидчивость, целеустремленность, амбициозность и, конечно же, желание сказать свое слово – все это требуется от тех, кто решил посвятить свою жизнь науке. Отрадно отметить, что в прошлом году 11 аспирантов нашего университета выдвинуты на соискание Премии Президента Российской Федерации в области науки и инноваций для молодых ученых. Мы гордимся ими и поддерживаем во всех начинаниях», – говорится в приветственном обращении Александра Самойлова.

Сегодня на базе Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ведется большая научно-исследовательская работа. Как сообщила Первый проректор МБУ ИНО, профессор Валентина Олесова, в прошлом году его сотрудниками было опубликовано более 500 научных статей в соавторстве с молодыми учеными, издано 18 монографий и 76 учебных пособий, получено 42 свидетельства интеллектуальной собственности. Защищено 16 диссертаций, из которых 8 – работы аспирантов.

«Результаты недавно проведенного анкетирования среди молодых сотрудников нашего Центра в возрасте до 35 лет продемонстрировали, что более 35% респондентов стремятся к карьерному росту, каждый десятый клиницист и научный работник выразил желание стать заведующим отделением, отделом или лабораторией, 28% из опрошенных выразили желание защитить диссертацию», – отметила Валентина Олесова.

В настоящее время в университете обучаются 577 ординаторов и 93 аспиранта, многие из них выступают сегодня с докладами и опубликовали свои работы в сборнике материалов конференции. С приветственным словом к молодым ученым обратился и заместитель генерального директора по медицинской части ФМБЦ им.А.И. Бурназяна, д.м.н., Олег Паринов.

Научно-практическая конференция «Научный авангард» в этом году проводится в новом формате. Впервые ей предшествовала межвузовская студенческая олимпиада, в формате которой проведены конкурсы на знание современной медицины и радиобиологии. В интеллектуальном состязании победила команда РНИМУ им. Н.И.Пирогова. Труды молодых ученых вошли в сборник материалов, изданный специально к конференции, который включает 81 статью.

После завершения пленарного заседания прошли еще 4 секционных сессии, посвященные обсуждению инновационных методов в клинической медицине и реабилитации, в стоматологии, а также медико-биологических аспектов профилактики. Результаты научных изысканий представили в своих докладах 48 молодых ученых. В формате отдельной секции развернули площадку для обсуждения студенческих исследований, большая часть которых была проведена на базе ФМБЦ им.А.И. Бурназяна.

НАУЧНЫЙ И ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ПЕРИОДИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ОСНОВАН В 1956 ГОДУ

ISSN 1024-6177 (Print)
ISSN 2618-9615 (Online)

МЕДИЦИНСКАЯ РАДИОЛОГИЯ И РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

2024. Том 69. № 3

Периодичность издания: шесть выпусков в год
Учредители:
Российская академия наук
Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное медико-биологическое агентство России (ФМБА России)

Миссия журнала – публикация оригинальных научных статей по вопросам радиобиологии, радиационной медицины, радиационной безопасности, лучевой терапии, ядерной медицины, а также научных обзоров.
Цель журнала – освещение передовых достижений радиационной медицины¸ радиационной биологии, эпидемиологии, медицинской физики и техники.

Главный редактор: ***Самойлов А.С.*** – д.м.н., проф., член-корр. РАН;
Заместитель главного редактора: ***Бушманов А.Ю.*** – д.м.н., проф.;
Научный редактор: ***Наркевич Б.Я.*** – д.т.н., к.ф.-м.н., проф.

Редакционная коллегия https://medradiol.fmbafmbc.ru/edit_ru

Аветисов Г.М., д.б.н., проф., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Бирюков А.П., д.м.н., проф., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Бойко А.В., д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва;
Вайнсон А.А., д.б.н., проф., НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, Москва;
Коренков И.П., д.б.н., к.т.н, проф., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Котеров А.Н., д.б.н., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Крылов А.С., к.м.н., доцент, НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» МЗ РФ, Москва;
Marko S. Markov, Ph.D, проф., Международный исследовательский центр в Уильямсвилле, Нью-Йорк США;
Маткевич Е.И., к.м.н., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Нурлыбаев К.Н., к.т.н., ООО НПП «Доза», г. Зеленоград;
Романов В.В., ФМБА России, Москва;
Сневе М.К., PhD, Норвежское Управление по радиационной защите Департамента ядерной безопасности, Норвегия, Осло;
Ткачев С.И., д.м.н., проф., ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;
Тюрин И.Е., д.м.н., проф., РМАПО, Москва;
Урингтон П., PhD, проф., Управление охраны здоровья и безопасности, в Управлении охраны окружающей среды, здоровья и безопасности США;
Фаунтес Б.Н., PhD, Министерство энергетики США, Управление внутренних и международных исследований в области здравоохранения, США;
Шандала Н.К., д.м.н., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва;
Шафиркин А.В., д.б.н., проф, ГНЦ РФ ИМБП РАН, Москва;
Шинкарев С.М., д.т.н., ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва.

Редакционный совет https://medradiol.fmbafmbc.ru/edit_ru

Алексанин С.С. – д.м.н., проф., Санкт-Петербург; Балонов М.И. – д.б.н., проф., Санкт-Петербург;
Гонзалес А.Х. – академик, представитель НКДАР ООН, член МАГАТЭ, Аргентина; Забелин М.В. – д.м.н., проф.;
Иванов В.К. – д.т.н., проф., член-корр. РАН, Обнинск; Казымбет П.К. – д.м.н., проф., Казахстан;
Оганесян Н.М. – д.м.н., проф., Армения; Пинак М. – член МАГАТЭ; Рожко А.В. – д.м.н., доцент, Белоруссия;
Саенко В.А. – д.б.н., ассоциированный проф., Япония

Журнал входит в Перечень ведущих российских рецензируемых научных журналов ВАК, индексируется в базе данных РИНЦ, RSCI, SCOPUS.
Осуществляется контроль заимствований и плагиата. Журнал придерживается политики открытого рецензирования.
Все выпуски журнала находятся в открытом доступе. Плата за публикации не взимается.

Электронная версия журнала: https://medradiol.fmbafmbc.ru/vypuski-jornal-ru
Правила рецензирования: https://medradiol.fmbafmbc.ru/review_ru
Правила представления рукописей для опубликования в журнале: https://medradiol.fmbafmbc.ru/rules_ru

Компьютерная верстка и техническое редактирование Схерпениссе И.В.
Адрес редакции журнала: 123098, Москва, ул. Живописная, 46; Телефон: (499) 190-59-60; E-mail: rcdm@mail.ru
Сайт журнала: http://medradiol.fmbafmbc.ru/
Годовой подписной индекс Агентства «Роспечать» – 71814
Подписано в печать 03.06.2024. Формат 60×90/8 Печать офсетная. 11,25 печ. л. Тираж 1000 экз. Заказ № 2024
Отпечатано в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. 123098, Москва, ул. Живописная, 46

SCIENTIFIC AND INFORMATION-ANALYTICAL JOURNAL FOUNDED IN 1956

ISSN 1024-6177 (Print)
ISSN 2618-9615 (Online)

MEDICAL RADIOLOGY AND RADIATION SAFETY

Meditsinskaia Radiologiia i Rdiatsionnaia Bezopasnost

2024. Vol. 69. No 3

Frequency of publication: six issues per year
Founders:
Russian Academy of Sciences
Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Federal Medical and Biological Agency of Russia (FMBA of Russia)

Mission of the journal is to publish original scientific articles on radiobiology, radiation medicine, radiation safety, radiotherapy, nuclear medicine, and scientific reviews.
Purpose of the journal is to highlight the advanced achievements of radiation medicine, radiation biology, epidemiology, medical physics and technology.

Editor-in-Chief: ***Samoylov A.S.*** – Dr. Sci. Med., Prof., Corresponding Member of RAS;
Deputy Eitor-in-Chief: ***Bushmanov A.Yu.*** – Dr. Sci. Med., Prof.;
Deputy Eitor-in-Chief for Science: ***Narkevich B.Ya.*** – Dr. Sci. Tech., PhD Phys-Math., Prof.

Editorial Board https://medradiol.fmbafmbc.ru/en/edit_en

Avetisov G.M., Dr. Sci. Biol., Prof., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Biryukov A.P., Dr. Sci. Med., Prof., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Boiko A.V., Dr. Sci. Med., Prof., FSBI NMRRC of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;
Vaynson A.A., Dr. Sci. Biol., Prof., N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia;
Korenkov I.P., Dr. Sci. Biol., PhD Tech., Prof., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Koterov A.N., Dr. Sci. Biol., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Krylov A.S., PhD. Med, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia;
Markov M.S., Prof., Research International, Williamsville, NY, USA;
Matkevich E.I., PhD. Med, A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Nurlybaev K.N., PhD. Tech, Scientific and Producing Company "Doza", Zelenograd, Russia;
Romanov V.V., Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia;
Sneve M.K., PhD, NRPA Department of Nuclear Safety, Emergency Preparedness and Environmental radioactivity, Oslo, Norway;
Tkachev S.I., Dr. Sci. Med., Prof., N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia;
Tiurin I.E., Dr. Sci. Med., Prof., FSBEI FPE RMACPE MOH Russia), Moscow, Russia;
Worthington P.R., PhD, Prof., Office of Environment, Health, Safety and Security (AU), USA;
Shandala N.K., Dr. Sci. Med., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia;
Shafirkin A.V., Dr. Sci.Biol., Prof., Institute of Biomedical Problems (IBMP), Moscow, Russia;
Shinkarev S.M., Dr. Sci. Tech., A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia, Moscow, Russia

Editorial Council https://medradiol.fmbafmbc.ru/en/edit_en

Aleksanin S.S. – Dr. Sci. Med., Prof.; Balonov M.I. – Dr. Sci. Biol., Prof.; Gonzalez A.J. – Academician, UNSCEAR Representative Member of the IAEA, Argentina; Zabelin M.V. – Dr. Sci. Med., Prof.; Ivanov V.K. – Dr. Sci. Tech., Prof., Chairman of the Russian Scientific Commission on Radiological Protection, Corresponding Member of RAS; Kazymbet P.K. – Dr. Sci. Med., Prof., Kazakhstan; Oganesyan N.M. – Dr. Sci. Med., Prof., Armenia; Pinak M. – Member of the IAEA; Rozhko A.V. – Dr. Sci. Med., Associate Prof., Belarus; Saenko V.A. – Dr. Sci. Biol., Associate Prof., Japan

The Journal is in the leading scientific journals of the Supreme Examination Board (VAK), RSCI and Scopus.
Control is carried out of borrowings and plagiarism. The journal adheres to the policy of open review.
All issues of the journal are in the public domain. Publication is free of charge.

Electronic version of the journal: https://medradiol.fmbafmbc.ru/vypuski-jornal-ru
Reviews of articles are presented on the NDL website: https://medradiol.fmbafmbc.ru/review_ru
Requirements: https://medradiol.fmbafmbc.ru/rules_ru

Computer-aided makeup: Skherpenisse I.V.
Editorial Office Address: 46, Zhivopisnaya st., Moscow, Russia, 123098. Phone: (499) 190-59-60. E-mail: rcdm@mail.ru
The journal website: http://medradiol.fmbafmbc.ru/
The annual subscription index Agency “Rospechat” – 71814
Signed to print 03.06.2024. Format 60×90/8. Offset printing. 11,25 printed sheets. 1000 copies. Order 2024
Printed by SRC-FMBC. 123098, Moscow, Zhivopisnaya st. 46

МЕДИЦИНСКАЯ РАДИОЛОГИЯ И РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ. 2024. ТОМ 69. № 3

СОДЕРЖАНИЕ

РАДИАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

5 **Оценка эффективности применения децеллюляризованной амниотической мембраны человека в комбинации с клеточной терапией при местных лучевых поражениях**
Расторгуева А.А., Астрелина Т.А., Брунчуков В.А., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Никитина В.А., Лищук С.В., Дубова Е.А., Павлов К.А., Маливанова Т.Ф., Усупжанова Д.Ю., Михадаркина О.Г., Кобзев А.Д., Булыгина В.И., Самойлов А.С.

13 **Связь между клеточным старением и изменениями количества и размеров фокусов фосфорилированного гистона H2AX в облученных фибробластах человека**
Осипов А.А., Чигасова А.К., Яшкина Е.И., Игнатов М.А., Воробьева Н.Ю., Осипов А.Н.

19 **Изучение клинико-гематологических и иммунологических показателей при оценке противорадиационной эффективности терапевтического средства на основе микроорганизма *Fusobacterium necrophorum***
Гайнутдинов Т.Р., Рыжкин С.А., Вагин К.Н., Тризна Е.Ю., Охрименко С.Е.

26 **Флуориметрическая оценка влияния рибоксина, медного хлорофиллина, тролокса и растворимой формы индралина на ростовые свойства клеток А549 в культуре**
Ромодин Л.А., Яшкина Е.И., Московский А.А.

РАДИАЦИОННАЯ МЕДИЦИНА

35 **Митохондриальный белок-транслоказа 18 кДа как биомаркер радиационно-индуцированного нейровоспаления**
Родина А.В.

РАДИАЦИОННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

46 **Анализ влияния облучения на мультиморбидность участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС**
Корело А.М., Максютов М.А., Чекин С.Ю., Кочергина Е.В., Лашкова О.Е.

53 **Оценка радиационного риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС – работников предприятий атомной промышленности по данным о дозах различных видов облучения**
Туков А.Р., Шафранский И.Л., Котеров А.Н., Зиятдинов М.Н., Прохорова О.Н., Михайленко А.М.

57 **Риск смертности от основных патологий вследствие пассивного курения не достигается подавляющим большинством работников ядерной индустрии всех периодов занятости**
Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Вайнсон А.А., Дибиргаджиев И.Г., Калинина М.В., Бушманов А.Ю.

ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ

68 **Методология клинических аудитов отделений лучевой терапии в РФ на основе принципов аудита МАГАТЭ QUATRO**
Черных М.В., Крылова Т.А.

ЯДЕРНАЯ МЕДИЦИНА

72 **Оценка острой токсичности препарата $^{99m}Tc(CO)_3$-$(HE)_3$-DARPinG3 у больных раком молочной железы**
Брагина О.Д., Бородина М.Е., Чернов В.И., Деев С.М., Вострикова М.А., Романова А.А.

77 **Значение ОФЭКТ/КТ в одновременной оценке кальциноза коронарных артерий, перфузии и контрактильной функции миокарда у мужчин с ишемической болезнью сердца**
Томашевский И.О., Корникова О.С.

РАДИАЦИОННАЯ ФИЗИКА, ТЕХНИКА И ДОЗИМЕТРИЯ

81 **Новый подход на основе трансферного глубокого обучения для прогнозирования опухолей головного мозга**
Муайед Ф. Аль-Рави, Изз К. Аббуд и Насир А. Аль-Авад

ЮБИЛЕИ

86 **Перспективные аспекты медико-биологической науки и практики – к 100-летию А.К. Гуськовой: напутствие врачам и ученым**
Метляева Н.А.

89 **Памяти радиотоксиколога Юрия Александровича Классовского. К 100-летию со дня рождения 15.01.1924–27.04.1982**
Иванов И.В., Вялых В.Н.

MEDICAL RADIOLOGY AND RADIATION SAFETY. 2024. VOL 69. № 3

CONTENTS

RADIATION BIOLOGY	*5*	**Evaluation of the Effectiveness of The Use of Decellularized Human Amniotic Membrane in Combination with Cell Therapy for Local Radiation Injuries** *Rastorgueva A.A., Astrelina T.A., Brunchukov V.A., Kobzeva I.V., Suchkova Yu.B., Nikitina V.A., Lishchuk S.V., Dubova E.A., Pavlov K.A., Malivanova T.F., Usupzhanova D.Yu., Mikhadarkina O.G., Kobzev A.D., Bulygina V.I., Samoilov A.S.*
	13	**Link Between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2AX Foci in Irradiated Human Fibroblasts** *Osipov A.A., Chigasova A.K., Yashkina E.I., Ignatov M.A., Vorobyeva N.Yu., Osipov A.N.*
	19	**Study of Clinical, Hematologic and Immunologic Parameters in Assessing the Anti-Radiation Efficacy of the Therapeutic Agent Based on the Microorganism *Fusobacterium Necrophorum*** *Gaynutdinov T.R., Ryzhkin S.A., Vagin K.N., Trizna E.Yu., Ohrimenko S.E.*
	26	**Fluorimetric Evaluation of the Effect of Riboxin, Copper Chlorophyllin, Trolox and the Soluble form of Indralin on the Growth Properties of A549 Cells in Culture** *Romodin L.A., Yashkina E.I., Moskovskij A.A.*
RADIATION MEDICINE	*35*	**The Mitochondrial 18 kDa Translocator Protein as a Biomarker of Radiation-Induced Neuroinflammatory** *Rodina A.V.*
RADIATION EPIDEMIOLOGY	*46*	**Analysis of the Influence of Radiation Exposure on Multimorbidity Among Liquidators of the Consequences of the Accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant** *Korelo A.M., Maksioutov M.A., Chekin S.Yu., Kochergina E.V., Lashkova O.E.*
	53	**Evaluation of the Radiation Risk of Death from Cardiovascular Diseases among the Liquidators Involved in the Cleaning up of the Consequences of the Chernobyl Accident – Workers in the Nuclear Industry Sector** *Tukov A.R., Shafransky I.L., Koterov A.N., Ziyatdinov M.N., Prokhorova O.N., Mikhaylenko A.M.*
	57	**The Mortality Risk from Main Pathologies Due to Passive Smoking is not Achieved by the Overwhelming Majority of Nuclear Workers in All Periods of Employment** *Koterov A.N., Ushenkova L.N., Wainson A.A., Dibirgadzhiev I.G., Kalinina M.V., Bushmanov A.Yu.*
RADIATION THERAPY	*68*	**Clinical Audits Methodology of the Radiotherapy Departments in Russian Federation Based on IAEA Audits Principles** *Chernykh M.V., Krylova T.A.*
NUCLEAR MEDICINE	*72*	**Assessment of Acute Toxicity of the ^{99m}Tc(CO)3-(HE)3-DARPinG3 in Breast Cancer Patients** *Bragina O.D., Borodina M.E., Chernov V.I., Deyev S.M., Vostrikova M.A., Romanova A.A.*
	77	**The Importance of** SPECT/CT **in Simultaneous Assessment of Calcinosis of Coronary Arteries, Perfusion and Contractile Function of the Myocardium among Men's with Coronary Heart Disease** *Tomashevsky I.O., Kornikova O.S.*
RADIATION PHYSICS, TECHNIQUE AND DOSIMETRY	*81*	**Novel Approach Using Transfer Deep Learning for Brain Tumor Prediction** *Muaayed F. Al-Rawi, Izz K. Abboud, and Nasir A. Al-Awad.*
ANNIVERSARY	*86*	**Promising aspects of biomedical science and practice - for the 100th anniversary of A.K. Guskova: parting words to doctors and scientists** *Metlyaeva N.A.*
	89	**In Memory of Radiotoxicologist Yuri Alexandrovich Klassovsky. 100th Anniversary of his Birth on 01/15/1924–04/27/1982** *Ivanov I.V., Vyalykh V.N.*

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-5-12

А.А. Расторгуева[1], Т.А. Астрелина[1], В.А. Брунчуков[1], И.В. Кобзева[1], Ю.Б. Сучкова[1], В.А. Никитина[1], С.В. Лищук[1], Е.А. Дубова[1], К.А. Павлов[1], Т.Ф. Маливанова[1], Д.Ю. Усупжанова[1], О.Г. Михадаркина[1], А.Д. Кобзев[2], В.И. Булыгина[2], А.С. Самойлов[1]

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗОВАННОЙ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ЧЕЛОВЕКА В КОМБИНАЦИИ С КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИЕЙ ПРИ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ

[1] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

[2] Первый Московский государственный медицинский университет им. М.И. Сеченова, Москва

Контактное лицо: Татьяна Алексеевна Астрелина, e-mail: t_astrelina@mail.ru

РЕФЕРАТ

Клеточная терапия является перспективным направлением в медицине, которое может существенно улучшить результаты лечения различных заболеваний, включая местные лучевые поражения (МЛП). Цель исследования – сравнение результатов применения децелюляризованной амниотической оболочки человека изолировано и совместно с лиофилизатами кондиционированных сред мезенхимальных стромальных клеток (МСК) слизистой десны человека и МСК плацентарной ткани человека и их влияния на регенерацию тканей при МЛП.

Материал и методы: В исследование включены 42 лабораторных животных (белые крысы-самцы линии Wistar), разделенные случайным образом на 6 групп: К – контрольная группа без терапии; на 21 сут после облучения группы с применением: Ам+ЛД – аппликационно лиофилизат кондиционированной среды МСК слизистой десны человека (ЛД) под децеллюляризованную амниотическую мембрану, Ам+ЛП – аппликационно лиофилизат кондиционированной среды МСК плацентарной ткани человека (ЛП) под децеллюляризованную амниотическую мембрану, Ам – аппликационно децеллюляризованную амниотическую мембрану, АмКл – аппликационно децеллюляризованную амниотическую мембрану с медицинским клеем БФ-6, Кл – аппликационно медицинский клей БФ-6. Проводили моделирование МЛП у животных на рентгеновской установке ЛНК-268 в дозе 110 Гр и наблюдали до 112-е сут после облучения, проводился мониторинг язвенной поверхности кожи и течение воспалительного процесса МЛП с расчетом площади общей измененной кожи по программному обеспечению ImageTool. Проводили планиметрический и гистологический анализ.

Результаты: При сравнении с контролем использование децеллюляризированной амниотической мембраны при МЛП на 77 и 112-е сут после облучения увеличило скорость заживления в 4,6 и 18 раз соответственно; применение децеллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатом кондиционной среды МСК плаценты увеличивало скорость заживления ран в 13,5 и 27 раз соответственно, а деллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатом МСК слизистой десны человека – к 100 % заживлению. Заживление площади язвенной поверхности МЛП в 83,5 % у животных в группе Ам продемонстрировало эффективность применения изолированной децеллюляризованной амниотической мембраны даже в отсутствие лиофилизатов МСК человека. При этом заживление площади язвенной поверхности МЛП в группе АмКл составило в 20 % случаев, когда децеллюляризованная амниотическая мембрана фиксировалась медицинским клеем БФ-6, что было менее эффективно по сравнению с другими группами.

Заключение: Предложенное комбинированное применение децеллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатами кондиционной среды МСК плаценты и слизистой ткани десны человека и изолированное применение децеллюляризированной амниотической мембраны приводило к полной эпителизации язвенной поверхности, выраженному благоприятному течению МЛП IIIb–IV степени у лабораторных животных и сокращению сроков заживления, отсутствию местных или системных осложнений, что можно рассматривать как перспективный метод консервативной терапии МЛП кожных покровов и новый терапевтический подход в лечении незаживающих и хронических ран.

Ключевые слова: *местные лучевые поражения, децеллюляризованная амниотическая мембрана человек, клеточная терапия, мезенхимальные стромальные клетки, кондиционированная среда, крысы*

Для цитирования: Расторгуева А.А., Астрелина Т.А., Брунчуков В.А., Кобзева И.В., Сучкова Ю.Б., Никитина В.А., Лищук С.В., Дубова Е.А., Павлов К.А., Маливанова Т.Ф., Усупжанова Д.Ю., Михадаркина О.Г., Кобзев А.Д., Булыгина В.И., Самойлов А.С. Оценка эффективности применения децеллюляризованной амниотической мембраны человека в комбинации с клеточной терапией при местных лучевых поражениях // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 5–12. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-5-12

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-5-12

A.A. Rastorgueva[1], T.A. Astrelina[1], V.A. Brunchukov[1], I.V. Kobzeva[1], Yu.B. Suchkova[1], V.A. Nikitina[1], S.V. Lishchuk[1], E.A. Dubova[1], K.A. Pavlov[1], T.F. Malivanova[1], D.Yu. Usupzhanova[1], O.G. Mikhadarkina[1], A.D. Kobzev[2], V.I. Bulygina[2], A.S. Samoilov[1]

Evaluation of the Effectiveness of The Use of Decellularized Human Amniotic Membrane in Combination with Cell Therapy for Local Radiation Injuries

[1] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

[2] M.I. Sechenov University, Moscow, Russia

Contact person: T.A. Astrelina, e-mail: t_astrelina@mail.ru

ABSTRACT

Cell therapy is a promising direction in medicine, which can significantly improve the results of treatment of various diseases, including local radiation injuries (LRI). The purpose of the study was to compare the results of using decellularized human amniotic membrane isolated

and together with lyophilisates of conditioned media of MSCs from the human gingival mucosa and MSCs from human placental tissue and their effect on tissue regeneration in LRI.
Material and methods: The study included 42 laboratory animals (white male rats of the Wistar line), randomly divided into 6 groups: K – control group without therapy, on the 21st day after irradiation, groups using: Am+LD – application of lyophilisate of the conditioned medium of MSCs of the human gingival mucosa (LD) under the decellularized amniotic membrane, Am+LP – application of lyophilisate of the conditioned medium of MSCs of human placental tissue (LP) under the decellularized amniotic membrane, Am – application of the decellularized amniotic membrane, AmCl – application of the decellularized amniotic membrane with medical glue BF-6, Kl – application medical glue BF-6. Modeling of LRI in animals was carried out on an LNK-268 X-ray unit at a dose of 110 Gy and observed until the 112th day after irradiation, monitoring of the ulcerative surface of the skin and the course of the inflammatory process of LRI was carried out with calculation of the area of the total changed skin in the ImageTool software. Planimetric and histological analyzes were performed.
Results: It was demonstrated that, when compared with the control, the use of decellularized amniotic membrane in LRI on days 77 and 112 after irradiation increased the healing rate by 4.6 and 18 times, respectively; decellularized amniotic membrane with lyophilisate of placental MSC conditioned medium increased the rate of wound healing by 13.5 and 27 times, respectively; and a dellularized amniotic membrane with lyophilisate of MSCs from the human gingival mucosa to 100 % healing. Healing of the ulcer surface area of the LRI in 83.5 % of animals in the Am group demonstrated the effectiveness of using isolated decellularized amniotic membrane even in the absence of human MSC lyophilisates. At the same time, healing of the ulcer surface area of the LRI in the AmCl group was 20 % of cases, where the decellularized amniotic membrane was fixed with BF-6 medical glue, which was less effective compared to other groups.
Conclusion: The proposed combined use of decellularized amniotic membrane with lyophilisates of the conditioned medium of mesenchymal stromal cells (MSCs) of the placenta and mucous tissue of the human gums and the isolated use of decellularized amniotic membrane led to complete epithelization of the ulcer surface, a pronounced favorable course of grade IIIb–IV LRI in laboratory animals and a reduction in healing time , the absence of local or systemic complications can be considered as a promising method of conservative treatment for LRI of the skin and a new therapeutic approach in the treatment of non-healing and chronic wounds.

Keywords: *local radiation injuries, human decellularized amniotic membrane, cell therapy, mesenchymal stromal cells, conditioned medium, rats*

For citation: Rastorgueva AA, Astrelina TA, Brunchukov VA, Kobzeva IV, Suchkova YuB, Nikitina VA, Lishchuk SV, Dubova EA, Pavlov KA, Malivanova TF, Usupzhanova DYu, Mikhadarkina OG, Kobzev AD, Bulygina VI, Samoilov AS. Evaluation of the Effectiveness of The Use of Decellularized Human Amniotic Membrane in Combination with Cell Therapy for Local Radiation Injuries. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):5–12. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-5-12

Введение

Клеточная терапия является перспективным направлением в медицине, которое может существенно улучшить результаты лечения различных заболеваний, включая местные лучевые поражения [1]. Одним из направлений в разработке клеточных технологий для лечения кожных ран в настоящее время является использование мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и их продуктов, в частности кондиционированной среды МСК [2–5]. Использование кондиционированной среды МСК в сочетании с амниотической мембраной может значительно повысить эффективность лечения и ускорить процесс регенерации тканей [6, 7]. Кроме того, применение клеточных технологий позволяет избежать многих побочных эффектов, связанных с использованием традиционных методов лечения [8].

Амниотическая мембрана (Ам) может служить поддерживающей матрицей, обеспечивающей клеточный каркас и необходимые условия для размещения и функционирования клеток и их микроокружения [6, 8–10].

Кондиционированная среда МСК содержит разнообразные факторы роста, цитокины и экзосомы, способствующие восстановлению, регенерации клеток и тканей, снижению воспаления и стимуляции пролиферации клеток [2–5].

Исследования применения регенеративных технологий (использование амниотической мембраны и кондиционированной среды) являются актуальными, перспективными и имеют большой потенциал для лечения местных лучевых поражений (МЛП).

Цель настоящего исследования – сравнение результатов применения децелюляризованной амниотической оболочки человека изолировано и совместно с лиофилизатами кондиционированных сред МСК слизистой десны человека и МСК плацентарной ткани человека и их влияния на регенерацию тканей при МЛП.

Материал и методы

В исследование включены 42 лабораторных животных (белые крысы-самцы линии Wistar с массой тела 210,0±30,0 г. в возрасте 8–12 нед), полученных в специализированном питомнике лабораторных животных «Пущино», имеющих соответствующее ветеринарное свидетельство и прошедших карантин. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (виварием)» и с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. Исследование одобрено на секции Ученого совета (выписка № 53 от 25.11.2020) и локальным биоэтическим комитетом ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России (Протокол № 11 от 10.11.2021).

В зависимости от проводимой терапии лабораторные животные разделяли случайным образом на 6 групп:

- 1-ая группа (*n*=7) (К) – контрольная группа (после облучения животные не получали специфического лечения).
- 2-ая группа (*n*=7) (Ам+ЛД) – после облучения на язвенную поверхность МЛП аппликационно наносили лиофилизат кондиционированной среды МСК слизистой десны человека (ЛД) под децеллюляризованную амниотическую мембрану, фиксированную узловыми швами на 21-е сут.
- 3-ая группа (*n*=7) (Ам+ЛП) – после облучения на язвенную поверхность МЛП аппликационно наносили лиофилизат кондиционированной среды МСК плацентарной ткани человека (ЛП) под децеллюляризованную амниотическую мембрану, фиксированную узловыми швами на 21-е сут.
- 4-ая группа (*n*=7) (Ам) – после облучения на язвенную поверхность МЛП аппликационно наносили децеллюляризованную амниотическую мембрану, фиксированную узловыми швами на 21-е сут.

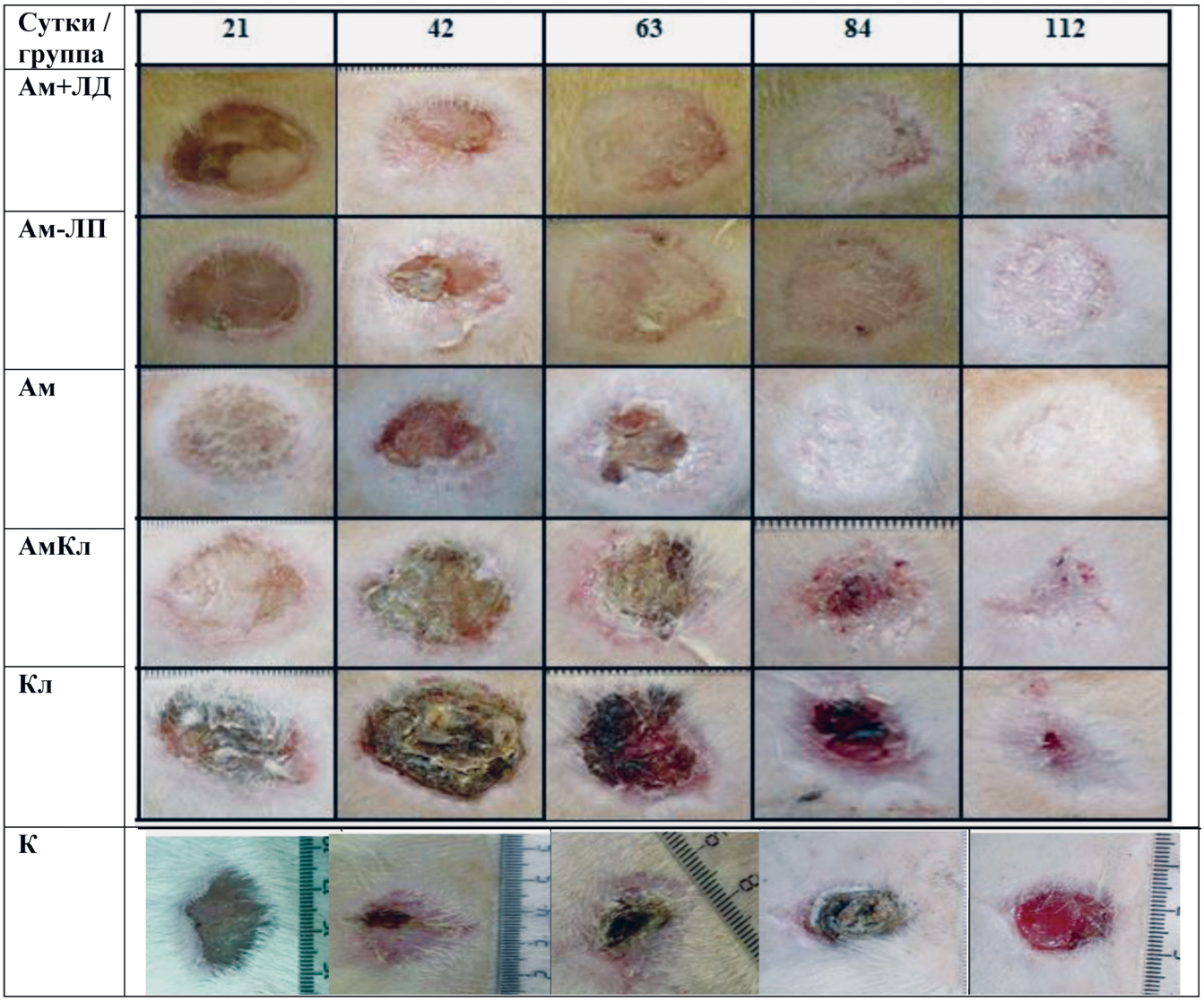


Рис. 1. Визуальная динамика заживления МЛП у крыс
Fig.1. Visual dynamics of MLP healing in rats

- 5-ая группа (*n*=7) АмКл– на язвенную поверхность МЛП аппликационно наносили децеллюляризованную амниотическую мембрану с фиксацией медицинским клеем БФ-6 (Кл) на 21-е сут.
- 6-ая группа (*n*=7) (Кл) – на язвенную поверхность МЛП аппликационно наносили медицинский клей БФ-6 на 21-е сут.

Каждое лабораторное животное наблюдали на 1, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105, 112-е сут после моделирования МЛП. При осмотре проводился мониторинг язвенной поверхности кожи и течение воспалительного процесса МЛП. Проводили измерение язвенной поверхности кожи (длина и ширина) МЛП с помощью линейки и цифрового фотоаппарата для дальнейшего расчета площади общей измененной кожи с использованием программного обеспечения ImageTool.

Вывод животных из эксперимента осуществляли на 112-е сут после облучения.

Моделирование МЛП

Моделирование МЛП тяжелой степени проводили на рентгеновской установке ЛНК-268 (РАП100-10) (ООО «Диагностика-М», Россия) с режимом радиационного воздействия в дозе 110 Гр с алюминиевым фильтром 0,1 мм, напряжением 30 кВп, током пучка 6,1 мА, мощностью дозы 21,4 Гр/мин, погрешностью отпуска ±5 %, неопределенностью измерения дозы ±6 % по предложенной раннее методике [2]. Расстояние от источника излучения до зоны облучения составляло 15 см. Данная методика приводила к короткому латентному периоду и хронической язве кожи у лабораторных животных. После облучения животных рассаживали по индивидуальным стерильным боксам с автономной системой вентиляции Smart Flow (Tecniplast Group, Италия), обеспечивая свободный доступ к воде и еде.

Получение децеллюляризированной амниотической мембраны человека

Амниотические мембраны получали от плацент здоровых рожениц в возрасте от 22 до 39 лет (средний возраст составил 29±3,7 года) при отсутствии стандартных противопоказаний к донорам с одноплодной, физиологически протекавшей беременностью, закончившейся нормальными родами после подписания добровольного информированного согласия.

После выделения амниона в стерильных условиях, осуществляли его децеллюляризацию согласно ранее

разработанной методике получения бесклеточного матрикса амниотической мембраны с сохранными структурными компонентами внеклеточного матрикса [11].

Получение лиофилизата кондиционированной среды

В исследовании использовали кондиционированную среду (КС) от неперсонифицированных образцов МСК слизистой десны человека, находящиеся на длительном криохранении в биобанке. Все МСК (на 3 пассаже) культивировались в среде без ксеногенных компонентов – xeno-free (Stem Cell, Канада) с добавлением 100 Ед/мл пенициллина и 100 Ед/мл стрептомицина; 2 мМ глютамина. МСК культивировали до 5 пассажа. Проводили тестирование полученной клеточной суспензии (оценивали количество, иммунофенотип и жизнеспособность). Забор КС МСК проводили в стерильные пробирки на 3–5-м пассаже при достижении 80–90 % конфлюентности. Для получения концентрата кондиционной среды из культуральной среды МСК использовали лабораторную систему фильтрации в тангенциальном потоке LabScale (США). Проводили лиофилизацию КС на лиофильной сушке Genesis SQ EL-85 фирмы VirTis (США). Для клинического лиофилизат кондиционной среды разводили физиологическим раствором до дозы соответствующей концентрации МСК (2 млн на 1 кг) на введение.

Планиметрический анализ

Фотографии с МЛП кожи лабораторных животных анализировали в программе ImageTool. Для расчёта площади выделенного повреждения МЛП кожи животного задавали необходимый масштаб изображения.

Гистологическое исследование

Биоптаты иссеченных образцов пораженных участков кожи (область раневого дефекта с прилежащей кожей и подлежащими мышцами) на 112-е сут после облучения фиксировали в 10 %-м нейтральном формалине. Гистологическое исследование биоптатов кожи МЛП проводили с применением окраски гематоксилин-эозином по стандартной методике на световом микроскопе при увеличениях от ×40 до ×200.

Статистический анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007, Statistica 8.0, ImageTool.

Результаты и обсуждение

Результаты планиметрического анализа

На 21-е сут у всех животных отмечали появление отслоившегося некротизированного эпидермиса (язва), покрывающего раневую поверхность кожи МЛП. В группе Ам+ЛД площадь язвенной поверхности кожи была достоверно больше по сравнению со всеми остальными группами ($p \leq 0,05$) (табл. 1).

До 42-х сут исследования во всех группах отмечалась динамика уменьшения площади язвенной поверхности кожи МЛП животных и была меньше в группе Ам+ЛД по сравнению с остальными группами ($p \leq 0,05$).

Начиная с 42-х сут исследования наблюдали тенденцию уменьшения площади язвенной поверхности кожи МЛП животных в группах Ам+ЛД, Ам+ЛП, Ам, Кл по сравнению с контрольной группой (К).

На 112-е сут полное заживление язвенной поверхности кожи МЛП отмечали в группе с применением децеллюляризированного амниона и лиофилизата кондиционированной среды МСК слизистой десны человека (Ам+ЛД) в 100 % случаев, в группе Ам – в 83,5 % случаев, в группе Ам+ЛП – в 60 %, в группе АмКл – в 20 %, а в группах К и Кл не было ни одного животного с полностью затянувшимся язвенным дефектом.

Таблица 1

Средняя площадь язвы кожи животных в каждой группе на контрольные сут), см²

The average area of an animal skin ulcer in each group on the control day.), cm²

Сут / группа	21	42	56	77	112
К	3,91±0,20	1,90±0,28	3,07±0,53	3,91±0,97	2,15±0,57
Ам	3,94±0,26*	1,46±0,24	1,15±0,34	0,85±0,39	0,12±0,08*
Кл	3,31±0,32	2,74±1,18*	3,17±1,14	1,94±0,42	0,50±0,17*
АмКл	3,19±0,16	1,99±0,21	1,68±0,44	1,86±0,42	1,67±0,80
Ам+ЛД	5,20±0,19*	1,10±0,21	0,3±0,25*	0,0±0,0	0,0±0,0*
Ам+ЛП	3,89±0,26*	1,91±0,31	0,57±0,34	0,29±0,32	0,08±0,09*

Примечание: * – $p \leq 0,05$

Результаты гистологических исследований

На 112-е сут после облучения при гистологическом исследовании отмечали уменьшение дермы, увеличение количества зачатков волосяных фолликулов и количества сосудов микроциркуляторного русла в группе Ам+ЛД по сравнению с другими группами, в которых эти изменения были не столь выражены. В контрольной группе лабораторных животных (К) отмечалась неполная регенерация с образованием рубцовой ткани. (рис. 2). Истончение дермы отмечали: у всех животных (100 %) в группе Ам+ЛД; у 20 % животных в группе Ам+ЛП; у 67 % в группе Кл, при этом у остальных животных (33 %) этой группы были выявлены признаки гиперплазии.

В группах АмКл и Кл отмечались немногочисленные внутриэпидермальные лимфоциты в 80 и 67 % случаев соответственно.

Во всех группах (К, Ам+ЛД, Ам+ЛП, Ам, АмКл, Кл) наблюдалась умеренно выраженная лимфоцитарная инфильтрация и фиброз дермы, кроме того, в группах АмКл и Кл выявлено большое количество нейтрофилов и замещение дермы грануляционной тканью.

Больше всего волосяных фолликулов (40 %) было обнаружено в группе Ам+ЛД. В остальных группах выявлены единичные волосяные фолликулы: в группе Ам+ЛП – 20 %, в группах Ам и АмКл – 16,5 % случаев.

При гистологическом исследовании отмечали пролиферацию сосудов микроциркуляторного русла в небольшом количестве в группах Ам (16,5 %) и АмКл (20 %).

Известно, что МСК и их кондиционированные среды являются потенциальными источниками паракринных факторов (эпидермальный рост. фактор, фактор роста кератиноцитов, инсулиноподобный фактор роста 1, VEGF-α, эритропоэтин, фактор 1) и усиливать ангиогенез (VEGF, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, фактор роста гепатоцитов, хемотаксический фактор моноцитов. белок-1, интерлейкин 6 и трансформирующий фактор роста (TGF) β1) при лечении хронических ран ускоряя процесс [12–15]. Децеллюляризованная амниотическая мембрана человека является каркасом клеточной адгезии, миграции и пролиферации, обладает иммуномодулирующими и иммунными, антимикробными, противорубцовыми и противовоспалительными свойствами, усиливает фиброгенез и ангиогенез и увеличивает отложение внеклеточного матрикса [16-17]. Амниотическая мембрана человека содержит большое количество цитокинов

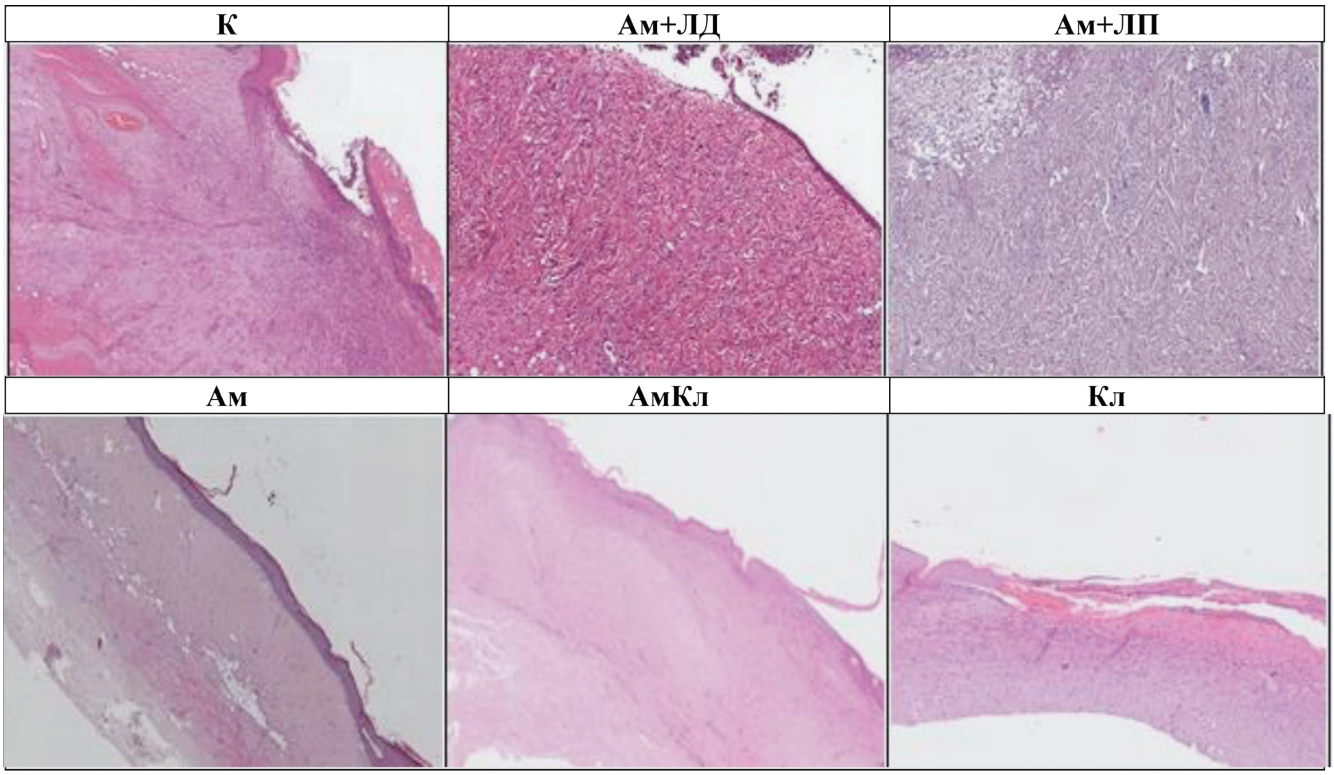


Рис. 2. Морфологические изменения в ране на 112-е сутки после нанесения МЛП. Увеличение ×40, окраска гематоксилин-эозин
Fig. 2. Morphological changes in the wound on the 112th day after application of MLP. Magnification ×40, hematoxylin-eosin staining

и факторов роста, включая эпидермальный фактор роста, основной фактор роста фибробластов, фактор роста кератиноцитов, VEGF, TGF-α, TGF-β, фактор роста тромбоцитов, фактор роста гепатоцитов и нервов. фактор роста [18]. В настоящем исследовании показано, что применение децеллюляризованной амниотической мембраны человека с лиофилизатами кондиционированной среды МСК эффективно при заживлении МЛП и может быть использовано для лечения незаживающих и хронических ранах.

В ранее проведенном единственном исследовании [12] показано, что использование децеллюляризированной амниотической мембраны при МЛП на 80-е сут после облучения увеличило скорость заживления в 2,5 раза; использование децеллюляризированной амниотической мембраны с МСК костного мозга или лиофилизированными МСК костного мозга увеличивало скорость заживления ран в 4 раза.

В настоящем исследовании показано, что при сравнении с контролем использование децеллюляризированной амниотической мембраны при МЛП на 77 и 112-е сут после облучения увеличило скорость заживления в 4,6 и 18 раз соответственно; применение децеллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатом кондиционной среды МСК плаценты увеличивало скорость заживления ран в 13,5 и 27 раз соответственно, а деллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатом МСК слизистой десны человека приводило к 100 %-му заживлению (рис. 3). Полученные результаты демонстрируют возможное значительное положительное действие паракринных факторов децеллюляризированной амниотической мембраны изолированно и усиление действия при комбинации с кондиционными средами МСК на заживление и эффективность консервативной терапии МЛП.

Заживление площади язвенной поверхности МЛП в 83,5 % у животных в группе Ам продемонстрировало эффективность применения изолированной децеллюляризованной амниотической мембраны даже в отсутствие лиофилизатов МСК человека. При этом заживление площади язвенной поверхности МЛП в группе АмКл составило в 20 % случаев, где децеллюляризованная амниотическая мембрана фиксировалась медицинским клеем БФ-6, что было менее эффективно по сравнению с другими группами.

Как показано в нашем исследовании, при использовании децеллюляризированной амниотической мембраны человека изолированно и в комбинации с лиофилизатами кондиционной среды МСК воспалительная реакция была незначительная и экссудация отсутствовала, что, очевидно, связано с ее выраженными противовоспалительными и барьерными свойствами.

Следует отметить, что полное заживление язвенной поверхности (100 %) МЛП на 112-е сут отмечали у животных в группе Ам+ЛД, в группе Ам+ЛП – у 60 %, что свидетельствовало о полноценной направленной миграции продуктов жизнедеятельности МСК слизистой десны человека в область повреждения, вероятно под действием провоспалительных цитокинов, которые активно участвуют в заживлении.

Результаты гистологического исследования группы Ам+ЛД свидетельствуют о клеточной регенерации, активной пролиферации сосудов микроциркуляторного русла, а также об увеличении количества волосяных фолликулов в МЛП у лабораторных животных по сравнению с другими группами.

В контрольной группе животных, не получавших терапию и в группе с использованием клея БФ отмечали неполную репаративную регенерацию и образование толстой, грубой рубцовой ткани.

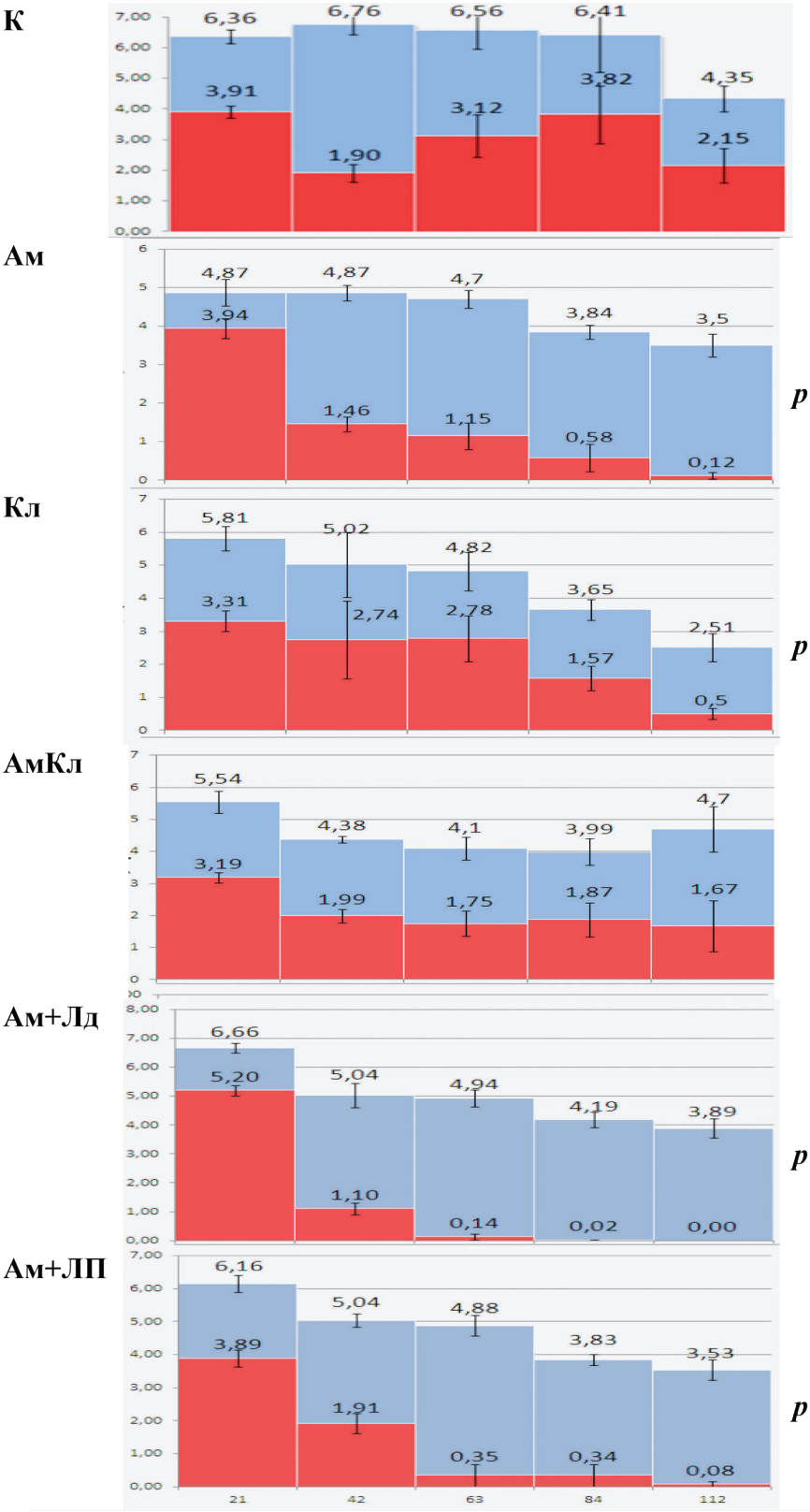


Рис. 3. Динамика развития МЛП кожи у животных с 21 до 112 сут (на оси абсцисс X – сутки эксперимента, на оси ординат У – площадь поражения, см^2. Синим цветом обозначена площадь общей измененной поверхности, красным – площадь язвенной поверхности)

Fig. 3. Dynamics of development of skin MLP in animals from 21 to 112 days (on the x-axis X is the day of the experiment, on the y-axis Y is the affected area, cm^2. Blue indicates the area of the total changed surface, red indicates the area of the ulcerative surface)

Заключение

Предложенное комбинированное применение децеллюляризированной амниотической мембраны с лиофилизатами кондиционной среды мезенхимальных стромальных клеток (МСК) плаценты и слизистой ткани десны человека и изолированное применение децеллюляризированной амниотической мембраны приводило к полной эпителизации язвенной поверхности, выраженному благоприятному течению МЛП тяжелой степени у лабораторных животных и сокращению сроков заживления, отсутствию местных или системных осложнений, что можно рассматривать как перспективный метод консервативной терапии МЛП кожных покровов и новый терапевтический подход в лечении незаживающих и хронических ран.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Диагностика, лечение местных лучевых поражений и их отдаленных последствий: Федеральные клинические рекомендации ФКР ФМБА России 2.6.7. М., 2015
2. Брунчуков В.А., Астрелина Т.А., Никитина В.А. и др. Применение мезенхимальных стромальных клеток плаценты при местных лучевых поражениях кожи // Гены и клетки. 2019. Т. 14. С.41.
3. Расторгуева А.А., Астрелина Т.А., Брунчуков В.А. и др. Эффективность применения МСК крыс и человека и их кондиционированных сред при местных лучевых поражениях на модели лабораторных животных // Гены и клетки. 2022. № 3, Т. 17. С.194.
4. Brunchukov V.A., Astrelina T.A., Nikitina V.A., et al. Experimental Treatment of Radiation Skin Lesions with Mesenchymal Stem Cells and Their Conditioned Media // Medical Radiology and Radiation Safety. 2020. V.65. No.1. P.5-12. doi:10.12737/1024-6177-2020-65-1-5-12.
5. Rastorgueva AA, Astrelina TA, Brunchukov VA, et al. Application of Cellular Technologies in the Treatment of Local Radiation Injuries // Abstract Book IRPA15. 15th International Congress of the International Radiation Protection Association. 18-22 January, 2021, Seoul, Korea. OS6.3 (T6.4-0084) P.328-333.
6. Кобзева И.В., Астрелина Т.А., Брунчуков В.А. и др. Трансплантация децеллюляризованной амниотической мембраны человека при местных лучевых поражениях // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2022. Т.67, №6. С.5-11.
7. Chen P, Lu M, Wang T, et al. Human Amniotic Membrane as a Delivery Vehicle for Stem Cell-Based Therapies // Life Sci. 2021. V.1. No.272. P.119157. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119157. Epub 2021 Jan 29. PMID: 33524418.
8. Leal-Marin S, Kern T, Hofmann N, et al. Human Amniotic Membrane: a Review on Tissue Engineering, Application, and Storage // J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2021. V.109. No.8. P.1198-1215. doi: 10.1002/jbm.b.34782. Epub 2020 Dec 14. PMID: 33319484.
9. Пантелеев А.А., Сытина Е.В., Чабан Е.А., Пальцев М.А. Использование амниотической оболочки плода человека в биоинженерии кожных покровов // Молекулярная медицина. 2016. Т.14, №5. 49-54.
10. Jahanafrooz Z, Bakhshandeh B, Behnam Abdollahi S, et al. Human Amniotic Membrane as a Multifunctional Biomaterial: Recent Advances and Applications // J Biomater Appl. 2023. T.37. №8. С.1341-1354. doi: 10.1177/08853282221137609. Epub 2022 Nov 4. PMID: 36331116.
11. Самойлов А.С., Астрелина Т.А., Брумберг В.А., Брунчуков В.А., Кобзева И.В., Маливанова Т.Ф., Осташкин А.С. Способ получения бесклеточного матрикса амниотической мембраны для последующей реконструкции дефектов тканей: Патент на изобретение №2751353RU от 13.07.2021. М., 2021.
12. Kakabadze Z., Chakhunashvili D., Gogilashvili K., Ediberidze K., Chakhunashvili K., Kalandarishvili K., Karalashvili L. Bone Marrow Stem Cell and Decellularized Human Amniotic Membrane for the Treatment of Nonhealing Wound after Radiation Therapy // Exp Clin Transplant. 2019. V.17. No.1. P.92-98. doi: 10.6002/ect.MESOT2018.O29.
13. Asanuma H, Meldrum DR, Meldrum KK. Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cells to Repair Kidney Injury // J Urol. 2010. V.184. No.1. P.26-33.
14. Walter MN, Wright KT, Fuller HR, MacNeil S, Johnson WE. Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Accelerates Skin Wound Healing: an in Vitro Study of Fibroblast and Keratinocyte Scratch Assays // Exp Cell Res. 2010. V.316. No.7. P.1271-1281.
15. Kwon HM, Hur SM, Park KY, et al. Multiple Paracrine Factors Secreted by Mesenchymal Stem Cells Contribute to Angiogenesis // Vascul Pharmacol. 2014. V.63. No.1. P.19-28.
16. Koob TJ, Lim JJ, Massee M, Zabek N, Denoziere G. Properties of Dehydrated Human Amnion/Chorion Composite Grafts: Implications for Wound Repair and Soft Tissue Regeneration // J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2014. V.102. No.6. P.1353-1362.
17. Guo Q, Lu X, Xue Y, et al. A new Candidate Substrate for Cell-Matrix Adhesion Study: the Acellular Human Amniotic Matrix // J Biomed Biotechnol. 2012. V.2012. P.306083.
18. Mrugala A, Sui A, Plummer M, et al. Amniotic Membrane is a Potential Regenerative Option for Chronic Non-Healing Wounds: a Report of Five Cases Receiving Dehydrated Human Amnion/Chorion Membrane Allograft // Int Wound J. 2016. V.13. No.4. P.485-492.

REFERENCES

1. Diagnosis, Treatment of Local Radiation Injuries and Their Long-Term Consequences. Federal Clinical Guidelines. FKR FMBA of Russia 2.6.7. Moscow, 2015.
2. Brunchukov V.A., Astrelina T.A., Nikitina V.A., et al. The Use of Placental Mesenchymal Stromal Cells for Local Radiation Lesions of the Skin. Genes and Cells. 2019;14:41 (In Russ.).
3. Rastorgueva A.A., Astrelina T.A., Brunchukov V.A., et al. The Effectiveness of the Use of Rat and Human MSCs and Their Conditioned Media for Local Radiation Injuries in a Laboratory Animal Model. Genes and cells. 2022;3;17:194 (In Russ.).
4. Brunchukov V., Astrelina T., Nikitina V., et al. Experimental Treatment of Radiation Skin Lesions with Mesenchymal Stem Cells and Their Conditioned Media. Medical Radiology and Radiation Safety. 2020;65;1:5-12. doi:10.12737/1024-6177-2020-65-1-5-12.
5. Rastorgueva A.A., Astrelina T.A., Brunchukov V.A., et al. Application of Cellular Technologies in the Treatment of Local Radiation Injuries. Abstract book IRPA15. 15 th International Congress of the International Radiation Protection Association. January 18-22, 2021 in Seoul, Korea. Korea, P. 328-333.
6. Kobzeva I.V., Astrelina T.A., Brunchukov V.A., et al. Transplantation of Decellularized Human Amniotic Membrane for Local Radiation Injuries. Medical Radiology and Radiation Safety. 2022;67;6:5-11 (In Russ.).
7. Chen P., Lu M., Wang T., et al. Human Amniotic Membrane as a Delivery Vehicle for Stem Cell-Based Therapies. Life Sci. 2021;1;272:119157. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119157.
8. Leal-Marin S., Kern T., Hofmann N., et al. Human Amniotic Membrane: A Review on Tissue Engineering, Application, and Storage. J. Biomed Mater Res. B. Appl. Biomater. 2021;109;8:1198-1215. doi: 10.1002/jbm.b.34782.
9. Panteleyev A.A., Sytina E.V., Chaban E.A., Paltsev M.A. Use of Human Fetal Amniotic Membrane in Skin Bioengineering. Molecular Medicine. 2016;14;5:49-54 (In Russ.).
10. Jahanafrooz Z., Bakhshandeh B., Behnam Abdollahi S., et al. Human Amniotic Membrane as a Multifunctional Biomaterial: Recent Advances and Applications // J. Biomater Appl. 2023. V.37. No. 8. P. 1341-1354. doi: 10.1177/08853282221137609.
11. Samoilov A.S., Astrelina T.A., Brumberg V.A., Brunchukov V.A., Kobzeva I.V., Malivanova T.F., Ostashkin A.S. A Method

for Obtaining an Acellular Matrix of the Amniotic Membrane for Subsequent Reconstruction of Tissue Defects. Patent for Invention No. 2751353RU dated 07/13/2021] (In Russ.).
12. Kakabadze Z., Chakhunashvili D., Gogilashvili K., Ediberidze K., Chakhunashvili K., Kalandarishvili K., Karalashvili L. Bone Marrow Stem Cell and Decellularized Human Amniotic Membrane for the Treatment of Nonhealing Wound after Radiation Therapy. Exp. Clin. Transplant. 2019;17;1:92-98. doi: 10.6002/ect.MESOT2018.O29.
13. Asanuma H., Meldrum D.R., Meldrum K.K. Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cells to Repair Kidney Injury. J. Urol. 2010;184;1:26-33.
14. Walter M.N., Wright K.T., Fuller H.R., MacNeil S., Johnson W.E. Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Accelerates Skin Wound Healing: an in Vitro Study of Fibroblast and Keratinocyte Scratch Assays. Exp. Cell. Res. 2010;316;7:1271-1281.
15. Kwon H.M., Hur S.M., Park K.Y., et al. Multiple Paracrine Factors Secreted by Mesenchymal Stem Cells Contribute to Angiogenesis. Vascul. Pharmacol. 2014;63;1:19-28.
16. Koob T.J., Lim J.J., Massee M., Zabek N., Denoziere G. Properties of Dehydrated Human Amnion/Chorion Composite Grafts: Implications for Wound Repair and Soft Tissue Regeneration. J. Biomed Mater Res. B Appl. Biomater. 2014;102;6:1353-1362.
17. Guo Q., Lu X., Xue Y., et al. A New Candidate Substrate for Cell-Matrix Adhesion Study: the Acellular Human Amniotic Matrix. J. Biomed Biotechnol. 2012;2012:306083.
18. Mrugala A., Sui A., Plummer M., et al. Amniotic Membrane Is a Potential Regenerative Option for Chronic Non-Healing Wounds: a Report of Five Cases Receiving Dehydrated Human Amnion/Chorion Membrane Allograft. Int. Wound J. 2016;13;4:485-492.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2016–2020 гг. и на период до 2035 г.».
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study was carried out with financial support from the Federal Target Program “Ensuring Nuclear and Radiation Safety for 2016–2020 and for the period until 2035”.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18

А.А. Осипов[1], А.К. Чигасова[1, 2, 3], Е.И. Яшкина[1, 2], М.А. Игнатов[1, 2], Н.Ю. Воробьева[1, 2], А.Н. Осипов[1, 2]

СВЯЗЬ МЕЖДУ КЛЕТОЧНЫМ СТАРЕНИЕМ И ИЗМЕНЕНИЯМИ КОЛИЧЕСТВА И РАЗМЕРОВ ФОКУСОВ ФОСФОРИЛИРОВАННОГО ГИСТОНА H2AX В ОБЛУЧЕННЫХ ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА

[1] Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва
[2] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва
[3] Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва

Контактное лицо: Наталья Юрьевна Воробьева, e-mail: nuv.rad@mail.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Анализ связи между клеточным старением и изменениями количества и размеров фокусов фосфорилированного гистона H2AX (*γ*H2AX) в фибробластах человека и их потомках (до 15 пассажей) после воздействия рентгеновского излучения в малой и больших дозах.
Материал и методы: Исследования выполнены на культуре фибробластов кожи человека. Клетки облучали в фазе экспоненциального роста на рентгеновской установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 40 мГр/мин (доза 100 мГр) или 850 мГр/мин (дозы 2000 и 5000 мГр) и температуре 4 ˚С. Для оценки количества и размеров фокусов *γ*H2AX и доли пролиферирующих клеток использовали иммуноцитохимическое окрашивание с использованием антител к *γ*H2AX и Ki67 (белок-маркер клеточной пролиферации) соответственно. Для оценки клеточного старения проводили анализ доли клеток, позитивных по ассоциированной со старением *β*-галактозидазе (СА-*β*-гал(+)). Статистический и математический анализ полученных данных проводился с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0 (StatSoft).
Результаты: В ходе проведенных исследований было показано, что облучение культивируемых фибробластов человека в малой дозе (100 мГр) не приводит к статистически значимым изменениям количества и размера фокусов *γ*H2AX, а также доли непролиферирующих и стареющих клеток в потомках облученных клеток вплоть до 15-го пассажа после облучения. Обнаружен феномен ассоциированного со старением сохранения повышенного количества и размеров фокусов *γ*H2AX в пассажах клеток, облученных в дозе 5000 мГр. Математический анализ взаимосвязи между изменениями доли СА-*β*-гал(+) клеток, количеством и размером фокусов *γ*H2AX в популяциях облученных клеток свидетельствует о том, что радиационно-индуцированное клеточное старение в большей степени ассоциировано с размером, а не с количеством фокусов *γ*H2AX.

Ключевые слова: *фибробласты, рентгеновское излучение, γH2AX, сенесценция, пролиферация, отдаленные эффекты облучения*

Для цитирования: Осипов А.А., Чигасова А.К., Яшкина Е.И., Игнатов М.А., Воробьева Н.Ю., Осипов А.Н. Связь между клеточным старением и изменениями количества и размеров фокусов фосфорилированного гистона H2AX в облученных фибробластах человека // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 13–18. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18

A.A. Osipov[1], A.K. Chigasova[1, 2, 3], E.I. Yashkina[1, 2], M.A. Ignatov[1, 2], N.Yu. Vorobyeva[1, 2], A.N. Osipov[1, 2]

Link Between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2AX Foci in Irradiated Human Fibroblasts

[1] N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Moscow, Russia
[2] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia
[3] Institute of Biochemical Physics, Moscow, Russia

Contact person: N.Yu. Vorobyeva, e-mail: nuv.rad@mail.ru

ABSTRACT

Purpose: To analyze the relationship between cellular aging and changes in the number and size of phosphorylated histone H2AX (*γ*H2AX) foci in human fibroblasts and their descendants (up to 15 passages) after exposure to low and high doses of X-ray radiation.
Material and methods: The work was performed on a culture of human skin fibroblasts. Cells were irradiated in the exponential growth phase on an X-ray biological unit RUB RUST-M1 (Russia), equipped with two X-ray emitters, at a dose rate of 40 mGy/min (dose 100 mGy) or 850 mGy/min (doses 2000 and 5000 mGy) and temperature 4˚C. Immunocytochemical staining was used to assess the number and size of *γ*H2AX foci and the proportion of proliferating cells using antibodies to *γ*H2AX and Ki67 (a cell proliferation marker protein), respectively. To assess cellular senescence, the proportion of cells positive for senescence-associated *β*-galactosidase (CA-*β*-gal(+)) was analyzed. Statistical and mathematical analysis of the obtained data was carried out using the statistical software package Statistica 8.0 (StatSoft).
Results: The studies showed that irradiation of cultured human fibroblasts at a low dose (100 mGy) does not lead to statistically significant changes in the number and size of *γ*H2AX foci, as well as the proportion of non-proliferating and senescent cells in the progenies of irradiated cells up to the 15th passage after irradiation. The phenomenon of aging-associated persistence of an increased number and size of *γ*H2AX foci in passages of cells irradiated at a dose of 5000 mGy was discovered. Mathematical analysis of the relationship between

changes in the proportion of CA-*β*-gal(+) cells, the number and size of *γ*H2AX foci in populations of irradiated cells indicates that radiation-induced cellular aging is more associated with the size, rather than the number, of *γ*H2AX foci.

Keywords*: fibroblasts, X-ray radiation, γH2AX, senescence, proliferation, late radiation-induced effects*

For citation: Osipov AA, Chigasova AK, Yashkina EI, Ignatov MA, Vorobyeva NYu, Osipov AN. Link Between Cellular Senescence and Changes in The Number and Size of Phosphorylated Histone H2AX Foci in Irradiated Human Fibroblasts. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):13–18. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-13-18

Введение

Клеточная ДНК постоянно подвергается воздействию различных экзогенных и эндогенных генотоксических агентов. Для поддержания стабильности генома в клетках существует целый набор различных механизмов, объединяемых одним общим термином «отклик на повреждение ДНК» (DNA damage response – DDR). В зависимости от сложности и локализации повреждения ДНК, а также типа клетки, в ней запускаются процессы репарации ДНК, временной остановки клеточного цикла, гибели или стресс-индуцированного старения (сенесценции). Запуск «отклика на повреждение ДНК» требует ремоделирования структуры хроматина в регионах, прилегающих к повреждению. Хроматин существенно перестраивается за счет участия ферментов, модифицирующих гистоны, шаперонов гистонов и ремоделеров хроматина [1]. Такое локальное ремоделирование хроматина не только обеспечивает доступ и привлечение факторов репарации, но и существенно влияет на выбор путей репарации ДНК и дальнейшую судьбу клетки.

Наиболее изученной посттрансляционной модификацией гистонов является фосфорилирование корового гистона H2AX по серину-139 с образованием гистона *γ*H2AX, осуществляемое киназами ATM (ataxia telangiectasia mutated), ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related) и DNA-PK (DNA-dependent protein kinase) относящихся к семейству фосфоинозитид-3-киназ [2]. *γ*H2AX участвует не только в ремоделировании хроматина, но и амплификации «отклика на повреждение ДНК», связываясь с белком MDC1 (mediator of damage-checkpoint 1), что в конечном счете ведет к активации ATM и образованию новых молекул *γ*H2AX [3]. В результате происходит образование нескольких тысяч копий *γ*H2AX формирующих динамические микростуктуры, носящие в литературе название фокусов [4]. Фокусы *γ*H2AX часто используют в радиобиологии в качестве суррогатного маркера двунитевых разрывов (ДР) ДНК. При этом часто забывают о том, что фосфорилирование H2AX может осуществляться киназой ATR в ответ на коллапс репликативных вилок или появление фрагментов однонитевой ДНК во время эксцизионной репарации нуклеотидов [5]. Кроме того, важно помнить о том, что анализ фокусов *γ*H2AX позволяет анализировать не сами повреждения ДНК, а локальное ремоделирование структуры хроматина в ответ на эти повреждения [6].

В последнее время фокусы *γ*H2AX используются как маркер различных патологических состояний клетки, включая онкотрансформацию и старение [7, 8]. Однако, несмотря на большое количество радиобиологических работ по изучению ранних эффектов действия ионизирующего излучения (ИИ) с помощью анализа фокусов *γ*H2AX, роль *γ*H2AX в формировании отдаленных эффектов облучения изучена недостаточно. Еще меньше работ, посвященных изучению в облученных клетках не только количества фокусов *γ*H2AX, но и их качественных характеристик, включая размер и 3D структуру.

Целью настоящей работы был анализ связи между клеточным старением и изменениями количества и размеров фокусов фосфорилированного гистона H2AX в фибробластах человека и их потомках (до 15 пассажей) после воздействия рентгеновского излучения в малой и больших дозах.

Выбор фибробластов в качестве объекта исследования был обусловлен тем, что для этих клеток характерно именно стресс-индуцированное старение, а не гибель. Интересно, что репликативно стареющие фибробласты устойчивы к апоптотической гибели [9].

Материал и методы

Культура клеток и условия культивирования

Исследования выполнены на культуре фибробластов кожи человека (Cell Applications, США, кат. № 106K-05a). Клетки культивировали в среде DMEM/F12 (Thermo Fisher Scientific, США), содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (FBS, Thermo Fisher Scientific, США) и антибиотики пенициллин-стрептомицин (ООО НПП «ПанЭко», Россия) в стандартных условиях CO_2-инкубатора (37 °C, 5 % CO_2) со сменой среды один раз в три дня. При достижении 75-80 % монослоя клеточную культуру снимали с пластика ферментативным путем.

Облучение

Клетки облучали в фазе экспоненциального роста (плотность клеточной популяции ~60–70 %). Облучение клеток проводили на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 (Россия), оснащенной двумя рентгеновскими излучателями, при мощности дозы 40 мГр/мин (доза 100 мГр, напряжение 100 кВ, анодный ток 0,8 мА, фильтр 1,5 мм Al) или 850 мГр/мин (дозы 2000 и 5000 мГр, напряжение 200 кВ, анодный ток 5,0 мА, фильтр 1.5 мм Al) и температуре 4 ˚C (для охлаждения использовались термогранулы LAB ARMOR BEADS). Погрешность отпускаемой дозы не превышала 15 %.

Иммуноцитохимический анализ фокусов γH2AX и Ki-67 негативных клеток

Клетки фиксировали параформальдегидом (4 % в фосфатно-солевом буфере, pH 7.4) в течение 15 мин при комнатной температуре, затем дважды промывали фосфатно-солевым буфером (pH 7.4) и пермеабилизировали 0,3 % Тритон-X100 в фосфатно-солевом буфере (pH 7.4), содержащем 2 % бычьего сывороточного альбумина для блокирования неспецифического связывания. При проведении иммуноцитохимического окрашивания слайды инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре с первичными антителами к белкам γH2AX (разведение 1:500, клон S139 [EP854(2) Y], Abcam, UK), и Ki-67 (разведение 1:200, клон Ki–S5, Millipore, USA) в фосфатно-солевом буфере (pH 7,4), содержащем 1 % бычьего сывороточного альбумина. Затем промывали фосфатно-солевым буфером (pH 7,4) и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч с вторичными антителами, IgG (H+L), конъюгированными с флуорохромами (антитела козы к белкам мыши, конъюгированные с Alexa Fluor 488 (Abcam, Великобритания), в разведении 1:1200 и антитела козы к белкам кролика, конъюгированные с Alexa

Fluor 555 (Abcam, Великобритания) в разведении 1:1200 в фосфатно-солевом буфере (pH 7,4), содержащем 1 % бычьего сывороточного альбумина. Для окраски ДНК и предотвращения фотовыцветания использовали содержащую DAPI заключающую среду ProLong Gold (Thermo Fisher Scientific, США). Визуализацию, документирование и обработку иммунноцитохимических микроизображений осуществляли на люминесцентном микроскопе Nikon Eclipse Ni-U (Nikon, Япония), оснащенном видеокамерой высокого разрешения ProgRes MFcool (Jenoptik AG, Германия) с использованием наборов светофильтров UV-2E/C (возбуждение 340–380 нм и эмиссия 435–485 нм) B-2E/C (возбуждение 465–495 нм и 515–555 нм эмиссия) и Y-2E/C (возбуждение 540–580 нм и эмиссия 600–660 нм). Анализировали не менее 200 клеток на точку. Для подсчета количества и площади фокусов γH2AX использовали программу DARFI (http://github.com/varnivey/darfi).

Анализ β-галактозидаза позитивных клеток

Для оценки доли β-галактозидаза позитивных клеток использовали коммерческий набор Cellular Senescence Assay (EMD Millipore, USA, Catalog Number: KAA002). Клетки окрашивали согласно протоколу производителя с минорной модификацией, заключающейся в дополнительном окрашивании клеточных ядер флуоресцентным красителем ДНК – Hoechst 33342 (Molecular Probes, USA) в концентрации 1 мкг/мл на стадии заключительной промывки окрашенных клеток фосфатно-солевым буфером (pH 7,4). Данная модификация позволила существенно улучшить качество подсчета *β*-галактозидаза негативных клеток. Визуализацию и документирование микроизображений при комбинированном проходящем и люминесцентном (набор светофильтров CKX-U: возбуждение 340–380 нм и эмиссия 435-485 нм) освещении на инвертированном люминесцентном микроскопе Olympus CKX 41 SF (Olympus, Japan), оснащённом камерой Infinity 3–1 (Lumenera Copr., Canada). Объектив 20X. Анализировали не менее 200 клеток на точку.

Статистический и математический анализ

Статистический и математический анализ полученных данных проводился с использованием пакета статистических программ Statistica 8.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий выборок использовали t-критерий Стьюдента. Результаты исследований представлены как среднее арифметическое результатов от трех до пяти независимых экспериментов ± стандартная погрешность среднего (*M±SEM*).

Результаты и обсуждение

Результаты исследования изменения количества фокусов γH2AX в облученных фибробластах человека представлены на рис. 1. Было показано, что максимальное количество фокусов γH2AX зарегистрировано через 0,5 ч после облучения. Обращает на себя внимание тот факт, что количественный выход фокусов на единицу дозы снижался с увеличением дозы излучения. Так, после облучения в дозах 100, 2000 и 5000 мГр в пересчете на дозу излучения в 1 Гр он составлял 65, 22 и 11 фокусов/клетка соответственно.

Подобные результаты были получены на облученных рентгеновским излучением эпителиальных клетках человека линии MCF10A [10]. Столь существенную разницу в количественном выходе фокусов можно, с одной стороны, объяснить различиями в кинетике репарации ДНК. Ранее нами было показано, что с увеличением дозы излучения вклад быстрого механизма негомологичного соединения концов в репарацию ДР ДНК увеличивается [11]. С другой стороны, самым простым механистическим объяснением может служить пространственное наложение фокусов в 2D-микроскопии при увеличении их количества в объеме клеточного ядра. Это приводит к недооценке количества фокусов при их подсчете.

Через 4 ч после облучения наблюдается снижение количества фокусов ~ в 1,6 (дозы 100 и 5000 мГр) и 2.1 (доза 2000 мГр) раза от их количества через 0,5 ч после облучения. При увеличении пострадиационного периода до 24 ч статистически значимое повышенное количество фокусов отмечается только после облучения в дозах 2000 и 5000 мГр (соответственно ~ 10 и 22 % от количества через 0,5 ч после облучения). С увеличением времени после облучения до 48 и 72 ч количество фокусов γH2AX продолжало снижаться и статистически значимое повышенное количество фокусов γH2AX отмечалось только в клетках, облученных в дозе 5000 мГр (48 ч ~ 12 % и 72 ч ~ 9 % от количества через 0,5 ч после облучения). Через 5 пассажей после облучения статистически значимое повышенное количество фокусов γH2AX отмечалось также только после облучения в дозе 5000 мГр (рис. 1). Интересно отметить, что в потомках клеток, облученных в дозе 5000 мГр регистрировалось практически столько же фокусов, что и через 72 ч после облучения. Ранее было показано, что после облучения в больших дозах фокусы γH2AX способны передаваться следующей клеточной генерации (проходить через митоз) и служить своеобразным индикатором накопления генетических нарушений [12].

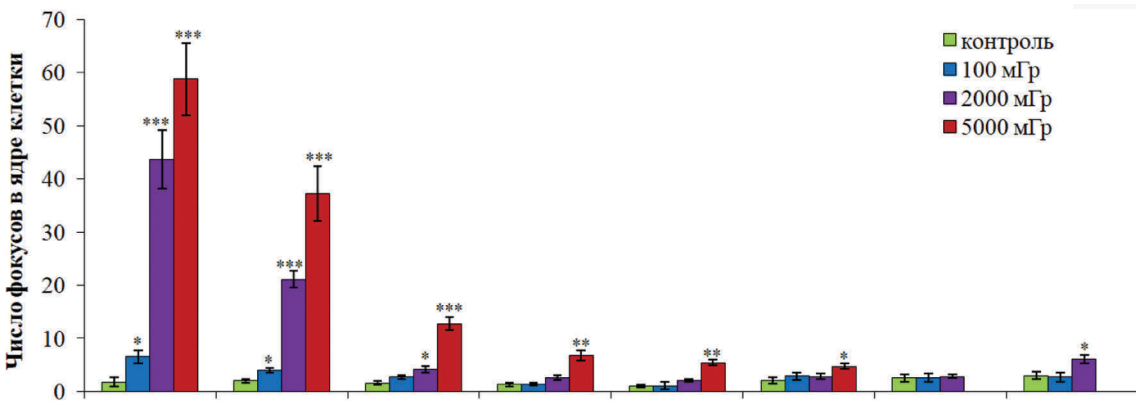


Рис. 1. Изменения количества фокусов γH2AX в популяциях фибробластов после воздействия рентгеновского излучения в разных дозах. Результаты представлены как *M±SEM*. **Прмечание:** * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – значимость различий от контрольных значений

Fig.1. Changes in the number of γH2AX foci in fibroblast populations after X-ray exposure at different doses. Results are presented as *M±SEM*. **Note:** * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ – significance of differences from control values

Нам не удалось провести культивирование клеток, облученных в дозе 5000 мГр до 10 пассажа вследствие их низкой пролиферативный активности. Поэтому на 10 и 15-ом клеточных пассажах исследовались только клетки, облученные в дозах 100 и 2000 мГр. На 10-ом пассаже в потомках облученных клеток не было отмечено статистически значимого повышенного количества фокусов (рис. 1). Однако в 15-ом клеточном пассаже после облучения в дозе 2000 мГр было зарегистрировано статистически значимое повышенное количество фокусов γH2AX. Можно предположить, что их увеличение вызвано радиационно-индуцированным старением и/или геномной нестабильностью.

На рис. 2 представлены результаты пострадиационных изменений размеров фокусов γH2AX. В качестве критерия была выбрана площадь фокусов в мкм^2. Было показано, что через 0,5 ч после облучения в больших дозах средняя площадь фокусов снижается с 1,1 до 0,7 мкм. То есть в этот временной период отмечается много небольших фокусов. С увеличением времени после облучения и дозы излучения растет и средняя площадь фокусов. Через 72 ч после облучения в дозах 2000 и 5000 мГр средняя площадь фокусов превышала контрольное значение в 1,3 и 1,5 раза, соответственно. Полученные данные хорошо объясняются в рамках представлений о наличии простых и сложных ДР ДНК. Репарация простых, т.е. одиночных, ДР происходит очень быстро (полупериод около 15 мин), в то время как репарация сложных ДР, т.е. осложненных другими повреждениями, осуществляется медленно (полупериод около 10–15 ч) [13]. С увеличением дозы облучения увеличивается в вероятность образования сложных повреждений ДНК, репарация которых, помимо большого времени, требует создания больших центров репарации ДНК и существенного локального ремоделирования хроматина.

Необходимо понимать, что нами анализировалась площадь фокуса, тогда как это объемная структура. Увеличение площади фокуса в 1,5 раза означает увеличение объема ~ в 3,4 раза. Обращает на себя внимание, что на 5-ом клеточном пассаже после облучения в дозе 5000 мГр средняя площадь фокусов остается такой же, что и через 72 ч после облучения (рис. 2). На 15 пассаже после облучения в дозе 2000 мГр отмечалось статистически значимое увеличение средней площади фокусов в 1,2 раза по сравнению с контролем. После облучения в дозе 100 мГр средняя площадь фокусов статистически значимо не менялась в течение 15 пассажей (рис. 2).

На рис. 3 представлены результаты подсчета доли Ki-67 негативных клеток в популяциях контрольных и облученных фибробластов. Белок Ki-67 экспрессируется в клетках, во время интерфазы (с максимумом в фазах S и G2) и митоза (M) и практически отсутствует в покоящихся и стареющих клетках [14, 15]. Показано, что Ki-67 участвует в биогенезе рибосом, организации гетерохроматина и митотической сегрегации хромосом [15, 16].

Анализ изменений доли Ki-67 негативных клеток (Ki-67(–)) в контроле показал, что с увеличением времени инкубации происходит уменьшение их количества вследствие роста клеточной популяции и контактного ингибирования пролиферации (рис. 3). Необходимо понимать, что клетки высаживались в чашки Петри за 24 ч до облучения, то есть для контрольных клеточных популяций прошло 48, 72 и 96 ч. К 96 ч инкубации клетки прекращают экспоненциальный рост и останавливают деление. Облучение клеток вызывает дозозависимое снижение пролиферативной активности (рис. 3) вследствие ареста клеточного цикла и потери способности к делению вследствие радиационно-индуцированной сенесценции. Наиболее выраженный эффект наблюдался через 72 ч после облучения. В потомках облученных клеток эффект радиационно-индуцированного снижения отмечался только после облучения в дозе 5000 мГр на 5-ом пассаже после облучения.

Дополнительно был проведен анализ изменении доли клеток, позитивных по ассоциированной со старением β-галактозидазе (СА-β-гал(+)) (рис. 4). Этот фермент обычно используется в качестве маркера клеточного старения, поскольку его экспрессия существенно повышена в стареющих клетках [17, 18]. Было показано, что воздействие рентгеновского излучения приводит к дозозависимому увеличению доли стареющих СА-β-гал(+) клеток уже через 24 ч после облучения. С увеличением времени пострадиационой инкубации клеток до 72 ч доля стареющих фибробластов также увеличивалась. Результаты подсчета доли стареющих клеток в популяциях потомков облученных фибробластов хорошо соотносятся с данными анализа количества и размеров фокусов γH2AX. Отмечалось статистически значимое повышение доли

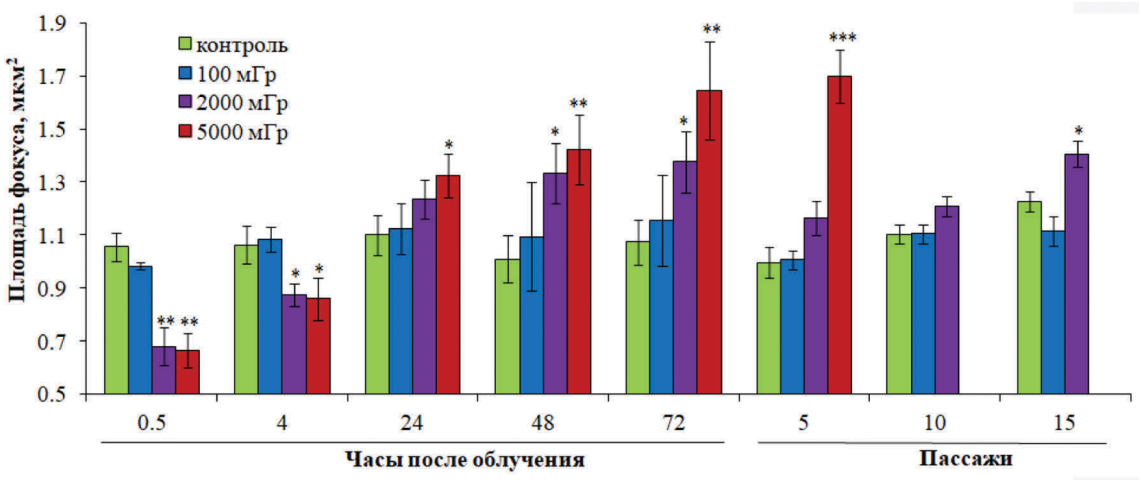


Рис. 2. Изменения размеров (площадь в мкм^2) фокусов γH2AX в популяциях фибробластов после воздействия рентгеновского излучения в разных дозах. Результаты представлены как *M±SEM*. **Прмечание:** * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – значимость различий от контрольных значений

Fig. 2. Changes in size (area in μm2) of γH2AX foci in fibroblast populations after exposure to different doses of X-ray radiation. Results are presented as *M±SEM*. **Note:** * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ – significance of differences from control values

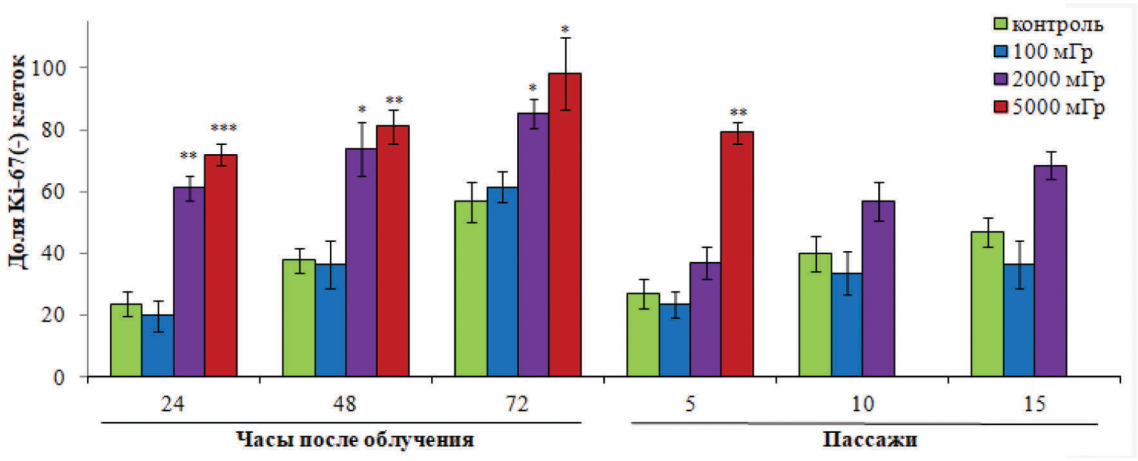


Рис. 3. Изменения доли покоящихся (Ki-67(–)) клеток в популяциях фибробластов после воздействия рентгеновского излучения в разных дозах. Результаты представлены как *M*±*SEM*. **Примечание:** * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – значимость различий от контрольных значений

Fig. 3. Changes in the proportion of quiescent (Ki-67(-)) cells in fibroblast populations after exposure to X-ray radiation at different doses. Results are presented as *M*±*SEM*. **Note:** * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ – significance of differences from control values

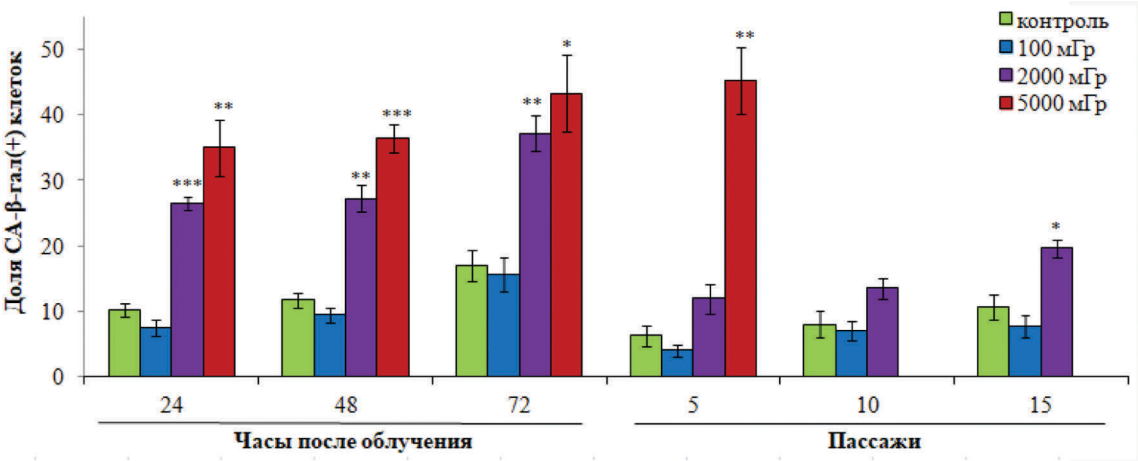


Рис. 4. Изменения доли стареющих (CA-β-гал(+)) клеток в популяциях фибробластов после воздействия рентгеновского излучения в разных дозах. Результаты представлены как *M*±*SEM*. **Прмечание:** * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – значимость различий от контрольных значений

Fig. 4. Changes in the proportion of senescent (CA-*β*-gal(+)) cells in fibroblast populations after exposure to X-ray radiation at different doses. Results are presented as *M*±*SEM*. **Note:** * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$, *** – $p < 0.001$ – significance of differences from control values

CA-*β*-гал(+) клеток на 5 пассаже после облучения в дозе 5000 мГр и на 15 пассаже после облучения в дозе 2000 мГр.

Представлялось интересным провести математический анализ взаимосвязи между изменениями доли CA-*β*-гал(+) клеток, количеством и размером фокусов *γ*H2AX в популяциях облученных клеток. Результаты, представленные на рис. 5, свидетельствуют о том, что радиационно-индуцированное клеточное старение ассоциировано преимущественно с размером, а не с количеством фокусов *γ*H2AX.

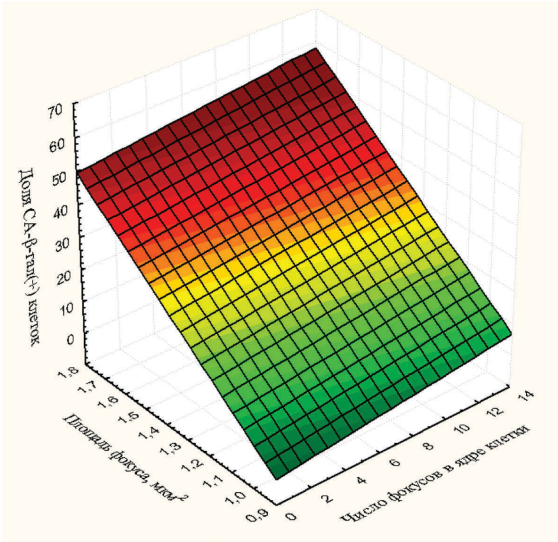


Рис. 5. Взаимосвязь между долей CA-*β*-гал(+) клеток, количеством и размером фокусов *γ*H2AX в популяциях облученных клеток

Fig. 5. Relationship between the proportion of CA-*β*-gal(+) cells and the number and size of *γ*H2AX foci in irradiated cell populations

Заключение

В ходе проведенных исследований было показано, что облучение культивируемых фибробластов человека в малой дозе (100 мГр) не приводит к статистически значимым изменениям количества и размера фокусов *γ*H2AX, а также доли непролиферирующих и стареющих клеток в потомках облученных клеток вплоть до 15-го пассажа после облучения. Обнаружен феномен ассоциированного со старением сохранения повышенного количества и размеров фокусов *γ*H2AX в пассажах клеток, облученных в дозе 5000 мГр. Математический анализ взаимосвязи между изменениями доли CA-*β*-

гал(+) клеток, количеством и размером фокусов γH2AX в популяциях облученных клеток свидетельствует о том, что радиационно-индуцированное клеточное старение в большей степени ассоциировано с размером, а не с количеством фокусов γH2AX (рис. 5). Представляется перспективным использование размеров фокусов γH2AX в качестве маркера радиационно-индуцированного клеточного старения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Dabin J, Mori M, Polo SE. The DNA Damage Response in the Chromatin Context: a Coordinated Process. Curr Opin Cell Biol. 2023;82:102176. doi: 10.1016/j.ceb.2023.102176.
2. Georgoulis A, Vorgias C, Chrousos G, Rogakou E. Genome Instability and γH2AX. International Journal of Molecular Sciences. 2017;18(9). doi: 10.3390/ijms18091979.
3. Shibata A, Jeggo PA. DNA Double-Strand Break Repair in a Cellular Context. Clin Oncol (R Coll Radiol). 2014;26(5):243-9. doi: 10.1016/j.clon.2014.02.004.
4. Rothkamm K, Barnard S, Moquet J, Ellender M, Rana Z, Burdak-Rothkamm S. DNA Damage Foci: Meaning and Significance. Environ Mol Mutagen. 2015;56(6):491-504. doi: 10.1002/em.21944.
5. Biswas H, Makinwa Y, Zou Y. Novel Cellular Functions of ATR for Therapeutic Targeting: Embryogenesis to Tumorigenesis. International Journal of Molecular Sciences. 2023;24(14). doi: 10.3390/ijms241411684.
6. Bushmanov A, Vorobyeva N, Molodtsova D, Osipov AN. Utilization of DNA Double-Strand Breaks for Biodosimetry of Ionizing Radiation Exposure. Environmental Advances. 2022;8. doi: 10.1016/j.envadv.2022.100207.
7. Merighi A, Gionchiglia N, Granato A, Lossi L. The Phosphorylated Form of the Histone H2AX (γH2AX) in the Brain from Embryonic Life to Old Age. Molecules. 2021;26(23). doi: 10.3390/molecules26237198.
8. Palla V-V, Karaolanis G, Katafigiotis I, Anastasiou I, Patapis P, Dimitroulis D, et al. gamma-H2AX: Can It Be Established as a Classical Cancer Prognostic Factor? Tumor Biology. 2017;39(3). doi: 10.1177/1010428317695931.
9. Marcotte R, Lacelle C, Wang E. Senescent Fibroblasts Resist Apoptosis by Downregulating Caspase-3. Mech Ageing Dev. 2004;125(10-11):777-83. doi: 10.1016/j.mad.2004.07.007.
10. Neumaier T, Swenson J, Pham C, Polyzos A, Lo AT, Yang P, et al. Evidence for Formation of DNA Repair Centers and Dose-Response Nonlinearity in Human Cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011;109(2):443-8. doi: 10.1073/pnas.1117849108.
11. Belov O, Chigasova A, Pustovalova M, Osipov A, Eremin P, Vorobyeva N, et al. Dose-Dependent Shift in Relative Contribution of Homologous Recombination to DNA Repair after Low-LET Ionizing Radiation Exposure: Empirical Evidence and Numerical Simulation. Current Issues in Molecular Biology. 2023;45(9):7352-73. doi: 10.3390/cimb45090465.
12. Vaurijoux A, Voisin P, Freneau A, Barquinero JF, Gruel G. Transmission of Persistent Ionizing Radiation-Induced Foci Through Cell Division in Human Primary Cells. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2017;797-799:15-25. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2017.03.003.
13. Stewart RD. Two-Lesion Kinetic Model of Double-Strand Break Rejoining and Cell Killing. Radiation Research. 2001;156(4):365-78.doi:10.1667/0033-7587(2001)156[0365:tlkmod]2.0.co;2.
14. Miller I, Min M, Yang C, Tian C, Gookin S, Carter D, et al. Ki67 is a Graded Rather than a Binary Marker of Proliferation versus Quiescence. Cell Rep. 2018;24(5):1105-12 e5. doi: 10.1016/j.celrep.2018.06.110.
15. Sobecki M, Mrouj K, Camasses A, Parisis N, Nicolas E, Lleres D, et al. The cell proliferation antigen Ki-67 organises heterochromatin. Elife. 2016;5:e13722. doi: 10.7554/eLife.13722.
16. Sobecki M, Mrouj K, Colinge J, Gerbe F, Jay P, Krasinska L, et al. Cell-Cycle Regulation Accounts for Variability in Ki-67 Expression Levels. Cancer Res. 2017;77(10):2722-34. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0707.
17. Maier AB, Westendorp RG, D VANH. Beta-Galactosidase Activity as a Biomarker of Replicative Senescence during the Course of Human Fibroblast Cultures. Annals of the New York Academy of Sciences. 2007;1100:323-32. doi: 10.1196/annals.1395.035.
18. Osipov A, Chigasova A, Yashkina E, Ignatov M, Fedotov Y, Molodtsova D, et al. Residual Foci of DNA Damage Response Proteins in Relation to Cellular Senescence and Autophagy in X-Ray Irradiated Fibroblasts. Cells. 2023;12(8). doi: 10.3390/cells12081209.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследования выполнены при поддержке РНФ (проект № 23-14-00078).
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The work was carried out with the support of the RSF (project No. 23-14-00078).
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-19-25

Т.Р. Гайнутдинов[1, 2], С.А. Рыжкин[1 ,2, 3, 4, 5], К.Н. Вагин[1, 2], Е.Ю. Тризна[2], С.Е. Охрименко[3, 6]

ИЗУЧЕНИЕ КЛИНИКО-ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ОЦЕНКЕ ПРОТИВОРАДИАЦИОННОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ МИКРООРГАНИЗМА *FUSOBACTERIUM NECROPHORUM*

[1] Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань

[2] Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

[3] Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва

[4] Казанский государственный медицинский университет Минздрава России, Казань

[5] Академия наук Республики Татарстан, Казань

[6] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

Контактное лицо: Тимур Рафкатович Гайнутдинов, e-mail: gtr_timur@mail.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Изучить клинико-гематологические и иммунологические показатели при оценке противорадиационной эффективности терапевтического средства на основе микроорганизма *Fusobacterium necrophorum*.

Материал и методы: Исследования по определению противорадиационной эффективности убитых гамма-облучением штаммов микроорганизмов проводили на беспородных половозрелых белых мышах и белых крысах с массой тела, соответственно, 18–20 и 180–200 г, разделенных по принципу аналогов на опытные и контрольные группы. Моделирование острой лучевой болезни проводили на гамма-установке «Пума» с радиоактивным источником цезий-137 в дозе $ЛД_{100/30}$. В качестве потенциальных противолучевых препаратов использовали инактивированные облучением на гамма-установке «Исследователь» препараты микробного происхождения *F. necrophorum* штамм 8TS630501 в дозах 15, 20, 25 и 30 кГр. Испытуемые препараты вводили подкожно в объеме 0,2 $см^3$ белым мышам и 2,0 $см^3$ белым крысам через 3 сут после радиационного воздействия.

Результаты: Экспериментально установлено, что полная стерилизация микроба наступает при дозах 25 и 30 кГр. Культура *F. necrophorum*, облученная в дозах 25 и 30 кГр и введенная животным через 3 сут после внешнего радиационного воздействия, способствовала выживанию, сохранению от 60 до 80 % летально облученных белых мышей и крыс. При этом восстановление количества лейкоцитов и гемоглобина происходило медленно и продолжалось вплоть до конца исследований. У животных, леченных разработанными лечебными средствами, также отмечалось снижение количества Т-клеток, но оно носило менее выраженный характер, чем в группе контроля облучения. В-лимфоциты поражаются аналогично Т-лимфоцитам. Минимум количества В-лимфоцитов в опытных группах отмечен на 14 сут. Исследования по изучению интенсивности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в периферической крови у гамма-облученных, леченных и интактных крыс по содержанию малонового диальдегида позволили установить, что в группе облученного контроля происходит достоверное возрастание показателя ПОЛ в крови по отношению к биологическому контролю и к группам лечения.

Заключение: Установлено, что наиболее высокой противорадиационной эффективностью обладает лечебное средство микробного происхождения (РНФ-30), который был получен путем гамма-облучением в дозе 30 кГр культуры *F. necrophorum*.

Ключевые слова: *острая лучевая болезнь, Fusobacterium necrophorum, противорадиационное средство, лабораторные животные, клинико-гематологические и иммунологические показатели, радиотоксины, выживаемость*

Для цитирования: Гайнутдинов Т.Р., Рыжкин С.А., Вагин К.Н., Тризна Е.Ю., Охрименко С.Е. Изучение клинико-гематологических и иммунологических показателей при оценке противорадиационной эффективности терапевтического средства на основе микроорганизма *Fusobacterium necrophorum* // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 19–25. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-19-25

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-19-25

T.R. Gaynutdinov[1, 2], S.A. Ryzhkin[1, 2, 3, 4, 5], K.N. Vagin[1, 2], E.Yu. Trizna[2], S.E. Ohrimenko[3, 6]

Study of Clinical, Hematologic and Immunologic Parameters in Assessing the Anti-Radiation Efficacy of the Therapeutic Agent Based on the Microorganism *Fusobacterium Necrophorum*

[1] Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

[2] Kazan Federal University, Kazan, Russia

[3] Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

[4] Kazan State Medical University, Kazan

[5] Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

[6] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

Contact person: Timur Rafkatovich Gaynutdinov, e-mail: gtr_timur@mail.ru

ABSTRACT

Purpose: To study clinical, hematologic and immunologic parameters in assessing the anti-radiation efficacy of the therapeutic agent based on the microorganism *Fusobacterium necrophorum*.

Material and methods: The studies on determination of the anti-radiation efficacy of the strains of microorganisms killed by gamma-irradiation were carried out on sexually mature sexless white mice and white rats with live weight of 18–20 and 180–200 g, respectively, divided into experimental and control groups according to the principle of analogs. Modeling of acute radiation sickness was carried out on a Puma gamma unit with a radioactive source of cesium-137 at a dose of $LD_{100/30}$. As potential anti-radiation drugs we used inactivated by irradiation on the gamma unit Explorer preparations of microbial origin *F. necrophorum* strain 8. necrophorum strain 8TS630501 at doses of 15, 20, 25 and 30 kGy. The tested preparations were injected subcutaneously in the volume of 0.2 cm^3 to white mice and 2.0 cm^3 to white rats 3 days after radiation exposure.
Results: It was experimentally established that complete sterilization of the microbe occurs at doses of 25 and 30 kGy. The culture of *F. necrophorum*, irradiated at doses of 25 and 30 kGy and administered to animals 3 days after external radiation exposure, promoted survival, preservation of 60 to 80 % of lethally irradiated white mice and rats. At the same time the recovery of leukocytes and hemoglobin number was slow and continued until the end of the study. In animals treated with the developed therapeutic agents, there was also a decrease in the number of T-cells, but it was less pronounced than in the irradiation control group. The number of B-lymphocytes was affected similarly to T-lymphocytes. The minimum of the number of B-lymphocytes in the experimental groups was noted at 14 days. Studies on the intensity of the process of lipid peroxidation (LPO) in the content of malonic dialdehyde in peripheral blood of gamma-irradiated, treated and intact rats, it was found that in the irradiated control group there is a significant increase in the LPO index in blood in relation to biological control and treatment groups.
Conclusion: It has been established that the highest anti-radiation efficacy is possessed by a therapeutic agent of microbial origin (RNF-30), which was obtained by gamma-irradiation at a dose of 30 kGy of the culture of *F. necrophorum*.

Keywords: *acute radiation disease, Fusobacterium necrophorum, anti-radiation agent, laboratory animals, clinical, hematological and immunological parameters, radiotoxins, survival rate*

For citation: Gaynutdinov TR, Ryzhkin SA, Vagin KN, Trizna EYu, Ohrimenko SE. Study of Clinical, Hematologic and Immunologic Parameters in Assessing the Anti-Radiation Efficacy of the Therapeutic Agent Based on the Microorganism *Fusobacterium Necrophorum*. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):19–25. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-19-25

Введение

Источники ионизирующего излучения в настоящее время находят широкое применение в медицине, промышленности, сельском хозяйстве и в других сферах народного хозяйства [1–3]. Имеющие место аварии на предприятиях ядерно-энергетического цикла, возникающие в результате нарушения их эксплуатации, оказывают пагубное действие на экосистему и обусловливают возможность возникновения лучевой болезни [4–6].

В последнее время всё чаще гамма-облучение находит применение в биопромышленности при получении вакцин, антигенов и других биологических препаратов. Более широко для этих целей используются гамма-излучающие изотопы кобальта-60 и цезия-137, а также ускоренные электроны [7, 8].

Патогенные агенты болезней человека и животных по-разному реагируют на воздействие γ-облучения [9, 10]. Это зависит от вида возбудителя, его состояния, среды, в которой он находится, мощности, дозы ионизирующей радиации и других факторов [11].

С использованием полной инактивации микроорганизмов гамма-облучением были получены бруцеллезные, сапные, сибире-язвенные радиоантигены, а также радиовакцины против псевдобешенства, классической чумы свиней, бруцеллеза и сибирской язвы, которые используются по своему прямому назначению, а именно для серодиагностики и иммунопрофилактики особо опасных болезней человека и животных [12, 13].

Имеются сообщения о применении природных радиопротекторов [14, 15], веществ микробного происхождения в качестве радиозащитных препаратов [16, 17] для лечения острой лучевой болезни.

Использование в качестве лечебного препарата возбудителя некробактериоза, инактивированного гамма-облучением, в доступных печатных изданиях и интернет-ресурсах нами не обнаружено. Однако данный вопрос имеет научный и практический интерес, поэтому целью наших исследований является изучение противорадиационной эффективности терапевтического средства на основе микроорганизма *Fusobacterium necrophorum* и оценка клинико-гематологических и иммунологических показателей в эксперименте.

Материал и методы

Эксперименты по оценке противорадиационной эффективности терапевтических средств на основе микроорганизма *Fusobacterium necrophorum* проводили на белых мышах и крысах обоего пола с живой массой тела 18–20 и 180–200 г. соответственно.

Внешнее тотальное облучение животных проводили на гамма-установке «Пума» с мощностью экспозиционной дозы 5,38 Р/мин ($2{,}31\times10^{-5}$ А/кг): белых мышей – в дозе 7,9 Гр, крыс – 8,3 Гр.

Для испытания противорадиационной эффективности были взяты инактивированные в дозах 25, 30, 35 кГр, а также живые культуры *F. necrophorum,* облученные в дозах 15, 20 кГр. В качестве контрольного препарата использовали противорадиационное средство – противорадиационную лечебную сыворотку (ПРЛС).

Способ получения разработанных нами лечебных средств на основе *F. necrophorum*, определение стерильности, реактогенности, безвредности и токсичности представлены в опубликованных ранее работах [18, 19].

В следующей серии опытов проводили исследования по определению оптимальной лечебной дозы инактивированного облучением *F. necrophorum*. Опыты проводили на 70 белых мышах, разделенных на 7 групп по 10 животных в каждой. Животных облучали в дозе 8,0 Гр ($ЛД_{100/30}$) и через 3 сут после облучения однократно подкожно вводили испытуемый препарат *F. necrophorum*, облученный в дозе 25 кГр в дозах, соответственно, 1×10^8 микробных клеток м.к./особь в объеме 0,1 $см^3$ (1-я группа), 2×10^8 м.к./особь в объеме 0,2 $см^3$ (2-я), 3×10^8 м.к./особь в объеме 0,3 $см^3$ (3-я), 4×10^8 м.к./особь в объеме 0,4 $см^3$ (4-я), 5×10^8 м.к./особь в объеме 0,5 $см^3$ (5-я группа). Облученным животным 6-й и не облученной (7-й) группы препараты не вводили, они служили контролем облучения и биологическим контролем соответственно. Оценку результатов исследований проводили по выживаемости животных.

В следующей серии опытов проводили исследования по определению оптимальных сроков лечебного применения радиоинактивированного штамма *F. necrophorum.* Для решения этой задачи опыты проводили на 60 белых мышах, разделенных на 10 групп, по 6 животных в каждой. Облученным в дозе 8,0 Гр животным через 1–10 сут после облучения подкожно однократно вводили облу-

ченные в дозах 25 и 30 кГр *F. necrophorum* в дозе 2×10^8 м.к. (0,2 см^3) на животное.

Учитывая, что эффективная лечебная доза препарата зависит от кратности его применения, проводили следующую серию опытов на белых мышах. В опытах использовали 30 белых мышей, разделенных на 3 группы, по 10 животных в каждой. Облученным в дозе 8,0 Гр животным через 3 сут после облучения одно-, двух- и трехкратно подкожно вводили радиоинактивированные в дозах 25 и 30 кГр культуры *F. necrophorum* в оптимальной лечебной дозе 1×10^{10} м.к./кг. Оценку эффективности проводили по выживаемости облученных животных.

Эксперименты по оценке противолучевой эффективности вышеуказанных потенциальных противорадиационных средств проводили на 48 белых мышах, разделенных на 8 групп по 6 животных в каждой. При этом животных 7 групп подвергали γ-облучению в летальной дозе – 7,9 Гр, а животных 8-й группы не облучали и не лечили – они служили биологическим контролем.

Лечение облученных животных с использованием испытуемых средств проводили по следующей схеме. Облученным в дозе 7,9 Гр животным 1-й группы через 3-е сут после облучения однократно подкожно в дозе 1×10^{10} м.к./кг вводили лечебное средство радионекрофорум (РНФ), полученное на основе гамма-облучения *F. necrophorum* в дозе 15 кГр (РНФ-15), 2-й группе в аналогичных условиях вводили лечебное средство РНФ, полученное на основе гамма-облучения *F. necrophorum* в дозе 20 кГр (РНФ-20); 3-й группе – лечебное средство РНФ, полученное на основе гамма-облучения *F. necrophorum* в дозе 25 кГр (РНФ-25); 4-й группе – лечебное средство РНФ, полученное на основе гамма-облучения *F. necrophorum* в дозе 30 кГр (РНФ-30); 5-й группе – лечебное средство РНФ, полученное на основе гамма-облучения *F. necrophorum* в дозе 35 кГр (РНФ-35); 6-й группе – лечебное средство ПРЛС подкожно в дозе 50,0 мг/кг; 7-я группа – контроль облучения; 8-я группа – биологический контроль.

За опытными и контрольными животными вели ежедневное наблюдение, учитывали клинический статус, выживаемость, рассчитывали среднюю продолжительность жизни (СПЖ) животных.

Для подтверждения полученных на белых мышах данных по оценке терапевтической активности испытуемых средств проводили вторую серию опытов на другом виде лабораторных животных – белых крысах. В опытах были использованы 24 белые крысы, разделенные на 4 группы по 6 животных в каждой. При этом животных первых 3 групп подвергали гамма-облучению в летальной дозе (8,3 Гр), животных 4-й группы не облучали и не лечили – они служили биологическим контролем.

Лечение облученных белых крыс с использованием испытуемых средств проводили по следующей схеме. Облученным в дозе 8,3 Гр животным 1-й группы через 3 сут после облучения однократно подкожно в дозе 1×10^{10} м.к./кг (2,0 см^3) вводили препарат РНФ, полученный путем облучения *F. necrophorum* в дозе 30 кГр (РНФ-30); 2-й группе в аналогичных условиях – ПРЛС подкожно в дозе 50 мг/кг (1,0 см^3); 3-я группа – служила контролем облучения; 4-я группа – биологическим контролем.

Наблюдение за опытными и контрольными животными вели ежедневно в течение 30 сут, изучали клинические (общее состояние, выживаемость, среднюю продолжительность жизни павших животных), гематологические показатели (содержание форменных элементов периферической крови, уровень гемоглобина, общего белка), состояние клеточных (содержание Т- и В- лимфоцитов) факторов иммунитета, уровень малонового диальдегида. Кровь для исследований у животных отбирали на 3, 7, 14, 21, 28 сут после облучения.

Иммунный статус животных определяли по состоянию клеточного и гуморального иммунитета. Состояние клеточного (Т-, В- лимфоциты) звеньев иммунитета оценивали по методу розеткообразования, который основан на взаимодействии мембранных рецепторов Т- и В-лимфоцитов с эритроцитами, что при микроскопировании визуально определяется в виде розеткообразования, когда к поверхности лимфоцитов присоединены 3 и более эритроцитов. С помощью варьирования режимов розеткообразования идентифицируются Т- и В-лимфоциты с определенными свойствами, отражающие дифференцированность и функциональную принадлежность. Для определения регуляторных субпопуляций использовали нагрузочные тесты с теофиллином. Теофиллинрезистентные лимфоциты (ТФР) составили субпопуляцию Т-лимфоцитов, обладающих хелперной активностью, а теофиллинчувствительные (ТФЧ) – супрессорной активностью. Для получения данных использовали метод розеткообразования с эритроцитами барана, для Т-клеток, а для получения В-клеток применяли метод ЕАС-розеток. Количество 0-клеток, не имеющих ни Т-, ни В-маркеров, определяли расчетным методом по формуле: 0-клетки % = 100 % – (Е-РОК % + МРОК %).

О степени интенсивности процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по накоплению вторичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА), реакция которого с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) положена в основу одного из самых распространенных методов изучения ПОЛ в биологических системах. Количественные методы определения ПОЛ основаны на регистрации разности в концентрации радикальных предшественников (по изменению оптической плотности) до и после их окислительной деградации.

Проведение экспериментов на лабораторных животных осуществляли с использованием регламентированных и описанных в научной литературе методов и способов гуманного отношения к животным в соответствии с законодательством и правовыми актами РФ, Хельсинкской Декларации (1969) рекомендации комитета по этике ВОЗ (Протокол ЛЭК № 11 от 28 февраля 2023 г.).

Результаты и обсуждение

Проведенными исследованиями впервые установлено, что полная инактивация возбудителя некробактериоза штамм 8TS630501 наступает при облучении его в дозе 25 кГр. Облучение в дозе 5 кГр не влияет на рост данной культуры. Ингибирование роста облученного в дозах 10, 15 и 20 кГр *F. necrophorum* находится в прямой зависимости от степени радиационного воздействия [18].

Результаты опытов по определению оптимальной лечебной дозы изучаемого лечебного средства показали, что выживаемость летально облученных белых мышей в 1-й группе составляла 70 %, во 2-й – 80 %, в 3-й – 80 %, в 4-й – 70 %, в 5-й – 60 %, 6-й – 0 %, 7-й – 100 %.

Таким образом, оптимальной лечебной дозой препарата является 0,2 см^3, которая содержит 2×10^8 микробных клеток *F. necrophorum*. В пересчете на 1 кг живой массы животных лечебная доза препарата составляет 1×10^{10} м.к./кг.

Результаты исследований по определению реактогенности показали, что использование лечебных средств никаких реакций не вызывало: животные были активны, охотно принимали корм и воду, адекватно реагировали на естественные раздражители, что свидетельствует об ареактогенности препарата и переносимости

использованной терапевтической дозы. Проведенные исследования по определению безвредности и токсичности показали, что испытуемые инактивированные гамма-облучением бактериальные культуры при введении их подкожно в дозах от 1×10^8 м.к./особь в объеме 0,1 см^3 до 1×10^9 м.к./особь (1,0 см^3) не оказывали неблагоприятного воздействия на белых мышей, не вызывали гибели их в течение 14 сут наблюдения, что свидетельствует об их атоксичности. Полученные данные показывают, что препараты безвредны, так как ведение их в двух-четырех-пятикратной терапевтической дозе не вызывало клинических признаков проявления болезни, падежа животных в течение вышеуказанного срока [19].

Результаты проведенных исследований по определению оптимальных сроков лечебного применения радиоинактивированного штамма *F. necrophorum* показали, что выживаемость животных по группам составляла: 1-я – 83,3 %; 2-я – 83,3 %; 3-я – 83,3 %; 4-я – 66,7 %; 5-я – 66,7 %; 6-я – 50 %; 7-я – 33,3 %; 8-я – 33,3 %; 9-я – 33,3 %; 10-я – 33,3 %.

Таким образом, однократное подкожное введение в лечебной дозе 1×10^{10} м.к./кг смешанной пробы *F. necrophorum* обеспечивало 83,3 %-ную выживаемость летально облученных животных.

Результаты опытов, проведенных на белых мышах по определению кратности применения лечебного средства на основе *F. necrophorum* показали, что увеличение кратности применения до двух и трех раз с интервалом 24 часа между введениями не оказывало существенного влияния на выживаемость животных, что свидетельствует о целесообразности однократного применения препарата.

Результаты исследований следующей серии опытов по изучению противорадиационной эффективности испытуемых терапевтических средств, проведенных на белых мышах, представлены в табл. 1.

Из представленных в таблице данных видно, что из 6 вариантов потенциальных противорадиационных средств микробного и животного происхождения, противорадиационную активность оказывали 4. Из них (группа 6) ПРЛС обеспечивал 50 %-ую выживаемость, 2 средства (группы 3, 5) вылечивали животных от крайне тяжелой степени ОЛБ в 66,7 % случаев и 1 средства (группа 4) обладали максимальной противорадиационной активностью 83,3 %.

У животных группы контроля облучения наблюдалось острая лучевая болезнь ($ЛД_{100/30}$) крайне тяжелой степени со 100 % летальностью облученных животных при средней продолжительности жизни павших мышей 9,8 сут. Применение испытуемых средств оказывало модифицирующее действие на течение, степень тяжести, исход болезни и выживаемость животных.

Установлено, что противорадиационную эффективность от ОЛБ проявляли радиоинактивированный *F. necrophorum*, облученный в дозах 15, 20 кГр (1, 2 группа), который обеспечивал выживаемость животных в 33,3 и 16,7 % случаев. Хотя указанные препараты проявляли низкую противорадиационную эффективность, они продлевали жизнь белых мышей в 1,3-2,1 раза по сравнению с контролем.

Применение радиоинактивированного возбудителя некробактериоза, облученного в дозе 25 и 35 кГр (3, 5 группа), а также ПРЛС (6 группа), значительно облегчали течение ОЛБ, степень ее проявления, увеличивали сроки продолжительности жизни (СПЖ), выживаемость животных. Показано, что применение указанных средств переводит крайне тяжелое течение острой лучевой болезни в тяжелую, увеличивая выживаемость от 50 до 66,6 % и СПЖ – от 10,0 до 13,2 сут, что превышает контрольный уровень до 1,3 раза.

Наиболее высокий противорадиационный эффект был достигнут при применении радиоинактивированного в дозе 30 кГр *F. necrophorum* (4 группа), с обеспечением выживаемости опытных облученных ($ЛД_{100/30}$) животных в 83,3 % случаев, тем самым продлевая срок продолжительности жизни до 19 сут, что превосходит СПЖ леченных и контрольных животных, переводя крайне тяжелое течение ОЛБ в среднюю степень ОЛБ.

Результаты проведенных исследований по определению противорадиационной эффективности испытуемых лечебных средств, проведенных на белых крысах, представлены в табл. 2.

Из представленных в таблице данных видно, что острая лучевая болезнь у крыс 3-й группы, у которых лечебные препараты не применяли, протекала крайне тяжело в костномозговой форме с максимальным падежом животных и средней продолжительностью жизни (СПЖ) 8,2 сут. Применение лечебных препаратов приводило к облегчению течения ОЛБ, переводя крайне тяжелую степень болезни в среднюю, и значительно увеличивая СПЖ павших белых крыс.

В качестве контрольного препарата в опыте использовали противорадиационную лечебную сыворотку (ПРЛС), которая обладала радиопротекторным эффектом, переводя крайне тяжелую степень течения болезни в тяжелую, тем самым, предотвращая 50 %-ую гибель летально облученных животных при средней продолжительности жизни 13 сут.

Наиболее высокими противорадиационными свойствами обладало средство микробного происхождения радиоинактивированный возбудитель некробактериоза,

Таблица 1

Терапевтические свойства испытуемых препаратов в опытах на белых мышах, *n* = 6

Therapeutic properties of the tested drugs in experiments on white mice, *n* = 6

Группа опыта	Лечебное средство	Доза препарата, на особь	Способ применения	Степень тяжести болезни	СПЖ, сут	Выживаемость, %
1	РНФ-15	2×10^8 м.к.	1-кратно п/к	тяжелая	20,7	33,33
2	РНФ-20	2×10^8 м.к.	1-кратно п/к	тяжелая	12,8	16,66
3	РНФ-25	2×10^8 м.к.	1-кратно п/к	тяжелая	11,5	66,66
4	РНФ-30	2×10^8 м.к.	1-кратно п/к	средняя	19,0	83,33
5	РНФ-35	2×10^8 м.к.	1-кратно п/к	тяжелая	13,2	66,66
6	ПРЛС	1,0 мг	1-кратно п/к	тяжелая	10,0	50,0
7	Контроль облучения	–	–	крайне тяжелая	9,8	0
8	Биологический контроль	–	–	–	–	100

Примечание: СПЖ – средняя продолжительность жизни; РНФ (радионекрофорум) – радиоинактивированный *F. necrophorum*; ПРЛС – противорадиационная лечебная сыворотка; 1-кратно – однократное введение; п/к – подкожное введение

Таблица 2

Выживаемость облученных белых крыс, подвергнутых лечению испытуемыми препаратами, *n* = 6

Survival rate of irradiated white rats treated with test drugs, *n* = 6

Группа опыта	Лечебное средство	Доза препарата, на особь	Способ применения	Степень тяжести болезни	СПЖ, сут	Выживаемость, %
1	РНФ-30	2×10^9 м.к.	1-кратно п/к	средняя	10,0	83,3
2	ПРЛС	10,0 мг	1-кратно п/к	тяжелая	13	50
3	Контроль облучения	–	–	крайне тяжелая	8,2	0
4	Биологический контроль	–	–	–	–	100

Примечание: Условные обозначения согласно табл. 1

облученный в дозах 30 кГр (1-я группа), которое модифицировало крайне тяжелую степень течения болезни в среднюю, увеличивая выживаемость до 83,3 %, а также СПЖ павших животных до 10 сут, что значительно превышало показатели у контрольных животных.

Общее состояние крыс группы биологического контроля в течение всего срока исследований (30 сут) было удовлетворительным. Они адекватно реагировали на внешние раздражители, активно передвигались по клетке, хорошо поедали корм. Кожный покров был гладким и блестящим. Случаев гибели не наблюдалось.

В табл. 3 и 4 представлены результаты исследования периферической крови гамма-облученных и леченных белых крыс.

Данные, представленные в табл. 3 показывают, что выраженной реакцией организма на гамма-облучение является изменение числа клеток белой крови. Как видно из таблицы, через 3 сут после облучения у животных опытных групп наблюдалось достоверное, по сравнению с контролем, снижение общего количества лейкоцитов, которое продолжалось на протяжении всего периода исследований.

Наименьшее количество клеток белой крови наблюдалось на 14-е сут опыта и составляло у животных группы контроля облучения $3,13 \pm 0,14\times10^9$/л ($p < 0,001$) против $9,77 \pm 0,74\times10^9$/л биологического контроля. На всем протяжении эксперимента у крыс, подвергнутых гамма-облучению и лечению разработанными средствами, наблюдалось увеличение количества лейкоцитов по сравнению с группой контроля облучения, но в сравнении с группой биологического контроля количество лейкоцитов у пролеченных животных во все сроки опыта было ниже, и к концу исследований (28 сут) количество лейкоцитов в крови этих животных не доходило до уровня группы биологического контроля.

Изменения количества эритроцитов и гемоглобина у животных облученного контроля в течение первых суток после облучения были незначительными. В период с 7 по 14 сут изменения со стороны красной крови у этих животных носили более выраженный и достоверный характер. Максимальное проявление анемии наблюдалось на 14 сут опыта со снижением количества эритроцитов на 26,9 % и концентрации гемоглобина на 23,7 % от исходных величин. Изменения количества эритроцитов у пролеченных крыс не имеют особых различий с группой биологического контроля. Концентрация гемоглобина у пролеченных животных снижается с 14-х сут исследований. Начиная с 21 сут опыта у леченных животных, концентрация гемоглобина в крови возрастала, но исходного уровня не достигала.

Таблица 3

Показатели крови белых крыс в разные сроки после гамма-облучения и лечения, *n* = 6

Blood counts of white rats at different times after gamma irradiation and treatment, *n* = 6

Срок после облучения, сут	Группа опыта	Показатели				
		гемоглобин, г/л	эритроциты, 10^{12}/л	лейкоциты, 10^9/л	гематокрит, %	общий белок, г/л
3	1	124,6 ± 2,40	7,41 ± 0,22	4,95 ± 0,46$^{\times\times\times}$	35,73 ± 0,11	67,10 ± 2,40
	2	121,60 ± 2,53	6,70 ± 0,35	4,12 ± 0,22$^{\times\times\times}$	35,50 ± 0,47	66,02 ± 0,28$^{\times}$
	3	119,8 ± 2,30	6,41 ± 0,30	3,64 ± 0,27	33,22 ± 0,51$^{\times\times}$	59,80 ± 1,80$^{\times\times}$
	4	128,8 ± 4,50	6,94 ± 0,62	10,56 ± 0,16	36,45 ± 0,55	70,80 ± 1,90
7	1	111,2 ± 2,70	7,03 ± 0,23	5,12 ± 1,2$^{\times\times}$	36,96 ± 0,40	70,10 ± 2,30
	2	115,50 ± 4,21	6,83 ± 0,42	4,18 ± 0,38$^{\times\times\times}$	36,17 ± 0,66	68,28 ± 0,93
	3	110,2 ± 1,90$^{\times}$	5,62 ± 0,23$^{\times}$	3,75 ± 0,25$^{\times\times\times}$	34,25 ± 0,41$^{\times\times}$	54,20 ± 2,50$^{\times\times\times}$
	4	120,0 ± 3,80	7,01 ± 0,42	9,98 ± 0,67	36,56 ± 0,56	71,30 ± 2,20
14	1	109,6 ± 3,40$^{\times\times\times}$	6,91 ± 0,55	4,81 ± 0,43$^{\times\times\times}$	32,62 ± 0,42	68,30 ± 1,80
	2	113,67 ± 3,47$^{\times\times}$	6,20 ± 0,33	3,80 ± 0,19$^{\times\times\times}$	32,17 ± 0,34$^{\times\times\times}$	66,95 ± 0,85
	3	100,1 ± 2,20$^{\times\times\times}$	5,19 ± 0,12$^{\times\times\times}$	3,13 ± 0,14$^{\times\times\times}$	28,29 ± 1,00$^{\times\times\times}$	51,10 ± 2,70$^{\times\times\times}$
	4	131,2 ± 2,40	7,10 ± 0,33	9,77 ± 0,74	36,44 ± 0,44	69,90 ± 2,50
21	1	110,2 ± 4,80$^{\times\times}$	7,11 ± 0,11	5,95 ± 0,83$^{\times\times}$	36,90 ± 0,71	70,30 ± 5,10
	2	113,87 ± 1,51$^{\times\times}$	6,48 ± 0,43	5,70 ± 0,38$^{\times\times\times}$	36,50 ± 0,47	68,78 ± 0,50
	3	–	–	–	–	–
	4	134,5 ± 4,30	6,98 ± 0,36	10,21 ± 0,62	36,74 ± 1,30	69,20 ± 3,40
28	1	116,1 ± 2,80$^{\times}$	7,00 ± 0,21	7,00 ± 0,88$^{\times}$	35,67 ± 1,23	70,60 ± 1,80
	2	116,50 ± 1,74$^{\times\times}$	6,66 ± 0,39	6,93 ± 0,38$^{\times\times}$	35,83 ± 0,52	69,25 ± 0,68
	3	–	–	–	–	–
	4	130,0 ± 3,80	7,02 ± 0,25	10,12 ± 0,57	35,84 ± 0,55	72,10 ± 2,60

Примечание: Данные представлены в виде: среднее арифметическое ± средняя квадратическая погрешность ($M \pm m$). Статистически значимое различие по отношению к контрольной группе при $\times$ – $p < 0,05$, $\times\times$ – $p < 0,01$, $\times\times\times$ – $p < 0,001$ по критерию Стьюдента; 1-я группа – гамма-облучение в дозе 8,3 Гр и лечение радиоинактивированным *F. necrophorum* в дозе 30 кГр (РНФ-30); 2-я группа – облучение животных в дозе 8,3 Гр и лечение ПРЛС подкожно в дозе 4 мг/особь; 3-я группа – контроль облучения; 4-я группа биологический контроль

Показатель гематокрита у крыс группы контроля облучения в период с 3 сут по 14-е сут опыта достоверно снижался. Этот показатель у пролеченных животных не снижался и был на уровне биологического контроля. Минимальное значение этого показателя в группе контроля облучения отмечено на 14 сут после облучения и составило 28,29 ± 1,00 % при 36,44 ± 0,44 % в биологическом контроле, а в группе с применением РНФ-30 этот показатель составлял 32,62 ± 0,42 %, ПРЛС – 32,17 ± 0,34 % соответственно.

Содержание общего белка в сыворотке крови животных в группе контроля облучения в течение первых трех суток достоверно снижалось до 59,80 ± 1,80 г/л ($p < 0,01$), с минимальным значением на 14 сут после гамма-облучения 51,10 ± 2,70 г/л ($p < 0,001$) по сравнению с группой биологического контроля 69,90 ± 2,50 г/л. У пролеченных животных существенных отличий этого показателя от такового в группе биологического контроля за период исследований не отмечалось.

Таким образом, изменения морфологического состава периферической крови гамма-облученных крыс характеризовались развитием выраженной лейкопении и анемии. У леченных животных изменения показателей эритроцитов были менее выраженными. Восстановление количества лейкоцитов и гемоглобина происходило медленно и продолжалось вплоть до конца исследований. При этом во все сроки исследований у животных, леченных разработанными лечебными средствами, количество лейкоцитов было выше по сравнению с группой контроля облучения.

Результаты исследований показателей системы иммунитета и интенсивности процесса перекисного окисления липидов у облученных и леченных белых крыс представлены в табл. 4.

Из данных таблицы видно, что у облученных белых крыс группы облученного контроля происходит резкое снижение количества Т- и В-лимфоцитов. Уже на 3-е сут количество Т-клеток у облученных животных снижено на 60 % ($p < 0,001$), максимум снижения отмечается на 14-е сут исследований и составляет 9,49 ± 0,26 % (33 % от уровня биологического контроля).

У животных, леченных разработанными лечебными средствами, также отмечалось снижение количества Т-клеток, но оно носило менее выраженный характер, чем в группе контроля облучения. Минимум количества Т-клеток у животных данной группы отмечен к 14-е сут и составил 13,69 ± 0,24 %, 13,28 ± 0,68 %, что на 47,6 %, 46,2 % ниже контрольных значений. В дальнейшем происходит восстановление количества Т-лимфоцитов, но даже к концу срока исследований (28 сут) в этих группах уровень Т-клеток полностью не восстанавливается до уровня биологического контроля. Количество В-лимфоцитов изменяется аналогично Т-лимфоцитам. Минимум количества В-лимфоцитов в опытных группах отмечен на 14 сут. Восстановление содержания В-клеток в периферической крови в общих чертах напоминает те же закономерности, которые проявляются при восстановлении Т-лимфоцитов. К концу срока исследований популяция В-клеток также полностью не восстанавливается.

Результаты исследований интенсивности процесса перекисного окисления липидов по содержанию в периферической крови у гамма-облученных и интактных крыс малонового диальдегида, позволили установить, что в группе облученного контроля происходит достоверное возрастание показателя перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови в первые трое суток по отношению к исходу и составляет в плазме 8,19 ± 0,31 нмоль/мл ($p < 0,01$) при 7,03 ± 0,16 нмоль/мл в исходе, в гемолизате – 7,59 ± 0,12 нмоль/мл ($p < 0,001$) при 5,01 ± 0,18 нмоль/мл в группе биологического контроля. Этот показатель оставался на этом же уровне на 7 сут эксперимента. Количество малонового диальдегида значительно возрастало на 14–21-е сут опыта. Максимальное повышение этого показателя в группе облученного контроля приходится на 14-е сут и составляет в крови 9,56±0,31 нмоль/мл ($p < 0,001$) при 6,26 ± 0,37 нмоль/мл в группе биологического контроля, в гемолизате эритроцитов –

Таблица 4

Показатели системы иммунитета и перекисного окисления липидов у белых крыс при облучении и применении лечебных средств, *n* = 6

Indicators of the immune system and lipid peroxidation in white rats under irradiation and the use of medicinal products, *n* = 6

Срок после облучения, сут	Группа опыта	Т-клетки, %	В-клетки, %	МДА, нмоль/мл	
				гемолизат	плазма
3	1	14,62 ± 0,33$^{×××}$	5,39 ± 0,24$^{×××}$	7,04 ± 0,23$^{×××}$	7,98 ± 0,12
	2	13,88 ± 0,15$^{×××}$	5,23 ± 0,34$^{×××}$	7,18 ± 0,64$^{××}$	8,10 ± 0,40$^{×}$
	3	11,21 ± 0,11$^{×××}$	4,35 ± 0,71$^{×××}$	7,59 ± 0,12$^{×××}$	8,19 ± 0,31$^{××}$
	4	28,09 ± 0,14	9,41 ± 0,17	5,01 ± 0,18	7,03 ± 0,16
7	1	15,10 ± 0,21$^{×××}$	4,54 ± 0,49$^{×××}$	6,06 ± 0,33	8,30 ± 0,33
	2	14,12 ± 0,26$^{×××}$	4,73 ± 0,39$^{×××}$	6,07 ± 0,61	8,60 ± 0,53
	3	11,51 ± 0,27$^{×××}$	3,47 ± 0,21$^{×××}$	7,81 ± 0,12$^{×××}$	8,94 ± 0,28$^{×}$
	4	28,50 ± 0,18	9,51 ± 0,25	5,26 ± 0,41	7,04 ± 0,61
14	1	13,69 ± 0,24$^{×××}$	4,11 ± 0,72$^{×××}$	6,73 ± 0,83	8,89 ± 0,33$^{×××}$
	2	13,28 ± 0,68$^{×××}$	4,23 ± 0,62$^{×××}$	6,57 ± 0,81	8,95 ± 0,48$^{××}$
	3	9,49 ± 0,26$^{×××}$	2,91 ± 0,38$^{×××}$	7,96 ± 0,21$^{×××}$	9,56 ± 0,31$^{×××}$
	4	28,73 ± 0,11	9,62 ± 0,23	5,12 ± 0,14	6,26 ± 0,37
21	1	17,91 ± 0,32$^{×××}$	5,85 ± 0,82$^{×××}$	5,90 ± 0,13	8,17 ± 0,33$^{××}$
	2	17,28 ± 0,25$^{×××}$	5,30 ± 0,19$^{×××}$	5,90 ± 0,67	8,65 ± 0,90$^{×}$
	3	–	–	–	–
	4	29,30 ± 0,15	9,87 ± 0,21	5,31 ± 0,72	6,45 ± 0,30
28	1	21,14 ± 0,74$^{×××}$	7,41 ± 0,13	5,59 ± 0,12	6,80 ± 0,41
	2	20,12 ± 0,34$^{×××}$	7,22 ± 0,50$^{×}$	5,50 ± 0,84	6,95 ± 0,54
	3	–	–	–	–
	4	28,94 ± 0,71	9,57 ± 0,68	5,20 ± 0,19	6,83 ± 0,60

Примечание: Условные обозначения согласно табл. 3

7,96 ± 0,21 нмоль/мл ($p < 0,001$) при 5,12 ± 0,14 нмоль/мл в контрольной группе.

Заключение

Облучение вызывало у всех контрольных животных, а также леченых крыс выраженные изменения в периферической крови. Однако, несмотря на сходный характер этих изменений, между контрольными и пролеченными животными наблюдались определенные различия, проявлявшиеся в меньшем снижении количества лейкоцитов и других показателей крови и более ранним и выраженным восстановлением их у пролеченных животных. Введение разработанных лечебных средств облученным животным вызывало у них более медленное снижение числа лейкоцитов в периферической крови. Выживаемость крыс при этом составила до 83,3 % при абсолютной гибели контроля облучения.

Таким образом, проведенными исследованиями на лабораторных животных установлено, что наиболее высокой противорадиационной эффективностью обладает лечебное средство микробного происхождения (РНФ-30), которое было получено путем гамма-облучения в дозе 30 кГр культуры *F. necrophorum*.

Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Baird E., Reid C., Cancio L.C., Gurney J.M, Burmeister D.M. A Case Study Demonstrating Tolerance of the Gut to Large Volumes of Enteral Fluids in Burn Shock. Int J Burns Trauma. 2021;11(3):202–206. doi: 10.1002/14651858.CD007715.pub2. PMID: 34336386 PMCID: PMC8310868.
2. Cannon G., Kiang J.G. An Overview of the Impact of Radiation on Ecology: Wildlife Population. Int J Radiat Biol. 2020;1–9. Online ahead of print. Doi: 10.1080/09553002.2020.1793021. PMID: 32663058.
3. Burmeister D.M., Johnson T.R., Lai Z., Scroggins S., DeRosa M., Jonas R.B., Zhu C., Scherer E., Stewart R.M., Schwacha M.G., Jenkins D.H., Eastridge B.J., Nicholson S.E. The Gut Microbiome Distinguishes Mortality in Trauma Patients Upon Admission to the Emergency Department. J Trauma Acute Care Surg. 2020;88(5):579–587. Doi:10.1097/TA.0000000000002612 PMID: 32039976 PMCID: PMC7905995
4. Jones C.B., Davis C.M., Sfanos K.S. The Potential Effects of Radiation on the Gut-Brain Axis. Radiat Res. 2020;193(3):209–222. Doi: 10.1667/RR15493.1. PMID: 31898468 Review.
5. Kalkeri R., Walters K., Pol W.V.D., McFarland B.C., Fisher N., Koide F., Morrow C.D., Singh V.K. Changes in the Gut Microbiome Community of Nonhuman Primate Following Radiation Injury. BMC Microbiome. 2021;21(1):93. Doi: 10.1186/s12866-021-02146-w PMID: 33781201.
6. Kiang J.G., Smith J.T., Cannon G., Anderson M.N., Ho C., Zhai M., Cui W., Xiao M. Ghrelin, a Novel Therapy, Corrects Cytokine and NF-kB-AKT-MAPK Network and Mitigates Intestinal Injury Induced by Combined Radiation and Skin-Wound Trauma. Cell Biosci. 2020;10:63. Doi: 10.1186/s13578-020-00425-z PMID: 32426105.
7. Гайнутдинов Т.Р., Вагин К.Н., Рыжкин С.А. Способ лечения радиационно-термических ожогов // Радиация и риск. Бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра. 2023. Т.32, №1. С 108–117. [Gaynutdinov T.R., Vagin K.N., Ryzhkin S.A. Method of Treatment of Radiation-Thermal Burns. *Radiatsiya i Risk* = Radiation and risk. Bulletin of the National Radiation-Epidemiological Register. 2023;32(1):108–117 (In Russ.)]. DOI: 10.21870/0131-3878-2023-32-1-108-117
8. DiCarlo A.L., Bandremer A.C., Hollingsworth B. A., Kasim S., Laniyonu A., Todd N.F., Wang S.J., Wertheimer E.R., Rios, C.I. Cutaneous Radiation Injuries: Models, Assessment and Treatments. Radiation research. 2020;194(3):315–344. Doi: 10.1667/RADE-20-00120.1.
9. Körmöndi S., Terhes G., Pál Z., Varga E., Harmati M., Buzás K., Urbán E. Human Pasteurellosis Health Risk for Elderly Persons Living with Companion Animals. Emerging infectious diseases. 2019;25(2):229–235. Doi: 10.3201/eid2502.180641.
10. Peng Z., Wang X., Zhou R., Chen H., Wilson B.A., Wu B. Pasteurella Multocida: Genotypes and Genomics. Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR. 2019;83(4):e00014-19. Doi: 10.1128/MMBR.00014-19
11. Kannangara D.W., Pandya D., Patel P. *Pasteurella multocida* Infections with Unusual Modes of Transmission from Animals to Humans: a Study of 79 Cases with 34 Nonbite Transmissions. Vector Borne Zoonotic Dis. 2020;Sep;20(9):637–651. Doi: 10.1089/vbz.2019.2558. Epub 2020 May 18. PMID: 32423307.
12. Shome R., Deka R.P., Sahay S., Grace D., Lindahl J.F. Seroprevalence of Hemorrhagic Septicemia in Dairy Cows IN Assam, India. Infection Ecology and Epidemiology. 2019;9(1):1604064. Doi: 10.1080/20008686.2019.1604064.
13. Davis C.M., Allen A.R., Bowles D.E. Consequences of Space Radiation on the Brain and Cardiovascular System. J Environ Sci Health C Toxicol Carcinog. 2021;39(2):180–218. Doi: 10.1080/26896583.2021.1891825 PMID: 33902387
14. Gorbunov N.V., Kiang J.G. Brain Damage and Patterns of Neurovascular Disorder after Ionizing Irradiation. Complications in Radiotherapy and Radiation Combined Injury. Radiat Res. 2021;196(1):1–16. Doi: 10.1667/RADE-20-00147.1. PMID: 33979447.
15. Wang Z., Wang Q., Wang X., Zhu L., Chen J., Zhang B., Chen Y., Yuan, Z. Gut Microbial Dysbiosis is Associated with Development and Progression of Radiation Enteritis during Pelvic Radiotherapy. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2019;23(5):3747–3756. Doi: 10.1111/jcmm.14289

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» для выполнения научно-исследовательской работы, государственная регистрация № 01200202604.

Участие авторов. Т.Р. Гайнутдинов – проведен литературный обзор по теме статьи, выполнена экспериментальная часть работы, обработан полученный материал, отредактирован текст, подготовлена рукопись. С.А. Рыжкин – научное руководство. К.Н. Вагин – оказана консультативная помощь по выполнению исследований. Е.Ю. Тризна –выполнена экспериментальной часть работы. С.Е. Охрименко – оказана консультативная помощь в выполнении экспериментальной части работы..

Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

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

Financing. The work was carried out at the expense of the funds of the subsidy allocated by the Federal State Budgetary Institution “FCTRB-VNIVI” for the performance of research work, state registration No. 01200202604.

Contribution. T.R. Gaynutdinov – a literary review on the topic of the article was conducted, the experimental part of the work was performed, the received material was processed, the text was edited, the manuscript was prepared. S.A. Ryzhkin – scientific guidance. K.N. Vagin – advisory assistance was provided on the implementation of research. E.Y. Trizna –the experimental part of the work was performed. S.E. Okhrimenko – advisory assistance was provided in the implementation of the experimental part of the work..

Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-26-34

Л.А. Ромодин[1], Е.И. Яшкина[1], А.А. Московский[2]

ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РИБОКСИНА, МЕДНОГО ХЛОРОФИЛЛИНА, ТРОЛОКСА И РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ ИНДРАЛИНА НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК А549 В КУЛЬТУРЕ

[1] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва
[2] Российский биотехнологический университет, Москва

Контактное лицо: Леонид Александрович Ромодин, e-mail: rla2904@mail.ru

РЕФЕРАТ

В настоящее время наиболее часто в качестве экспериментальной модельной системы в биологических исследованиях используют культуры клеток. Однако для корректного планирования исследований с использованием данной модельной системы требуется учитывать множество аспектов. Так, для возможности правильной оценки действия радиозащитных препаратов на клетки предварительно нужно изучить влияние данных веществ на свойства клеток в культуре. И главным таким свойством для работ с использованием планшетных ридеров является способность клеток к адгезии на дне планшета и скорость пролиферации клеток. Настоящая работа посвящена изучению влияния рибоксина (инозина), медного хлорофиллина, тролокса и индралина на ростовые свойства клеток в культуре на примере клеточной линии А549 – аденокарциномы лёгкого человека. Рибоксин, хлорофиллин и тролокс являются перспективными соединениями с точки зрения изучения их радиозащитных свойств. Индралин – это эталонный классический радиопротектор. В настоящем исследовании использована его водорастворимая форма, содержащая винную кислоту, для возможности растворения индралина в воде. Эксперимент заключался в инкубации клеток линии А549 в течение суток в растворе рибоксина (инозина), медного хлорофиллина, тролокса или винной кислоты концентрацией 2 мМ или в смеси 2 мМ винной кислоты и 1,9 мМ индралина с последующей оценкой содержания клеток в пробах по сравнению с клетками, инкубированными без внесения указанных веществ, на основании флуоресценции красителя Hoechst-33342. Дополнительный эксперимент с хлорофиллином заключался в инкубации уже прикрепившихся ко дну планшета клеток с хлорофиллином в диапазоне концентраций 50–500 мкМ в течение 2,5 ч с последующей оценкой содержания оставшихся в планшете клеток. Все изучаемые вещества статистически значимо показали снижение содержания клеток в пробах по сравнению с контролем. В наибольшей степени снижение содержания клеток наблюдалось в пробе с хлорофиллином, в наименьшей – с рибоксином. В результате дополнительного опыта по инкубации уже прикрепившихся клеток в растворе хлорофиллина концентрациями 50–500 мкМ было показано, что данное вещество дозозависимо угнетает адгезивные свойства клеток линии А549. При этом хлорофиллин уже в концентрации 50 мкМ статистически значимо снижал содержание клеток в пробе после отмывки лунок планшета по сравнению с контрольной пробой. Снижение содержания клеток в пробе, содержащей смесь индралина и винной кислоты, было статистически значимо более выраженным, чем вызванное инкубацией в растворе только винной кислоты. То есть, признанный радиопротектор индралин продемонстрировал выраженное угнетение ростовых свойств клеток линии А549. На основании полученной информации можно сделать вывод о том, что при планировании будущих исследований изученных в настоящей работе веществ на модели культуры клеток необходимо учитывать тот факт, что они угнетают рост клеточной культуры.

Ключевые слова: *культура клеток, А549, рибоксин, медный хлорофиллин, тролокс, индралин, винная кислота, оценка влияния*

Для цитирования: Ромодин Л.А., Яшкина Е.И., Московский А.А. Флуориметрическая оценка влияния рибоксина, медного хлорофиллина, тролокса и растворимой формы индралина на ростовые свойства клеток А549 в культуре // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 26–34. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-26-34

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-26-34

L.A. Romodin[1], E.I. Yashkina[1], A.A. Moskovskij[2]

Fluorimetric Evaluation of the Effect of Riboxin, Copper Chlorophyllin, Trolox and the Soluble form of Indralin on the Growth Properties of A549 Cells in Culture

[1] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia
[2] Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

Contact person: L.A. Romodin, e-mail: rla2904@mail.ru

ABSTRACT

Currently, cell cultures are most often used as an experimental model system in biological research. However, to correctly plan studies using this model system, many aspects must be taken into account. Thus, to be able to correctly assess the effect of radioprotective drugs on cells, it is first necessary to study the effect of these substances on the properties of cells in culture. And the main property for work using plate readers is the ability of cells to adhere to the bottom of the plate and the rate of cell proliferation. This work is devoted to the study of human riboxin (inosine), copper chlorophyllin, trolox and indralin, the growth properties of cells in a culture based on the A549 cell line - human lung adenocarcinoma. Riboxin, chlorophyllin and trolox are promising compounds that make it possible to study their radioprotective properties. Indralin is a reference classic radioprotector. This process used a water-soluble form containing tartaric acid to allow indralin to dissolve in water. The experiment consisted of incubating A549 cells for 24 hours in a solution of riboxin (inosine), copper chlorophyllin, Trolox or tartaric acid at a concentration of 2 mM or in a mixture of 2 mM tartaric acid and 1.9 mM indralin, followed by assessment of the cell content in the samples compared to cells incubated without the addition of these substances, based on the fluorescence of the Hoechst-33342 dye. An additional experiment with chlorophyllin consisted in incubating cells with chlorophyllin already attached to the bottom of the tablet in the

concentration range of 50–500 μM for 2.5 hours, followed by an assessment of the content of the remaining cells in the tablet. All studied substances statistically significantly reduced the cell content in the samples compared to the control. The greatest decrease in cell content was observed in the sample with chlorophyllin, and the least – with riboxin. As a result of additional experience in incubating already attached cells in chlorophyllin solution with concentrations of 50–500 μM, it was shown that this substance dose-dependently inhibits the adhesive properties of cells of the A549 line. At the same time, chlorophyllin already at a concentration of 50 μM statistically significantly reduced the cell content in the sample after washing the wells of the tablet compared with the control sample.
The decrease in cell content in the sample containing a mixture of indralin and tartaric acid was statistically significantly more pronounced than that caused by incubation in a solution of tartaric acid alone. That is, the recognized radioprotector indralin demonstrated a pronounced inhibition of the growth properties of the A549 cell line. Based on the information obtained, we can conclude that when planning future studies of the substances studied in this work on a cell culture model, it is necessary to take into account the fact that they inhibit the growth of the cell culture.

Keywords: *cell culture, A549, riboxin, copper chlorophyllin, trolox, indralin, tartaric acid, influence estimation*

For citation: Romodin LA, Yashkina EI, Moskovskij AA. Fluorimetric Evaluation of the Effect of Riboxin, Copper Chlorophyllin, Trolox and the Soluble form of Indralin on the Growth Properties of A549 Cells in Culture. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):26–34. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-26-34

Введение

В настоящее время весьма широко используются культуры клеток в качестве экспериментальной модельной системы в радиобиологических исследованиях [1–4]. Поэтому крайне важным представляется разработка корректной методологии проведения научных исследований с использованием данной модельной системы.

Так, для корректного планирования исследований с использованием культур клеток необходимо учитывать множество аспектов. И, если речь идёт об исследовании влияния различных факторов на клетки, например изучение способности различных веществ смягчать последствия воздействия ионизирующего излучения, то нужно понимать, как эти факторы по-отдельности действуют на клетки. Именно поэтому перед проведением исследований действия радиозащитных препаратов на модели культур клеток предварительно нужно изучить влияние данных веществ на свойства данных культур.

По причине широкого распространения в последнее время работ с использованием планшетных ридеров и визуализирующих микроскопов особо актуальным представляется исследование влияния признанных и перспективных радиозащитных препаратов на способность клеток к адгезии на дне планшета и на скорость пролиферации клеток. К примеру, ранее нами было показано, что янтарная и аскорбиновая кислоты угнетают ростовые свойства клеток линии А549 в культуре [5].

Цель настоящей работы – изучить влияние рибоксина (инозина), медного хлорофиллина, тролокса и индралина на ростовые свойства клеток в культуре на примере клеточной линии А549 – аденокарциномы лёгкого человека. Формулы изучаемых веществ приведены на рис. 1.

Выбор данных веществ обусловлен сообщениями об их радиозащитных свойствах. Так, известно, что рибоксин обладает генопортекторным эффектом [6–8], а также при введении животным после облучения повышает уровень их выживаемости [9, 10]. Но при этом в литературе имеются сведения о возможной цитостатической активности рибоксина [11]. Поэтому проведение настоящего эксперимента с данным веществом весьма актуально.

Тролокс – это водорастворимая форма витамина Е, в ряде исследований данное вещество применяется в качестве эталонного антиоксиданта [12, 13]. А так как состояние окислительного стресса является одной из главных составляющих биологического действия ионизирующего излучения [14, 15], можно предположить, что антиоксидант может проявить радиозащитный эффект. К слову, имеются сообщения, что тролокс снижает степень негативных последствий действия ионизирующего [13] и неионизирующего [16] излучений.

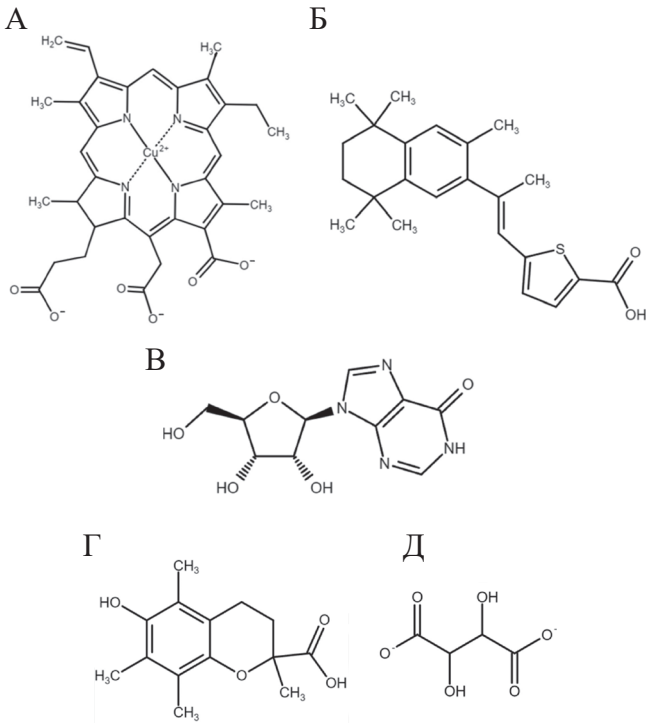


Рис. 1. Структурные формулы изучаемых веществ: (А) хлорофиллин в форме медного комплекса хлорина e_6; (Б) индралин, используемый в виде смеси с винной кислотой; (В) рибоксин; (Г) тролокс; (Д) L(+)-винная кислота

Fig. 1. Structural formulas of the studied substances: (A) chlorophyllin in the form of a copper complex of chloride e_6; (B) indralin, used in a mixture with tartaric acid; (B) riboxin; (Г) trolox; (Д) L(+)-tartaric acid

Кроме того, авторы [17] сообщают о противоопухолевой активности конъюгатов тролокса с нитроксидами. Таким образом, тролокс вполне может обладать цитостатическим действием на клеточные культуры. Поэтому в настоящей работе изучается влияние данного вещества на ростовые свойства клеток аденокарциномы лёгкого.

К перспективным радиозащитным средствам также можно отнести и препараты на основе зелёного пигмента растений хлорофилла. В литературе есть сообщения о радиозащитных свойствах самого хлорофилла [18, 19]. Однако существенно чаще предметом изучения радиозащитных свойств выступал водорастворимый продукт омыления хлорофилла – хлорофиллин [20–25]. Анализ информации о радиозащитных свойствах препаратов на основе хлорофилла представлен в обзоре [26].

Для большей устойчивости соединения при производстве хлорофиллина координированный атом магния,

имеющий место в хлорофилле растений, заменяется на атом меди. А циклопентановое кольцо хлорофиллина часто распадается. В этом случае хлорофиллин-*a*, превращается в вещество, называемое хлорином e_6 (рис. 1А). И очень часто именно хлорин e_6 продаётся фирмами-изготовителями химических реактивов под названием «хлорофиллин».

Анализируя работы, в которых изучали различные свойства хлорофиллина, чаще всего невозможно определить, использовали ли в них непосредственно сам медный хлорофиллин или медный комплекс хлорина e_6. Однако ввиду практически полной аналогичности данных молекул, их свойства должны быть если не аналогичными, то весьма схожими. И так как исторически сложилось, что словом «хлорофиллин» также называют и хлорин e_6, что в препарате хлорофиллина могут присутствовать оба вещества и что явных отличий между веществами нет, мы считаем, что, по крайней мере на первом этапе исследований, когда в нашем распоряжении нет собственного производства порфиринов, вполне можно не заострять внимания на разнице между хлорофиллином и хлорином e_6 и, подобно другим авторам и производителям реактивов, называть оба вещества словом «хлорофиллин».

В литературе имеется много сообщений об угнетении хлорофиллином раковых клеток [27–31]. Поэтому проводимое в настоящей работе изучение влияния данного вещества на ростовые свойства клеточной линии А549 аденокарциномы лёгкого необходимо для адекватного планирования будущих работ по изучению действия хлорофиллина на клетки, подвергнутые влиянию других факторов, включая ионизирующее излучение.

Индралин – это эталонный классический радиопротектор [32, 33]. С ним сравнивают эффекты других радиозащитных веществ в различных исследованиях [6, 7, 34–37]. Поэтому в настоящей работе мы также изучили влияние индралина на ростовые свойства клеток линии А549.

Индралин сам по себе не растворяется в воде. Поэтому мы использовали его в виде смеси с винной кислотой в соотношении, близком к эквимолярному. В подобном виде индралин используют в работах, предполагающих его введение в организм подопытным животных в виде инъекционной формы [7, 34].

Однако дополнительное (помимо индралина) наличие в культуральной среде винной кислоты затрудняет интерпретацию результатов эксперимента по изучению влияния индралина на ростовые свойства клеток аденокарциномы лёгкого. Поэтому мы также провели аналогичный эксперимент с раствором винной кислоты, в котором её концентрация соответствует таковой в смеси с индралином.

Данные измерения мы посчитали обязательными для проведения по причине имеющейся в литературе информации о том, что различные производные винной кислоты обладают противоопухолевой активностью [38–42]. А потому винная кислота может сама по себе угнетать рост клеток линии А549 в культуре.

Материал и методы

Эксперимент проводился в 96-луночном планшете с использованием клеточной линии аденокарциномы лёгкого человека, А549 (American Type Culture Collection, США). В ячейки планшета мы вносили по 20000 клеток в 100 мкл полной среды RPMI 1640. Среда была приготовлена путём добавления к 450 мл среды RPMI Medium 1640 1x (GIBCO (Life Technologies (Invitrogen)), США) 50 мл инактивированной Fetal bovine serum (Thermo Fisher Scientific США), 146 мг L-глутамина (ПанЭко, РФ), смеси 25000 ед. пенициллина и 25 мг стрептомицина (ПанЭко, Россия). Далее в ячейки планшета было внесено по 100 мкл следующих растворов: 4 мМ тролокс (Sigma-Aldrich, Merck, США), медный хлорофиллин (Macklin, Китай), 4 мМ рибоксин (ОАО «Дальхимфарм», Россия), 4 мМ винная кислота (Macklin, Китай) или смесь 3,79 мМ индралина (НПЦ «Фармзащита», Россия) и 4 мМ винной кислоты (Китай). В итоге концентрация данных веществ, за исключением индралина, в планшете составила 2 мМ, концентрация индралина – 1,9 мМ.

Далее планшет инкубировался в течение суток в CO_2-инкубаторе при 37 °С. После этого из каждой ячейки было отобрано по 40 мкл клеточной среды и внесено 40 мкл раствора флуоресцирующего красителя Hoechst-33342 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) концентрацией 5 мкг/мл (8,1 мкМ). Данный флуорофор связывается с ДНК, поэтому по его флуоресценции можно оценивать содержание клеток в пробах [43, 44].

Далее с использованием планшетного флуориметра FLUOstar Omega (BMG LABTECH, Германия) была зарегистрирована интенсивность флуоресценции (коэффициент усиления 1500) на длине волны 460 нм при возбуждении проб светом длиной волны 355 нм. В качестве пробы сравнения, значение интенсивности флуоресценции в которой вычиталось из таковых значений в других пробах, выступила проба, в которой присутствовали окрашенные Hoechst-33342 клетки без внесения изучаемых веществ. Каждая проба выполнялась в 8 повторностях.

Изучение способности хлорофиллина различных концентраций подавлять адгезивные свойства клеток линии А549

Эксперимент так же, как и предыдущий, проводился в 96-луночном планшете с использованием клеточной линии аденокарциномы лёгкого человека А549. В ячейки планшета мы вносили по 25 000 клеток в 100 мкл полной среды RPMI 1640 без внесения сыворотки. Далее планшет с клетками инкубировался в CO_2-инкубаторе при температуре 37 °С. После этого в пробы было внесено по 100 мкл растворов хлорофиллина так, чтобы итоговая концентрация хлорофиллина в пробах находилась в диапазоне 50–500 мкМ. В контрольные пробы было внесено 100 мкл среды. Далее пробы инкубировались при температуре 37 °С в течение 2,5 ч, после чего из лунок планшета было отобрано по 150 мкл среды и внесено по 50 мкл раствора флуоресцентного красителя Hoechst-33342 концентрацией 2 мкг/мл. После этого пробы инкубировались в течение 10 мин при температуре 37 °С, после чего из них было отобрано по 90 мкл среды и внесено по 190 мкл полной среды RPMI 1640 без бычьей сыворотки. Далее пробы инкубировались в течение часа при температуре 37 °С. После этого из проб было отобрано по 190 мкл среды и внесено по 50 мкл фосфатного буфера, приготовленного путём растворения таблеток PBS (Thermo Fisher Scientific, США) в деионизированной воде. Далее была зарегистрирована интенсивность флуоресценции проб на длине волны 460 нм при возбуждении проб светом с длиной волны 355 нм с использованием планшетного флуориметра FLUOstar Omega с установленным значением gain-factor, равным 1300. В качестве пробы сравнения, значение интенсивности флуоресценции в которой вычиталось из таковых значений в других пробах, выступила проба, в которую вносились только клетки в среде, без внесения изучаемых препаратов. Каждая проба выполнялась в 8 повторностях.

Результаты

На рис. 2 представлены средние значения интенсивности флуоресценции в образцах, в течение суток инкубированных в 2 мМ растворах тролокса, хлорофиллина, рибоксина, винной кислоты и смеси 1,9 мМ индралина и 2 мМ винной кислоты.

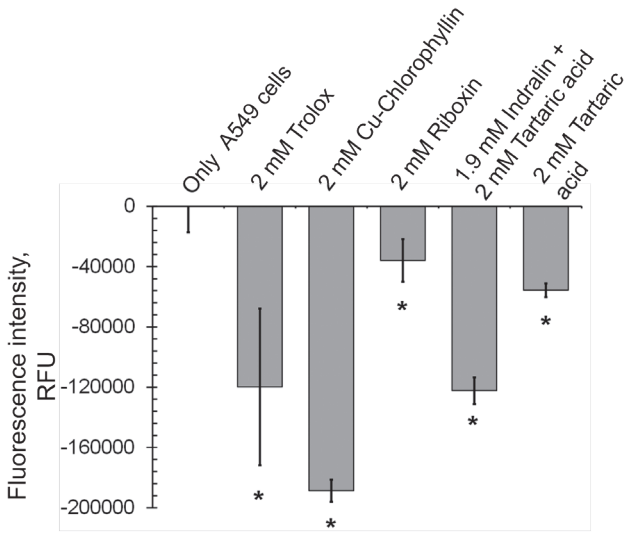


Рис. 2. Уменьшение интенсивности флуоресценции Hoechst-33342 (рабочая концентрация 1 мкг/мл (1,62 мкМ)) под действием тролокса, хлорофиллина, рибоксина, винной кислоты и смеси индралина и винной кислоты по сравнению с контрольной пробой после суточной инкубации – доказательство торможения роста клеток в культуре под действием данных веществ. *статистически значимое (p = 95 %) отличие от контроля (клетки без внесения указанных веществ), данные представлены в виде среднего арифметического ± предельная погрешность среднего

Fig. 2. Reduction of fluorescence intensity Hoechst-33342 (working concentration of 1 μg/ml (1.62 μM)) under the action of trolox, chlorophyllin, riboxin, tartaric acid and a mixture of indralin and tartaric acid compared with the control sample after daily incubation – evidence of inhibition of cell growth in culture under the action of these substances. *statistically significant (p = 95 %) difference from the control (cells without the introduction of these substances), the data are presented in the form of arithmetic mean ± marginal error of the mean

Как видно из данных, представленных на рис. 2, все изучаемые вещества статистически значимо влияют на ростовые свойства культуры клеток в сторону их угнетения. При этом наибольшее угнетение оказывает медный хлорофиллин. Существенное угнетение наблюдается и под действием тролокса и индралина. Для последнего необходимо указать, что угнетение ростовых свойств А549 смесью индралина и винной кислоты статистически значимо превосходит таковое для чистой винной кислоты, хотя она также значимо уменьшает содержание клеток в пробе относительно контроля.

Хотя 2 мМ рибоксин также статистически значимо уменьшает содержание клеток в пробе, его влияние, по сравнению с другими изучаемыми веществами, минимально. Относительно небольшой эффект оказывает и чистая винная кислота.

Изучение способности хлорофиллина различных концентраций подавлять адгезивные свойства клеток линии А549

Так как медный хлорофиллин показал наиболее выраженное угнетение ростовых свойств клеток линии А549, мы провели также эксперимент по изучению влияния данного вещества на адгезивные свойства уже прикрепившихся ко дну лунок планшета клеток указанной линии, иными словами – по изучению способности хлорофиллина открепить клетки, прикрепившиеся ко дну планшета. При этом мы использовали хлорофиллин в существенно меньших концентрациях, чем в основном эксперименте: вместо 2 мМ хлорофиллина – хлорофиллин в диапазоне концентраций 50–500 мкМ.

В описываемом дополнительном эксперименте с хлорофиллином изучалось не общее влияние данного вещества на ростовые свойства клеток линии А549 как совокупность адгезивных и пролиферативных их свойств, а именно его влияние на способность клеток оставаться прикреплёнными к субстрату – дну лунок планшета. Для этого мы вносили хлорофиллин в лунки планшета не вместе с клетками, а только спустя 12 ч после внесения в них клеточной суспензии. За это время клетки аденокарциномы успевают полноценно прикрепиться к субстрату. А так как указанный опыт не предполагал того, что клетки должны активно делиться, мы использовали питательную среду без добавления сыворотки.

Клетки инкубировались в растворах хлорофиллина в течение 2,5 ч, после чего они были окрашены красителем Hoechst-33342. При замене среды при отмывке от не проникшего в клетки красителя и перед началом измерений на флуориметре клетки, под действием хлорофиллина открепившиеся от дна лунок планшета, забирались вместе со средой. Поэтому к моменту регистрации флуоресценции в лунках планшета оставались лишь клетки, по-прежнему прикреплённые к их дну. Поэтому на основании снижения интенсивности флуоресценции Hoechst-33342, светящегося при связывании с ДНК, можно говорить об угнетении хлорофиллином адгезивных свойств клеток в соответствующих пробах.

В роли референсной пробы в данном эксперименте, в отличие от основного, описываемого в настоящей статье, выступали неокрашенные Hoechst-33342 клетки. Это позволило оценивать то, какая доля клеток сохраняет адгезивные свойства после инкубации в растворах хлорофиллина.

В табл. 1 представлены данные об интенсивности флуоресценции Hoechst-33342 в пробах, предварительно подвергшихся инкубации в присутствии хлорофиллина различных концентраций.

Таблица 1

Интенсивность флуоресценции в канале ex355/em460 клеток линии А549, окрашенных Hoechst-33342, предварительно инкубированных в хлорофиллине различных концентраций. Данные представлены в виде среднего арифметического ± предельная погрешность среднего при доверительной вероятного 99 %

Fluorescence intensity in the ex 355/em460 channel of cells of the A549 line stained with Hoechst-33342, pre-incubated in chlorophyllin of various concentrations. The data is presented as an arithmetic mean ± the marginal error of the mean with a confidence probability of 99 %

Концентрация хлорофиллина, мкМ	Интенсивность флуоресценции в канале ex355/em460, о.е.
0	56974 ± 3863
50	43182 ± 5436
100	31603 ± 6494
150	27262 ± 6706
200	19905 ± 6384
250	18756 ± 4994
300	15658 ± 4820
350	14847 ± 2371
400	10460 ± 1768
500	7293 ± 2741

Из представленных в табл. 1 сведений следует, что хлорофиллин дозозависимо снижает число клеток в пробах. Для унификации полученных данных мы провели их обработку, заключающуюся в делении значений интенсивности флуоресценции Hoechst-33342 в пробах, инкубированных в хлофиллине, на значение интенсивности флуоресценции Hoechst-33342 в контрольной пробе, не подвергнутой влиянию хлорофиллина. Таким образом мы получили примерную зависимость доли клеток, сохраняющих способность удерживаться на дне планшета, от концентрации раствора хлорофиллина, в котором данные клетки предварительно были проинкубированы.

Зависимость относительной интенсивности флуоресценции Hoechst-33342 от концентрации хлорофиллина в пробах, инкубированных в растворах хлорофиллина различных концентраций, по отношению к её уровню в контрольной, не подверженной влиянию хлорофиллина, приведена на рис. 3.

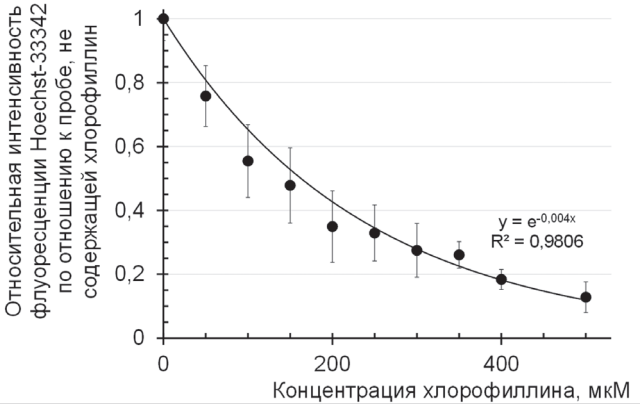


Рис. 3. Относительная интенсивность флуоресценции в канале ex355/em460 по отношению к пробе, не содержащей хлорофиллин, проб с клетками линии A549, окрашенных Hoechst-33342, предварительно инкубированных в хлорофиллине концентрацией до 500 мкМ. $J_{rel.}$ – отношение интенсивности флуоресценции в опытной пробе к интенсивности флуоресценции пробы, не содержащей хлорофиллин. C – концентрация хлорофиллина в среде, в которой предварительно были инкубированы клетки, мкМ. R^2 – коэффициент достоверности аппроксимации, $p = 0{,}99$

Fig. 3. The relative intensity of fluorescence in the ex 355/em460 channel in relation to the chlorophyllin-free sample of samples with cells of the A549 line stained with Hoechst-33342, pre-incubated in chlorophyllin concentration up to 500 μM. $J_{rel.}$ – the ratio of the fluorescence intensity in the experimental sample to the fluorescence intensity of the sample that does not contain chlorophyllin. C – the concentration of chlorophyllin in the medium in which the cells were previously incubated, μM. R^2 is the confidence coefficient of the approximation, $p = 0.99$

На основании данных, представленных в таблице 1 и на рис. 3, можно говорить о том, что хлорофиллин уже в относительно небольших концентрациях, от 50 мкМ, угнетает способность клеток аденокарциномы лёгкого связываться с субстратом. При этом необходимо учитывать, что потеря способности клетками продолжать оставаться связанными с субстратом вызвана существенным угнетением их метаболизма и снижением жизнеспособности.

Обсуждение результатов

Полученные в настоящей работе результаты касательно угнетения ростовых свойств клеток линии A549 под действием медного хлорофиллина, тролокса, рибоксина, винной кислоты и индралина вносят существенные коррективы в алгоритм проведения исследований с участием данных веществ при использовании культур клеток в качестве экспериментальных модельных систем. Так, некорректной становится схема эксперимента, предполагающая высевание клеток в планшеты со средой, содержащей изученные в настоящей работе препараты, и длительную инкубацию клеток с целью наращения клеточной популяции в пробах с последующим влиянием на них каким-либо фактором и изучением различных свойств клеток без проверки количественного содержания клеток в пробах и/или их нормирования.

То есть при проведении экспериментов, предполагающих длительную предварительную инкубацию клеток в растворах изученных в настоящей работе веществ, необходимо учитывать то, что число клеток в данных пробах будет ниже такового в пробах, в которые указанные вещества не вносятся.

Угнетение ростовых свойств клеток линии A549 под действием рибоксина (инозина) по сравнению с клетками, инкубированными в чистой среде RPMI 1640, хотя и минимально, по сравнению с другими изученными в настоящей работе веществами, но всё же статистически значимо. Данный результат нас удивил в связи с тем, что рибоксин считается стимулятором клеточного метаболизма, приводящим к увеличению активности и жизнеспособности клеток, так как нуклеозиды являются естественными метаболитами, а общим их свойством является способность усиливать анаболические процессы по механизму субстратного регулирования, что приводит к интенсификации синтеза белка и нуклеиновых кислот и ускорению процессов репарации радиационных повреждений ДНК [45]. Хотя авторы [11] сообщают о цитостатическом действии производного рибоксина на линию опухолевых клеток.

Поэтому наш результат нельзя считать всё же в корне расходящимся с имеющимися в литературе представлениями. Можно предположить, что включение инозина в мРНК и тРНК может способствовать изменению протеома клеток [46], что теоретически может снизить их жизнеспособность, способность к пролиферации или адгезии на дне планшета.

Тролокс является классическим антиоксидантом. Согласно литературным данным, антиоксиданты способствуют пролиферации клеток [47–49]. Однако также имеются данные о том, что обладающие антиоксидантными свойствами индол-3-карбинол и ресвератрол являются антипролиферативными агентами для опухолевых клеток [50]. А сообщение авторов [17] о противоопухолевой активности конъюгатов тролокса с нитроксидами придаёт некую закономерность полученному нами результату.

Кроме того, имеются данные о том, что токоферол (тролокс – это растворимая в воде его форма) может угнетать некоторые формы рака [51, 52]. Однако в указанных исследованиях описанный эффект достигался при совместном использовании витамина Е с другим веществом.

Здесь вполне можно упомянуть и наше собственное исследование [5], в ходе которого показан схожий с описываемым нами в настоящей работе эффект угнетения 2 мМ аскорбиновой кислотой ростовых свойств клеток линии A549.

Таким образом, влияние антиоксидантов на пролиферацию клеток не является однозначным. При этом, вполне возможно, что способность некоторых из них подавлять рост определенных клеток обусловлена не их именно антиоксидантными свойствами, а другими причинами.

Медный хлорофиллин показал наибольший эффект по угнетению ростовых свойств клеток аденокарцино-

мы лёгкого. При этом данное подавление обусловлено не только торможением пролиферации клеток, но и угнетением способности клеток к адгезии на дно лунки планшета. Последнее было доказано в ходе дополнительного эксперимента, в результате которого было показано, что хлорофиллин даже в концентрации 50 мкМ не только не даёт клеткам аденокарциномы лёгкого прикрепляться к субстрату, но и способствует отделению от него уже прикрепившихся клеток. И доля таких открепляющихся клеток увеличивается с ростом концентрации хлорофиллина.

Если обращаться к литературе, то сведения относительно влияния хлорофиллина на рост раковых клеток носят противоречивый характер. Большое число исследователей сообщает об угнетении раковых клеток под действием хлорофиллина [27–31]. Однако авторы [53] показали, что хлорофиллин защищает клетки от цитостатического и цитотоксического действия хинакринового иприта.

Прямо противоположные по смыслу сообщения в литературе и самое выраженное, относительно других изученных нами веществ, подавление хлорофиллином ростовых свойств клеток линии А549 делают данное вещество наиболее интересным для дальнейших исследований. Для понимания общей картины влияния хлорофиллина на ростовые свойства клеток в культуре необходимо проведение экспериментов на различных клеточных линиях.

В целом, полученные сведения о подавлении ростовых свойств клеток аденокарциномы лёгкого в культуре веществами, обладающими радиозащитным действием, кажется весьма интересным. И полученный результат приводит к мысли о том, что, вполне возможно, комбинированное применение данных веществ совместно с лучевой терапией онкологических заболеваний может повысить её эффективность.

Считаем необходимым заметить, что широко применяемый на Западе радиопротектор амифостин широко используется при лучевой терапии онкологических больных [54].

Если говорить о табельном отечественном радиопротекторе индралине, то эффект подавления ростовых свойств клеток линии А549 под действием его в смеси с винной кислотой значимо превосходит эффект самой винной кислоты. Это позволяет предположить, что индралин также угнетает ростовые свойства клеток в культуре.

Индралин является агонистом α1-адренорецепторов, именно это его свойство обеспечивает проявление им радиозащитного эффекта в следствие создания гипоксии в тканях по причине сужения кровеносных сосудов [32].

Достоверной информации касательно влияния веществ с подобными свойствами на ростовые свойства клеток в культуре нам найти не удалось. Однако известно, что агонисты β-адренорецепторов стимулируют процессы пролиферации и метастазирования в раке молочной железы, прямой кишки, предстательной и поджелудочной желёз и аденокарциноме лёгкого [55].

То есть, вещества из этих двух групп могут обладать противоположными свойствами. Однако здесь необходимо учитывать, что какие-либо эффекты при обработке культуры клеток тем или иным веществом могут кардинальным образом отличаться от эффектов при воздействии данного вещества на целый организм. Поэтому для окончательных выводов касательно влияния изученных нами веществ на рост клеток необходимо проведение обширных исследований на различных экспериментальных модельных системах.

А если говорить об исследованиях на культуре клеток, то здесь целесообразным мы считаем повторение проведённого нами в настоящей работе эксперимента с использованием других клеточных линий, причём среди них должна также быть и линия неоопухолевых клеток, такие культуры часто называют диплоидными [56, 57]. В этом случае появится понимание того, на сколько универсальны описанные нами эффекты.

Заключение

Таким образом, мы на основании флуоресценции красителя Hoechst-33342, светящегося при связывании с ДНК клеток, показали статистически значимое подавление ростовых свойств клеток аденокарциномы лёгкого человека линии А549 под действием 2 мМ растворов медного хлорофиллина, рибоксина, тролокса, винной кислоты и смеси 1,9 мМ индралина и 2 мМ винной кислоты по сравнению к ростом клеток, не подвергнутых влиянию данных веществ. Причём эффект от смеси индралина и винной кислоты статистически значимо сильнее, чем от действия одной винной кислоты.

Влияние тролокса, в целом, схоже с влиянием смеси индралина и винной кислоты. Влияние самой винной кислоты немногим выше, чем у рибоксина, показавшего наименьший, хотя и статистически значимый, эффект подавления ростовых свойств клеток А549.

Показанный нами эффект может быть обусловлен как непосредственно угнетением изучаемыми препаратами пролиферации клеток, так и подавлением ими адгезии клеток к дну планшета. При этом, скорее всего, свой вклад в полученный нами результат внесли оба этих фактора.

Наибольший эффект в нашем исследовании продемонстрировал 2 мМ хлорофиллин. Поэтому с данным веществом мы провели дополнительный эксперимент, в результате которого мы показали, что данное вещество дозозависимо угнетает адгезивные свойства уже прикрепившихся клеток линии А549. При этом данный эффект статистически значимо проявлял хлорофиллин даже в концентрации 50 мкМ.

Результаты настоящей работы необходимо учитывать при планировании экспериментов с участием изученных нами веществ на модели культур клеток.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Lei G., Zhang Y., Koppula P., Liu X., Zhang J., Lin S.H., Ajani J.A., Xiao Q., Liao Z., Wang H., Gan B. The Role of Ferroptosis in Ionizing Radiation-Induced Cell Death and Tumor Suppression // Cell Research. 2020. Vol.30. P.146–162. doi: 10.1038/s41422-019-0263-3.
2. Raitanen J., Barta B., Hacker M., Georg D., Balber T., Mitterhauser M. Comparison of Radiation Response between 2D and 3D Cell Culture Models of Different Human Cancer Cell Lines // Cells. 2023. Vol.12. No.3. P.360. doi: 10.3390/cells12030360.
3. Jooyan N., Mortazavi S.M.J., Goliaei B., Faraji-Dana R. Indirect Effects of Interference of Two Emerging Environmental Contaminants on Cell Health: Radiofrequency Radiation and Gold Nanoparticles // Chemosphere. 2024. Vol.349. P.140942. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.140942.
4. Pustovalova M., Astrelina capital Te C., Grekhova A., Vorobyeva N., Tsvetkova A., Blokhina T., Nikitina V., Suchkova Y., Usupzhanova D., Brunchukov V., Kobzeva I., Karaseva capital Te C., Ozerov I.V., Samoylov A., Bushmanov A., Leonov S., Izumchenko E., Zhavoronkov A., Klokov D., Osipov A.N. Residual GammaH2AX Foci Induced by Low Dose X-Ray Radiation in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Do Not Cause Accelerated Senescence in the Progeny of Irradiated Cells // Aging. 2017. Vol.9. No.11. P.2397–2410. doi: 10.18632/aging.101327.
5. Ромодин Л.А., Яшкина Е.И., Московский А.А. Флуориметрическая оценка влияния яблочной, янтарной и аскорбиновой кислот на ростовые свойства клеток А549 в культуре // Медицинская радиобиология и радиационная безопасность. 2024. Т.69. №1. С.28–32. doi: 10.33266/1024-6177-2024-69-1-28-32.

6. Сычёва Л.П., Рождественский Л.М., Лисина Н.И., Шлякова Т.Г., Зорин В.В. Антимутагенная активность и гепатопротекторное действие противолучевых препаратов // Медицинская генетика. 2020. Т.19. №9(218). С.81–82. doi: 10.25557/2073-7998.2020.09.81-82.
7. Сычёва Л.П., Лисина Н.И., Щеголева Р.А., Рождественский Л.М. Антимутагенное действие противолучевых препаратов в эксперименте на мышах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т.59. №4. С.88–393. doi: 10.1134/S086980311904012X.
8. Гудков С.В., Гудкова О.Ю., Штаркман И.Н., Гапеев А.Б., Чемерис Н.К., Брусков В.И. Гуанозин и инозин как природные генопротекторы для клеток крови мышей при воздействии рентгеновского излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т.46. №6. С.713–718.
9. Попова Н.Р., Гудков С.В., Брусков В.И. Природные пуриновые соединения как радиозащитные средства // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т.54. №1. С.38–49. doi: 10.7868/S0869803114010135.
10. Hou B., Xu Z.W., Yang C.W., Gao Y., Zhao S.F., Zhang C.G. Protective Effects of Inosine on Mice Subjected to Lethal Total-Body Ionizing Irradiation // Journal of Radiation Research. 2007. Vol.48. No.1. P.57–62. doi: 10.1269/jrr.06067.
11. Blanco J.M., Caamano O., Fernandez F., Rodriguez-Borges J.E., Balzarini J., de Clercq E. Carbocyclic Analogues of Nucleosides from bis-(Hydroxymethyl)-Cyclopentane: Synthesis, Antiviral and Cytostatic Activities of Adenosine, Inosine and Uridine Analogues // Chemical & pharmaceutical bulletin. 2003. Vol.51. No.9. P.1060–1063. doi: 10.1248/cpb.51.1060.
12. Зерний Е.Ю., Головастова М.О., Бакшеева В.Е., Кабанова Е.И., Ишутина И.Е., Ганчарова О.С., Гусев А.Е., Савченко М.С., Лобода А.П., Сотникова Л.Ф., Замятнин А.А., Филиппов П.П., Сенин И.И. Изменения биохимических свойств слезной жидкости при развитии хронической формы синдрома сухого глаза в послеанркозный период // Биохимия. 2017. Т.82. №1. С.137–148.
13. McClain D.E., Kalinich J.F., Ramakrishnan N. Trolox Inhibits Apoptosis in Irradiated MOLT-4 Lymphocytes // FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 1995. Vol.9. No.13. P.1345–1354. doi: 10.1096/fasebj.9.13.7557025.
14. Jiang S.J., Xiao X., Li J., Mu Y. Lycium Barbarum Polysaccharide-Glycoprotein Ameliorates Ionizing Radiation-Induced Epithelial Injury by Regulating Oxidative Stress and Ferroptosis Via the Nrf2 Pathway // Free Radical Biology & Medicine. 2023. Vol.204. P.84–94. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.04.020.
15. Sangsuwan T., Pour Khavari A., Blomberg E., Romell T., Godoy P., Harms-Ringdahl M., Haghdoost S. Oxidative Stress Levels and DNA Repair Kinetics in Senescent Primary Human Fibroblasts Exposed to Chronic Low Dose Rate of Ionizing Radiation // Frontiers in Bioscience. 2023. Vol.28. No.11. P.296. doi: 10.31083/j.fbl2811296.
16. Ding S.S., Sun P., Zhang Z., Liu X., Tian H., Huo Y.W., Wang L.R., Han Y., Xing J.P. Moderate Dose of Trolox Preventing the Deleterious Effects of Wi-Fi Radiation on Spermatozoa *In vitro* through Reduction of Oxidative Stress Damage // Chinese Medical Journal. 2018. Vol.131. No.4. P.402–412. doi: 10.4103/0366-6999.225045.
17. Zakharova O.D., Frolova T.S., Yushkova Y.V., Chernyak E.I., Pokrovskiy A.G., Pokrovskiy M.A., Morozov S.V., Sinitsina O.I., Grigor'ev I.A., Nevinskiy G.A. Antioxidant and Antitumor Activity of Trolox, Trolox Succinate, and Alpha-Tocopheryl Succinate Conjugates with Nitroxides // European Journal of Medicinal Chemistry. 2016. Vol.122. P.127–137. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.05.051.
18. Поздеев А.В., Лысенко Н.П. Повышение радиационной устойчивости организма млекопитающих при применении препаратов хлорофилла в условиях радиоактивного загрязнения окружающей среды // Известия Международной академии аграрного образования. 2018. Выпуск 42. Т.2. С.60–62.
19. Поздеев А.В., Гугало В.П. Влияние препарата хлорофилла на содержание малонового диальдегида при радиационной патологии // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2012. №2. С.107–109.
20. Kumar S.S., Shankar B., Sainis K.B. Effect of Chlorophyllin against Oxidative Stress in Splenic Lymphocytes *in Vitro* and *in Vivo* // Biochimica et Biophysica Acta. 2004. Vol.1672. No.2. P.100–111. doi: 10.1016/j.bbagen.2004.03.002.
21. Geric M., Gajski G., Mihaljevic B., Miljanic S., Domijan A.M., Garaj-Vrhovac V. Radioprotective Properties of Food Colorant Sodium Copper Chlorophyllin on Human Peripheral Blood Cells *in Vitro* // Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2019. Vol.845. P.403027. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.02.008.
22. Morales-Ramirez P., Mendiola-Cruz M.T. *In Vivo* Radioprotective Effect of Chlorophyllin on Sister Chromatid Exchange Induction in Murine Spermatogonial Cells // Mutation Research. 1995. Vol.344. No.1-2. P.73–78. doi: 10.1016/0165-1218(95)90041-1.
23. Morales-Ramirez P., Garcia-Rodriguez M.C. *In Vivo* Effect Of Chlorophyllin On Gamma-Ray-Induced Sister Chromatid Exchange in Murine Bone Marrow Cells // Mutation Research. 1994. Vol.320. No.4. P.329–334. doi: 10.1016/0165-1218(94)90085-x.
24. Abraham S.K., Sarma L., Kesavan P.C. Role of Chlorophyllin as an *in Vivo* Anticlastogen: Protection Against Gamma-Radiation and Chemical Clastogens // Mutation Research. 1994. Vol.322. No.3. P.209–212. doi: 10.1016/0165-1218(94)90008-6.
25. Zimmering S., Olvera O., Hernandez M.E., Cruces M.P., Arceo C., Pimental E. Evidence for a Radioprotective Effect of Chlorophyllin in *Drosophila* // Mutation Research. 1990. Vol.245. No.1. P.47–49. doi: 10.1016/0165-7992(90)90024-e.
26. Ромодин Л.А., Лысенко Н.П. Радиопротекторное действие препаратов на основе хлорофилла // Биофизика. 2022. Т.67. №1. С.96–104. doi: 10.31857/S0006302922010094.
27. Chiu L.C., Kong C.K., Ooi V.E. The Chlorophyllin-Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Breast Cancer MCF-7 Cells is Associated with ERK Deactivation and Cyclin D1 Depletion // International Journal of Molecular Medicine. 2005. Vol.16. No.4. P.735–740.
28. Chimploy K., Diaz G.D., Li Q., Carter O., Dashwood W.M., Mathews C.K., Williams D.E., Bailey G.S., Dashwood R.H. E2F4 and Ribonucleotide Reductase Mediate S-phase Arrest in Colon Cancer Cells Treated with Chlorophyllin // International Journal of Cancer. 2009. Vol.125. No.9. P.2086–2094. doi: 10.1002/ijc.24559.
29. Thiyagarajan P., Kavitha K., Thautam A., Dixit M., Nagini S. Dietary Chlorophyllin Abrogates TGFbeta Signaling to Modulate the Hallmark Capabilities of Cancer in an Animal Model of Forestomach Carcinogenesis // Tumour Biology: the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. 2014. Vol.35. No.7. P.6725–6737. doi: 10.1007/s13277-014-1849-5.
30. Das J., Samadder A., Mondal J., Abraham S.K., Khuda-Bukhsh A.R. Nano-Encapsulated Chlorophyllin Significantly Delays Progression OF Lung Cancer both in *in Vitro* and *in Vivo* Models through Activation of Mitochondrial Signaling Cascades and Drug-DNA Interaction // Environmental Toxicology and Pharmacology. 2016. Vol.46. P.147–157. doi: 10.1016/j.etap.2016.07.006.
31. Sun S., Zhang Y., Xu W., Yang R., Guo J., Guan S., Ma Q., Ma K., Xu J. Chlorophyllin Inhibits Mammalian Thioredoxin Reductase 1 and Triggers Cancer Cell Death // Antioxidants. 2021. Vol.10. No.11. P.1733. doi: 10.3390/antiox10111733.
32. Ильин Л.А., Рудный Н.М., Суворов Н.Н., Чернов Г.А., Антипов В.В., Васин М.В., Давыдов Б.И., Михайлов П.П. Индралин – радиопротектор экстренного действия. Противолучевые свойства, фармакология, механизм действия, клиника. Москва: Вторая типография Министерства здравоохранения Российской Федерации, 1994. 436 с.
33. Васин М.В. Препарат Б-190 (индралин) в свете истории формирования представлений о механизме действия радиопротекторов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. №4. С.378–395. doi: 10.31857/S0869803120040128.
34. Ромодин Л.А., Никитенко О.В., Бычкова Т.М., Зрилова Ю.А., Родионова Е.Д., Бочаров Д.А. Радиопротекторные свойства рибоксина (инозина) и индралина при внешнем облучении // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2023. Т.176. №11. С.585–588. doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-11-585-588.
35. Легеза В.И., Гребенюк А.Н., Заргарова Н.И. К вопросу об эффективности применения радиопротекторов различного механизма действия при поражениях, типичных для радиационных аварий (экспериментальное исследование) // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2013. №1. С.42–47.
36. Гребенюк А.Н., Мясников В.А., Зацепин В.В., Аксенова Н.В., Быков В.Н., Сидоров Д.А. Сравнительное изучение эффективности гепарина, интерлейкина-1β, β-эстрадиола и индометофена в качестве радиопротекторов при остром облучении // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2011. Т.4(36). С.101–104.
37. Филимонова М.В., Шевченко Л.И., Макарчук В.М., Чеснакова Е.А., Изместьева О.С., Корнеева Т.С., Филимонов А.С. Радиозащитные свойства ингибитора NO-синтаз Т1023: I. Показатели противолучевой активности и взаимодействие с другими радиопротекторами // Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. Т.55. №3. С.250–259. doi: 10.7868/S0869803115030042.
38. Zhang Y., Huang Q., Xu Q., Jia C., Xia Y. Pimavanserin Tartrate Induces Apoptosis and Cytoprotective Autophagy and Synergizes with Chemotherapy on Triple Negative Breast Cancer // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2023. Vol.168. P.115665. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115665.
39. Lecureur V., Le Thiec A., Le Meur A., Amiot L., Drenou B., Bernard M., Lamy T., Fauchet R., Fardel O. Potassium Antimonyl Tartrate Induces Caspase- and Reactive Oxygen Species-Dependent Apoptosis in Lymphoid Tumoral Cells // British Journal of Haematology. 2002. Vol.119. No.3. P.608–615. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03863.x.
40. Lecureur V., Lagadic-Gossmann D., Fardel O. Potassium Antimonyl Tartrate Induces Reactive Oxygen Species-Related Apoptosis in Human Myeloid Leukemic HL60 Cells // International Journal of Oncology. 2002. Vol.20. No.5. P.1071–1076.
41. Chang S.H., Lee A.Y., Yu K.N., Park J., Kim K.P., Cho M.H. Dihydroergotamine Tartrate Induces Lung Cancer Cell Death through Apoptosis and Mitophagy // Chemotherapy. 2016. Vol.61. No.6. P.304–312. doi: 10.1159/000445044.
42. Elmetwalli A., Hashish S.M., Hassan M.G., El-Magd M.A., El-Naggar S.A., Tolba A.M., Salama A.F. Modulation of the Oxidative Damage, Inflammation, and Apoptosis-Related Genes by Dicinnamoyl-L-tartaric Acid in Liver Cancer // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2023. Vol.396. No.11. P.3087–3099. doi: 10.1007/s00210-023-02511-8.
43. Fuchs H., Jahn K., Hu X., Meister R., Binter M., Framme C. Breaking a Dogma: High-Throughput Live-Cell Imaging in Real-Time with Hoechst 33342 // Advanced Healthcare Materials. 2023. Vol.12. No.20. P.e2300230. doi: 10.1002/adhm.202300230.
44. Cordeiro M.M., Filipe H.A.L., Santos P.D., Samelo J., Ramalho J.P.P., Loura L.M.S., Moreno M.J. Interaction of Hoechst 33342 with POPC Membranes at Different pH Values // Molecules. 2023. Vol.28. No.15. P.5640. doi: 10.3390/molecules28155640.
45. Васин М.В., Ушаков И.Б. Потенциальные пути повышения устойчивости организма к поражающему действию ионизирующего излучения с помощью радиомитигаторов // Успехи современной биологии. 2019. Т.139. №3. С.235–253. doi: 10.1134/S0042132419030098.
46. Srinivasan S., Torres A.G., Ribas de Pouplana L. Inosine in Biology and Disease // Genes. 2021. Vol.12. No.4. P.600. doi: 10.3390/genes12040600.
47. Журавлёв А.И., Зубкова С.М. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология, старение. Второе издание, исправленное и дополненное. М.: Белые альвы, 2014. 304 с.
48. Журавлёв А.И. Квантовая биофизика животных и человека: свечение живых тканей. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. 400 с.
49. Hutchison J.C., Evans J., Edgell T.A., Nie G., Gardner D.K., Salamonsen L.A. Detrimental Actions of Obesity-Associated Advanced Glycation End-Products on Endometrial Epithelial Cell Proliferation are Alleviated by Antioxidants // Reproductive Biomedicine Online. 2023. Vol.47. No.1. P.35–50. doi: 10.1016/j.rbmo.2023.01.021.
50. Raj M.H., Abd Elmageed Z.Y., Zhou J., Gaur R.L., Nguyen L., Azam G.A., Braley P., Rao P.N., Fathi I.M., Ouhtit A. Synergistic Action of Dietary Phyto-Antioxidants on Survival and Proliferation of Ovarian Cancer Cells // Gynecologic Oncology. 2008. Vol.110. No.3. P.432–438. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.05.001.
51. Asay S., Graham A., Hollingsworth S., Barnes B., Oblad R.V., Michaelis D.J., Kenealey J.D. Gamma-Tocotrienol and Alpha-Tocopherol Ether Acetate Enhance Docetaxel Activity in Drug-Resistant Prostate Cancer Cells // Molecules. 2020. Vol.25. No.2. P.398. doi: 10.3390/molecules25020398.

52. Liu K.Y., Wang Q., Nakatsu C.H., Jones-Hall Y., Jiang Q. Combining Gamma-Tocopherol and Aspirin Synergistically Suppresses Colitis-Associated Colon Tumorigenesis and Modulates the Gut Microbiota in Mice, and Inhibits the Growth of Human Colon Cancer Cells // European Journal of Pharmacology. 2023. Vol.946. P.175656. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175656.
53. Ardelt B., Kunicki J., Traganos F., Darzynkiewicz Z. Chlorophyllin Protects Cells from the Cytostatic and Cytotoxic Effects of Quinacrine Mustard but Not of Nitrogen Mustard // International Journal of Oncology. 2001. Vol.18. No.4. P.849–853. doi: 10.3892/ijo.18.4.849.
54. Kouvaris J.R., Kouloulias V.E., Vlahos L.J. Amifostine: the First Selective-Target and Broad-Spectrum Radioprotector // The Oncologist. 2007. Vol.12. No.6. P.738–747. doi: 10.1634/theoncologist.12-6-738.
55. Бузган Н.Г., Семененко О.Ф., Доросевич А.Е. Влияние холино-адренорецепторов на становление и развитие немелкоклеточного рака лёгкого // Вопросы онкологии. 2016. Т.62. №5. С.694–700.
56. Фатюхина О.Е., Колокольцова Т.Д., Трошкова Г.П. Оценка безопасности метода лазерно-индуцированной флюоресценции на модели культуры диплоидных клеток человека // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2007. Т.4. С.203–206.
57. Поволяева О.С., Чадаева А.А., Луницин А.В., Юрков С.Г. Штаммы диплоидных клеток лёгкого летучей мыши *Pipistrellus pipistrellus* и их пермиссивность к орбивирусам (*Reoviridae*: *Orbivirus*) – возбудителям трансмиссивных болезней животных // Вопросы вирусологии. 2022. Т.67. №3. С.227–236. doi: 10.36233/0507-4088-114.

REFERENCES

1. Lei G., Zhang Y., Koppula P., Liu X., Zhang J., Lin S.H., Ajani J.A., Xiao Q., Liao Z., Wang H., Gan B. The Role of Ferroptosis in Ionizing Radiation-Induced Cell Death and Tumor Suppression. Cell Research. 2020;30:146–162. doi: 10.1038/s41422-019-0263-3.
2. Raitanen J., Barta B., Hacker M., Georg D., Balber T., Mitterhauser M. Comparison of Radiation Response between 2D and 3D Cell Culture Models of Different Human Cancer Cell Lines. Cells. 2023;12;3:360. doi: 10.3390/cells12030360.
3. Jooyan N., Mortazavi S.M.J., Goliaei B., Faraji-Dana R. Indirect Effects of Interference of Two Emerging Environmental Contaminants on Cell Health: Radiofrequency Radiation and Gold Nanoparticles. Chemosphere. 2024;349:140942. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.140942.
4. Pustovalova M., Astrelina capital Te C., Grekhova A., Vorobyeva N., Tsvetkova A., Blokhina T., Nikitina V., Suchkova Y., Usupzhanova D., Brunchukov V., Kobzeva I., Karaseva capital Te C., Ozerov I.V., Samoylov A., Bushmanov A., Leonov S., Izumchenko E., Zhavoronkov A., Klokov D., Osipov A.N. Residual GammaH2AX Foci Induced by Low Dose X-Ray Radiation in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Do Not Cause Accelerated Senescence in the Progeny of Irradiated Cells. Aging. 2017;9;11:2397–2410. doi: 10.18632/aging.101327.
5. Romodin L.A., Yashkina E.I., Moskovskiy A.A. Fluorimetric Evaluation of the Effect of Malic, Succinic and Ascorbic Acids on the Growth Properties of A549 Cells in Culture. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69;1:28–32 (In Russ.). doi: 10.33266/1024-6177-2024-69-1-28-32.
6. Sycheva L.P., Rozhdestvenskiy L.M., Lisina N.I., Shlyakova T.G., Zorin V.V. Antimutagenic Activity and Hepatoprotective Effect of Anti-Radiation Drugs. Medical Genetics. 2020;19;9(218):81–82 (In Russ.). doi: 10.25557/2073-7998.2020.09.81-82.
7. Sycheva L.P., Lisina N.I., Shchegoleva R.A., Rozhdestvenskiy L.M. Antimutagenic Effect of Anti-Radiation Drugs in an Experiment on Mice. *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2019;59;4:388–393. (In Russ.). doi: 10.1134/S086980311904012X.
8. Gudkov S.V., Gudkova O.Yu., Shtarkman I.N., Gapeev A.B., Chemeris N.K., Bruskov V.I. Guanosine and Inosine as Natural Geneprotectors for Mice Blood Cells Expo Sed to X-rays. *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2006;46;6:713–718 (In Russ.).
9. Popova N.R., Gudkov S.V., Bruskov V.I. Natural Purine Compounds as Radioprotective Agents. *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2014;54;1:38–49 (In Russ.). doi: 10.7868/S0869803114010135.
10. Hou B., Xu Z.W., Yang C.W., Gao Y., Zhao S.F., Zhang C.G. Protective Effects of Inosine on Mice Subjected to Lethal Total-Body Ionizing Irradiation. Journal of Radiation Research. 2007;48;1:57–62. doi: 10.1269/jrr.06067.
11. Blanco J.M., Caamano O., Fernandez F., Rodriguez-Borges J.E., Balzarini J., de Clercq E. Carbocyclic Analogues of Nucleosides from bis-(Hydroxymethyl)-Cyclopentane: Synthesis, Antiviral and Cytostatic Activities of Adenosine, Inosine and Uridine Analogues. Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 2003;51;9:1060–1063. doi: 10.1248/cpb.51.1060.
12. Zerniy E.Yu., Golovastova M.O., Baksheeva V.E., Kabanova E.I., Ishutina I.E., Gancharova O.S., Gusev A.E., Savchenko M.S., Loboda A.P., Sotnikova L.F., Zamyatnin A.A., Philippov P.P., Senin I.I. Alterations in Tear Biochemistry Associated with Chronic Dry Eye Syndrome in Postanesthetic Period. *Biohimiya*. 2017;82;1:137–148. (In Russ.).
13. McClain D.E., Kalinich J.F., Ramakrishnan N. Trolox Inhibits Apoptosis in Irradiated MOLT-4 Lymphocytes. FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 1995;9;13:1345–1354. doi: 10.1096/fasebj.9.13.7557025.
14. Jiang S.J., Xiao X., Li J., Mu Y. Lycium Barbarum Polysaccharide-Glycoprotein Ameliorates Ionizing Radiation-Induced Epithelial Injury by Regulating Oxidative Stress and Ferroptosis Via the Nrf2 Pathway. Free Radical Biology & Medicine. 2023;204:84–94. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2023.04.020.
15. Sangsuwan T., Pour Khavari A., Blomberg E., Romell T., Godoy P., Harms-Ringdahl M., Haghdoost S. Oxidative Stress Levels and DNA Repair Kinetics in Senescent Primary Human Fibroblasts Exposed to Chronic Low Dose Rate of Ionizing Radiation. Frontiers in Bioscience. 2023;28;11:296. doi: 10.31083/j.fbl2811296.
16. Ding S.S., Sun P., Zhang Z., Liu X., Tian H., Huo Y.W., Wang L.R., Han Y., Xing J.P. Moderate Dose of Trolox Preventing the Deleterious Effects of Wi-Fi Radiation on Spermatozoa *In vitro* through Reduction of Oxidative Stress Damage. Chinese Medical Journal. 2018;131;4:402–412. doi: 10.4103/0366-6999.225045.
17. Zakharova O.D., Frolova T.S., Yushkova Y.V., Chernyak E.I., Pokrovskiy A.G., Pokrovskiy M.A., Morozov S.V., Sinitsina O.I., Grigor'ev I.A., Nevinskiy G.A. Antioxidant and Antitumor Activity of Trolox, Trolox Succinate, and Alpha-Tocopheryl Succinate Conjugates with Nitroxides. European Journal of Medicinal Chemistry. 2016;122:127–137. doi: 10.1016/j.ejmech.2016.05.051.
18. Pozdeev A.V., Lysenko N.P. Increasing the Radiation Resistance of the Mammalian Body when Using Chlorophyll Preparations in Conditions of Radioactive Environmental Pollution. *Izvestiya Mezhdunarodnoy Akademii Agrarnogo Obrazovaniya*. 2018;42;2:60–62 (In Russ.).
19. Pozdeev A.V., Gugalo V.P. The Effect of Chlorophyll Preparation on the Content of Malondialdehyde in Radiation Pathology. Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. 2012;2:107–109 (In Russ.).
20. Kumar S.S., Shankar B., Sainis K.B. Effect of Chlorophyllin against Oxidative Stress in Splenic Lymphocytes *in Vitro* and *in Vivo*. Biochimica et Biophysica Acta. 2004;1672;2:100–111. doi: 10.1016/j.bbagen.2004.03.002.
21. Geric M., Gajski G., Mihaljevic B., Miljanic S., Domijan A.M., Garaj-Vrhovac V. Radioprotective Properties of Food Colorant Sodium Copper Chlorophyllin on Human Peripheral Blood Cells *in Vitro*. Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2019;845:403027. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.02.008.
22. Morales-Ramirez P., Mendiola-Cruz M.T. *In vivo* Radioprotective Effect of Chlorophyllin on Sister Chromatid Exchange Induction in Murine Spermatogonial Cells. Mutation Research. 1995;344;1-2:73–78. doi: 10.1016/0165-1218(95)90041-1.
23. Morales-Ramirez P., Garcia-Rodriguez M.C. *In vivo* Effect Of Chlorophyllin On Gamma-Ray-Induced Sister Chromatid Exchange in Murine Bone Marrow Cells. Mutation Research. 1994;320;4:329–334. doi: 10.1016/0165-1218(94)90085-x.
24. Abraham S.K., Sarma L., Kesavan P.C. Role of Chlorophyllin as an *in Vivo* Anticlastogen: Protection Against Gamma-Radiation and Chemical Clastogens. Mutation Research. 1994. Vol. 322, № 3. – P.: 209–212. doi: 10.1016/0165-1218(94)90008-6.
25. Zimmering S., Olvera O., Hernandez M.E., Cruces M.P., Arceo C., Pimental E. Evidence for a Radioprotective Effect of Chlorophyllin in *Drosophila*. Mutation Research. 1990;245;1:47–49. doi: 10.1016/0165-7992(90)90024-e.
26. Romodin L.A., Lysenko N.P. The Radioprotective Effect of Chlorophyll-Based Drugs. Biophysics. 2022;67;1:78–84. doi: 10.1134/S0006350922010158.
27. Chiu L.C., Kong C.K., Ooi V.E. The Chlorophyllin-Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Breast Cancer MCF-7 Cells is Associated with ERK Deactivation and Cyclin D1 Depletion. International Journal of Molecular Medicine. 2005;16;4:735–740.
28. Chimploy K., Diaz G.D., Li Q., Carter O., Dashwood W.M., Mathews C.K., Williams D.E., Bailey G.S., Dashwood R.H. E2F4 and Ribonucleotide Reductase Mediate S-phase Arrest in Colon Cancer Cells Treated with Chlorophyllin. International Journal of Cancer. 2009;125;9:2086–2094. doi: 10.1002/ijc.24559.
29. Thiyagarajan P., Kavitha K., Thautam A., Dixit M., Nagini S. Dietary Chlorophyllin Abrogates TGFbeta Signaling to Modulate the Hallmark Capabilities of Cancer in an Animal Model of Forestomach Carcinogenesis. Tumour Biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine. 2014;35;7:6725–6737. doi: 10.1007/s13277-014-1849-5.
30. Das J., Samadder A., Mondal J., Abraham S.K., Khuda-Bukhsh A.R. Nano-Encapsulated Chlorophyllin Significantly Delays Progression OF Lung Cancer both in *in Vitro* and *in Vivo* Models through Activation of Mitochondrial Signaling Cascades and Drug-DNA Interaction. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2016;46:147–157. doi: 10.1016/j.etap.2016.07.006.
31. Sun S., Zhang Y., Xu W., Yang R., Guo J., Guan S., Ma Q., Ma K., Xu J. Chlorophyllin Inhibits Mammalian Thioredoxin Reductase 1 and Triggers Cancer Cell Death. Antioxidants. 2021;10;11:1733. doi: 10.3390/antiox10111733.
32. Il'in L.A., Rudnyy N.M., Suvorov N.N., Chernov G.A., Antipov V.V., Vasin M.V., Davydov B.I., Mikhaylov P.P. *Indralin – Radioprotektor Ekstrennogo Deystviya. Protivoluchevyye Svoystva, Farmakologiya, Mekhanizm Deystviya, Klinika* = Indralin is a Emergency Radioprotector. Anti-Radiation Properties, Pharmacology, Mechanism of Action, Clinic. Moscow Publ., 1994. 436 p. (In Russ.).
33. Vasin M.V. B-190 (Indralin) in the Light of History of Formation of Ideas of the Mechanism of Action of Radioprotectors. *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2020;60;4:378–395 (In Russ.). doi: 10.31857/S0869803120040128.
34. Romodin L.A., Nikitenko O.V., Bychkova T.M., Zrilova Yu.A., Rodionova E.D., Bocharov D.A. Radioprotective Properties of Riboxin (Inosine) and Indralin under External Irradiation. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2023;176;11:585–588 (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-11-585-588
35. Legeza V.I., Grebenyuk A.N., Zargarova N.I. To a Question on Efficiency of Application of Radioprotectors with Various Mechanisms of Action in Injures Typical for Radiation Accidents (Experimental Research). Medico-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations. 2013;1:42–47 (In Russ.).
36. Grebenyuk A.N., Myasnikov V.A., Zatsepin V.V., Aksenova N.V., Bykov V.N., Sidorov D.A. Comparative Study of the Effectiveness of Heparin, Interleukin-1β, B-Estradiol and Indometofen as Radioprotectors in Acute Irradiation. Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2011;4(36):101–104 (In Russ.).
37. Filimonova M.V., Shevchenko L.I., Makarchuk V.M., Chesnakova E.A., Izmest'eva O.S., Korneeva T.S., Filimonov A.S. Radioprotective Properties of NO-Synthase Inhibitor T1023: I. Indicators of Radioprotective Activity and Interaction with Other Radioprotectors. *Radiacionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2015;55;3:250–259 (In Russ.). doi: 10.7868/S0869803115030042.
38. Zhang Y., Huang Q., Xu Q., Jia C., Xia Y. Pimavanserin Tartrate Induces Apoptosis and Cytoprotective Autophagy and Synergizes with Chemotherapy on Triple Negative Breast Cancer. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2023;168:115665. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115665.
39. Lecureur V., Le Thiec A., Le Meur A., Amiot L., Drenou B., Bernard M., Lamy T., Fauchet R., Fardel O. Potassium Antimonyl Tartrate Induces Caspase- and Reactive Oxygen Species-Dependent Apoptosis in Lymphoid Tumoral Cells.

British Journal of Haematology. 2002;119;3:608–615. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03863.x.
40. Lecureur V., Lagadic-Gossmann D., Fardel O. Potassium Antimonyl Tartrate Induces Reactive Oxygen Species-Related Apoptosis in Human Myeloid Leukemic HL60 Cells. International Journal of Oncology. 2002;20;5:1071–1076.
41. Chang S.H., Lee A.Y., Yu K.N., Park J., Kim K.P., Cho M.H. Dihydroergotamine Tartrate Induces Lung Cancer Cell Death through Apoptosis and Mitophagy. Chemotherapy. 2016;61;6:304–312. doi: 10.1159/000445044.
42. Elmetwalli A., Hashish S.M., Hassan M.G., El-Magd M.A., El-Naggar S.A., Tolba A.M., Salama A.F. Modulation of the Oxidative Damage, Inflammation, and Apoptosis-Related Genes by Dicinnamoyl-L-tartaric Acid in Liver Cancer. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2023;396;11:3087–3099. doi: 10.1007/s00210-023-02511-8.
43. Fuchs H., Jahn K., Hu X., Meister R., Binter M., Framme C. Breaking a Dogma: High-Throughput Live-Cell Imaging in Real-Time with Hoechst 33342. Advanced Healthcare Materials. 2023;12;20:e2300230. doi: 10.1002/adhm.202300230.
44. Cordeiro M.M., Filipe H.A.L., Santos P.D., Samelo J., Ramalho J.P.P., Loura L.M.S., Moreno M.J. Interaction of Hoechst 33342 with POPC Membranes at Different pH Values. Molecules. 2023;28;15:5640. doi: 10.3390/molecules28155640.
45. Vasin M.V., Ushakov I.B. Potential Ways of Increase in Bogy Resistance to Damaging Actionof Ionizing Radiation with the Aids of Radiomitigators. *Uspekhi Sovremennoy Biologii*. 2019;139;3:235–253 (In Russ.). doi: 10.1134/S0042132419030098.
46. Srinivasan S., Torres A.G., Ribas de Pouplana L. Inosine in Biology and Disease. Genes. 2021;12;4:600. doi: 10.3390/genes12040600.
47. Zhuravlyov A.I., Zubkova S.M. Antioksidanty. *Svobodnoradikal'naya Patologiya, Starenie* = Antioxidants. Free Radical Pathology, Aging. Second edition, revised and expanded. Moscow, Belye Al'vy Publ., 2014. 304 p. (In Russ.).
48. Zhuravlyov A.I. *Kvantovaya Biofizika Zhivotnykh I Cheloveka: Svechenie Zhivykh Tkaney* = Quantum Biophysics of Animals and Humans: The Glow of Living Tissues. Moscow, BINOM. Laboratoriya Znaniy Publ., 2014. 400 p. (In Russ.).
49. Hutchison J.C., Evans J., Edgell T.A., Nie G., Gardner D.K., Salamonsen L.A. Detrimental Actions of Obesity-Associated Advanced Glycation End-Products on Endometrial Epithelial Cell Proliferation are Alleviated by Antioxidants. Reproductive Biomedicine Online. 2023;47;1:35–50. doi: 10.1016/j.rbmo.2023.01.021.
50. Raj M.H., Abd Elmageed Z.Y., Zhou J., Gaur R.L., Nguyen L., Azam G.A., Braley P., Rao P.N., Fathi I.M., Ouhtit A. Synergistic Action of Dietary Phyto-Antioxidants on Survival and Proliferation of Ovarian Cancer Cells. Gynecologic Oncology. 2008;110;3:432–438. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.05.001.
51. Asay S., Graham A., Hollingsworth S., Barnes B., Oblad R.V., Michaelis D.J., Kenealey J.D. Gamma-Tocotrienol and Alpha-Tocopherol Ether Acetate Enhance Docetaxel Activity in Drug-Resistant Prostate Cancer Cells. Molecules. 2020;25;2:398. doi: 10.3390/molecules25020398.
52. Liu K.Y., Wang Q., Nakatsu C.H., Jones-Hall Y., Jiang Q. Combining Gamma-Tocopherol and Aspirin Synergistically Suppresses Colitis-Associated Colon Tumorigenesis and Modulates the Gut Microbiota in Mice, and Inhibits the Growth of Human Colon Cancer Cells. European Journal of Pharmacology. 2023;946:175656. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175656.
53. Ardelt B., Kunicki J., Traganos F., Darzynkiewicz Z. Chlorophyllin Protects Cells from the Cytostatic and Cytotoxic Effects of Quinacrine Mustard but Not of Nitrogen Mustard. International Journal of Oncology. 2001;18;4:849–853. doi: 10.3892/ijo.18.4.849.
54. Kouvaris J.R., Kouloulias V.E., Vlahos L.J. Amifostine: the First Selective-Target and Broad-Spectrum Radioprotector. The Oncologist. 2007;12;6:738–747. doi: 10.1634/theoncologist.12-6-738.
55. Buzgan N.G., Semenenko O.F., Dorosevich A.E. Influence of Acetylcholine and Adrenergic Receptors on Development and Progression of Non-Small Cell Lung Cancer. *Voprosy Onkologii*. 2016;62;5:694–700 (In Russ.).
56. Fatyukhina O.E., Kolokol'tsova T.D., Troshkova G.P. Safety Assessment of the Laser-Induced Fluorescence Method Based on a Human Diploid Cell Culture Model. *Kletochnyye Tekhnologii v Biologii i Meditsine*. 2007;4:203–206 (In Russ.).
57. Povolyaeva O.S., Chadaeva A.A., Lunitsin A.V., Yurkov S.G. Dwarf bat's (*Pipistrellus Pipistrellus*) Lung Diploid Cell Strains and their Permissivity to Orbiviruses (*Reoviridae*: *Orbivirus*) – Pathogens of Vector-Borne Animal Diseases. Problems of Virusology. 2022;67;3:227–236 (In Russ.). doi: 10.36233/0507-4088-114.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-24-00383, https://rscf.ru/project/23-24-00383/.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 23-24-00383, https://rscf.ru/project/23-24-00383 /.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

А.В. Родина

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ БЕЛОК-ТРАНСЛОКАЗА 18 кДа КАК БИОМАРКЕР РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

НИЦ «Курчатовский институт», Москва

Контактное лицо: А.В. Родина, e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

СОДЕРЖАНИЕ

В обзоре представлены современные знания о структуре белка-транслоказы 18 кДа TSPO, его полиморфных вариантах, регуляции экспрессии гена и функциях в клетках ЦНС. Особое внимание уделяется его роли в регуляции гомеостаза митохондрий в клетках микроглии при нейровоспалении в отдаленный период после действия ионизирующего излучения. Обобщены данные об эффективности некоторых лигандов TSPO для визуализации и лечения нейровоспаления с целью восстановления когнитивных функций при нейродегенеративных патологиях. Основываясь на данных об уровне экспрессии TSPO в мозге и клетках периферической крови в отдаленный период после облучения, можно заключить, что TSPO может рассматриваться как перспективный маркер для диагностики развития нейровоспаления.

Сокращения: АФК – активные формы кислорода, БА – болезнь Альцгеймера, АР1 – активирующий протеин1 (Activator protein1), ANT – транслокатор адениловых нуклеотидов 32 кДа (Adenine nucleotide translocator), CRAC — холестерин-распознающая аминокислотная последовательность (cholesterol-recognition amino acid consensus), GFAP – глиальный фибриллярный кислый белок (glial fibrillary acidic protein) HMGB1– белок с высокой электрофоретической подвижностью В1 (high-mobility group protein B1), IL – интерлейкин (Interleukin), LPS – липополисахарид (Lipopolysacharide), NOX2 – NADPH оксидаза 2 (NADPH oxidase 2), NFkB – ядерный фактор каппа-В (Nuclear factor kB), TLR – Toll-like рецептор (Toll-like receptor), TNFα – фактор некроза опухоли α (Tumor necrosis factor alpha), VDAC1 – потенциал-зависимый аннионный канал (Voltage-Dependent Anion Channel)

Ключевые слова: *ионизирующее излучение, радиационно-индуцированное нейровоспаление, микроглия, белок-транслоказа TSPO, позитронная эмиссионная томография, радиолиганды*

Для цитирования: Родина А.В. Митохондриальный белок-транслоказа 18 кДа как биомаркер радиационно-индуцированного нейровоспаления // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 35–45. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

A.V. Rodina

The Mitochondrial 18 kDa Translocator Protein as a Biomarker of Radiation-Induced Neuroinflammatory

NRC Kurchatov Institute, Moscow, Russia

Contact person: A.V. Rodina, e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

CONTENTS

The review presents current knowledge about the structure of the18 kDa translocator protein TSPO, its polymorphic variants, regulation of its gene expression and function in the cells of CNS. Particular attention is paid to its role in mitochondrial homeostasis in microglia under neuroinflammation in the long-term period after ionizing radiation exposure. Data on the effectiveness of several TSPO ligands for diagnostic imaging and treatment of neuroinflammation for restoring cognitive functions in neurodegenerative pathologies are summarized. Based on the TSPO level in the brain and in the peripheral blood cells late after irradiation, TSPO is discussed as a potential marker of neuroinflammation development.

Keywords: *ionizing radiation, radiation-induced neuroinflammation, microglia, translocator protein TSPO, positron emission tomography, radioligand*

For citation: Rodina AV. The Mitochondrial 18 kDa Translocator Protein as a Biomarker of Radiation-Induced Neuroinflammatory. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):35–45. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-35-45

Введение

Радиационно-индуцированное повреждение ЦНС – проблема, которой посвящено большое количество экспериментальных работ в связи с актуальностью изучения отдаленных последствий облучения человека при техногенных авариях, облучения мозга при лучевой терапии и возможности облучения космонавтов при дальних космических полетах [1]. Развитие нейровоспаления в отдаленный период после облучения, в основе которого лежит активация глиальных клеток и секреция ими провоспалительных факторов, приводит к возникновению и прогрессированию нейродегенерации, и появлению когнитивных нарушений [2]. Несмотря на высокую потребность в выявлении признаков нейровоспаления при повреждении ЦНС, на сегодняшний день отсутствуют специфические биомаркеры, которые могли бы использоваться для мониторинга нейровоспаления и прогнозирования когнитивных нарушений, развивающихся в отдаленный период после действия ионизирующего излучения, а также для контроля эффективности их фармакологической коррекции. Митохондриальный белок-транслоказа с молекулярной массой 18 кДа (TSPO) явля-

ется одним из маркеров активированных глиальных клеток [3]. Способность этого белка регулировать уровень активных форм кислорода (АФК) и окислительно-восстановительный баланс митохондрий в клетках микроглии, свидетельствует о том, что при повреждении ЦНС, сопровождающимся митохондриальной дисфункцией, изменение экспрессии TSPO отражает нарушение гомеостаза глиальных клеток [4].

В настоящее время прижизненная визуализация нейровоспаления с использованием радиоактивно-меченных лигандов белка TSPO применяется для детекции патологических изменений в мозге методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) при различных нейродегенеративных патологиях и онкологических заболеваниях. Несмотря на то, что были получены хорошие результаты при использовании различных радиолигандов TSPO для детекции нейровоспаления, их клиническое применение затруднено, во-первых, из-за наличия однонуклеотидного полиморфизма A147T в гене *Tspo*, приводящего к снижению эффективности связывания радиолигандов второго поколения. Последние разработки лигандов TSPO третьего поколения позволили исключить влияние полиморфизма на их связывание и визуализацию TSPO. В то же время более глубокое понимание различий в структуре A147T и WT TSPO и широкий скрининг новых лигандов с помощью методов структурной биологии может помочь получить препараты с оптимальной структурой и высоким сродством к белку. Кроме того, при накоплении знаний об экспрессии TSPO во множестве фенотипов микроглии и о последовательности активации астроцитов и микроглии на различных этапах развития нейровоспаления, может стать более точной интерпретация ПЭТ-изображений, полученных с помощью радиолигандов TSPO.

Существует связь между периферическим и центральным иммунитетом, которая обеспечивает корреляцию между изменением уровня TSPO в периферической иммунной системе и в мозге, поэтому определение изменения уровня TSPO в периферической крови может позволить получить более чувствительный метод детекции специфической иммунной активации в мозге. Сравнительный анализ уровня этого белка в клетках мозга и периферической крови при радиационных воздействиях ранее не проводился, хотя, возможно, он позволит создать способ ранней диагностики и прогнозирования развития нейровоспаления в ЦНС в отдаленный период после облучения мозга при лучевой терапии.

Целью настоящего обзора является обобщение современных представлений о структуре TSPO и механизмах участия этого белка в развитии нейровоспаления. Особый акцент сделан на анализе данных об экспрессии TSPO в глиальных клетках и клетках периферической крови в условиях воспаления и окислительного стресса после действия ионизирующего излучения для демонстрации перспективности использования TSPO в качестве потенциального биомаркера степени радиационно-индуцированного повреждения ЦНС.

Строение и функции TSPO

Белок-транслоказа 18 кДа TSPO был открыт и охарактеризован в 1977 г. как периферический бензодиазепиновый рецептор (peripheral benzodiazepine receptor, PBR), имеющий высокое сродство к бензодиазепину диазепаму. Этот белок был случайно идентифицирован в эксперименте Braestrup et al при исследований связывания [^{3}H]-диазепама с центральным бензодиазепиновым рецептором (central benzodiazepine receptor, CBR) в почках крысы [5]. В 1990–2000-х гг. после публикаций первых данных о роли TSPO в транспорте холестерина при синтезе стероидов интерес к исследованиям функций этого белка начал расти [6]. В это же время ген *Tspo* был клонирован и выделен белок как из прокариотических, так и из эукариотических клеток [7].

TSPO представляет собой интегральный белок наружной мембраны митохондрий, состоящий из 5 α-спиралей, и имеющий на С-конце последовательность, необходимую для его импорта в митохондрию, так как, в отличие от большинства митохондриальных белков, TSPO кодируется ядерной ДНК [8]. После встраивания в митохондриальную мембрану образуются димерные, а также тетрамерные и гексамерные формы белка. TSPO становится частью мультимерного белкового комплекса (140–200 кДа), локализованного во внешней и внутренней мембранах митохондрий. В этот комплекс входит потенциал-зависимый аннионный канал (Voltage-Dependent Anion Channel, VDAC1), AAA-АТФаза (ATAD3A, белок, формирующий контакт между внешней и внутренней митохондриальными мембранами), транслокатор адениловых нуклеотидов 32 кДа (ANT), принадлежащий к суперсемейству цитохромов P450 (CYP11A1) во внутренней мембране митохондрий и некоторые другие белки. Кроме того, цитозольные белки, в частности регуляторная субъединица Iα cAMP-зависимой протеинкиназы A (PKA-RIα), белки эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи также связываются с TSPO, что приводит к образованию функционального комплекса, который получил название «трансдуктосома». VDAC1 обеспечивает прохождение нуклеотидов, метаболитов и ионов, включая кальций (Ca^{2+}), между митохондриальным межмембранным пространством и цитоплазмой, а ANT осуществляет транслокацию АТФ/АДФ через внутреннюю мембрану митохондрий [8]. TSPO, VDAC1 и ANT являются ключевыми компонентами митохондриальной поры временной проницаемости (mitochondrial permeability transition pore, mPTP), открытие которой повышает проницаемость митохондрий для переноса молекул с молекулярной массой ≤1,5 кДа через мембрану. TSPO модулирует функционирование mPTP, увеличивая продолжительность их открытия, что приводит к разобщению окислительного фосфорилирования, снижению митохондриального мембранного потенциала (mitochondrial membrane potential, MMP), вызывая повышение генерации активных форм кислорода (АФК), деполяризацию мембраны митохондрий и высвобождение цитохрома С, что в итоге приводит к индукции апоптоза [9].

Участие TSPO в транспорте холестерола при синтезе стероидов было изучено и подтверждено более чем 30-летними исследованиями с использованием генетических, биохимических и фармакологических подходов [10]. TSPO связывает холестерол в области цитозольного карбоксильного конца 5 домена, имеющего последовательность аминокислот CRAC (cholesterol-recognition amino acid consensus), и осуществляет транспорт холестерола через внешнюю мембрану к внутренней мембране митохондрий, где под действием фермента CYP11A1, отщепляющего боковую цепь, холестерол превращается в прегненолон, который диффундирует в цитоплазму, где используется в синтезе стероидных гормонов. Поэтому в нормальных физиологических условиях наибольшее содержание TSPO наблюдается в основном в печени, надпочечниках и других тканях, где осуществляется синтез стероидов [10].

В ЦНС в норме обнаруживается очень низкий уровень TSPO, преимущественно в эпендимальных, эндотелиальных клетках и клетках микроглии. В нейронах

его содержание незначительно, а в условиях стресса и при повреждении мозга повышается содержание TSPO в клетках активированной микроглии и в реактивных астроцитах, что позволяет рассматривать этот белок в качестве маркера повреждения мозга, сопровождающегося активацией глиальных клеток [3, 11]. Исследование Notter T. et al показало, что стимуляция активности нейронов у экспериментальных животных с помощью ряда факторов, включая физиологический (изменение окружающей среды) и фармакологический (при действии психотропного препарата амфетамина), приводила к увеличению уровня экспрессии гена и белка TSPO только в нейронах, но не в микроглии или астроцитах [12]. В то же время в этом исследовании было обнаружено, что базовый уровень TSPO в нейронах значительно ниже, чем в клетках микроглии и астроцитах, в которых его высокий уровень обусловлен значительными потребностями в энергии даже при отсутствии патологических стимулов, а после действия вышеперечисленных факторов уровень этого белка в нейронах все же не достигает даже его базового уровня в глиальных клетках.

При изучении действия малых доз ионизирующего излучения на экспрессию TSPO в ЦНС было показано, что через 48 ч после облучения животных в дозе 10 мГр наблюдается снижение уровня мРНК *Tspo* и детектируется отсутствие индукции экспрессии белка TSPO и Iba1 в головном мозге, а облучение в дозе 2 Гр проиводит к увеличению экспрессии мРНК *Tspo* в мозге и в первичной культуре клеток микроглии [13].

Исследование, проведенное на клетках первичной микроглии человека с нокаутом гена *Tspo,* продемонстрировало, что белок TSPO опосредует такие функции митохондрий, как регуляция MMP, увеличение уровня цитозольного Ca^{2+}, экспрессия VDAC1 и открытие mPTP [14]. Также было установлено, что в клетках микроглии TSPO осуществляет перенос гема из митохондрий в цитозоль и его включение в белок gp91phox, который является основной субъединицей NADPH оксидазы (NADPH oxidase, NOX2), что приводит к ее димеризации с p22phox и образованию Cytb558, так как в отсутствие гема gp91phox и p22phox не образуют димера (т.е. Cytb558) и подвергаются деградации в протеасоме [15]. Холестерин включается в липидные рафты, необходимые для перемещения цитозольных субъединиц NOX2 в плазматическую мембрану с образованием активного комплексса. Цитозольные субъединицы встраиваются в плазматическую мембрану и мембраны эндоплазматического ретикулума, образуя мембраносвязанный ферментативный комплекс NOX2, который осуществляет перенос двух электронов от NADPH на молекулярный кислород с образованием супероксида и обеспечивает продукцию АФК [15]. Функции TSPO в клетках микроглии и механизмы активации сигнальных путей, приводящих к индукции экспрессии генов провоспалительных белков и увеличению продукции АФК, вызывающих развитие нейровоспаления и окислительный стресс при активации этих клеток под действием ионизирующего излучения, представлены на рис. 1.

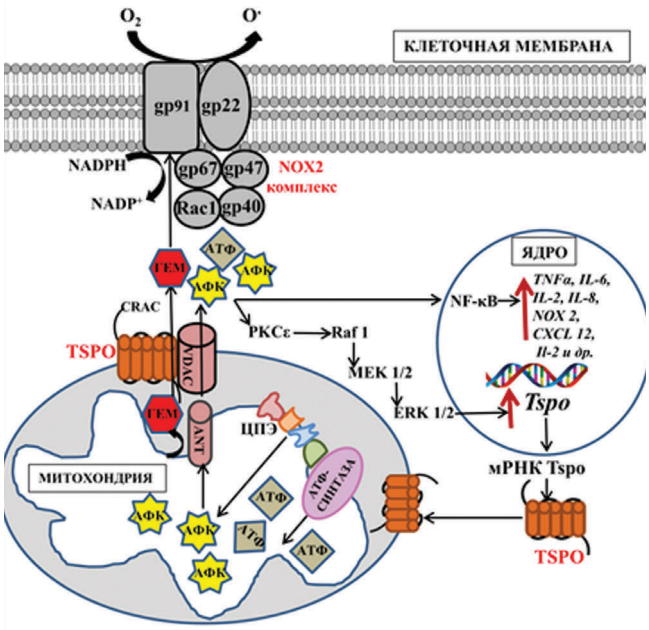


Рис. 1. Механизмы активации сигнальных путей с участием белка-транслокатора 18 кДа TSPO в клетках микроглии после действия ионизирующего излучения: повышение экспрессии генов провоспалительных факторов и регуляция содержания и активности NADPH оксидазы 2 (NOX2). Увеличение содержания митохондриальных АФК и АФК, образовавшихся в результате радиолиза воды при облучении клеток, приводит к активации протеинкиназы Cε (PKCε) и сигнального пути Raf-1-MEK1/2-ERK1/2, что вызывает индукцию экспрессии гена TSPO. TSPO осуществляет перенос гема от внутренней мембраны митохондрий к gp91phox, который после этого может димеризоваться в эндоплазматическом ретикулуме с p22phox, образуя цитохром b558 (Cytb558) – основную каталитическую субъединицу NOX2. Активация NOX2 способствует транслокации цитозольных субъединиц p40, p47, p67 и Rac1 к плазматической мембране с образованием активного комплекса NOX2. ЦПЭ – цепь переноса электронов. По [8, 15]

Fig. 1. Mechanisms of the 18 kDa translocator protein TSPO signal pathways activation in microglia after ionizing radiation exposure: increased of pro-inflammatory factors gene expression and regulation of the NADPH oxidase 2 (NOX2) content and activity. An increase of the mitochondrial ROS level and ROS generation by water radiolysis after cells irradiation may activate the protein kinase Cε (PKCε) and the Raf-1-MEK1/2-ERK1/2 signalling cascade, which promotes Tspo transcription. TSPO transfers heme from the inner mitochondrial membrane to gp91phox, it is able to dimerize with p22phox in the endoplasmic reticulum and form the cytochrome b558 (Cytb558), the principal catalytic subunit of NOX2. NOX2 activation promotes the translocation of the cytosolic subunits p40, p47, p67, and Rac1 to the plasma membrane to form an active NOX2 complex. ETC – electron transport chain. From [8, 15]

Полиморфизм гена *Tspo* и сигнальные пути, регулирующие его транскрипцию

Животные и растения имеют два гена TSPO – *Tspo1* и *Tspo2*, который появился в результате дупликации в процессе эволюции. Сравнительный анализ белков TSPO1 и TSPO2 показал, что продукт гена *Tspo2* потерял сродство к связыванию с лигандом, а также локализация белка TSPO2 отличается от TSPO1, так как TSPO2 находится в мембране эндоплазматического ретикулума и ядерной мембране преимущественно в клетках эритроидного ряда [16].

Ген *Tspo1* расположен на длинном плече 22-й хромосомы человека (q13.2) и кодирует гидрофобный белок TSPO1 массой 18 кДа, состоящий из 169 аминокислот [17]. У человека выявлено несколько полиморфных вариантов этого гена, включая rs6971 [18]. Этот вариант однонуклеотидного полиморфизма вызван заменой в 147-м положении аланина на треонин (A147T), что приводит к изменению аффинности связывания TSPO с такими специфическими лигандами, как PBR-28, DPA-713 и DAA1106 [18]. В исследованиях методом ПЭТ было выявлено, что около 50–65 % доноров имеют высокое сродство к этим лигандам (high affinity binders; HABs), ~ 5–25 % доноров имеют низкое сродство (low affinity binders; LABs), а у 30 %, наблюдалось связывание некоторых лигандов в двух сайтах с константой связывания, близкой к средней между константами связывания HABs и LABs лигандов (mixed affinity binders; MABs) [19]. Согласно базе данных Hapmap (http://hapmap.ncbi.

nlm.nih.gov), rs6971 полиморфизм присутствует у 30 % европейцев, 25 % африканцев, 4 % японцев, и 2 % китайцев. Популяция с HABs гомозиготна по TSPO дикого типа, с MABs являются гетерозиготными, а с LABs - гомозиготными по TSPO A147T1 [18, 19]. Обнаружение влияния полиморфизма A147T TSPO на связывание лигандов TSPO привело к изменению подходов к их клиническому использованию, которое предусматривает предварительное генотипирование и исключение пациентов с LABs. Этот подход оказался успешным для использования синтетических радиолигандов TSPO и позволил детектировать методом ПЭТ более высокое накопленое TSPO в головном мозге при рассеянном склерозе, боковом амиотрофическом склерозе, мягком когнитивном снижении и болезни Альцгеймера по сравнению с контролем [20–23].

В то же время, наличие полиморфизма A147T TSPO связывают с нарушением функции гипоталамо-гипофизарной регуляции активности надпочечников и с предрасположенностью носителей мутации к психическим расстройствам [24]. Было установлено, что у пациентов с полиморфным вариантом TSPO снижается эффективность фармакологической коррекции панических атак анксиолитиками – лигандами TSPO [25]. У здоровых доноров с A147T TSPO определяется пониженное содержание прегненолона [26] и снижается индуцированный адренокортикотропным гормоном (АКТГ) синтез кортикостероидов [27]. Нарушение регуляции ритма кортизола, обнаруженное при наличии полиморфизма A147T TSPO, коррелирует с периодами обострения при биполярных расстройствах [28].

Ген *Tspo1* конститутивно экспрессируется на высоком уровне в стероидогенных и индуцируется при определенных воздействиях в нестероидогенных клетках, а регуляция транскрипции гена осуществляется преимущественно через PKCε-зависимый путь передачи сигнала [8]. PKCε активирует Raf-MEK [MAPK (митоген-активируемая киназа)/ERK (киназа, регулируемая внеклеточными сигналами) киназа] и через сигнальный путь ERK MAPK индуцирует транскрипцию гена *Tspo* с участием транскрипционных факторов c-Jun, Ets, AP1 и STAT3. Для инициации транскрипции *Tspo* необходимы факторы транскрипции Ets и Sp1/Sp3 , расположенные в промоторных областях 805–515 и 123–1. Доказано, что триггером для экспрессии TSPO являются АФК, а чувствительными к АФК элементами являются AP1, ERK1/2 и PKCε. Обнаружено, что увеличение продукции АФК в астроцитах приводит к повышению ядерного фактора транскрипции Sp1и повышению мРНК Tspo. Повышение экспрессии Tspo также наблюдалось после действия соединений, вызывающих увеличение в клетках уровня АФК, таких как провоспалительный цитокин TNFα, форбол-12-миристат-13-ацетат (phorbol-12-myristate 13-acetate, PMA) и ингибитор MEK 2-(2’-амино-3’-метоксифенил)-оксанофталин-4-один (PD98059) [8]. Показано, что гиперэкспрессия TSPO, вызванная повышенной продукцией АФК, является причиной TSPO-опосредованного ингибирования митофагии, и наличие этого механизма, например, в клетках поверхностных слоев эпидермиса защищает их от апоптоза, вызванного повышением АФК под действием УФ-излучения [29]. Гиперэкспрессия *Tspo* приводит к повышению АФК в клетке, в свою очередь, АФК по принципу положительной обратной связи индуцирует транскрипцию этого гена. В условиях окислительного стресса повышение уровня TSPO может быть физиологически важным для защиты митохондрий от АФК, однако если цикл положительной обратной связи, вызывающий гиперэкспрессию гена, будет продолжительным, то за счет кумулятивного эффекта будет происходить TSPO-опосредованное подавление митофагии в течение длительного времени, что негативно повлияет на гомеостаз митохондрий и функции клеток [8]. Также есть данные, подтверждающие то, что слишком продолжительный окислительный стресс может снижать экспрессию TSPO, способствуя гибели клеток, однако точные внутриклеточные механизмы такой регуляции не установлены [8].

Некоторые гормоны, в частности эстрадиол и альдостерон, регулируют экспрессию *Tspo* [30]. Регуляция этими гормонами необходима для поддержания конститутивной экспрессии, причем показано, что в стероидогенных тканях после хирургического удаления гипофиза и надпочечников наблюдается снижение уровня TSPO. В ряде исследований было показано, что воздействие стероидных гормонов изменяло экспрессию гена *Tspo,* но уровни мРНК и белка не всегда коррелировали, что могло зависеть от конформационных изменений белка. Было установлено, что стимуляция адренокортикотропином синтеза стероидных гормонов через цАМФ-зависимую протеинкиназу А (PKA) приводит к изменению конформации белка вследствие фосфорилирования [30].

Рецептор активатора пролиферации пероксисом α (PPARα) вызывает снижение экспрессии гена *Tspo* [8, 30]. PPARα может взаимодействовать с транскрипционными факторами: ядерным фактором NF-κB, STATs и AP1. PPARα уменьшает связывание AP1 с PKCε-ассоциированным сайтом промотора *Tspo,* что приводит к снижению экспрессии и синтеза мРНК. Показано, что активация PPARα через цАМФ-PKA-зависимый сигнальный путь приводит к уменьшению провоспалительных эффектов из-за снижения экспрессии *Tspo* [30].

Уровень экспрессии белка TSPO в клетках микроглии при развитии нейровоспаления и окислительного стресса

Нейровоспаление представляет собой вызванный повреждением мозга процесс, характеризующийся активацией резидентной микроглии, астроцитов и экспрессией широкого спектра воспалительных медиаторов. Нейровоспаление является одной из причин прогрессирования нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера (БА) и болезнь Паркинсона, и приводит к появлению когнитивных нарушений [13].

Развитие нейровоспаления происходит при взаимодействии реактивной микроглии и астроцитов. Клетки микроглии активируются при повреждении, например, в результате травмы головы, при инсульте или при появлении патогенов. К факторам, вызывающим активацию микроглии, могут относиться также: действие токсинов, аутоиммунные реакции, накопление патологических белков, которые нарушают функции нейронов (β-амилоид, α-синуклеин и др.) [19]. Клетки резидентной микроглии могут приобретать провоспалительный М1 фенотип в результате активации паттерн-распознающих рецепторов (pattern recognition receptors (PRR), включающих Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors (TLR)) при появлении патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) или высвобождения молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (danger-associated molecular patterns (DAMPs)) из разрушающихся нейронов [31]. DAMPs включают разнообразные молекулы, в том числе внутриклеточные белки, высвобождающиеся после повреждения клеток, например, белок высокой электрофоретической подвижности B1 (high-mobility group protein B1, HMGB1), белок S100, белки теплового шока (heat shock proteins, HSP), хромо-

гранин А и β-амилоид. Другая группа DAMPs – это нуклеиновые кислоты, такие как митохондриальная ДНК (мт-ДНК), ДНК и нуклеотиды, в частности, АТФ. PAMP в основном включают молекулы микробов, такие как липид А, флагеллин, липопротеины грамположительных и грамотрицательных бактерий, бактериальная ДНК, содержащая мотив CpG и фрагменты бактериального пептидогликана. Активация микроглии может осуществляться не только при появлении чужеродных молекул (например, компонентов клеточной стенки бактерий) или при критическом повышении концентрации специфических лигандов (например, внутриклеточных молекул или белковых агрегатов), которые, связываясь с PRR, активируют сигнальные внутриклеточные каскады, но также может возникать из-за отмены подавляющего сигналинга ряда хемокинов и цитокинов: CD200-CD200 R, CX3CL1–CX3CR1 и SIRPα-CD47 при повреждении нейронов [31]. Нейротрансмиттеры, секретируемые нейральными клетками, которые также оказывают подавляющее действие, поскольку клетки микроглии экспрессируют различные рецепторы нейротрансмиттеров через активацию, в частности, адренергических рецепторов или рецепторов ГАМК, переводят клетки микроглии в нейропротекторный фенотип, что вызывает развитие противовоспалительного ответа [31].

Клетки микроглии, в отличие от других клеток ЦНС, имеющие мезодермальное происхождение, занимают центральное место в развитии иммунного ответа в головном мозге, поскольку являются резидентными иммунокомпетентными клетками. В здоровом мозге клетки микроглии находятся в покоящемся состоянии (фенотип M0), которое обеспечивается ингибирующим действием нейронов, а после активации происходит изменение их морфологии и функций. Активированная микроглия секретирует широкий спектр цитокинов и факторов роста, таких как IL-1, IL-10, TNF-α, TGF-β, которые вызывают активацию астроцитов, индукцию экспрессии молекул клеточной адгезии и привлечение Т-клеток в область повреждения. Активация этих клеток может также приводить к снижению прогрессирования нейродегенерации и стимуляции восстановления ЦНС, что определяется фенотипом этих клеток. Микроглия может находиться в различных состояниях активации и оказывать защитное (фенотип M2) или повреждающее (фенотип M1) действие в ЦНС. Однако стоит отметить, что концепция M0/M1/M2 является чрезмерно упрощенной. В более поздних исследованиях с использованием геномных и протеомных методов было идентифицированно, основываясь на транскриптомном профиле, по крайней мере, восемь фенотипов микроглии, которые составляют небольшую часть от общего числа фенотипов при нейродегенеративных заболеваниях [19, 32]. Предполагают, что в некоторых субпопуляциях микроглии, повышенное содержание которых наблюдается на определенных этапах развития нейровоспаления при различных нейропатологиях, не детектируется увеличение экспрессии TSPO, поэтому визуализация TSPO с помощью ПЭТ в этих случаях может привести к получению противоречивых результатов. То, что микроглия играет главную роль в нейроиммунном ответе, является точно установленным фактом, однако вопрос о том, в каких фенотипах микроглии увеличивается экспрессия TSPO, включая радиационно-индуцированное нейровоспаление, остается открытым.

Увеличение экспрессии TSPO в провоспалительной M1 микроглии убедительно подтверждено в исследованиях *in vitro*, в то время как однозначное мнение об уровне этого показателя в M2 микроглии отсутствует [19]. Также было установлено, что лиганды TSPO: 2-Cl-MGV-1 (2-(2-хлорфенил)хиназолин-4-ил диметилкарбамат) и MGV-1 (2-фенилхиназолин-4-ил диметилкарбамат) обладают выраженным противовоспалительным действием, снижая уровни секреции провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, TNF-α и IFN-γ клетками микроглии, активированными липополисахаридом (ЛПС) [33]. В многочисленных исследованиях *in vivo* методом ПЭТ с использованием радиоактивно-меченых лигандов регистрировался повышенный уровень TSPO в тех областях головного мозга, где наблюдалась активация микроглии, сопровождающаяся развитием нейровоспаления, при различных нейродегенеративных заболеваниях [19]. Несмотря на то, что динамика изменения уровня TSPO в глиальных клетках при этих заболеваниях окончательно не выяснена, есть общее понимание того, что повышение уровня TSPO является адаптивной реакцией клеток на воспаление и окислительный стресс, а не причиной нарушений функций митохондрий, внутриклеточной сигнализации и метаболизма клеток.

Увеличение экспрессии TSPO в глиальных клетках было зарегистрировано при различных повреждениях ЦНС, однако идентификация фенотипа клеток с повышенным уровнем TSPO, области их накопления в головном мозге и времени их появления после начала заболевания остаются неизученными. В исследовании, проведенном с помощью авторадиографического анализа при использовании специфического радиолиганда [^{11}C]DAA1106 на модели инсульта у крыс, уровень TSPO значимо увеличился через 3 сут после повреждения и достигал пика через 7 сут, что также подтверждалось данными двойного иммунофлуоресцентного окрашивания, причем повышенный уровень TSPO наблюдался как в клетках микроглии, так и в астроцитах, пролиферирующих в поврежденной ткани мозга [3]. Также в этом исследовании было установлено, что повышенная экспрессия TSPO в астроцитах наблюдалась во время активной миграции этих клеток к месту повреждения и образования глиального рубца, что необходимо для защиты окружающих тканей. После ограничения места повреждения глиальным рубцом повышенный уровень TSPO в области воспаления не определялся, несмотря на наличие высокого уровня GFAP-положительных клеток. Напротив, в клетках микроглии, локализованных в месте повреждения, высокий уровень TSPO регистрировался до 90 сут, несмотря на постепенное снижение количества амебоидной Iba1^{+}-микроглии в период между 7 и 90-ми сутками [3].

Эти результаты подтверждают эффективность определения уровня TSPO для идентификации совокупной плотности активированных клеток микроглии, макрофагов и астроцитов, что является уникальным показателем, который невозможно получить, используя какой-либо другой маркер. Информативность TSPO как маркера нейровоспаления обусловлена тем, что клеточное микроокружение, участвующее в воспалительной реакции в ЦНС, не ограничено только клетками микроглии, а также включает и астроциты, и периферические иммунные клетки, обеспечивающие развитие адаптивного иммунного ответа.

Уровень экспрессии белка TSPO в клетках микроглии головного мозга при радиационно-индуцированном нейровоспалении

Нейровоспаление, вызванное активацией клеток микроглии и астроцитов, лежит в основе развития когнитивных дисфункций после действия ионизирующего излучения на головной мозг [13]. Активация микроглии

после облучения головного мозга может происходить из-за повреждения ДНК как в результате непосредственной ионизации молекулы, так и при действии АФК и свободных радикалов, образующихся в этих клетках в результате радиолиза воды [34]. При повреждении ДНК под действием облучения в клетках микроглии происходит активация факторов транскрипции, таких как NF-κB, белок, связывающий цАМФ-чувствительный элемент (cAMP response element-binding protein, CREB) и активаторный белок AP-1 (activating protein 1, AP-1), что приводит к индукции экспрессии генов провоспалительных факторов, включая *IL-1β*, *TNF-α*, циклооксигеназу 2 (COX-2) и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1/CCL2), и к увеличению содержания внутриклеточных АФК.

Действие ионизирующего излучения на ЦНС вызывает повреждение и гибель нейронов, уменьшая уровень подавляющих факторов, которые они секретируют для ингибирования микроглии, и приводит к увеличению содержания в мозге различных хемокинов, цитокинов, и АФК, которые активируют микроглию [2]. Показано, что облученные нейроны и эндотелиальные клетки секретируют HMGB1, АТФ и другие сигнальные молекулы, а в облученной микрогии повышается экспрессия TLR4, и комбинация этих факторов способствует активации микроглии [2]. Периферические иммунные клетки, проникающие в головной мозг после радиационно-индуцированного повреждения ГЭБ, секретируют АФК, которые, в свою очередь, активируют микроглию [35].

Микроглия и астроциты являются не только источниками, но и мишенями действия провоспалительных факторов [32]. Если острая воспалительная реакция в ЦНС не прекращается в короткий срок (в период облучения и до нескольких суток или недель после облучения), то в отдаленный период (через шесть и более месяцев) возникает хроническое нейровоспаление. Длительная гиперактивация глиальных клеток и чрезмерная нерегулируемая секреция провоспалительных факторов, которые приводят к снижению скорости восстановления нейронов, разрушению синапсов, окислительному стрессу и митохондриальной дисфункции нейронов и их предшественников, вызывает или ускоряет процесс нейродегенерации в отдаленный период после облучения. Адаптивный иммунный ответ с участием периферических иммунных клеток, инфильтрация которых вызвана хроническим воспалением и нарушением проницаемости ГЭБ, может дополнительно активировать процесс нейродегенерации.

После облучения изменяется уровень TSPO в глиальных клетках, поэтому этот белок является одним из перспективных маркеров для изучения нейровоспаления, вызванного действием ионизирующего излучения, в головном мозге [1, 13]. Исследователи, изучающие эффективность использования TSPO в качестве биомаркера радиационно-индуцированного повреждения ЦНС, опираются на несколько ранее доказанных явлений, а именно: что этот белок участвует в образовании АФК и развитии окислительного стресса, и, что лиганды TSPO, например, PK11195 или Мидазолам (Midazolam) снижают экспрессию провоспалительных генов в клетках активированной микроглии после облучения [13].

В недавно проведенном исследовании изучали действие высоких и малых доз общего гамма-облучения на головной мозг и было показано, что общее облучение в дозе 0,01 Гр в течение 1-48 ч приводило к снижению уровней мРНК и белка TSPO, Iba1 в головном мозге, а также провоспалительного цитокина IL6 в плазме крови, а после облучения в дозе 2 Гр в это же время происходило увеличение мРНК *Tspo* в мозге мышей линии C57BL/6 дикого типа и в первичной культуре микроглии [36]. Низкий уровень экспрессии TSPO в здоровом мозге, его снижение под действием малых доз ионизирующего излучения и повышение экспрессии TSPO при действии высоких доз (преимущественно в клетках микроглии) предполагают перспективность определения содержания этого белка для детекции нейровоспаления *in vivo* и *in vitro* после облучения головного мозга.

В исследованиях, посвященных изучению отдаленных эффектов после действия ионизирующего излучения на головной мозг, нами было изучено влияние общего гамма-облучения в дозах 0,1 Гр и 2 Гр на количество клеток микроглии с высокой экспрессией TSPO через 2 месяца после воздействия в мозге мышей линии C57BL/6 [37]. Состояние микроглии оценивали после окрашивания клеток, выделенных из мозга, определяя содержание популяций $CD11b^{+}/CD45^{low}$, соответствующей покоящейся микроглии, и $CD11b^{+}/CD45^{high}$, соответствующей активированной микроглии/макрофагам, а также популяции клеток с высокой экспрессией TSPO с помощью проточной цитометрии. Через 7 сут после общего гамма-облучения мышей в дозе 2 Гр $CD11b^{+}/CD45^{high}$ микроглия была повышена, но через 2 мес после облучения в дозах 0,1 Гр и 2 Гр не было обнаружено значимых различий в количестве $CD11b^{+}/CD45^{low}$ и $CD11b^{+}/CD45^{high}$ клеток микроглии у этих животных с контролем, в это же время нарушений поведения и когнитивных функций не отмечалось в обоих случаях. Содержание клеток с высокой экспрессией TSPO через 2 мес также не отличалось от контроля после облучения и в дозе 0,1 Гр, и 2 Гр, что свидетельствовало об отсутствии активированной микроглии и нейровоспаления, приводящего к когнитивным нарушениям в отдаленный период после действия облучения в этих дозах.

Изучение содержания уровня клеток с высокой экспрессией TSPO в динамике после гамма-облучения головы мышей линии C57BL/6 в дозах 2 и 8 Гр показало, что уровень клеток с высокой экспрессией TSPO в мозге у мышей, облученных в дозе 8 Гр, сохранялся достоверно повышенным по сравнению с контрольными животными и, облученными в дозе 2 Гр, от 3 сут до 6 мес после воздействия. Через 2 мес у животных, облученных в дозе 8 Гр при повышенном уровне клеток с высокой экспрессией TSPO по сравнению с облучением в дозе 2 Гр, регистрировались высокий уровень экспрессии мРНК *TNF-α*, *IL-6*, *IL-10* и увеличение содержания астроцитов в гиппокампе, а уровень мРНК *TGF-β* достоверно снижался, причем эти изменения сопровождались нарушением когнитивных функций [38, 39].

Таким образом, все накопленные к этому времени экспериментальные данные о действии высоких и малых доз гамма-излучения на экспрессию TSPO в ЦНС свидетельствуют о том, что этот маркер может рассматриваться как перспективный для ранней диагностики радиационно-индуцированного нейровоспаления, приводящего к развитию когнитивных нарушений.

Анализ уровня белка TSPO при нейродегенеративных заболеваниях и радиационно-индуцированом повреждении мозга с помощью лигандов с различной химической структурой и их использование для терапии

Было установлено, что с сайтом связывания с бензодиазепинами в белке TSPO в клетках активированной микроглии может взаимодействовать препарат [3H]PK11195 (1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide), который не

относится к бензодиазепинам. Этот радиолиганд первого поколения используется до настоящего времени в качестве диагностического маркера активации микроглии *in vivo*, а его распределение и накопление в головном мозге – в качестве инструмента визуализации нейровоспаления в клинической неврологии, но он обладает низкой биодоступностью в ЦНС и имеет высокий уровень неспецифического связывания [17]. Позже исследование экспрессии TSPO с помощью специфического связывания радиолигандов [^{3}H]-PK11195 и [^{3}H]-PBR28 на срезах мозга пациентов с рассеянным склерозом показало, что TSPO экспрессировался в клетках микроглии независимо от их фенотипа и не наблюдалось накопления радиолигандов преимущественно в провоспалительной микроглии или макрофагах [40]. При этом у пациентов с рассеянным склерозом и с БА выявлялось значительное увеличение TSPO-положительных астроцитов, составляющих до 25 % меченых клеток [40, 41]. Ограничением для исследования уровня TSPO с использованием радиолигандов второго поколения (PBR28) является их низкая аффинность к этому белку из-за наличия полиморфизма A147T TSPO у человека [18]. Другое ограничение для исследования уровня TSPO в мозге с помощью радиолигандов связано с тем, что TSPO экспрессируется во всех клетках ЦНС и нет области с полным отсутствием белка, что усложняет интерпретацию результатов исследований ПЭТ [42]. Наконец, есть основания полагать, что лиганды TSPO, имеющие гидрофобную структуру, могут связываться с белками плазмы и, следовательно, будут недоступны для связывания с TSPO, что тоже негативно влияет на точность результатов ПЭТ-сканирования [43]. В настоящее время ПЭТ с использованием радиоактивно меченных специфических лигандов к TSPO третьего поколения применяется для оценки процессов нейровоспаления в мозге у больных с психическими или неврологическими расстройствами, такими как болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, деменция, боковой амиотрофический склероз, рассеянный склероз, а также депрессия, шизофрения и биполярное расстройство [44]. Изучение содержания TSPO в различных клетках ЦНС на моделях с использованием экспериментальных животных и у людей в норме и при патологии будет способствовать лучшему пониманию последствий нарушений, вызванных нейровоспалением. Несмотря на то, что методом ПЭТ экспрессия TSPO была изучена при широком спектре нейродегенеративных заболеваний, содержание TSPO в головном мозге после действия ионизирующего излучения исследовано недостаточно. Эти исследования необходимы также для разработки подходов к терапии пациентов с нейродегенеративными заболеваниями и радиационно-индуцированным нейровоспалением, для диагностики которых лиганды TSPO будут применяться, так как получены результаты, подтверждающие возможность использования некоторых из этих лигандов как в качестве диагностических препаратов, так и для фармакологической коррекции нейровоспаления (табл. 1).

Анализ уровня белка TSPO в клетках периферической крови при радиационно-индуцированном нейровоспалении у экспериментальных животных

Несмотря на то, что научная и клиническая значимость исследований нейровоспаления методом ПЭТ с радиолигандами TSPO очевидна, этот метод клинической диагностики имеет довольно низкую специфичность. Так, было показано, что ПЭТ-анализ с использованием [^{18}F]-FEPP не выявлял повышенной экспрессии TSPO у экспериментальных животных через 1 и 3 сут после травмы мозга, в то время как регистрировалась активация микроглии и нейровоспаление, а значимое повышение экспрессии TSPO в головном мозге определялось методом проточной цитометрии [61].

В работе Kanegawa N. et al было исследовано связывание лиганда TSPO – [^{11}C]PBR28 в головном мозге и с иммунными клетками периферической крови у здоровых доноров, и обнаружена достоверная положительная корреляция, что позволило предположить наличие функциональной связи между этими клетками, например, общего регуляторного механизма [62].

Основываясь на том, что в периферической крови TSPO экспрессируется в моноцитах и полиморфноядерных нейтрофилах периферической крови [63], мы предположили, что изменение уровня TSPO во фракции моноцитов может коррелировать с изменением его уровня в активированных глиальных клетках после облучения мозга и отражать развитие нейровоспаления. Исследование изменения содержания клеток с высокой экспрессией TSPO во фракции моноцитов периферической крови облученных животных с помощью проточной цитометрии позволило выявить схожую динамику с изменением содержания таких клеток микроглии в мозге в период до 6 мес после воздействия [38]. При этом значимое по сравнению с необлученным контролем увеличение количества клеток с высокой экспрессией белка TSPO во фракции моноцитов через 3 сут, 1 и 2 мес после облучения коррелировало с увеличением количества TSPO^{high} клеток микроглии в суспензии клеток мозга. Полученные данные позволяют нам предположить, что увеличение количества клеток с высокой экспрессией белка TSPO во фракции моноцитов периферической крови через 3 сут, 1 и 2 мес может отражать общую реакцию клеток периферической иммунной системы и глиальных клеток в мозге на общие регуляторные гуморальные факторы, в том числе цитокины и хемокины, секретируемые активированными клетками мозга в ответ на облучение.

Таким образом, если обнаруженная связь между периферической иммунной системой и иммунной системой ЦНС лежит в основе корреляции между изменением уровня TSPO в клетках периферической крови и микроглии в головном мозге, то определение изменения уровня TSPO в моноцитах периферической крови с помощью проточной цитометриии может стать простым и чувствительным методом детекции развития нейровоспаления и контроля эффективности его лечения.

В ряде исследований продемонстрировано, что некоторые маркеры нейровоспаления, уровень которых повышается мозге после облучения, обнаруживаются также в церебральной жидкости или в крови у пациентов. Радиационно-индуцированное воспаление в ЦНС сопровождается повышением активности различных провоспалительных медиаторов, в том числе цитокинов и факторов роста, включая TNF-α, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, индуцибельной синтазы оксида азота, молекул адгезии ICAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1) и VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1), матриксной металлопротеиназы MMP-9 (matrix metalloproteinase 9), MCP1, причем наблюдается как повышение экспрессии их генов, так и уровня этих белков в коре и гиппокампе. Все перечисленные маркеры нейровоспаления были обнаружены в образцах крови пациентов после прохождения курса лучевой терапии опухолей [64]. При нарушении целостности ГЭБ в периферической крови обнаруживаются биомаркеры, отражающие процессы активации или повреждения клеток нервной ткани после действия облучения: активации астроцитов – GFAP, активации

Таблица 1

Химическая структура и использование лигандов TSPO в экспериментальных и клинических исследованиях

Chemical structure and application of TSPO ligands in experimental and clinical studies

Лиганд TSPO	Химическая структура	Экспериментальные и клинические подходы с использованием лигандов TSPO
Ro5-4864	Производное бензодиазепина	Исследования накопления радиолиганда первого поколения [^{11}C]Ro5-4864 у пациентов с глиомами не продемонстрировали различий в уровнях накопления радиофармпрепарата в опухолях и в здоровых областях мозга [17]. Несмотря на нейропротективный эффект Ro5-4864 в экспериментальных моделях повреждения мозга [45], его клиническое применение оказалось неприемлемо из-за эпилептогенных свойств [46].
PK11195	Производное изохинолина	Радиолиганд первого поколения, который широко используется в клинических исследованиях для диагностики нейровоспаления при различных нейродегенеративных патологиях [17]. Увеличение накопления ^{11}C-PK11195 в базальных ганглиях, таламусе, стволе мозга и лобных, височных и корковых областях головного мозга пациентов с БП положительно коррелировало со степенью нарушений моторики [44]. У пациентов с БА наблюдалось повышение связывания ^{11}C-PK11195 на 30 % по сравнению с контрольной группой [44]. Более высокое поглощение [^{11}C]PK11195 наблюдалось у животных на 3-и сут после облучения головы в дозе 25 Гр, по сравнению с необлученным контролем в большинстве областей мозга, причем через 31 сут все еще детектировалось более высокое накопление радиофармпрепарата, чем в контрольной группе и группе, облученной в дозе 10 Гр [47]. Введение PK-11195 животным с нейровоспалением, вызванным действием ЛПС, приводило к снижению экспрессии генов провоспалительных факторов [48].
SSR180575	Производное индол ацетамида	Радиолиганд второго поколения, обладает высоким сродством к TSPO, но низкой аффинностью к полиморфному варианту rs697 [49]. Было обнаружено, что SSR180575 способствовал выживанию и регенерации нейронов в экспериментах на животных моделях аксотомии и невропатии [50]. Авторадиография *in vitro* и ПЭТ-визуализация головного мозга *in vivo* продемонстрировали более эффективное накопление [^{11}C]SSR180575 в областях головного мозга с высоким уровнем экспрессии TSPO по сравнению с другими участками [51, 52].
DAA1106 PBR28 FEPPA	Производные феноксиакрил-ацетамида	Радиолиганды второго поколения, с низкой аффинностью к полиморфному варианту rs6971. В головном мозге пациентов с БА наблюдалось более высокое накопление [^{11}C]DAA1106 по сравнению с контрольной группой [53]. ^{11}C-PBR28 более эффективно детектировался у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой во всех исследуемых отделах головного мозга [22], а также с помощью этого лиганда выявлялась активация глиальных клеток в моторной коре у пациентов с боковым амниотрофическим склерозом [20] и нейровоспаление у пациентов с рассеянным склерозом [23]. Значимое увеличение связывания ^{18}F-FEPPA у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой детектировалось в сером (гиппокамп, височная, префронтальная, теменная и затылочная кора) и белом веществах, причем наблюдалась взаимосвязь между высоким уровнем связывания радиолиганда и когнитивными нарушениями [21].
CB251 Zolpidem	Производныеимидазопиридина	В экспериментах *in vitro* [^{18}F]CB251 продемонстрировал высокую афинность к TSPO независимо от генотипа, а также с помощью ПЭТ/МРТ позволял выявлять нейровоспаление в мозге мышей, которым вводили ЛПС [54]. В 23 опубликованных результатах исследования и 6 клинических испытаниях действия препарата Zolpidem, выполненных в течение 15 лет, продемонстрирована связь между дозой препарата, не вызывающей седативного эффекта, и восстановлением повреждений головного мозга в результате инсультов, травм и гипоксии [55].
GE-180	Производное тетрагидро-карбазола	Увеличение накопления [^{18}F]GE-180 у пациентов с кавернозными мальформациями головного мозга продемонстрировало эффективность использования этого лиганда третьего поколения в качестве маркера нейровоспаления [56].
XBD173 (Emapunil), ZBD-2	Производные пурина	Введение экспериментальным животным XBD173 (AC-5216, Emapunil) приводило к снижению содержания активированной микроглии, которое сопровождалось уменьшением нейродегенерации [57]. ZBD-2 оказывал нейропротективное действие у мышей с окклюзией средней мозговой артерии [58].
ER176, 2-Cl-MGV-1, MGV-1	Производные хиназолина	[^{11}C]ER176 (третье поколение лигандов TSPO) в настоящее время считается наиболее эффективным радиолигандом для визуализации нейровоспалений при нейродегенеративных патологиях [42]. 2-Cl-MGV-1, MGV-1 могут быть перспективными препаратами для лечения нейропатологических состояний из-за их способности подавлять активацию микроглии и снижать секрецию провоспалительных факторов [33].
Etifoxine hydrochloride	Производное бензоксазина	Etifoxine hydrochloride (Stresam®) в настоящее время используется в клинической практике для лечения тревожных расстройств [59]. Исследование действия радиоактивно-меченного препарата Etifoxine, выявило защитные эффекты на моделях травмы головного мозга и БА [60].

эндотелиальных клеток – VEGF (vascular endothelial growth factor), VCAM-1 и ICAM-1, повреждения эндотелиальных клеток и нейронов – нейрон-специфическая энолаза (neuron-specific enolase), S100 кальцийсвязывающий белок B (S100 calcium-binding protein), демиелинизации – антитела к аквапорину-4, основной белок миелина (myelin basic protein). Исследования таких биомаркеров, как нейронспецифичный фермент убиквитин С-концевая гидролаза, фрагмент протеолитического расщепления рецептора N-метил-D-аспартата (NMDA) или антитела к NMDA-рецептору, предшественник эндотелиального активирующего моноциты полипептида-II (p43/pro-EMAPII), нитротирозин, а также оксистерины в спинномозговой жидкости в плазме, показали, что их уровни могут коррелировать с повреждением головного мозга после облучения [64].

Однако маркеры повреждения клеток нервной ткани и демиелинизации в большей степени характерны для радиационного некроза, а вызванное облучением снижение когнитивных функций происходит при дозах, значительно меньших, чем те, которые могут вызвать радионекроз [65]. Использование в качестве биомаркеров от-

даленных последствий радиационно-индуцированного повреждения ЦНС медиаторов воспаления может быть ограничено из-за двойственной роли воспалительных процессов после облучения, так как воспаление может быть защитной реакцией нервной ткани, и изменение уровня медиаторов воспаления может указывать не только на неблагоприятный исход, но и на благоприятный. Несмотря на то, что ряде исследований продемонстрировано повышение провоспалительных цитокинов в крови у пациентов с нейродегенеративными патологиями, также было показано, что периферические иммунные профили не обязательно репрезентативны тем, которые наблюдаются в ЦНС, из-за влияния факторов системного воспаления [66]. Поэтому исследование изменения уровня TSPO в моноцитах периферической крови пациентов после лучевой терапии опухолей мозга и области головы и шеи, а также при различных нейродегенеративных заболеваниях может быть дополнительным чувствительным маркером нейровоспаления, ассоциированного с когнитивными дисфункциями.

Заключение

Появление нейровоспаления, вызванного облучением или действием на головной мозг других повреждающих факторов, важно выявлять на пресимптоматических этапах, поскольку оно возникает на ранних стадиях нейродегенеративных нарушений. Поэтому для контроля прогрессирования патологических процессов в ЦНС и оценки эффективности потенциальных методов лечения, направленных на подавление нейровоспаления, важно иметь соответствующие маркеры и возможность их неоднократного анализа в динамике заболевания.

Индуцируемая экспрессия TSPO в клетках активированной микроглии – резидентных иммунных клетках мозга, – является ранним индикатором развивающегося нейровоспаления ЦНС, приводящего к возникновению когнитивного дефицита. Поэтому использование TSPO в качестве биомаркера повреждения ткани мозга и активации микроглии после облучения может позволить до появления клинических симптомов диагностировать нейровоспаление и прогнозировать развитие нарушений функций мозга на ранних стадиях после действия на ЦНС ионизирующего излучения. Многие радиоактивно меченные лиганды TSPO разработаны для визуализации области воспаления *in vivo* и верифицированы для использования в диагностике много лет назад. Несмотря на сказанное, и в настоящее время это направление остается одним из самых актуальных в области биомедицинских исследований, направленных на поиск новых высокоспецифических маркеров активации глиальных клеток.

Обнаруженное нами увеличение клеток с высокой экспрессией TSPO во фракции моноцитов периферической крови после облучения мозга коррелирует с повышением содержания клеток активированной микроглии с провоспалительным фенотипом, что позволяет рассматривать этот показатель в качестве перспективного раннего маркера для диагностики нейровоспаления, вызванного действием облучения и приводящего к когнитивному дефициту. Поэтому исследование изменения уровня TSPO во фракции моноцитов периферической крови пациентов после лучевой терапии опухолей мозга и области головы и шеи, а также при различных нейродегенеративных заболеваниях может оказаться незаменимым показателем для мониторинга активации глиальных клеток в ЦНС после воздействия и оценки развития нейровоспаления, ассоциированного с когнитивными дисфункциями в отдаленный период после облучения.

Таким образом, современные представления о структуре TSPO стали основой для создания дизайна новых терапевтических и диагностических препаратов на основе синтетических лигандов этого белка. Использование для исследований методом ПЭТ радиолигандов TSPO первого поколения было недостаточно специфично, а специфичность лигандов второго поколения зависела от полиморфизма *Tspo*, что стимулировало создание диагностических препаратов – лигандов третьего поколения, эффективность которых была одинаковой для всех полиморфных вариантов этого белка, а специфичность – более высокой. Исследование эффективности новых соединений этого ряда будет способствовать совершенствованию методов диагностики с использованием ПЭТ и лечения пациентов с нейродегенеративными патологиями, особенно тех, которые развиваются в отдаленный период после лучевой терапии и приводят к появлению когнитивных нарушений у пациентов.

Сочетание биохимических методов анализа сывороточных маркеров повреждения ЦНС и уровня TSPO в моноцитах крови с функциональными методами визуализации позволит оптимизировать диагностику отдаленных последствий лучевой терапии опухолей мозга, вызванных радиационно-индуцированным воспалением, и обеспечит повышение информативности исследования благодаря расширению панели анализируемых показателей.

Анализ современной литературы свидетельствует о том, что возможность регистрации нейровоспаления по повышению уровня экспрессии TSPO в клетках периферической крови позволит использовать этот белок в качестве диагностического и прогностического маркера пострадиационных осложнений. Доступность исследования уровня TSPO в моноцитах, в том числе и одновременно с определением сывороточных маркеров воспаления и повреждения клеток ЦНС, определяет перспективность его использования в качестве биомаркера для мониторинга радиационно-индуцированного нейровоспаления и прогнозирования ответа пациента на терапию.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Betlazar C, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. The Impact of High and Low Dose Ionising Radiation on the Central Nervous System. Redox Biol. 2016;9:144-56. doi: 10.1016/j.redox.2016.08.002.
2. Liu Q, Huang Y, Duan M, Yang Q, Ren B, Tang F. Microglia as Therapeutic Target for Radiation-Induced Brain Injury. International Journal of Molecular Sciences. 2022;23(15). doi: 10.3390/ijms23158286.
3. Maeda J, Higuchi M, Inaji M, Ji B, Haneda E, Okauchi T, et al. Phase-Dependent Roles of Reactive Microglia and Astrocytes in Nervous System Injury as Delineated by Imaging of Peripheral Benzodiazepine Receptor. Brain Research. 2007;1157:100-11. doi: 10.1016/j.brainres.2007.04.054.
4. Betlazar C, Middleton RJ, Banati R, Liu GJ. The Translocator Protein (TSPO) in Mitochondrial Bioenergetics and Immune Processes. Cells. 2020;9(2). doi: 10.3390/cells9020512.
5. Braestrup C, Squires RF. Specific Benzodiazepine Receptors in Rat Brain Characterized by High-Affinity (3h)Diazepam Binding. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1977;74(9):3805-9. doi: 10.1073/pnas.74.9.3805.
6. Mukhin AG, Papadopoulos V, Costa E, Krueger KE. Mitochondrial Benzodiazepine Receptors Regulate Steroid Biosynthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1989;86(24):9813-6. doi: 10.1073/pnas.86.24.9813.

7. Sprengel R, Werner P, Seeburg PH, Mukhin AG, Santi MR, Grayson DR, et al. Molecular Cloning and Expression of CDNA Encoding a Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor. The Journal of Biological Chemistry. 1989;264(34):20415-21. doi:
8. Gatliff J, Campanella M. TSPO: Kaleidoscopic 18-Kda Amid Biochemical Pharmacology, Control and Targeting of Mitochondria. The Biochemical Journal. 2016;473(2):107-21. doi: 10.1042/bj20150899.
9. Li F, Liu J, Liu N, Kuhn LA, Garavito RM, Ferguson-Miller S. Translocator Protein 18 kDa (TSPO): an Old Protein with New Functions? Biochemistry. 2016;55(20):2821-31. doi: 10.1021/acs.biochem.6b00142.
10. Papadopoulos V, Fan J, Zirkin B. Translocator Protein (18 kDa): an Update on its Function in Steroidogenesis. Journal of Neuroendocrinology. 2018;30(2). doi: 10.1111/jne.12500.
11. Betlazar C, Harrison-Brown M, Middleton RJ, Banati R, Liu GJ. Cellular Sources and Regional Variations in the Expression of the Neuroinflammatory Marker Translocator Protein (TSPO) in the Normal Brain. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(9). doi: 10.3390/ijms19092707.
12. Notter T, Schalbetter SM, Clifton NE, Mattei D, Richetto J, Thomas K, et al. Neuronal Activity Increases Translocator Protein (TSPO) Levels. Molecular Psychiatry. 2021;26(6):2025-37. doi: 10.1038/s41380-020-0745-1.
13. Boyd A, Byrne S, Middleton RJ, Banati RB, Liu GJ. Control of Neuroinflammation through Radiation-Induced Microglial Changes. Cells. 2021;10(9). doi: 10.3390/cells10092381.
14. Milenkovic VM, Slim D, Bader S, Koch V, Heinl ES, Alvarez-Carbonell D, et al. CRISPR-Cas9 Mediated TSPO Gene Knockout alters Respiration and Cellular Metabolism in Human Primary Microglia Cells. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(13). doi: 10.3390/ijms20133359.
15. Loth MK, Guariglia SR, Re DB, Perez J, de Paiva VN, Dziedzic JL, et al. A Novel Interaction of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) with NADPH Oxidase in Microglia. Mol Neurobiol. 2020;57(11):4467-87. doi: 10.1007/s12035-020-02042-w.
16. Lee Y, Park Y, Nam H, Lee JW, Yu SW. Translocator Protein (TSPO): the New Story of the Old Protein in Neuroinflammation. BMB Reports. 2020;53(1):20-7. doi: 10.5483/BMBRep.2020.53.1.273.
17. Liu GJ, Middleton RJ, Hatty CR, Kam WW, Chan R, Pham T, et al. The 18 kDa Translocator Protein, Microglia and Neuroinflammation. Brain Pathology (Zurich, Switzerland). 2014;24(6):631-53. doi: 10.1111/bpa.12196.
18. Owen DR, Yeo AJ, Gunn RN, Song K, Wadsworth G, Lewis A, et al. An 18-kDa Translocator Protein (TSPO) Polymorphism Explains Differences in Binding Affinity of the PET Radioligand PBR28. J Cereb Blood Flow Metab. 2012;32(1):1-5. doi: 10.1038/jcbfm.2011.147.
19. Werry EL, Bright FM, Piguet O, Ittner LM, Halliday GM, Hodges JR, et al. Recent Developments in TSPO PET Imaging as a Biomarker of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(13). doi: 10.3390/ijms20133161.
20. Zürcher NR, Loggia ML, Lawson R, Chonde DB, Izquierdo-Garcia D, Yasek JE, et al. Increased in Vivo Glial Activation in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis: Assessed with [(11)C]-PBR28. NeuroImage Clinical. 2015;7:409-14. doi: 10.1016/j.nicl.2015.01.009.
21. Suridjan I, Pollock BG, Verhoeff NP, Voineskos AN, Chow T, Rusjan PM, et al. In-Vivo Imaging of Grey and White Matter Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: a Positron Emission Tomography Study with a Novel Radioligand, [18F]-FEPPA. Mol Psychiatry. 2015;20(12):1579-87. doi: 10.1038/mp.2015.1.
22. Kreisl WC, Lyoo CH, McGwier M, Snow J, Jenko KJ, Kimura N, et al. In Vivo Radioligand Binding to Translocator Protein Correlates with Severity of Alzheimer's Disease. Brain: a Journal of Neurology. 2013;136(Pt 7):2228-38. doi: 10.1093/brain/awt145.
23. Datta G, Colasanti A, Kalk N, Owen D, Scott G, Rabiner EA, et al. (11)C-PBR28 and (18)F-PBR111 Detect White Matter Inflammatory Heterogeneity in Multiple Sclerosis. Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine. 2017;58(9):1477-82. doi: 10.2967/jnumed.116.187161.
24. Da Pozzo E, Costa B, Martini C. Translocator Protein (TSPO) and Neurosteroids: Implications in Psychiatric Disorders. Current Molecular Medicine. 2012;12(4):426-42. doi: 10.2174/156652412800163451.
25. Rupprecht R, Rammes G, Eser D, Baghai TC, Schüle C, Nothdurfter C, et al. Translocator Protein (18 kD) as Target for Anxiolytics without Benzodiazepine-Like Side Effects. Science (New York, NY). 2009;325(5939):490-3. doi: 10.1126/science.1175055.
26. Costa B, Pini S, Martini C, Abelli M, Gabelloni P, Landi S, et al. Ala147Thr Substitution in Translocator Protein is Associated with Adult Separation Anxiety in Patients with Depression. Psychiatric Genetics. 2009;19(2):110-1. doi: 10.1097/YPG.0b013e32832080f6.
27. Owen DR, Fan J, Campioli E, Venugopal S, Midzak A, Daly E, et al. TSPO Mutations in Rats and a Human Polymorphism Impair the Rate of Steroid Synthesis. The Biochemical Journal. 2017;474(23):3985-99. doi: 10.1042/bcj20170648.
28. Prossin AR, Chandler M, Ryan KA, Saunders EF, Kamali M, Papadopoulos V, et al. Functional TSPO Polymorphism Predicts Variance in the Diurnal Cortisol Rhythm in Bipolar Disorder. Psychoneuroendocrinology. 2018;89:194-202. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.01.013.
29. Guo Y, Kalathur RC, Liu Q, Kloss B, Bruni R, Ginter C, et al. Protein Structure. Structure and Activity of Tryptophan-Rich TSPO Proteins. Science (New York, NY). 2015;347(6221):551-5. doi: 10.1126/science.aaa1534.
30. Batarseh A, Papadopoulos V. Regulation of Translocator Protein 18 kDa (TSPO) Expression in Health and Disease States. Molecular and Cellular Endocrinology. 2010;327(1-2):1-12. doi: 10.1016/j.mce.2010.06.013.
31. Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: Active Sensor and Versatile Effector Cells in The Normal and Pathologic Brain. Nature Neuroscience. 2007;10(11):1387-94. doi: 10.1038/nn1997.
32. Gao C, Jiang J, Tan Y, Chen S. Microglia in Neurodegenerative Diseases: Mechanism and Potential Therapeutic Targets. Signal Transduction and Targeted Therapy. 2023;8(1):359. doi: 10.1038/s41392-023-01588-0.
33. Monga S, Nagler R, Amara R, Weizman A, Gavish M. Inhibitory Effects of the Two Novel TSPO Ligands 2-Cl-MGV-1 and MGV-1 on LPS-induced Microglial Activation. Cells. 2019;8(5). doi: 10.3390/cells8050486.
34. Turnquist C, Harris BT, Harris CC. Radiation-Induced Brain Injury: Current Concepts and Therapeutic Strategies Targeting Neuroinflammation. Neuro-oncology Advances. 2020;2(1):vdaa057. doi: 10.1093/noajnl/vdaa057.
35. Hladik D, Tapio S. Effects of Ionizing Radiation on the Mammalian Brain. Mutation Research Reviews in Mutation Research. 2016;770(Pt B):219-30. doi: 10.1016/j.mrrev.2016.08.003.
36. Betlazar C, Middleton RJ, Howell N, Storer B, Davis E, Davies J, et al. Mitochondrial Translocator Protein (TSPO) Expression in the Brain after Whole Body Gamma Irradiation. Frontiers in Cell and Developmental Biology. 2021;9:715444. doi: 10.3389/fcell.2021.715444.
37. Родина АВ, Семочкина ЮП, Копаева МЮ, Стрепетов АН, Сафронов ВВ, Москалева ЕЮ. Состояние микроглии и когнитивные функции у мышей в отдаленный период после сочетанного действия низких доз гамма- и гамма-нейтронного излучения // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2019. Т.53, №4. С. 65-73. [Rodina AV, Semochkina UP, Kopaeva MY, Strepetov AN, Safronov VV, Moskaleva EY. The State of Microglia and Cognitive Functions in Mice in the Long-Term Period after Combined Exposure to Low Doses of Gamma and Gamma Neutron Radiation. *Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina.* 2019;53(4):65-73 (In Russ.)].
38. Rodina AV, Semochkina YP, Vysotskaya OV, Parfenova AA, Moskaleva EY. Radiation-induced Neuroinflammation Monitoring by the Level of Peripheral Blood Monocytes with High Expression of Translocator Protein. Int J Radiat Biol. 2023;99(9):1364-77. doi: 10.1080/09553002.2023.2177765.
39. Zhirnik AS SO, Semochkina JP, Shibaeva KD, Rodina AV, Ratushnjak MG, Moskaleva EJ. Cognitive Impairment and Induction of Neuroinflammation in the Late Period after Single Whole Brain γ-Irradiation of Mice. *Radiatsionnaya Biologiya Radioekologiya*. 2021;61(1):32-43.
40. Nutma E, Stephenson JA, Gorter RP, de Bruin J, Boucherie DM, Donat CK, et al. A Quantitative Neuropathological Assessment of Translocator Protein Expression in Multiple Sclerosis. Brain: a Journal of Neurology. 2019;142(11):3440-55. doi: 10.1093/brain/awz287.
41. Gui Y, Marks JD, Das S, Hyman BT, Serrano-Pozo A. Characterization of the 18 kDa Translocator Protein (TSPO) Expression in Post-Mortem Normal and Alzheimer's Disease Brains. Brain pathology (Zurich, Switzerland). 2020;30(1):151-64. doi: 10.1111/bpa.12763.
42. Kreisl WC, Kim MJ, Coughlin JM, Henter ID, Owen DR, Innis RB. PET Imaging of Neuroinflammation in Neurological Disorders. Lancet Neurol. 2020;19(11):940-50. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30346-X.
43. Nettis MA, Veronese M, Nikkheslat N, Mariani N, Lombardo G, Sforzini L, et al. PET Imaging Shows No Changes in TSPO Brain Density after IFN-α Immune Challenge in Healthy Human Volunteers. Transl Psychiatry. 2020;10(1):89. doi: 10.1038/s41398-020-0768-z.
44. Dupont AC, Largeau B, Santiago Ribeiro MJ, Guilloteau D, Tronel C, Arlicot N. Translocator Protein-18 kDa (TSPO) Positron Emission Tomography (PET) Imaging and its Clinical Impact in Neurodegenerative Diseases. International Journal of Molecular Sciences. 2017;18(4). doi: 10.3390/ijms18040785.
45. Soustiel JF, Zaaroor M, Vlodavsky E, Veenman L, Weizman A, Gavish M. Neuroprotective Effect of Ro5-4864 Following Brain Injury. Experimental Neurology. 2008;214(2):201-8. doi: 10.1016/j.expneurol.2008.08.008.
46. Shiotani T, Nakamoto Y, Watabe S, Yoshii M, Nabeshima T. Anticonvulsant Actions of Nefiracetam on Epileptic EL Mice and Their Relation to Peripheral-Type Benzodiazepine Receptors. Brain Research. 2000;859(2):255-61. doi: 10.1016/s0006-8993(00)01971-5.
47. Parente A, de Vries EFJ, van Waarde A, Ioannou M, van Luijk P, Langendijk JA, et al. The Acute and Early Effects of Whole-Brain Irra-

diation on Glial Activation, Brain Metabolism, and Behavior: a Positron Emission Tomography Study. Molecular Imaging and Biology. 2020;22(4):1012-20. doi: 10.1007/s11307-020-01483-y.
48. Ma L, Zhang H, Liu N, Wang PQ, Guo WZ, Fu Q, et al. TSPO Ligand PK11195 Alleviates Neuroinflammation and Beta-Amyloid Generation Induced by Systemic LPS Administration. Brain Research Bulletin. 2016;121:192-200. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.001.
49. Scarf AM, Ittner LM, Kassiou M. The Translocator Protein (18 kDa): Central Nervous System Disease and Drug Design. Journal of Medicinal Chemistry. 2009;52(3):581-92. doi: 10.1021/jm8011678.
50. Ferzaz B, Brault E, Bourliaud G, Robert JP, Poughon G, Claustre Y, et al. SSR180575 (7-chloro-N,N,5-trimethyl-4-oxo-3-phenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indole-1-acetamide), a Peripheral Benzodiazepine Receptor Ligand, Promotes Neuronal Survival and Repair. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2002;301(3):1067-78. doi: 10.1124/jpet.301.3.1067.
51. Thominiaux C, Damont A, Kuhnast B, Demphel S, Le Helleix S, Boisnard S, et al. Radiosynthesis of 7-chloro-N,N-dimethyl-5-[11C] methyl-4-oxo-3-phenyl-3,5-dihydro-4H-pyridazino[4,5-b]indole-1-acetamide, [11C]SSR180575, a Novel Radioligand for Imaging the TSPO (peripheral benzodiazepine receptor) with PET. Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals. 2010;53(13):767-73. doi: https://doi.org/10.1002/jlcr.1794.
52. Chauveau F, Boutin H, Van Camp N, Thominiaux C, Hantraye P, Rivron L, et al. In Vivo Imaging of Neuroinflammation in the Rodent Brain with [11C]SSR180575, a Novel Indoleacetamide Radioligand of the Translocator Protein (18 kDa). Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2011;38(3):509-14. doi: 10.1007/s00259-010-1628-5.
53. Yasuno F, Ota M, Kosaka J, Ito H, Higuchi M, Doronbekov TK, et al. Increased Binding of Peripheral Benzodiazepine Receptor in Alzheimer's Disease Measured by Positron Emission Tomography with [11C] DAA1106. Biological Psychiatry. 2008;64(10):835-41. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.04.021.
54. Kim K, Kim H, Bae S-H, Lee S-Y, Kim Y-H, Na J, et al. CB251 PET/MR Imaging Probe Targeting Translocator Protein (TSPO) Independent of its Polymorphism in a Neuroinflammation Model. Theranostics. 2020;10(20):9315-31. doi: 10.7150/thno.46875.
55. Sutton JA, Clauss RP. A Review of the Evidence of Zolpidem Efficacy in Neurological Disability after Brain Damage Due to Stroke, Trauma and Hypoxia: a Justification of Further Clinical Trials. Brain Injury. 2017;31(8):1019-27. doi: 10.1080/02699052.2017.1300836.
56. Fan Z, Calsolaro V, Atkinson RA, Femminella GD, Waldman A, Buckley C, et al. Flutriciclamide (18F-GE180) PET: First-in-Human PET Study of Novel Third-Generation In Vivo Marker of Human Translocator Protein. Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine. 2016;57(11):1753-9. doi: 10.2967/jnumed.115.169078.
57. Scholz R, Caramoy A, Bhuckory MB, Rashid K, Chen M, Xu H, et al. Targeting Translocator Protein (18 kDa) (TSPO) Dampens Pro-Inflammatory Microglia Reactivity in the Retina and Protects from Degeneration. Journal of Neuroinflammation. 2015;12(1):201. doi: 10.1186/s12974-015-0422-5.
58. Li XB, Guo HL, Shi TY, Yang L, Wang M, Zhang K, et al. Neuroprotective Effects of a Novel Translocator Protein (18 kDa) Ligand, ZBD-2, against Focal Cerebral Ischemia and NMDA-Induced Neurotoxicity. Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology. 2015;42(10):1068-74. doi: 10.1111/1440-1681.12460.
59. Stein DJ. Etifoxine Versus Alprazolam for the Treatment of Adjustment Disorder with Anxiety: a Randomized Controlled Trial. Advances in Therapy. 2015;32(1):57-68. doi: 10.1007/s12325-015-0176-6.
60. Barron AM, Garcia-Segura LM, Caruso D, Jayaraman A, Lee JW, Melcangi RC, et al. Ligand for Translocator Protein Reverses Pathology in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. J Neurosci. 2013;33(20):8891-7. doi: 10.1523/jneurosci.1350-13.2013.
61. Delage C, Vignal N, Guerin C, Taib T, Barboteau C, Mamma C, et al. From Positron Emission Tomography to Cell Analysis of the 18-kDa Translocator Protein in Mild Traumatic Brain Injury. Sci Rep. 2021;11(1):24009. doi: 10.1038/s41598-021-03416-3.
62. Kanegawa N, Collste K, Forsberg A, Schain M, Arakawa R, Jucaite A, et al. In Vivo Evidence of a Functional Association Between Immune Cells in Blood and Brain in Healthy Human Subjects. Brain Behav Immun. 2016;54:149-57. doi: 10.1016/j.bbi.2016.01.019.
63. Canat X, Carayon P, Bouaboula M, Cahard D, Shire D, Roque C, et al. Distribution Profile and Properties of Peripheral-Type Benzodiazepine Receptors on Human Hemopoietic Cells. Life Sci. 1993;52(1):107-18. doi: 10.1016/0024-3205(93)90293-c.
64. Sultana N, Sun C, Katsube T, Wang B. Biomarkers of Brain Damage Induced by Radiotherapy. Dose-response: a Publication of International Hormesis Society. 2020;18(3):1559325820938279. doi: 10.1177/1559325820938279.
65. Makale MT, McDonald CR, Hattangadi-Gluth JA, Kesari S. Mechanisms of Radiotherapy-Associated Cognitive Disability in Patients with Brain Tumours. Nat Rev Neurol. 2017;13(1):52-64. doi: 10.1038/nrneurol.2016.185.
66. Engler H, Brendt P, Wischermann J, Wegner A, Rohling R, Schoemberg T, et al. Selective Increase of Cerebrospinal Fluid IL-6 during Experimental Systemic Inflammation in Humans: Association with Depressive Symptoms. Mol Psychiatry. 2017;22(10):1448-54. doi: 10.1038/mp.2016.264.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».
Участие авторов. Статья подготовлена с одним участием автора.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The author declare no conflict of interest.
Financing. The work was carried out within the state assigment of NRC «Kurchatov institute».
Contribution. The article was prepared with the sole participation of the author.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-46-52

А.М. Корело, М.А. Максютов, С.Ю. Чекин, Е.В. Кочергина, О.Е. Лашкова

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ОБЛУЧЕНИЯ НА МУЛЬТИМОРБИДНОСТЬ УЧАСТНИКОВ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск

Контактное лицо: Александр Михайлович Корело, e-mail: korelo@nrer.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Дать общее представление о наиболее распространенных сочетаниях заболеваний у мужского населения РФ и выявить сочетания заболеваний, на развитие которых могло оказать влияние ионизирующая радиация.
Материал и методы: Когортное исследование влияния внешнего гамма-облучения на мультиморбидность участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС по данным Национального радиационно-эпидемиологического регистра. Мультиморбидность определялась как наличие у одного участника когорты двух и более заболеваний из перечня, состоящего из десяти групп диагнозов: болезни нижних дыхательных путей, болезни костно-мышечной системы, болезни эндокринной системы, психические расстройства, онкология, неврология, болезни органов пищеварения, болезни сердечно-сосудистой системы, болезни мочеполовой системы, болезни органов чувств. Когорту составили мужчины 1919–1969 гг. рождения, работавшие в зоне аварии с 1986 по 1987 гг. и имеющие документально подтвержденную дозу внешнего гамма-облучения всего тела. Период наблюдения за когортой: 1992–2021 гг. Численность когорты на начало наблюдения составила 59 290 чел. Участники исследования были разбиты на две группы по дозе внешнего гамма-облучения: до 150 мГр – 34 602 лиц, 150 мГр и больше – 24 688 лиц. Для всех возможных сочетаний диагнозов рассчитывался относительный радиационный риск как мера связи облучения с заболеваниями. Относительный радиационный риск считался статистически значимым, если левая граница одностороннего 95 %-го доверительного интервала была больше 1. Статистический анализ проводился с использованием языка программирования для статистических вычислений R и пакета для R Arules.
Результаты: За 30 лет наблюдения мультиморбидность отмечена у 62 % лиц. Наиболее распространенными сочетаниями хронических заболеваний были комбинации болезней сердечно-сосудистой системы с болезнями органов пищеварения (23 % от первоначальной численности когорты), с болезнями нижних дыхательных путей (22 %) и с болезнями костно-мышечной системы (18 %). Сочетание всех четырех групп диагнозов выявлено у 5 % лиц. Было выявлено 19 мультиморбидных комбинаций со статистически значимым относительным радиационным риском в диапазоне (1,07–1,23).
Заключение: Влияние облучения на численность лиц с мультиморбидностью не выявлено, но в исследованной когорте есть лица, у которых заболевания сердечно-сосудистой системы, болезни эндокринной системы, онкология и сочетания этих групп диагнозов с заболеваниями других систем организма могут быть вызваны облучением. Статистически значимый относительный радиационный риск для сочетаний диагнозов в целом больше, чем для отдельных заболеваний, составляющих эти сочетания.

Ключевые слова: *Национальный радиационно-эпидемиологический регистр, мультиморбидность, доза, внешнее гамма-облучение, участники ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, когортное исследование, относительный радиационный риск, базовый риск*

Для цитирования: Корело А.М., Максютов М.А., Чекин С.Ю., Кочергина Е.В., Лашкова О.Е. Анализ влияния облучения на мультиморбидность участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С.46–52. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-46-52

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-46-52

A.M. Korelo, M.A. Maksioutov, S.Yu. Chekin, E.V. Kochergina, O.E. Lashkova

Analysis of the Influence of Radiation Exposure on Multimorbidity Among Liquidators of the Consequences of the Accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Centre, Obninsk, Russia

Контактное лицо: A.M. Korelo, e-mail: korelo@nrer.ru

ABSTRACT

Purpose: To give a general idea of the most common combinations of diseases in the male population of the Russian Federation and to identify the combinations of diseases, the development of which could be influenced by ionising radiation.
Material and methods: Cohort study of the influence of external gamma irradiation on multimorbidity of the Chernobyl accident liquidation participants according to the data of the National Radiation Epidemiological Registry. Multimorbidity was defined as the presence in one participant of the cohort of two or more diseases from the list consisting of ten groups of diagnoses: diseases of lower respiratory tract, diseases of musculoskeletal system, diseases of endocrine system, mental disorders, oncology, neurology, diseases of digestive organs, diseases of cardiovascular system, diseases of genitourinary system, diseases of sense organs. The cohort consisted of men born between 1919 and 1969 who worked in the accident zone from 1986 to 1987 and had a documented whole-body external gamma dose. Cohort follow-up period: 1992–2021. The cohort size at the beginning of the follow-up was 59 290 people. The study participants were divided into two groups according to external gamma dose: up to 150 mGy – 34602 individuals, 150 mGy and more – 24 688 individuals. For all possible combinations of diagnoses, relative radiation risk was calculated as a measure of the association of exposure with diseases. The relative radiation risk was considered statistically significant if the left border of the one-sided 95 % confidence interval was greater than 1. Statistical analyses were performed using the R programming language for statistical computing and the R arules package.

Results: During 30 years of follow-up, multimorbidity was noted in 62 % of individuals. The most common combinations of chronic diseases were combinations of cardiovascular diseases with digestive diseases (23 % of the original cohort), with lower respiratory diseases (22 %) and with musculoskeletal diseases (18 %). A combination of all four diagnosis groups was identified in 5 % of individuals. Nineteen multimorbid combinations with statistically significant relative radiation risk in the range (1.07–1.23) were identified.
Conclusions: No effect of radiation exposure on the number of individuals with multimorbidity was found, but in the studied cohort there are individuals with cardiovascular diseases, endocrine diseases, oncology and combinations of these groups of diagnoses with diseases of other body systems may be caused by radiation exposure. The statistically significant relative radiation risk for combinations of diagnoses is, in general, greater than for the individual diseases that make up these combinations.

Keywords: *National Radiation Epidemiological Registry, multimorbidity, dose, external gamma radiation, Chernobyl accident liquidators, cohort study, relative radiation risk, baseline risk*

For citation: Korelo AM, Maksioutov MA, Chekin SYu, Kochergina EV, Lashkova OE. Analysis of the Influence of Radiation Exposure on Multimorbidity Among Liquidators of the Consequences of the Accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):46–52. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-46-52

Введение

В настоящее время у терминов «мультиморбидность», «полиморбидность», «коморбидность» нет общепризнанного определения. В большинстве современных литературных источников под коморбидностью понимается сосуществование двух и более заболеваний, связанных между собой патогенетически, в то время как мультиморбидность (полиморбидность) – это сочетание двух и более хронических заболеваний у одного пациента, возможно, не связанных между собой доказанными на текущий момент патогенетическими механизмами [1].

У людей с мультиморбидностью выше уровень смертности и инвалидности, выше риск неблагоприятных последствий приема лекарств, ниже функциональный статус и качество жизни, чем при наличии только одного заболевания [2]. Механизмы, лежащие в основе развития мультиморбидности, сложны, но связаны со старением и лежащими в его основе биологическими механизмами, а также более широкими факторами, определяющими здоровье, такими как социально-экономическое неблагополучие [3].

Используя данные Национального радиационно-эпидемиологического регистра (НРЭР) о состоянии здоровья участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС, мы провели ретроспективное когортное исследование влияния внешнего гамма-облучения на мультиморбидность. Перед исследованием были поставлены две цели:

1) Дать общее представление о наиболее распространенных сочетаниях заболеваний у мужского населения РФ.
2) Выявить сочетания заболеваний, на развитие которых могло оказать влияние ионизирующая радиация.

Материал и методы

Определение мультиморбидности

Мультиморбидность определялась на основе диагнозов, объединенных в десять групп (табл. 1). Эти группы в некоторой степени похожи по методам лечения, клинической картине или организации здравоохранения. Диагнозы, включенные в десять групп, были выбраны аналогично работе [4] на основе клинической значимости, использования в более ранних работах по мультиморбидности и рекомендаций в систематических обзорах.

Под мультиморбидностью понималось наличие диагнозов из двух или более различных групп, например, астма из группы {LUNG} и рассеянный склероз из группы {NEURO}.

Исследуемая популяция

Исследование выполнялось по данным о заболеваемости участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, наблюдаемых в НРЭР с 1992 по 2021 гг. Процедуры сбора и верификации данных о состоянии здоровья участников ликвидации последствий аварии описаны в публикации [6]. Были применены следующие критерии для включения наблюдаемых лиц в исследуемую когорту:

1. Пол: мужской.
2. Год рождения: 1919–1969.
3. Дата регистрации: до 1 января 1992 г.
4. Год въезд в зону аварии: 1986–1987 гг.
5. Наличие документально-подтвержденной дозы внешнего гамма-облучения всего тела.
6. Отсутствие до 1992 г. диагнозов из табл. 1.

По состоянию на 1 января 1992 г. исследуемая популяция состояла из 59 290 чел. За 30 лет выбыло из-под наблюдения 35720 (60 %) чел., из них по причине смерти 26576 (45 %) чел.

Участники исследования были разбиты на две группы по возрасту на 01.01.1992 г. (от 22 до 39 лет – «<40 лет» и от 40 до 67 лет – «40+ лет») и на две группы по дозе внешнего гамма-облучения (до 150 мГр – «<150 мГр», 150 мГр и больше – «150+ мГр»). Для проведения статистического анализа был сформирован набор данных в виде списка, где каждому члену когорты соответствовала одна строка данных, содержащая следующую информацию: порядковый номер, код возрастной группы, код дозовой группы, коды групп диагнозов (при наличии). По результатам ежегодных медицинских осмотров каждому члену когорты было приписано от 0 до 10 кодов групп диагнозов из табл. 1.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием языка программирования для статистических вычислений R 4.3.2 [7], интегрированной среды разработки Rstudio 2023.12.1-402 компании Posit Software, PBC [8] и пакета для R arules 1.7 – вычислительной среды для поиска ассоциативных правил и наборов частых элементов [9].

Дескриптивный анализ сочетаний групп диагнозов проводился на трех уровнях мультиморбидности (две и более группы диагнозов – уровень «2+», три и более группы диагнозов – уровень «3+», четыре и более группы диагнозов – уровень «4+»), в двух возрастных группах. Для определения пяти наиболее распространенных сочетаний групп диагнозов был использован алгоритм быстрого поиска Eclat из пакета Arules [10]. Результаты работы алгоритма представлялись в виде списка, содержащего наборы кодов групп диагнозов вида, например, {GASTRO, HEART}. Группы диагнозов в наборе неупорядочены, т.е. приведенная выше запись не означает, что болезнь из группы HEART была выявлена после болезни из группы GASTRO.

Таблица 1

Диагнозы и системы организма, включенные в определение мультиморбидности [4]

Diagnoses and body systems included in the definition of multimorbidity [4]

Группа диагнозов {код}	Диагноз	Коды МКБ-10 [5]
Некоторые болезни нижних дыхательных путей {LUNG}	Хроническая обструктивная болезнь легких	J44
	Хронические бронхиты	J41–J42
	Эмфизема	J43
	Астма	J45–J46
Некоторые болезни костно-мышечной системы {MUSCSCEL}	Ревматические болезни/артриты	L40.5, M05–M07
	Артрозы	M15–M17
	Дорсопатии	M45, M47, M50–M51, M53–M54
	Остеопорозы	M80–M82
Некоторые болезни эндокринной системы{ENDO}	Гипотиреоз	E03
	Гипертиреоз	E05
	Сахарный диабет	E10–E14
Некоторые психические расстройства {MENTAL}	Деменция	G30, G31.8–9, F00, F01, F02.0, F02.3, F03
	Психические расстройства, связанные с употреблением алкоголя	F10.1–F10.9
Онкология {CANCER}	Злокачественные новообразования, кроме рака кожи	C00–C97, кроме C44
Неврология {NEURO}	Инсульт	I60–I64, I69
	Рассеянный склероз	G35
	Эпилепсия	G40
	Мигрень	G43
	Болезнь Паркинсона	G20
Некоторые болезни органов пищеварения {GASTRO}	Диспепсия	K30
	Болезнь Крона и язвенный колит	K50–K51
	Синдром раздраженного кишечника	K58
	Болезни печени	K70–K76
	Хронический панкреатит	K86.0, K86.1
Некоторые болезни сердечно-сосудистой системы {HEART}	Ишемическая болезнь сердца	I20-I25
	Сердечная недостаточность, нарушение проводимости и сердечного ритма	I44.1–7, I45.2–9, I47–I50
	Болезни и поражения сердечных клапанов	I05–I08, I34–I37
Некоторые болезни мочеполовой системы {KIDNEY}	Хронические болезни почек	N03–N05, N11–N12, N18–N19, Z49, Z99.2
	Недержание мочи	N39.3–4
Некоторые болезни органов чувств{SENSORY}	Глаукома	H40
	Слепота и пониженное зрение	H54.0–54.3, H54.7
	Потеря слуха	H90.0, H90.2, H90.3, H90.5, H90.6, H90.8, H91
	Псориаз	L40, кроме L40.5

Исследование влияния внешнего гамма-облучения на мультиморбидность состояло в изучении таблиц сопряженности двух дихотомических признаков: (1) принадлежность к дозовой группе «150+ мГр» и (2) наличие определенного сочетания кодов групп диагнозов, включенных в определение мультиморбидности. Всего таких сочетаний кодов для десяти групп диагнозов, а, значит, и таблиц 2×2, может быть 1023.

Мерой связи между признаками в таблице сопряженности был выбран относительный радиационный риск ОРР:

$$\text{ОРР} = \frac{\text{относительное число больных в дозовой группе «150+ мГр»}}{\text{относительное число больных в дозовой группе «<150 мГр»}}.$$

Для анализа отбирались таблицы сопряженности с величиной ОРР статистически значимо большей 1 (далее по тексту – статистически значимый относительный радиационный риск). Отбор выполнялся в два этапа. На первом этапе при помощи алгоритма быстрого поиска ассоциативных правил *Apriori* [11], реализованного в пакете Arules, отбирались ассоциативные правила вида {дозовая группа «150+ мГр»}=>{сочетание кодов групп диагнозов} с пороговыми параметрами *support* = 0,001 и *confidence* = 0,001. На втором этапе для найденных таблиц сопряженности вычислялась левая граница одностороннего 95 % доверительного интервала относительного радиационного риска, исходя из приведенных в [12, 13] рекомендаций. Окончательно для анализа отбирались таблицы, у которых эта величина больше 1 и относительное число больных в дозовой группе «<150 мГр» (т.е. базовый риск – риск в менее облученной группе) больше 1 %.

Для оценки влияния продолжительности наблюдения на устойчивость оценок относительного радиационного риска было проведено выборочное сравнение с результатами, полученными за первые 15 лет наблюдения.

Результаты

За 30 лет наблюдения у 10 270 лиц (17,32 % от первоначальной численности исследуемой когорты) не было выявлено заболеваний, включенных в перечень для определения мультиморбидности (табл. 2). Соответственно, заболевших было почти 83 %, а мультиморбидность отмечена у 36 765 лиц (62,01 %). Такая же разница, приблизительно в 20 %, и между относительной численностью лиц с тремя последовательно вложенными уровнями мультиморбидности.

Таблица 2

Количество больных на разных уровнях мультиморбидности в зависимости от характеристик исследуемой когорты

Number of patients at different levels of multimorbidity according to the characteristics of the study cohort

Характеристика	Число лиц на 01.01.1992	Относительное число больных в % от столбца «Число лиц на 01.01.1992» на разных уровнях мультиморбидности				
		0	1+	2+	3+	4+
Всего	59290	17,32	82,68	62,01	40,18	21,86
Возрастные группы						
<40 лет	32405	21,59	78,41	55,95	34,11	17,37
40+ лет	26885	12,18	87,82	69,31	47,49	27,27
Дозовые группы						
<150 мГр	34602	17,61	82,39	61,98	40,17	21,74
150+ мГр	24688	16,91	83,09	62,05	40,19	22,03

Таблица 3

Относительное число больных в % к численности на 01.01.1992 по всем исследуемым группам диагнозов и по возрастным группам

Relative number of patients in % of the number of patients on 01.01.1992 for all studied groups of diagnoses and by age groups

Группа диагнозов {код}	Всего	Возрастные группы	
		<40 лет	40+ лет
Некоторые болезни сердечно-сосудистой системы {HEART}	52,64	44,54	62,39
Некоторые болезни органов пищеварения {GASTRO}	35,56	34,31	37,5
Некоторые болезни нижних дыхательных путей {LUNG}	33,53	30,23	37,06
Некоторые болезни костно-мышечной системы {MUSCSCEL}	26,88	25,77	28,22
Некоторые болезни мочеполовой системы {KIDNEY}	14,84	13,49	16,46
Некоторые болезни эндокринной системы {ENDO}	13,92	13,27	14,7
Неврология {NEURO}	13,88	11,48	16,77
Онкология {CANCER}	12,64	8,93	17,11
Некоторые болезни органов чувств {SENSORY}	12,55	9,87	15,79
Некоторые психические расстройства {MENTAL}	4,16	3,94	4,41

Доля лиц, составляющих возрастную группу «<40 лет» – 54,65 %, у 32 405 из них (55,95 % от первоначальной численности этой возрастной группы) отмечена мультиморбидность. В более старшей возрастной группе «40+ лет» доля лиц с мультиморбидностью почти 70 %. С ростом уровня мультиморбидности растет и величина относительного «возрастного» риска – от 1,24 до 1,57.

Дозовую группу «150+ мГр» составили 24 688 чел к или 41,64 % от первоначальной численности исследуемой когорты. В обеих дозовых группах на каждом уровне мультиморбидности относительное число больных практически совпадает, что свидетельствует об отсутствии влияния облучения на численность лиц с мультиморбидностью.

Относительная численность больных по всем 10 группам диагнозов и по 2 возрастным группам приведена в табл. 3. Относительная численность больных вычислялась в процентах от первоначальной численности когорты. Данные отсортированы по столбцу «Всего». И в возрастных группах, и в целом по когорте, чаще всего выявлялись болезни сердечно-сосудистой системы, на 2 и 3 местах – с небольшой разницей болезни органов пищеварения и болезни нижних дыхательных путей, на четвертом месте – болезни костно-мышечной системы. Наименее распространенная группа – психические расстройства. В более старшей возрастной группе «40+ лет» относительное число больных выше, чем в группе «<40 лет» по всем группам диагнозов. Самый заметный рост, почти в 2 раза, в группе «Онкология».

От четверти до половины лиц, бывших условно здоровыми в начале исследования, имеют заболевания, входящие в первые четыре группы диагнозов из табл. 3. Эти группы диагнозов присутствуют в наиболее частых комбинациях на всех уровнях мультиморбидности (табл. 4).

Так, первое место занимают болезни сердечно-сосудистой системы (табл. 3), а на уровне «2+» (табл. 4) первое место у сочетания болезней сердечно-сосудистой системы и болезней органов пищеварения. На уровне «3+» к ним добавились болезни нижних дыхательных путей, а на уровне «4+» болезни костно-мышечной системы. Численность лиц с занимающими первые места комбинациями групп диагнозов уменьшалась примерно в 2 раза при переходе от уровня к уровню: среди лиц с заболеваниями сердечно-сосудистой системы почти половина имеет заболевания органов пищеварения, из которых у половины выявлены болезни нижних дыхательных путей, среди которых половина лиц с болез-

Таблица 4

Первые пять наиболее частых сочетаний групп диагнозов в возрастных группах на различных уровнях мультиморбидности

The first five most frequent combinations of diagnosis groups across age groups at different levels of multimorbidity are as follows

Ранг	Уровень 2+		Уровень 3+		Уровень 4+	
	коды групп диагнозов	%	коды групп диагнозов	%	коды групп диагнозов	%
ВСЕГО						
1	{GASTRO,HEART}	22,69	{GASTRO,HEART,LUNG}	10,92	{GASTRO,HEART,LUNG,MUSCSCEL}	5,07
2	{HEART,LUNG}	21,57	{GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	9,45	{GASTRO,HEART,KIDNEY,LUNG}	3,27
3	{HEART,MUSCSCEL}	17,79	{HEART,LUNG,MUSCSCEL}	8,63	{GASTRO,HEART,KIDNEY,MUSCSCEL}	2,86
4	{GASTRO,LUNG}	15,79	{GASTRO,LUNG,MUSCSCEL}	6,71	{ENDO,GASTRO,HEART,LUNG}	2,53
5	{GASTRO,MUSCSCEL}	13,26	{GASTRO,HEART,KIDNEY}	6,10	{ENDO,GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	2,50
Возрастная группа <40 лет						
1	{GASTRO,HEART}	19,21	{GASTRO,HEART,LUNG}	8,87	{GASTRO,HEART,LUNG,MUSCSCEL}	4,14
2	{HEART,LUNG}	17,00	{GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	7,97	{GASTRO,HEART,KIDNEY,LUNG}	2,53
3	{HEART,MUSCSCEL}	15,11	{HEART,LUNG,MUSCSCEL}	6,96	{GASTRO,HEART,KIDNEY,MUSCSCEL}	2,35
4	{GASTRO,LUNG}	14,32	{GASTRO,LUNG,MUSCSCEL}	5,97	{ENDO,GASTRO,HEART,LUNG}	2,06
5	{GASTRO,MUSCSCEL}	12,41	{GASTRO,HEART,KIDNEY}	4,90	{ENDO,GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	2,04
Возрастная группа 40+ лет						
1	{HEART,LUNG}	27,09	{GASTRO,HEART,LUNG}	13,41	{GASTRO,HEART,LUNG,MUSCSCEL}	6,19
2	{GASTRO,HEART}	26,87	{GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	11,22	{GASTRO,HEART,KIDNEY,LUNG}	4,17
3	{HEART,MUSCSCEL}	21,02	{HEART,LUNG,MUSCSCEL}	10,65	{GASTRO,HEART,LUNG,SENSORY}	3,52
4	{GASTRO,LUNG}	17,56	{GASTRO,LUNG,MUSCSCEL}	7,60	{GASTRO,HEART,KIDNEY,MUSCSCEL}	3,47
5	{GASTRO,MUSCSCEL}	14,29	{GASTRO,HEART,KIDNEY}	7,55	{GASTRO,HEART,MUSCSCEL,SENSORY}	3,29

Примечание: % – относительное число больных от численности когорты или возрастной группы на 01.01.1992 г.; GASTRO – некоторые болезни органов пищеварения; HEART – некоторые болезни сердечно-сосудистой системы; LUNG – некоторые болезни нижних дыхательных путей; MUSCSCEL – некоторые болезни костно-мышечной системы; KIDNEY – некоторые болезни мочеполовой системы; ENDO – некоторые болезни эндокринной системы; SENSORY – некоторые болезни органов чувств.

нями костно-мышечной системы (52,64–22,69–10,92–5,07 % от первоначальной численности когорты).

Результатом поиска таблиц сопряженности со статистически значимым относительным радиационным риском стал перечень из 22 сочетаний групп диагнозов, включая 19 мультиморбидных комбинаций в составе 9 двух-групповых, 6 трех-групповых, 4 четырех-групповых сочетаний (табл. 5).

Таблица 5

Сочетания групп диагнозов, для которых относительный радиационный риск статистически значим и базовый риск больше 1 % за 30 лет наблюдения

Combinations of groups of diagnoses for which the relative radiation risk is statistically significant and the baseline risk is greater than 1 % over 30 years of follow-up

Коды групп диагнозов	Базовый риск, %	Относительный радиационный риск
Одна группа диагнозов		
{HEART}	51,87	1,04
{ENDO}	13,58	1,06
{CANCER}	12,27	1,07
Две группы диагнозов		
{ENDO,HEART}	9,60	1,10
{CANCER,HEART}	7,00	1,07
{ENDO,LUNG}	5,43	1,07
{CANCER,LUNG}	5,28	1,08
{ENDO,MUSCSCEL}	5,18	1,07
{CANCER,MUSCSCEL}	3,81	1,08
{CANCER,KIDNEY}	2,27	1,10
{CANCER,ENDO}	1,86	1,12
{CANCER,NEURO}	1,59	1,12
Три группы диагнозов		
{ENDO,GASTRO,HEART}	5,14	1,08
{HEART,KIDNEY,LUNG}	4,87	1,09
{ENDO,HEART,LUNG}	4,14	1,08
{ENDO,HEART,MUSCSCEL}	3,88	1,14
{ENDO,LUNG,MUSCSCEL}	2,42	1,10
{ENDO,KIDNEY,MUSCSCEL}	1,37	1,13
Четыре группы диагнозов		
{GASTRO,HEART,KIDNEY,LUNG}	3,15	1,09
{ENDO,GASTRO,HEART,MUSCSCEL}	2,38	1,12
{GASTRO,HEART,KIDNEY,SENSORY}	1,34	1,14
{ENDO,HEART,KIDNEY,MUSCSCEL}	1,08	1,23

Примечание: GASTRO – некоторые болезни органов пищеварения; HEART – некоторые болезни сердечно-сосудистой системы; CANCER – онкология; NEURO – неврология; LUNG – некоторые болезни нижних дыхательных путей; MUSCSCEL – некоторые болезни костно-мышечной системы; KIDNEY – некоторые болезни мочеполовой системы; ENDO – некоторые болезни эндокринной системы; SENSORY – некоторые болезни органов чувств.

За исключением наименее распространенной группы диагнозов {MENTAL} остальные девять групп диагнозов присутствуют в сочетаниях болезней, для которых выявлено влияние облучения. Превалируют три группы диагнозов {HEART}, {ENDO} и {CANCER} – в каждом элементе полученного списка присутствует какая-то группа диагнозов из первой тройки. Группы {HEART} и {ENDO} чаще встречаются в трех- и четырех-групповых комбинациях. Среди двух-групповых сочетаний комбинации с группой {CANCER} составляют две трети.

Среди двух-групповых сочетаний максимальное значение относительного радиационного риска 1,12 отмечено для комбинаций {CANCER,ENDO} и {CANCER,NEURO}, среди трех-групповых сочетаний – для комбинации {ENDO,HEART,MUSCSCEL} (OPP=1,14), среди четырех-групповых сочетаний – для комбинации {ENDO,HEART,KIDNEY,MUSCSCEL} (OPP=1,23).

Диапазон значений относительного радиационного риска для групп диагнозов {HEART}, {ENDO} и {CANCER} по отдельности (1,04–1,07) находится левее диапазона значений для их комбинаций (1,07–1,23), т.е. возможное влияние облучения на сочетания болезней может быть сильнее, чем на отдельные заболевания, входящие в эти сочетания.

Влияние продолжительности наблюдения на устойчивость оценок относительного радиационного риска отражено в табл. 6. Были отобраны все одно- и двух-групповые комбинации диагнозов, для которых относительный радиационный риск был статистически значимым либо после 15 лет наблюдения, либо за весь тридцатилетний период. Таких сочетаний групп диагнозов было 15.

Таблица 6

Одно- и двух-групповые комбинации диагнозов со статистически значимым относительным радиационным риском за первые 15 лет наблюдения или за 30 лет наблюдения

One- and two-group combinations of diagnoses with statistically significant relative radiation risk over the first 15 years of follow-up or over 30 years of follow-up

Коды групп диагнозов	Базовый риск, %		Относительный радиационный риск	
	15 лет наблюдения	30 лет наблюдения	15 лет наблюдения	30 лет наблюдения
{HEART}	33,45	51,87	1,05	1,04
{HEART,LUNG}	11,33	21,30	1,09	1,03*
{ENDO}	6,90	13,58	1,07	1,06
{CANCER}	4,33	12,27	1,10	1,07
{ENDO,HEART}	3,45	9,60	1,15	1,10
{CANCER,HEART}	1,67	7,00	1,12	1,07
{LUNG,NEURO}	2,33	5,53	1,11	1,02*
{ENDO,LUNG}	2,29	5,43	1,02*	1,07
{CANCER,LUNG}	1,48	5,28	1,13	1,08
{ENDO,MUSCSCEL}	1,66	5,18	1,05*	1,07
{CANCER,MUSCSCEL}	0,71	3,81	1,04*	1,08
{ENDO,NEURO}	0,71	2,60	1,23	1,05*
{CANCER,KIDNEY}	0,58	2,27	1,10*	1,10
{CANCER,ENDO}	0,34	1,86	1,20*	1,12
{CANCER,NEURO}	0,37	1,59	1,09*	1,12

Примечание: * – левая граница 95 % доверительного интервала меньше 1; HEART – некоторые болезни сердечно-сосудистой системы; CANCER – онкология; NEURO – неврология; LUNG – некоторые болезни нижних дыхательных путей; MUSCSCEL – некоторые болезни костно-мышечной системы; KIDNEY – некоторые болезни мочеполовой системы; ENDO – некоторые болезни эндокринной системы

Базовый риск вырос за вторую половину периода наблюдения в 1,5–5,5 раза в зависимости от сочетания диагнозов. Для большинства сочетаний групп диагнозов число заболевших во вторую половину периода наблюдения выросло по сравнению с периодом 1992–2006 гг. Рост числа заболевших замедлился для группы {HEART} и её подгруппы {HEART,LUNG}, остался без изменений для группы {ENDO}.

За вторую половину периода наблюдения статистически значимый относительный радиационный риск (9 сочетаний групп диагнозов) либо снизился на 1–5 % (6 сочетаний), либо перестал быть статистически значимым (сочетания {HEART,LUNG}, {LUNG,NEURO}, {ENDO,NEURO}). Для 6 сочетаний групп диагнозов относительный радиационный риск стал статистически

значимым только после второй половины периода наблюдения, при этом расхождения в значениях за 15-летний интервал и 30-летний интервал были меньше 7 %.

В целом, при увеличении продолжительности наблюдения:

– относительный радиационный риск для нескольких сочетаний групп диагнозов перестал быть статистически значимым, но остался больше 1;
– были выявлены новые сочетания групп диагнозов со статистически значимым относительным радиационным риском;
– величина статистически значимого относительного радиационного риска незначительно снизилась.

Обсуждение

При эпидемиологических исследованиях мультиморбидности авторы используют различные как по количеству, так и по диагностическим критериям перечни заболеваний, что затрудняет сравнение полученных результатов. В обзоре исследований мультиморбидности [14] было отмечено, что чем больше заболеваний включено в анализ, тем выше зарегистрированная распространенность. Поскольку в доступной литературе нет информации о крупномасштабных эпидемиологических исследованиях мультиморбидности в российских популяциях, приведем данные когортного исследования [15], в котором изучались частота и типы кластеров пяти хронических болезней (инсульт, ишемическая болезнь сердца, диабет, хроническая обструктивная болезнь легких, онкология) среди полумиллиона взрослых жителей Китая. В результате 10-летнего наблюдения два и более заболевания было выявлено у 11 % лиц. В нашем исследовании, при сопоставимом возрасте, но более широком перечне заболеваний, за 30 лет наблюдения мультиморбидное состояние отмечено у 62 % лиц. Не включенные в основные результаты дополнительные расчеты показали, что за первые 10 лет наблюдения мультиморбидность в исследуемой когорте, определяемая с участием всех 10 групп диагнозов, была у 29 % лиц, а с участием 5 групп диагнозов NEURO, HEART, ENDO, LUNG, CANCER – у 11 % лиц.

Также затрудняет сравнение тот факт, что в большинстве работ анализируется годовая распространенность мультиморбидности (prevalence of multimorbidity). В нашем исследовании мерой мультиморбидности было отношение числа заболевших за период наблюдения к числу лиц, здоровых на начало наблюдения. В эпидемиологии такую величину принято называть «риск» [16] и ее часто интерпретируют как вероятность заболеть до окончания наблюдения. Интерпретация верна, если все участники оставались в исследовании до окончания наблюдения. Однако, в долговременных когортных исследованиях неизбежны потери (вследствие смерти или других причин), что требует применения более сложных статистических методов для корректной оценки такой вероятности [17]. В нашем исследовании численное значение риска может служить нижней оценкой вероятности, т.е. «истинная» вероятность заболеть в течение периода наблюдения будет не менее чем величина риска.

Несмотря на то, что и мультиморбидность зависит от возраста, и радиационно- индуцированная заболеваемость может зависеть от возраста, мы не включили этот фактор в анализ таблиц сопряженности. Это было сделано по двум причинам: (1) чтобы уменьшить сложность анализа; (2) в ранее опубликованных работах о радиационных рисках онкологической и неонкологической заболеваемости российских участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС [18–20] верифицированные модели радиационных рисков не содержали параметры «возраст на момент облучения» и «достигнутый возраст».

Заключение

За 30 лет наблюдения мультиморбидность отмечена у 62 % лиц. Наиболее распространенными сочетаниями хронических заболеваний у российских мужчин, принимавших участие в ликвидации аварии на ЧАЭС, были комбинации болезней сердечно-сосудистой системы с болезнями органов пищеварения и болезнями нижних дыхательных путей.

Проведенное исследование не выявило влияние облучения на численность лиц с мультиморбидностью. Но анализ таблиц сопряженности показал, что в исследованной когорте есть лица, у которых заболевания сердечно-сосудистой системы, болезни эндокринной системы, онкология и сочетания этих групп диагнозов с заболеваниями других систем организма могут быть вызваны облучением. Статистически значимый относительный радиационный риск для сочетаний диагнозов, в целом, больше, чем для отдельных заболеваний, составляющих эти сочетания. Максимальное значение относительного радиационного риска (OPP=1,23) отмечено для комбинации четырех групп диагнозов, в которые вошли некоторые болезни сердечно-сосудистой, эндокринной, костно-мышечной и мочеполовой систем.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Воронин С.В., Черкашин Д.В., Бершева И.В. Полиморбидность: определение, классификация, распространенность, методы оценки и практическое значение // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2018. №4 (64). С. 243–248.
2. Salive M.E. Multimorbidity in Older Adults // Epidemiol. Rev. 2013. V.35, No.1. P. 75–83. DOI: 10.1093/epirev/mxs009.
3. Skou S.T., Mair F.S., Fortin M., Guthrie B., Nunes B.P., Miranda J.J., Boyd C.M., Pati S., Mtenga S., Smith S.M. Multimorbidity // Nat. Rev. Dis. Primers. 2022. V.8, No.1. P. 1–22. DOI: 10.1038/s41572-022-00376-4.
4. Willadsen T.G., Siersma V., Nicolaisdóttir D.R., Køster-Rasmussen R., Jarbøl D.E., Reventlow S., Mercer S.W., Olivarius N.F. Multimorbidity and Mortality: A 15-year Longitudinal Registry-based Nationwide Danish Population Study // J. Comorb. 2018. V.8, No.1. P. 2235042X18804063. DOI: 10.1177/2235042X18804063.
5. Международная классификация болезней 10-го пересмотра. Электронный ресурс: https://mkb-10.com/ (Дата обращения 02.04.2024).
6. Медицинские радиологические последствия Чернобыля: прогноз и фактические данные спустя 30 лет / Под общ. ред. чл.-корр. РАН Иванова В.К., чл.-корр. РАН Каприна А.Д. М.: ГЕОС, 2015. 450 с.
7. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria: Vienna, 2023. Электронный ресурс: https://www.R-project.org/ (Дата обращения 02.04.2024).
8. Put Data into Production with Posit Connect. Электронный ресурс: https://posit.co/ (Дата обращения 02.04.2024).
9. Hahsler M., Grun B., Hornik K. Arules – a Computational Environment for Mining Association Rules and Frequent Item Sets // J. Stat. Softw. 2005. V.14, No.15. P. 1–25. DOI: 10.18637/jss.v014.i15.
10. Zaki M.J., Parthasarathy S., Ogihara M., Li W. New Algorithms for Fast Discovery of Association Rules. Technical Report 651. Computer Science Department, University of Rochester. New York, 1997.

11. Agrawal R., Srikant R. Fast Algorithms for Mining Association Rules. Proceedings of the 20th International Conference on Very Large Data Bases, VLDB. Santiago, Chile, 1994. P. 487–499.
12. Georgiev G.Z. One-tailed vs Two-tailed Tests of Significance in A/B Testing. Электронный ресурс: https://blog.analytics-toolkit.com/2017/one-tailed-two-tailed-tests-significance-ab-testing/ (Дата обращения 02.04.2024).
13. Georgiev G.Z. Relative Risk Calculator. Электронный ресурс: https://www.gigacalculator.com/calculators/relative-risk-calculator.php (Дата обращения 02.04.2024).
14. Fortin M., Stewart M., Poitras M.E., Almirall J., Maddocks H. A Systematic Review of Prevalence Studies on Multimorbidity: Toward a More Uniform Methodology // Ann. Fam. Med. 2012. V.10, No.2. P. 142–151. DOI: 10.1370/afm.1337.
15. Hariri P., Clarke R., Bragg F., Chen Y., Guo Y., Yang L., Lv J., Yu C., Li L., Chen Z., Bennett D.A. China Kadoorie Biobank Collaborative Group. Frequency and Types of Clusters of Major Chronic Diseases in 0.5 Million Adults in Urban and Rural China // J. Multimorb. Comorb. 2022. V.12. P. 26335565221098327. DOI: 10.1177/26335565221098327.
16. Rothman K.J. Epidemiology: an Introduction. New York: Oxford University Press, 2002.
17. Andersen P.K., Geskus R.B., de Witte T., Putter H. Competing Risks in Epidemiology: Possibilities and Pitfalls // Int. J. Epidemiol. 2012. V.41, No.3. P. 861–870. DOI:10.1093/ije/dyr213.
18. Кащеев В.В., Чекин С.Ю., Карпенко С.В., Максютов М.А., Туманов К.А., Кочергина Е.В., Глебова С.Е., Иванов С.А., Каприн А.Д. Оценка радиационных рисков злокачественных новообразований среди российских участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Радиация и риск. 2021. Т.30, №1. С. 58–77.
19. Чекин С.Ю., Максютов М.А., Кащеев В.В., Карпенко С.В., Туманов К.А., Кочергина Е.В., Зеленская Н.С., Лашкова О.Е. Оценка радиационных рисков неонкологических заболеваний среди российских участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС // Радиация и риск. 2021. Т.30, №1. С. 78–93.
20. Горский А.И., Чекин С.Ю., Максютов М.А., Карпенко С.В., Туманов К.А., Зеленская Н.С., Лашкова О.Е. Статистические связи с дозой облучения и оценка радиационных рисков неонкологических заболеваний эндокринной системы ликвидаторов чернобыльской аварии с учётом возможных ошибок в постановке и регистрации диагнозов // Радиация и риск. 2023. Т.32, №1. С. 21–35.

REFERENCES

1. Voronin S.V., Cherkashin D.V., Bersheva I.V. Polymorbidity: Definition, Classification, Prevalence, Assessment Methods and Practical Significance. *Vestnik Rossiyskoy Voyenno-Meditsinskoy Akademii* = Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2018;4(64):243–248 (In Russ.).
2. Salive M.E. Multimorbidity in Older Adults. Epidemiol. Rev. 2013;35;1:75–83. DOI: 10.1093/epirev/mxs009.
3. Skou S.T., Mair F.S., Fortin M., Guthrie B., Nunes B.P., Miranda J.J., Boyd C.M., Pati S., Mtenga S., Smith S.M. Multimorbidity. Nat. Rev. Dis. Primers. 2022;8;1:1–22. DOI: 10.1038/s41572-022-00376-4.
4. Willadsen T.G., Siersma V., Nicolaisdóttir D.R., Køster-Rasmussen R., Jarbøl D.E., Reventlow S., Mercer S.W., Olivarius N.F. Multimorbidity and Mortality: A 15-year Longitudinal Registry-based Nationwide Danish Population Study. J. Comorb. 2018;8;1:2235042X18804063. DOI: 10.1177/2235042X18804063.
5. International Classification of Diseases 10th Revision (ICD-10). URL: https://mkb-10.com/ (Accessed 02.04.2024) (In Russ.).
6. Medical radiological consequences of Chernobyl: prognosis and evidence after 30 years. Ed. Ivanov V.K., Kaprin A.D. Moscow, GEOS Publ., 2015. 450 p. (In Russ.)
7. R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria, Vienna. URL: https://www.R-project.org/ (Accessed 02.04.2024).
8. Put Data into Production with Posit Connect. URL: https://posit.co/ (Accessed 02.04.2024).
9. Hahsler M., Grun B., Hornik K. Arules – A Computational Environment for Mining Association Rules and Frequent Item Sets. J. Stat. Softw. 2005;14;15:1–25. DOI: 10.18637/jss.v014.i15.
10. Zaki M.J., Parthasarathy S., Ogihara M., Li W. New Algorithms for Fast Discovery of Association Rules. Technical Report 651. Computer Science Department, University of Rochester. New York, 1997.
11. Agrawal R., Srikant R. Fast algorithms for mining association rules. Proceedings of the 20th International Conference on Very Large Data Bases, VLDB. Chile, Santiago, 1994. P. 487–499.
12. Georgiev G.Z. One-tailed vs Two-tailed Tests of Significance in A/B Testing. URL: https://blog.analytics-toolkit.com/2017/one-tailed-two-tailed-tests-significance-ab-testing/ (Accessed 02.04.2024).
13. Georgiev G.Z. Relative Risk Calculator. URL: https://www.gigacalculator.com/calculators/relative-risk-calculator.php (Accessed 02.04.2024).
14. Fortin M., Stewart M., Poitras M.E., Almirall J., Maddocks H. A Systematic Review of Prevalence Studies on Multimorbidity: Toward a More Uniform Methodology. Ann. Fam. Med. 2012;10;2:142–151. DOI: 10.1370/afm.1337.
15. Hariri P., Clarke R., Bragg F., Chen Y., Guo Y., Yang L., Lv J., Yu C., Li L., Chen Z., Bennett D.A.; China Kadoorie Biobank Collaborative Group. Frequency and Types of Clusters of Major Chronic Diseases in 0.5 Million Adults in Urban and Rural China. J. Multimorb. Comorb. 2022;12:26335565221098327. DOI: 10.1177/26335565221098327.
16. Rothman K.J. Epidemiology: an Introduction. New York, Oxford University Press, 2002.
17. Andersen P.K., Geskus R.B., de Witte T., Putter H. Competing Risks in Epidemiology: Possibilities and Pitfalls. Int. J. Epidemiol. 2012;41;3:861–870. DOI:10.1093/ije/dyr213.
18. Kashcheev V.V., Chekin S.Yu., Karpenko S.V., Maksioutov M.A., Tumanov K.A., Kochergina E.V., Glebova S.E., Ivanov S.A., Kaprin A.D. Estimating of Radiation Risks of Malignant Neoplasms among Russian Chernobyl Cleanup Workers. *Radiatsiya i Risk* = Radiation and Risk. 2021;30;1:58–77 (In Russ.).
19. Chekin S.Yu., Maksioutov M.A., Kashcheev V.V., Karpenko S.V., Tumanov K.A., Kochergina E.V., Zelenskaya N.S., Lashkova O.E. Estimating of Radiation Risks Of Non-Cancer Diseases among Russian Chernobyl Cleanup Workers. *Radiatsiya i Risk* = Radiation and Risk. 2021;30;1:78–93 (In Russ.).
20. Gorskiy A.I., Chekin S.Yu., Maksyutov M.A., Karpenko S.V., Tumanov K.A., Zelenskaya N.S., Lashkova O.E. Statistical Relationship Between Radiation Dose and Radiation Risks Estimates for Non-Cancer Endocrine Diseases in Liquidators of the Chernobyl Accident with Account of Possible Wrong Diagnoses Established and Registered. *Radiatsiya i Risk* = Radiation and Risk. 2023;32;1:21–35 (In Russ.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-53-56

**А.Р. Туков, И.Л. Шафранский, А.Н. Котеров,
М.Н. Зиятдинов, О.Н. Прохорова, А.М. Михайленко**

ОЦЕНКА РАДИАЦИОННОГО РИСКА СМЕРТИ ОТ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЛИКВИДАТОРОВ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧАЭС – РАБОТНИКОВ ПРЕДПРИЯТИЙ АТОМНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ ПО ДАННЫМ О ДОЗАХ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ОБЛУЧЕНИЯ

Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

Контактное лицо: Александр Романович Туков, email: atukov40@mail.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Оценка риска смерти от болезней системы кровообращения (БСК) у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС (далее ликвидаторы) при использовании данных о дозах различных видов радиационного облучения.
Материал и методы: В работе использована информационная база Отраслевого регистра лиц, подвергшихся воздействию радиации в результате аварии на Чернобыльской АЭС (ОРЧ), из числа работников предприятий и организаций атомной промышленности. В исследование оценки радиационного риска включены лица, имеющие данные о дозах внешнего аварийного облучения при работе в 30-км зоне Чернобыльской АЭС (ЧАЭС), 1327 из них имеют данные о дозе профессионального облучения. В качестве статистической модели была выбрана Пуассоновская регрессия. При расчёте избыточного относительного риска на 1 Зв был использован пакет прикладных статистических программ EPICURE (модуль AMFIT).
Исследование охватывает период с 1987 по 2021 гг. В регистре за период наблюдения накоплено 304 023 человеко-лет. Бóльшую часть регистра в 1986 г. составляют ликвидаторы-мужчины – 84,7 %, ликвидаторы-женщины составляют 15,3 %.
Результаты: Для расчёта радиационного риска по данным о дозах разных видов облучения, получены различные результаты избыточного относительного риска.
Только суммарная доза облучения (профессиональная, аварийная, медицинская, природная) может обеспечить корректные результаты расчёта радиационного риска смерти от радиационно-индуцированных заболеваний.
Перспективой исследования необходимо считать наполнение информационной базы ОРЧ данными о дозах всех видов облучения.

Ключевые слова: *авария на ЧАЭС, ликвидаторы, болезни системы кровообращения, смертность, радиационный риск, атомная промышленность*

Для цитирования: Туков А.Р., Шафранский И.Л., Котеров А.Н., Зиятдинов М.Н., Прохорова О.Н., Михайленко А.М. Оценка радиационного риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС – работников предприятий атомной промышленности по данным о дозах различных видов облучения // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 53–56. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-53-56

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-53-56

**A.R. Tukov, I.L. Shafranskii, A.N. Koterov,
M.N. Ziyatdinov, O.N. Prokhorova, A.M. Mikhaylenko**

Evaluation of the Radiation Risk of Death from Cardiovascular Diseases among the Liquidators Involved in the Cleaning up of the Consequences of the Chernobyl Accident – Workers in the Nuclear Industry Sector

A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

Contact person: Alexander Romanovich Tukov, email atukov40@mail.ru

ABSTRACT

Background: Assessment of the risk of death from circulatory system diseases due to radiation exposure in liquidators of the Chernobyl accident consequences (hereinafter referred to as liquidators) using data on doses of various types of exposure.
Material and methods: The work used the information base of the Industry Register of persons exposed to radiation as a result of the accident at the Chernobyl nuclear power plant (hereinafter referred to as the register), nuclear industry workers. The radiation risk assessment study included men - 12,706 liquidators who had data on external emergency radiation doses when working in the 30 km Chernobyl NPP zone, 1,327 of them had data on occupational radiation doses. Poisson regression was chosen as the statistical model of risk.
The study covers the period from 1987 to 2021. During the observation period, the register accumulated 304,023 person/years. The majority of the register in 1986 was made up of men – 84.7 %, women – 15.3 %.
Results: When data on doses of different types of radiation are used to calculate doses, different results of excess relative risk are obtained. Only the total radiation dose (occupational, emergency, medical, natural) can provide correct results for calculating the radiation risk of death from radiation-induced diseases.
Conclusion: The prospect of research should be considered to be filling the information base of the Industry Register with data on doses of all types of radiation.

Keywords: *Chernobyl accident, liquidators, circulatory diseases, mortality, radiation risk, nuclear industry,*

For citation: Tukov AR, Shafransky IL, Koterov AN, Ziyatdinov MN, Prokhorova ON, Mikhaylenko AM. Evaluation of the Radiation Risk of Death from Cardiovascular Diseases among the Liquidators Involved in the Cleaning up of the Consequences of the Chernobyl Accident – Workers in the Nuclear Industry Sector. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):53–56. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-53-56

Введение

Болезни системы кровообращения (БСК) являются главной причиной смертности во многих развитых странах, а их фоновый уровень очень высок [1, 2]. Согласно данным Росстата [3], в 2020 г. вклад указанных патологий в структуру общей смертности в России составлял порядка трети.

В США суммарный вклад этих болезней (Diseases of heart + Cerebrovascular diseases) в общую смертность в 2014 г. составил 29 % [3–5].

Актуальность изучения радиационных рисков БСК определяется для патологий со столь высоким фоновым уровнем смертности тем, что даже слабые и малые относительные риски для масс населения могут реализовываться в очень значительные абсолютные риски. Согласно данным Росстата, смертность в России от указанных патологий составляет порядка 1284 смертей на 100 тыс. населения обоего пола в 2020 г. Доказанный (статистически значимый) относительный риск величиной даже в 1,2 даст прибавку смертей для 1 млн. населения, равную 2568 чел в год.

Поэтому вопрос о влиянии радиационного облучения на частоту БСК даже при очень малых и малых рисках, как для населения, так и для различных профессиональных контингентов, приобретает особую актуальность, поскольку даже малое увеличение риска будет способно привести к значительным абсолютным рискам. Это отмечается в тематических документах НКДАР ООН [1].

Несмотря на более чем полувековое изучение влияния облучения на БСК (в эксперименте, после лучевой терапии, у лиц, пострадавших от атомных бомбардировок и др. [1, 2]), к нынешнему моменту отсутствует однозначное понимание зависимости «доза – эффект» применительно к названным патологиям, как для острого, так и для хронического радиационного воздействия [1, 2, 6, 7]. Ранее полагали, что основой в данном случае служат тканевые эффекты облучения, характеризующиеся порогом [2, 6], но в последние годы в отношении этого момента допускаются сомнения [1].

Доказаны эффекты воздействия радиации на органы системы кровообращения только при дозах порядка десятков грей [1, 2, 6, 7–9]. Для японской когорты кривая доза – эффект ниже 0,5 Гр характеризуется значительной неопределенностью [1, 2], причем для сердечной патологии порог составил 2,6 Гр, а для цереброваскулярных – 0,75 Гр [1]. В результате в сообщениях НКДАР-2006 [10] и в НКДАР-2010 [11], сказано, что «имеющихся научных данных недостаточно, чтобы установить причинно-следственную связь между ионизирующим излучением и сердечно-сосудистыми заболеваниями при дозах менее 1–2 Гр».

Для малых доз облучения (до 0,1 Гр радиации с низкой ЛПЭ) до настоящего времени никто не смог представить достоверный радиобиологический механизм эффекта, который мог бы обусловить смерть от БСК [12].

В публикации МКРЗ-118 [6] декларируется порог эффекта для сердечно-сосудистых заболеваний при дозе в 0,5 Гр, приводящей «к индукции БСК у 1 % облученной популяции спустя более десяти лет после экспозиции» [6], хотя подобные уровни риска вряд ли достоверны.

Сходной позиции относительно пороговой дозы в 0,5 Гр придерживается и National Council on Radiation Protection and Measurements, США (NCRP-171 [13].

Все зарубежные исследования радиационного риска при БСК (обзоры и мета-анализы 2008–2023 гг., ведущий автор преимущественно M.P. Little), представленные в документе ICRP-118 [6], основываются на механическом объединении показателей для несопоставимых данных. В этих обзорах видны весьма малые величины реальных рисков.

Значения аналогичных рисков для работников ПО «Маяк» получаются преимущественно ниже, чем по результатам мета-анализов зарубежных исследований, за исключением цереброваскулярных патологий [14].

Невозможно отрицать, что БСК имеют весьма отчетливую лучевую атрибутивность, весь вопрос в том, с какими уровнями доз связана их индукция и каков порог [6]. Действительно существуют ли данные о том, что смертность от указанных патологий может возрастать при внешнем воздействии излучения с низкой ЛПЭ в дозах до 0,1 Гр, или же это просто декларации?

Материал и методы

База данных ОРЧ содержит сведения о заболеваемости и структуре болезней системы кровообращения (МКБ 10: I00-I99.9), причины смерти и другие медицинские сведения о ликвидаторах последствий аварии на Чернобыльской АЭС (табл. 1).

Таблица 1

Число смертей ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на 01.01.2022 г. от болезней системы кровообращения и их структура (по МКБ-10: I00-I99.9)

Number of deaths from circulatory system diseases and their structure (according to ICD-10: I00-I99.9) of liquidators of Chernobyl NPP accident consequences as of 01.01.2022

Причина смерти	МКБ-10	Число диагнозов	Удельный вес %%
Хроническая ишемическая болезнь сердца неуточнённая	I25,9	945	43,99
Цереброваскулярная болезнь неуточненная	I67,9	217	10,10
Кардиомиопатия неуточнённая	I42,9	111	5,17
Гипертензивная [гипертоническая] болезнь с преимущественным поражением сердца без (застойной) сердечной недостаточности	I11,9	101	4,70
Острый инфаркт миокарда неуточнённый	I21,9	100	4,66
Инфаркт мозга неуточнённый	I63,9	84	3,91
Сердечная недостаточность неуточнённая	I50,9	82	3,82
Стенокардия неуточнённая	I20,9	79	3,68
Острая ишемическая болезнь сердца неуточнённая	I24,9	73	3,40
Генерализованный и неуточнённый атеросклероз	I70,9	46	2,14
Внутримозговое кровоизлияние неуточнённое	I61,9	43	2,00
Прочие болезни системы кровообращения		267	12,43
Всего		2148	100,00

Данные, представленные в табл. 1, указывают на то, что в структуре ведущих причин смерти от БСК (I00-I99.9) доминирующее положение – 43,99 % занимает хроническая ишемическая болезнь сердца неуточнён-

ная (I25.9). Второе ранговое место занимает цереброваскулярная болезнь неуточнённая (I67,9) – 10,1 %, кардиомиопатия неуточнённая (I42,9) являлась причиной 5,17 % летальных исходов. Другие болезни системы кровообращения являлись причиной смерти менее чем в 5,0 % случаев.

В базе данных (БД) ОРЧ находится информация о 21356 ликвидаторах последствий аварии на ЧАЭС, собранная из 64 учреждений здравоохранения ФМБА России за более чем 35-летний период наблюдения. В структуре этого контингента основную часть составляют ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС 1986–1987 гг. – 84,7 % (табл. 2).

Более половины – 66,7 % составляют ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС в возрасте до 39 лет на момент посещения 30-км зоны ЧАЭС (табл. 3).

В структуре ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС по возрастным группам на момент смерти или выбытия из регистра 70,9 % составляют лица старше 50 лет.

Данные о дозах внешнего облучения ликвидаторов различных годов пребывания в 30-км зоне ЧАЭС представлены в табл. 2. В Регистре имеются данные о полученных дозах в отношении 69,4 % ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Наибольшая обеспеченность данными отмечена в отношении ликвидаторов, работающих в 30-км зоне в 1988 г. – 74,3 %, наименьшая – 37,0 % у ликвидаторов, работающих в 30-км зоне в 1990 г.

Таблица 2

Обеспеченность ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС данными о дозах внешнего облучения (мужчины)

Availability of data on external radiation doses for liquidators of Chernobyl accident consequences (men)

Годы въезда	Всего ликвидаторов	Из них есть доза		Среднее значение, мЗв
		число ликвидаторов	удельный вес %	
1986–1990	18308	12706	69,4	55,3
1986	10692	7276	68,1	75,1
1987	4717	3372	71,5	33,7
1988	1852	1376	74,3	25,9
1989	793	564	71,1	17,0
1990	254	96	37,0	12,6

В табл. 3 представлены некоторые характеристики обобщённой базы данных Регистра по пяти дозовым группам – как доз ЧАЭС, так и суммарным (доза ЧАЭС+профдоза). Группы формировались из расчёта примерно равного количества лиц и с учётом полученных доз облучения.

Таблица 3

Обеспеченность ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС данными о дозах внешнего облучения (ЧАЭС; ЧАЭС+ профессиональные дозы) (мужчины)

Availability of data on external exposure doses for liquidators of Chernobyl accident consequences

(Chernobyl NPP; Chernobyl NPP+ occupational doses) (men)

Дозовая группа (ЧАЭС)	Число ликвидаторов	Средняя доза	Дозовая группа (ЧАЭС+профоблучение)	Число ликвидаторов	Средняя доза
0,1–4,9	2867	2,23	0,1–5,9	2925	2,6
5,0–12,9	2237	7,95	6,0–16,7	2224	10,3
13,0–35,1	2492	21,70	17,0–48,8	2468	30,4
36,0–98,8	2516	62,30	49,0–120,5	2482	80,3
99,0–1478,5	2554	181,80	121–1985,6	2567	228,4

В структуре суммарных доз, полученных ликвидаторами последствий аварии на ЧАЭС при работе в 30-км зоне и в процессе профессиональной деятельности, 48% составляют дозы до 100 мЗв; 6 % ликвидаторов имеют дозы, превышающие 500 мЗв.

В табл. 4 представлена информация о средних, минимальных и максимальных дозах внешнего облучения, полученных в ходе ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и на рабочих местах предприятий и организаций атомной промышленности.

Таблица 4

Сравнительное распределение внешних доз в зависимости от места облучения

Comparative distribution of external doses depending on the place of exposure

Место получения дозы	Средняя доза (мЗв)	Минимальная доза (мЗв)	Максимальная доза (мЗв)
ЧАЭС	55,3	0,1	1478,50
Предприятия и организации атомной промышленности	180,8	0,1	1832,40
Взвешенная сумма доз	70,5	0,2	1847,72

Для оценок риска смерти от наиболее частых болезней системы кровообращения по данным, объединённым в возрастные, дозовые и другие группы, был использован пакет прикладных статистических программ EPICURE (модуль AMFIT), широко применяемый в современной радиационно-эпидемиологической практике [15]. Программа AMFIT является признанным стандартом для проведения радиационно-эпидемиологических исследований. Оценки избыточного относительного риска (ИОР) на 1 Зв среди персонала предприятий и организаций атомной промышленности были выполнены с использованием этой программы. Модель избыточного относительного риска в общем виде представлена как:

$$\lambda_d = \lambda_0 \times (1 + \beta \times d), \quad (1)$$

где λ_d – показатель наблюдаемой смертности,
λ_0 – показатель спонтанной смертности,
β – избыточный относительный риск,
d – доза облучения

Функция правдоподобия строится, исходя из предположения, что число случаев заболевания являются независимыми пуассоновскими случайными величинами с математическим ожиданием, определяемым как произведение функционала заболеваемости на число человеко-лет.

Результаты

Результаты оценки радиационных рисков с использованием программы AMFIT для различных дозовых нагрузок приведены в табл. 5. Как следует из таблицы, избыточный относительный риск имеет место только для смертности от всех причин БСК и смертности от ишемической болезни сердца (I20–I25,9) как при дозе, полученной при ликвидации аварии на ЧАЭС, так и для суммарных доз.

Следует отметить достоверность ИОР/1Зв для случая дозовых нагрузок, полученных в результате работ по ликвидации аварии на ЧАЭС (смертность от некоторых БСК). Имеет место расхождение в значении избыточного относительного риска на единицу дозы при использовании только данных по дозам, полученным в результате ликвидации аварии на ЧАЭС и при суммарных дозах (все БСК нозологии).

Ещё раз подчеркнём, использование суммарных доз внешнего облучения, как профессиональных, так и по-

Таблица 5

Оценки радиационных рисков смерти от всех болезней органов системы кровообращения и отдельных нозологий

Estimates of radiation risks of death from all circulatory system diseases and individual nosologies

Причина смерти	ИОР/1 Зв	Доверительный интервал (95 %)
Все нозологии (МКБ 10: I00-I99.9)		
ЧАЭС доза	0,64	0,19–1,17
ЧАЭС+профдоза	0,09	–0,26–0,45
Ишемическая болезнь сердца (МКБ 10: I20-I25.9)		
ЧАЭС доза	0,7	0,05–1,6
ЧАЭС+профдоза	0,46	–0,007–1,04
Гипертоническая болезнь (МКБ 10: I10-I15.9)		
ЧАЭС доза	–1,25	–4,8–1,8
ЧАЭС+профдоза	–0,93	–3,14–1,26
Цереброваскулярные болезни (МКБ 10: I60- I69.9)		
ЧАЭС доза	–1,28	–3,3–1,0
ЧАЭС+профдоза	–1,31	–2,37–0,52

лученных в результате работ по ликвидации аварии на ЧАЭС, даёт несколько завышенные оценки значения риска на 1 Зв, поскольку исследуемые дозовые нагрузки значительно ниже 1 Зв, что приводит к искажению значения коэффициента риска.

Заключение

В настоящее время актуальность в анализе радиационного риска приобретает использование суммарных доз облучения. Исследование показало, что использование данных о различных видах облучения (внешняя доза облучения, полученная участниками ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и их профессиональная доза) для расчёта избыточного относительного риска на 1 Зв дали различные результаты, поэтому для получения корректных результатов оценки радиационного риска смерти необходима суммарная доза облучения (профессиональная, аварийная, медицинская, природная), как этого требуют директивные документы: «Для оценки состояния радиационной безопасности используется показатель радиационного риска. В наибольшей степени этот риск характеризует суммарная накопленная эффективная доза от всех видов облучения» – Федеральный закон «Ядерная и радиационная безопасность» от 9 января 1996 г. № 3-ФЗ Статья 7. Оценка состояния радиационной безопасности и радиационно-гигиеническая паспортизация организаций и территорий.

Ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС в отдалённые сроки после проведенных работ нуждаются в общепринятых подходах медицинского обслуживания, направленных на профилактику и лечение таких наиболее распространённых заболеваний, как болезни системы кровообращения.

Полученные результаты, хотя они и предварительные, могут быть использованы при разработке регламентов радиационной безопасности лиц, имеющих отношение к работе с источниками ионизирующего излучения.

Дальнейшее исследование предполагает увеличение статистической мощности анализа путем увеличения периода наблюдения, а также проведения работы, направленной на снижение неопределённостей в оценках доз и на улучшение полноты и качества эпидемиологических данных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. UNSCEAR 2019. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Evaluation of Selected Health Effects and Inference of Risk Due to Radiation Exposure. New York. 2020;21–192.
2. Baselet B, Ramadan R, Benotmane A. Selected Endothelial Responses after Ionizing Radiation Exposure. Endothelial Dysfunction – Old Concepts and New Challenges. Ed.: Lenasi H. IntechOpen, 2018. P. 365–390. DOI: 10.5772/intechopen.72386.
3. Здравоохранение в России. 2021: Стат.сб. Росстат. М., 2021. 171 с. [Health Care in Russia. Statistical Collection. Moscow Publ., 2021. 171 p. (In Russ.)]
4. Kochanek K, Murphy S L, Xu J, Tejada-Vera B. Deaths: Final Data for 2014. National Vital Statistics Reports. 2016; 65(2). 122 p.
5. Arias E, Xu J, Tejada-Vera B, Bastian B. U.S. State Life Tables, 2019. National Vital Statistics Reports. 2019;(18):18.
6. ICRP Publication 118. ICRP Statement on Tissue Reactions and Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs – Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context. Annals of the ICRP. Ed Clement C.H. Amsterdam – New York; Elsevier, 2012. 325 p.
7. Little M, Azizova T, Richardson D, et al. Ionising Radiation and Cardiovascular Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. Brit. Med. J. 2023;380:81. DOI:10.1136/bmj-2022-072924.
8. Bernstein J, Dauer L, Dauer Z. Cardiovascular Risk from Low Dose Radiation Exposure. Review and Scientific Appraisal of the Literature. 3002018408. Technical Report. Palo Alto (CA): Electric Power Research Institute (EPRI). Final Report, 2020. 144 p.
9. McGale P, Darby S. Low Doses of Ionizing Radiation and Circulatory Diseases: a Systematic Review of the Published Epidemiological Evidence. Radiat. Res. 2005;163(3):247–257. DOI: 10.1667/rr3314.
10. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex B Epidemiological Evaluation of Cardiovascular Disease and Other Non-Cancer Diseases Following Radiation Exposure. United Nations. New York, 2008. P. 325–383.
11. UNSCEAR 2010. Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation 2010. Fifty-Seventh Session, Includes Scientific Report: Summary of Low-Dose Radiation Effects on Health. United Nations. New York, 2011. 106 p.
12. Wakeford R. Does Low-Level Exposure to Ionizing Radiation Increase the Risk of Cardiovascular Disease? Hypertension. 2019;73(6):1170–1171. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.11892.
13. NCRP Commentary No 27. Implications of Recent Epidemiologic Studies for the Linear-Nonthreshold Model and Radiation Protection. National Council on Radiation Protection and Measurements: Bethesda, MD, 2018. 87 p.
14. Azizova T, Haylock R, Moseeva M., et al. Cerebrovascular Diseases Incidence and Mortality in an Extended Mayak Worker Cohort 1948–1982. Radiat. Res. 2014;182(5):529–544. DOI:10.1667/RR13680.1.
15. Preston D.L., Lubin J.H., Pierce D.A., McConney M.E. Epicure: User's Guide. HiroSoft International Corporation. Seattle, WA 98112, USA, 1993. 329 p.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-57-67

А.Н. Котеров[1], Л.Н. Ушенкова[1], А.А. Вайнсон[2], И.Г. Дибиргаджиев[1], М.В. Калинина[1], А.Ю. Бушманов[1]

РИСК СМЕРТНОСТИ ОТ ОСНОВНЫХ ПАТОЛОГИЙ ВСЛЕДСТВИЕ ПАССИВНОГО КУРЕНИЯ НЕ ДОСТИГАЕТСЯ ПОДАВЛЯЮЩИМ БОЛЬШИНСТВОМ РАБОТНИКОВ ЯДЕРНОЙ ИНДУСТРИИ ВСЕХ ПЕРИОДОВ ЗАНЯТОСТИ

[1] Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва
[2] Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва

Контактное лицо: Алексей Николаевич Котеров, e-mail: govorilga@inbox.ru

РЕЗЮМЕ

К настоящему моменту известно порядка 100 мета-анализов для рака легкого и болезней системы кровообращения (Cardiovascular diseases – CVD) как эффектов пассивного курения (Second hand smoking – SHS). Полученные величины рисков (Relative Risk – RR, odds ratio – OR и др.) находятся в диапазоне 1,2–1,3, но пока нет окончательно принятых оценок, и многие оценки сделаны не в последние годы. Как SHS, так и работа на предприятиях ядерной индустрии стали стереотипами в обыденном и обыденно-научном сознании, означающими нечто вредное в бытовом и профессиональном плане. В представленном исследовании проведено сравнение рисков смертности от всех раков, от рака легкого и от CVD для SHS и работников ядерной индустрии (nuclear workers – NW). На первом этапе выполнены umbrella review (обзор обзоров; overview) и мета-анализы мета-анализов (мета-мета-анализы) по рискам смертности от указанных патологий как эффектов SHS. Umbrella review и мета-мета-анализ расцениваются как наивысший уровень доказательности и, таким образом, выявленные риски могут условно рассматриваться как «табельные». Для показателя смертности от всех раков после SHS не имелось достаточно данных; поэтому использовались результаты из мета-анализа Kim A.S. et al, 2018, а для смертности от рака легкого и от CVD были выполнены мета-мета-анализы. Величины рисков находились в диапазоне 1,22–1,24, что воспроизводит предыдущие данные.
На втором этапе проведено сравнение выявленных для SHS рисков с рисками смертности от названных патологий для NW. Выборка публикаций для NW, экстрагированных из поддерживаемой авторами базы данных, включала наиболее репрезентативные контингенты применительно к ядерным инсталляциям: с максимальными дозами, а также объединенные когорты (14–15 стран и INWORK – 3 страны). На основе опубликованных ERR на 1 Гр для того или иного контингента NW рассчитывались те дозы облучения, которые NW должны были накопить, чтобы приблизиться к рискам смертности от SHS.
Обнаружено, что чтобы достичь рисков SHS по всем трем типам заболеваний, NW необходимо получать дозы облучения от 129–183 мЗв до 1,07–6,0 Зв. Не было ни единого случая, когда риск от SHS оказался бы эквивалентен воздействию радиации в малых дозах (до 100 мГр); чаще дозы локализовались в диапазоне порядка 300–800 мЗв, вплоть до 6 Зв. Анализ опубликованных данных по дозовым распределениям для NW продемонстрировал, что подобные дозы получает или относительно малая, или исчезающее малая часть NW. Риски для 80–96 % NW из разных стран, в том числе для деятельности с 1940-х гг., не достигали вреда хронического воздействия SHS.
Сделан вывод, что ведущееся десятилетия изучение рисков для NW, в частности от малых доз, не представляется адекватным без учета величины даже слабых, но малоконтролируемых рисков обыденной жизни, а полученные данные в очередной раз улучшает имидж занятости в области ядерной энергетики.

Ключевые слова: *работники ядерной индустрии, смертность от болезней системы кровообращения, радиация, малые дозы, средние дозы, порог эффекта*

Для цитирования: Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Вайнсон А.А., Дибиргаджиев И.Г., Калинина М.В., Бушманов А.Ю. Риск смертности от основных патологий вследствие пассивного курения не достигается подавляющим большинством работников ядерной индустрии всех периодов занятости // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 57–67. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-57-67

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-57-67

A.N. Koterov[1], L.N. Ushenkova[1], A.A. Wainson[2], I.G. Dibirgadzhiev[1], M.V. Kalinina[1], A.Yu. Bushmanov[1]

The Mortality Risk from Main Pathologies Due to Passive Smoking is not Achieved by the Overwhelming Majority of Nuclear Workers in All Periods of Employment

[1] A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia
[2] N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow

Contact person: Alexey N. Koterov, e-mail: govorilga@inbox.ru

ABSTRACT

To date, there are about 100 meta-analyses for lung cancer and circulatory (cardiovascular) diseases (CVD) as the effects of second hand smoking (SHS). The obtained risk values (Relative Risk – RR, odds ratio – OR, etc.) are in the range of 1.2–1.3, but there are no definitively accepted estimates yet, and many estimates were not made in recent years. Both SHS and work at nuclear industry enterprises have become stereotypes in everyday and scientific everyday consciousness, meaning something harmful in everyday and professional terms. The present study compared the mortality risks from all cancers, lung cancer, and CVD for SHS and nuclear workers (NW).
At the first stage, an umbrella review (review of reviews; overview) and meta-analyses of meta-analyses (meta-meta-analyses) on the risks of mortality from these pathologies as effects of SHS were performed. Umbrella review and meta-meta-analysis are regarded as the highest level of evidence and, thus, the identified risks can be conditionally considered as ‘standard’. There were insufficient data available for all

cancer mortality rates after SHS; Therefore, the results from the meta-analysis by Kim A.S. et al, 2018 were used., and meta-meta-analyses were performed for lung cancer and CVD mortality. The risk values were in the range of 1.22–1.24, which replicates previous findings.
At the second stage, the risks identified for SHS were compared with the risks of mortality from the named pathologies for NW. The sample of publications for NW, extracted from the database maintained by the authors, included the most representative cohorts in relation to nuclear installations: with maximum doses, as well as combined cohorts (14–15 countries and INWORK – 3 countries). Based on published ERRs per 1 Gy for a given NW population, the radiation doses that NW would have to accumulate to approach the mortality risks from SHS were calculated.
To achieve SHS risks for all three disease types, NWs were found to need to receive radiation doses ranging from 129–183 mSv to 1.07–6.0 Sv. There have been no cases in which the risk from SHS was equivalent to exposure to low-dose radiation (up to 100 mGy); more often, doses were localized in the range of about 300–800 mSv, up to 6 Sv. Analysis of published data on dose distributions for NW has demonstrated that such doses are received either by a relatively small or vanishingly small proportion of NW. Risks for 80–96 % of NWs from various countries, including activities since the 1940s, did not reach the harms of chronic exposure to SHS.
It is concluded that the decades-long study of risks for NW, in particular ‘low doses’, does not seem adequate without taking into account the magnitude of even weak, but poorly controlled risks of everyday life, and the data obtained once again improves the image of employment in the field of nuclear energy.

Keywords: *nuclear workers, mortality from diseases of the circulatory system, radiation, low doses, moderate doses, effect threshold*

For citation: Koterov AN, Ushenkova LN, Wainson AA, Dibirgadzhiev IG, Kalinina MV, Bushmanov AYu. The Mortality Risk from Main Pathologies Due to Passive Smoking is not Achieved by the Overwhelming Majority of Nuclear Workers in All Periods of Employment. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):57–67. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-57-67

Введение

В 1935 г. Fritz Lickint (Германия) впервые опубликовал результаты синтетического исследования всех источников (экспериментальных, клинических и патологоанатомических), которые свидетельствовали об ассоциации между курением и раком легкого [1]. Этим же автором в 1936 г. было введено понятие об эффектах пассивного курения и сам этот термин (далее, если не указано иное, – ‘Second Hand Smoking’; SHS) [2, 3]. Хотя сама идея об этом, как о повреждающем факторе, была высказана ранее, в 1928 г., E. Schonherr (также Германия) [1] (историю доказательств причинности обусловленных курением патологий см. в [4]).

Однако исследования эффектов SHS после указанной хроно-вехи долгое время не проводились (первая соответствующая статья в PubMed – 1964 г.), и только в 1986 г. [5] и в 2006 г. [6] были опубликованы фундаментальные сообщения Surgeon General USA[1] на тему эффектов SHS. В последние десятилетия эпидемиологические изыскания на тему стали множиться лавинообразно и ныне накоплено много данных (тысячи работ[2]), реализовавшихся в великом множестве обзоров, систематических обзоров и в порядка сотни мета-анализов[3] применительно к двум главным последствиям – раку легкого и болезням системы кровообращения (русскоязычный термин ВОЗ [7, 8][4]; далее CVD, то есть cardiovascular diseases). Не одно десятилетие многие авторы по всему миру пытались вывести как бы «окончательные» величины рисков SHS путем систематических обзоров, мета- и pooled-анализов. Но полученные даже интегральные величины рисков порой отличаются весьма значительно, не говоря уже о разбросе показателей для отдельных исследований [5, 6] (см. ниже).

С одной стороны, риски для населения от SHS официально признаны как весьма серьезные, что привело к усилению борьбы с курением, компаниям в СМИ [11] и даже к несколько преувеличенным опасениям [12]. С другой стороны, выявленные и публикуемые величины относительных рисков (Relative Risk; RR) для SHS невелики, составляя для смертности и от рака легкого, и от CVD, порядка 1,2–1,3 [5, 6]. Эти значения по эпидемиологической градации рисков (Richard Monson, 1980; 1990; см. в наших обзорах [13, 14]) считаются или незначащими (1,0–1,2), или слабыми (1,2–1,5) ассоциациями, поскольку для твердой доказательности эффектов в эпидемиологии, где возможны влияния вмешивающихся факторов (confounder) и смещений (bias), требуются величины RR порядка 2–3, а для доказательства причинности более слабых ассоциаций необходимо множество многосторонних исследований высокого качества [13].

Эффекты слабые, но значение их в общественно-социальном плане, как сказано, велико [11, 12]. По крайней мере то, что пассивное курение приводит к раку легкого, и потому опасно, является ныне однозначным стереотипом, хотя RR невелик, а фоновый уровень данной патологии для некурящих невысок – от порядка 5 до 20 случаев (не смертей) в год на 100 тыс. населения в последние десятилетия (Европа и США) [15, 16]. То есть при RR = 1,3 к 5–20 фоновым случаям рака легкого на 100 тыс. некурящего населения за год за счет SHS должно прибавиться всего 1,5–6 дополнительных случаев, что на фоне смертности от иных факторов обыденной жизни и работы не представляется серьезным. Иное дело – для CVD, фоновый уровень которых очень высок

[1] Главный представитель общественного здравоохранения США; иногда называется также «Главный военный хирург США» (имеет звание вице-адмирала). Начиная с 1964 г., под этим авторством публикуются обширные сообщения Минздрава США о последствиях курения в различных аспектах, которые имеют мировое значение.

[2] PubMed, поиск на “Passive smoking” (двойные кавычки – единая конструкция для всех поисковых систем): 4389 источника; на синонимы “Second hand smoke” – 1445 источников и “Involuntary smoking” (“невольное курение”) – 96 источников (02.02.2024).

[3] От обычного («нарративного», ‘narrative’, то есть повествовательного) обзора систематический (с мета-анализом или без него) отличается формулировкой точной цели, конкретикой поиска и отбора источников, полнотой собранных исследований на тему и оценкой качества работ [9]. Для синтеза данных разных исследований служат мета-анализ и pooled-анализ. Мета-анализ представляет собой суммирование (с учетом особых подходов включения и взвешивания источников по размеру выборок и дисперсии), а затем статистическую обработку конечных результатов отдельных работ, в то время как pooled-анализ при подобной обработке оперирует совокупностью первичных данных из каждой работы. Второй подход адекватнее, но является более трудным (требует оригиналов публикаций, в то время как мета-анализ может осуществляться по данным только из рефератов) [10].

[4] Обобщающее наименование «Болезни системы кровообращения» [7] (англ. ‘Diseases of the Circulatory System’ [7, 8]) охватывает все патологии указанной системы, от различных видов ревматизма и гипертонии до множества сердечных, цереброваскулярных и сосудистых заболеваний с кодами 390–459 (класс VII) международной классификации болезней ICD-9 (МКБ-9) [7, 8] и кодами I00–I99 (класс IX) более поздней системы ICD-10 (МКБ-10) [8].

(по данным ВОЗ, порядка 91–637 смертей на 100 тыс. населения разных стран в последние годы [17]), и потому даже небольшой RR за счет SHS может приводить к значительному абсолютному риску и к множеству дополнительных смертей [5].

Оказалось, однако, что занятость в системе ядерной индустрии, которая сформировала в обыденном и обыденно-научном сознании[5] стереотип одного из наиболее вредных, опасных и вызывающих жалость типов занятости («на урановые рудники», «народятся радиационные мутанты»), по показателям смертности от основных патологий весьма уступает хроническому обкуриванию супруга или коллегу на работе. Обнаружив данный феномен, его потребовалось подтвердить, причем попытавшись сделать это с позиции наивысшего уровня доказательности в эпидемиологии и доказательной медицине.

Как уже отмечалось, к настоящему времени накоплены тысячи не только первичных исследований эффектов SHS, но и порядка 150 мета-анализов для смертности от ряда патологий, с максимальным числом таковых для рака легкого и CVD. Какие из опубликованных рисков следует взять для сравнения? Ведь все они несколько отличаются, а обобщающего, «табельного» документа (типа рекомендаций МКРЗ по радиационным рискам) ныне не имеется. В связи с этим нами был использован подход объединения систематических обзоров в единый обзор, равно как и мета-анализ имеющихся мета-анализов на темы. Это так называемый ‘umbrella review’, то есть «обзор обзоров» (overview) [18][6], и мета-анализ мета-анализов (термины ‘meta-meta-analysis’; ‘meta-meta-epidemiology’ [18, 19]).

Umbrella review систематических обзоров и мета-мета-анализ рассматриваются как наивысшие уровни доказательности, превышающие уровни и систематического обзора, и единичного мета-анализа («третий уровень» над «вторым уровнем») [18, 19]. Поскольку мета-анализ в доказательной медицине порой расценивается как «платиновый стандарт» над «золотым стандартом» (рандомизированным контролируемым испытанием) [20], то, по логике, мета-мета-анализ как бы не имеет оценки в распространенных драгоценных металлах, переходя в область родия, осмия и т.п. Конечно, это только метафора, но вряд ли при имеющейся массе мета-анализов по SHS можно предложить какой-то другой подход для обобщающего синтетического исследования.

Выявленные таким путем риски смертности от основных патологий (всех раков, рака легкого и CVD) как эффектов SHS сравнивались с соответствующими рисками для работников ядерной индустрии (далее – NW; Nuclear workers – наиболее стандартизованный термин в англоязычных источниках [21]), исходя из избыточных относительных рисков (Excess Relative Risk; ERR) на 1 Гр (Зв)[7] внешнего облучения. Указанные риски для NW, равно как и их распределение по уровням доз, были оценены путем анализа опубликованных исследований из поддерживаемой нами базы данных по медико-биологическим и иным эффектам у NW различных стран (порядка 3500 источников на начало 2024 г.; на 86 % – полные оригиналы зарубежных публикаций) [23–28].

Цель представленного исследования, таким образом, это сравнение рисков смертности от всех раков, рака легкого и CVD для SHS, с одной стороны, и NW, с другой.

Достижение цели предусматривало две основных задачи:

а) Проведение мета-мета-анализов для получения интегральных (как бы табельных) рисков SHS применительно к названным патологиям;
б) Обзорный анализ уровней ERR на 1 Гр для основных контингентов NW с последующей оценкой тех доз, при которых для NW могут достигаться выявленные для SHS уровни риска, вкупе с оценкой той доли NW, для которой риски сравнимы с воздействием SHS.

Материал и методы

Поиск и отбор мета-анализов по эффектам SHS

Синтетические исследования по влиянию SHS на смертность от всех раков, от рака легкого и от CVD выявляли через MEDLINE, PubMed, Cochrane Library, Google, и путем скрининга списков литературы в обнаруживаемых источниках. Поисковые конструкции включали, в сочетании с ‘meta-analysis’ и с наименованиями (в двойных кавычках; см. прим. 2) “all cancer”, “lung cancer”, “disease of circulatory system”, “cardiovascular disease” и “heart disease” все англоязычные синонимы для SHS [5, 6, 29] (и PubMed): “passive smoking(smoke)”, “involuntary smoking(smoke)”, “secondhand smoking(smoke)”, “second hand smoking(smoke)”, “environmental tobacco smoke(smoking)” и “environmental smoke(smoking)”.

Обилие англоязычных синонимов, которые используются с чересполосицей даже в фундаментальных официальных документах [5, 6, 29], а также произвольно в разных статьях, весьма затрудняет и удлиняет поиск источников. Одновременно могут встречаться в одном документе, например, как ‘secondhand smoking’, так и ‘second hand smoking’.

Русскоязычные публикации искали через Elibrary (на [«пассивное курение» + «болезни системы кровообращения» или «болезни сердца»]), а также через Google (на сочетания [«пассивное курение» + elibrary], [«пассивное курение» + «сердечно сосудистые заболевания» или «болезни системы кровообращения»]). Из тысяч первоначально найденных через Google ссылок в процессе просмотра робот оставлял от 21 до 149 (остальные «очень похожи»), что позволяло проанализировать подобный материал визуально.

Среди обнаруженных мета-анализов отбирали:

а) Те, в которых объединялись работы только по смертности от названных патологий, но не по инцидентности или по смертности + инцидентности после воздействия SHS.
б) Те, в которых имели дело с эффектами SHS на взрослых (дома (супруги), на работе, редко – в ‘public places’, то есть «в общественных местах»), но вне значительного массива исследований эффектов SHS на детей, включая *in utero* [5, 6], поскольку цель работы предусматривала сравнение рисков с рисками для NW.
в) Исследования, в которых имелись интегральные оценки показателей риска: RR, отношения шансов

[5] То есть у научных специалистов иного, даже близкого профиля.

[6] Для umbrella review имеется русскоязычный термин «зонтичный обзор» и даже отдельные такие исследования, но использовать данную кальку вряд ли уместно в связи с относительно малой распространенностью, к тому же в специфических областях (через Google в Рунете на «зонтичный обзор» обнаруживаются работы в основном по психологии, нутрициологии и спортивной медицине).

[7] Размерности доз Гр и Зв используются здесь как синонимы, поскольку речь идет о внешнем воздействии излучения с низкой ЛПЭ. Традиционно для облучения работников ядерной индустрии накопленные дозы выражаются в милизивертах в связи с особой важностью оценки канцерогенных рисков (эффективные дозы) [22].

(OR) и отношения рисков (Hazard Ratio; HR). HR и RR имеют единую суть, а при низкой частоте эффекта OR ≈ RR [30].

Поиск и отбор источников по рискам у NW

Осуществляли на основе упомянутой базы данных (базы источников) по эффектам у NW. Наличие в 86 % случаев оригиналов публикаций позволяет проводить полнотекстовой поиск на необходимые термины и их сочетания (программа Archivarius-3000; Likasoft, ver. 4.21). Отбирали данные из основополагающих зарубежных исследований для ядерных инсталляций с максимальными дозами (Hanford, Sellafield и др.), а также результаты мета- и pooled-анализов, интегрировавших риски для NW многих стран.

Статистическая и иная обработка материала и проведение мета-анализов, объединяющих мета-анализы (мета-мета-анализов)

Мета-анализы выполняли с помощью программы WinPepi (ver. 11.60; J. Abramson; Israel). Программа оценивает гетерогенность выборки по коэффициентам 'Higgins and Thompson' (*H*). Показатель *H* менее 1,2 свидетельствует о гомогенности выборки, а свыше 1,5 – о выраженной гетерогенности. Величина I^2 отражает % вариант в выборке, атрибутивных гетерогенности [31]. При наличии гетерогенности из двух статистических моделей мета-анализа (Fixed-effect и Random-effect) рекомендуется выбирать вторую, что часто и имеет место для медико-биологических исследований [10].

Модуль программы для мета-анализа требует наличия оценок риска и величины их ±95 % доверительных интервалов (Confidence interval; CI) либо стандартной погрешности среднего (Standard error; SE).

Программа WinPepi анализирует также публикационное смещение (publication bias) по 'Regression asymmetry test' для Funnel plot от M. Egger с соавторами; для величины p <0,1 [так] можно говорить о подозрении на указанный bias [32, 33].

Анализ на выпадающие величины в вариационных рядах проводили по критерию Шовене (Chauvenet's criterion [34]).

В случае представления в оригинальных работах данных только в виде графиков (диаграммы распределения NW по дозовым группам), выполняли их оцифровку (программа GetData Graph Digitizer, ver. 2.26.0.20).

При построении, для оценки публикационного смещения, Funnel plot (графики выполняли с помощью программы Statistica, ver. 10) по данным отдельных исследований, объединяемым мета-анализом, рекомендуется отображать зависимость между величиной риска как аргумента и SE как функции (в обратной шкале), хотя бывают Funnel plot в виде зависимости от риска обратной величины SE (precision – точность оценки), дисперсии, обратного значения дисперсии, размера выборки (sample size) и этих же величин в виде логарифмов [33]. Поскольку данные для рисков в публикациях представлены как величины с ±95 % CI, то индекс SE определяли по следующей формуле из пособия Cochrane Collaboration [35]: SE = [(upper 95 % CI) − (lower 95 % CI)]/3,92.

Результаты и обсуждение

Анализ синтетических исследований по смертности от всех раков, от рака легкого и от CVD как эффектов SHS

В процессе поиска был найден целый ряд систематических обзоров на тему, но без интегрирующих мета-анализов. Далее эти данные не рассматриваются, поскольку цель исследования узка – наиболее точные оценки рисков и их сравнение, а не обсуждение вопросов о том, почему они именно такие, для каких контингентов, при каких воздействиях и пр.

Применительно к эффекту SHS на смертность от *всех раков* имеется очень мало данных (почти все мета-анализы и отдельные исследования на тему посвящены их конкретным типам)[8]. Подборка обнаруженных работ, даже не совсем уместных по нашим критериями включения, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Мета-анализы риска смертности от всех раков после различных типов воздействия SHS

Meta-analyses of the mortality risk from all cancers following different types of SHS exposure

Meta-analysis	Mortality risk on 'all cancer' (±95 % CI)
Boffetta P. et al, 2000 [37]. Meta-analysis. France	SHS on pregnant: RR = 1,10 (1,03; 1,19)
Wang Y.T. et al, 2023 [38]. Meta-analysis China*	SHS only on Chinese; combined SHS exposure ages (from *in utero* for adult): OR = 1,79 (1,56; 2,05)
Kim A.S. et al, 2018 [39]. Meta-analysis. Korea**. Sources: USA + Canada + Europe – 82 %, Asia – 17 %, India – 1 %	Fully adjusted: OR = 1,22 (1,13; 1,33)
Chuang S.C. et al, 2011 [40]. Single study. UK	SHS on childhood: HR = 0,97 (0,92; 1,02)

Примечание:

* Мета-анализ ('total cancer') как суммация 25 исследований (1987–2021) для отдельных типов рака.

** Интегральная величина в мета-анализе получена также не для исследований с определением риска для всех раков, а для объединения работ с рисками различных типов рака. Только одно включенное исследование предусматривало индекс «смертность от всех раков» [40].

* Meta-analysis ('total cancer') also sums up 25 studies (1987–2021) for individual cancer types.

** The integral value in the meta-analysis was obtained not for studies that determined the risk for all cancer, but for combining studies with risks for different types of cancer. Only one included study provided an all-cancer mortality index [40].

Видно, что почти все источники не годятся для нашего исследования: один мета-анализ охватывал работы по воздействию SHS *in utero* [37], другой – только эффекты на популяцию Китая [38], причем для разных возрастов во время экспозиции (от *in utero* до взрослых), а индекс смертности «от всех раков» оценивался по совокупности показателей для отдельных. конкретных типов злокачественных новообразований; то же имело место и для третьего мета-анализа [39]. Единственная обнаруженная работа, где определялся индекс смертности именно от всех раков, предусматривала воздействие SHS на китайских детей и не являлась мета-анализом [40].

При такой ситуации выполнять мета-мета-анализ не представлялось корректным (получилось бы, согласно старинному мему для мета-анализа, «объединение яблок с апельсинами» [41]), и потому при сравнении с рисками для NW использовали данные единственного относительно уместного мета-анализа Kim A.S. et al, 2018 [39]. На подобные ограничения приходится идти, ибо на настоящий момент другие подходящие данные нам не известны.

Результаты поиска синтетических исследований по эффекту SHS на смертность от *рака легкого* приведены в табл. 2.

[8] Равным образом несоизмеримо мало даже отдельных исследований действия SHS на общую смертность: всего около двух десятков работ. И – единственный мета-анализ Lv X. et al, 2015 [36].

Таблица 2

Мета-анализы риска смертности от рака легкого после воздействия SHS различных типов

Meta-analyses of the mortality risk from lung cancers following different types of SHS exposure

Meta-analysis	Mortality risk on lung cancer (±95 % CI)
IARC 2004* [29]	Home, *F:* RR = 1,24 (1,14; 1,34)
IARC 2004* [29]	Home, *M:* RR = 1,37 (1,02; 1,83)
IARC 2004* [29]	Workplace: RR = 1,03 (0,86; 1,23)
Surgeon General, 2006 [6]; USA	Home, cohort: RR = 1,29 (1,13; 1,49)
Surgeon General, 2006 [6]; USA	Home, case-control: RR = 1,21 (1,13; 1,30)
Surgeon General, 2006 [6]; USA	Workplace: RR = 1,22 (1,13; 1,33)
Taylor R et al. Int J Epidemiol. 2007;36(5):1048–59. Australia	RR = 1,27 (1,17; 1,37)
Zhao H. et al. Zhongguo Fei Ai Za Zhi. 2010;13(6):617–23; China	Only Chinese: OR = 1,13 (1,05; 1,21)
Fu X et al. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. 2015;49(7):644–8. China	Only Chinese: OR = 1,34 (0,97; 1,85)
Kim AS et al. Int J Environ Res Public Health. 2018;15(9). Article E1981. 17 p. Korea	OR = 1,25 (1,03; 1,51)
Du Y. et al. Transl. Lung Cancer Res. 2020;9(2):204–17. Netherland, China	Only Chinese, population: OR = 1,36 (1,19; 1,56)
Du Y. et al. Transl. Lung Cancer Res. 2020;9(2):204–17. Netherland, China	Only Chinese, hospital: OR = 1,57 (1,36; 1,81)
Wang YT et al., 2023 [38]; China	Only Chinese: OR = 1,92 (1,42; 2,59)

Примечание:

* Мета-анализ мета-анализов для рисков от воздействия SHS дома и на работе (1986–2002).

*Meta-analysis of meta-analyses for risks from exposure to SHS at home and at work (1986–2002).

Данные множества соответствующих мета-анализов, выполненных до начала 2000-х гг., были объединены в едином мета-анализе сообщения Международного агентства по изучению рака (МАИР; IARC) от 2004 г. [29]. Имеется и объединяющий мета-анализ в сообщении Surgeon General, 2006 [6]. Поэтому десятки подобных исследований до указанных годов, очевидно, были аккумулированы именно в этих двух публикациях [6, 29]. Обращает на себя внимание значительное число мета-анализов только для китайских популяций (табл. 2), риски для которых представляются более высокими, как и вообще эффекты воздействия SHS на азиатские популяции (см. подборки в [6]).

Из сформированного вариационного ряда (n = 13) для рисков смертности от рака легкого по критерию Шовене выпали значения 1,03; 1,57 и 1,92. Для оставшихся показателей (n= 10) и был выполнен мета-мета-анализ.

Далее анализировали эту выборку после удаления данных, полученных только для Китая (n = 8); из нее выпало значение 1,03. Конечные семь вариант вошли в мета-мета-анализ, результаты которого и использовались для сравнения рисков с рисками для NW (поскольку таковые были представлены почти нацело неазиатскими популяциями).

Подборка мета-анализов по смертности от CVD отображена в табл. 3.

Для мета-мета-анализа по CVD[9] отбирали риски только применительно к объединенным группам *M* + *F*.

Таблица 3

Мета-анализы риска смертности от CVD после SHS

Meta-analyses of the mortality risk from CVD after SHS

Meta-analysis	Mortality risk on CVD (±95 % CI)*
Wells A.J. et al. J Am Coll Cardiol. 1994;24(2):546–54. USA; 'combined analysis'*	*F:* RR = 1,23 (1,11; 1,36); *M:* RR = 1,25 (1,03; 1,51), *F* + *M:* RR = 1,23 (1,12; 1,35), *F* + *M* (USA): RR = 1,22 (1,11; 1,35)
LeVois M.E., Layard M.W., 1995 [42]. USA; 'total analysis'; without details	*F* + *M:* RR = 1,29 (1,18; 1,41)**
Wells A.J. J Am Coll Cardiol 1998;31(1):1–9. USA	*F:* RR = 1,29 (0,98; 1,70); ***M*: RR** = 1,09 (0,92; 1,29), *M* + *F:* RR = 1,14 (0,99; 1,32)
Steenland K. Environ Health Perspect 1999;107(suppl 6):859–63. USA	At workplace: RR = 1,21 (1,04; 1,41)
He J. et al. N Engl J Med. 1999;340(12):920–6. USA	RR = 1,25 (1,17; 1,32); p <0,001
Thun M. et al. Environ Health Perspect 1999;107(suppl 6):841–6. USA	*M* + *F:* RR = 1,22 (1,14; 1,30)
Kaur S. et al. J Womens Health (Larchmt). 2004;13(8):888–97. USA	*F:* RR = 1,15 (1,03; 1,28), p <0,05
Enstrom J.E. et al. Inhal Toxicol. 2006;18(3):199–210. USA	Meta-analysis adjusted: RR = 1,05 (1,01; 1,08)
Surgeon General, 2006 [6]; USA	*F*+*M:* RR = 1,27 (1,19; 1,37)
Heuschmann P.U. et al. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14(6):793–5. Germany	RR = 1,18 (0,99; 1,41)
Ha J. et al. Saf Health Work. 2011;2(1):70–82. Korea	*F:* RR = 1,22 (0,95; 1,56); *M:* RR = 1,19 (1,05; 1,35)
Fischer F., Kraemer A. BMC Public Health. 2015;15:Article 1202. 18 p.; Germany	*F:* RR = 1,50 (1,31; 1,72); *M:* RR = 1,06 (0,96; 1,19); *F* + *M:* RR = 1,27 (1,10; 1,48)
Lv X. et al., 2015 [36]; China	*F* + *M*: 1,23 (1,16; 1,31)
Khoramdad M. et al. IUBMB Life. 2020;72(4):677–86. Iran	Case-control: RR = 1,28 (1,09; 1,50); at home and work: RR = 1,41 (0,73; 2,70); cohort: HR = 1,12 (1,06; 1,20); at home, work and public places: HR = 1,26 (1,13; 1,40)
Zhang D. et al. Int J Hyg Environ Health. 2020;228:Article 113546. 9 p. China	OR = 1,22 (1,17; 1,28)
Wang Y.T. et al, 2023 [38]. China	Only Chinese: OR = 1,92 (1,29; 2,85)

Примечание:

** Термин «мета-анализ» в оригинале работы отсутствует, но проверка путем выполнения нами мета-анализа для одной группы исходных данных показала, что 'combined' подход является именно мета-анализом (полное совпадение полученного значения и ±95 % CI).

*** Проверка с помощью нашего мета-анализа материала из этой работы: RR = 1,28 (1,20; 1,37); наш мета-мета-анализ включал данные из оригинала.

** The term 'meta-analysis' is absent in the original work, but verification by performing a meta-analysis for one group of initial data showed that the 'combined' approach is precisely a meta-analysis (complete agreement of the obtained value and ±95 % CI).

*** Our meta-analysis for check of material from this work: RR = 1,28 (1,20; 1,37); our meta-meta-analysis includes data from the original.

Для всей подобной выборки (n = 18) программа WinPepi обнаруживала высокую вероятность публикационного смещения (Egger's test p = 0,014), однако в результате последовательного удаления из вариационного ряда по критерию Шовене пяти значений (1,05; 1,12; 1,14; 1,41; 1,92) данный bias (либо следствие случайности или гетерогенности выборки [31–33]) элиминировался (Egger's test p = 0,498), и Funnel plot приобретал высокую тенденцию к симметричности (рис. 1).

Такая скорректированная выборка и использовалась для мета-мета-анализа по смертности от CVD после SHS.

[9] Данные включали смертность как от всех CVD в некоторых мета-анализах, так и от ишемической болезни сердца и от коронарной болезни сердца. Имеющаяся информация для смертности от инсульта в наш анализ не входила.

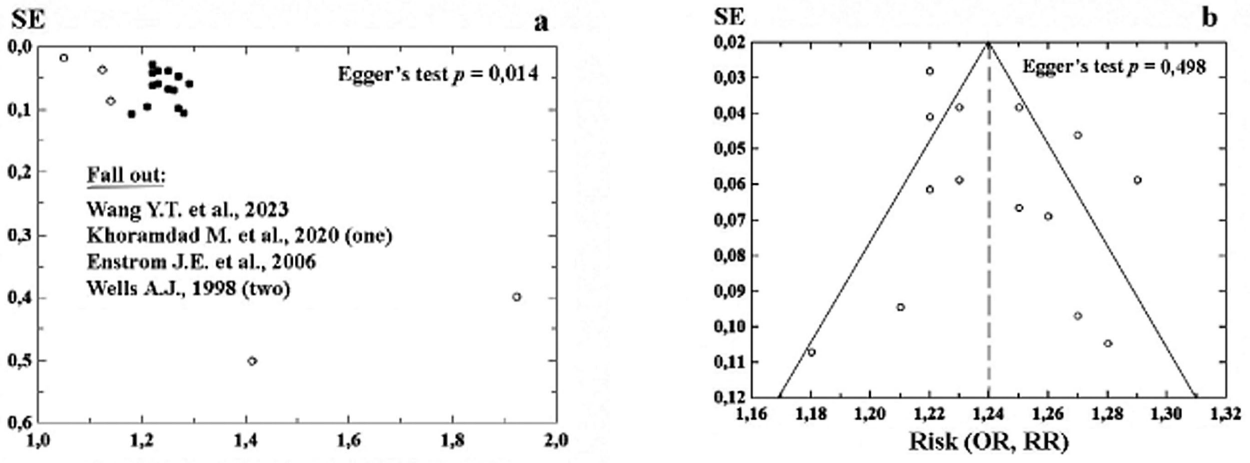


Рис. 1. Funnel plot для мета-мета-анализа синтетических исследований эффекта воздействия SHS на смертность от CVD. По осям абсцисс – величина риска (OR, RR), по осям ординат (обратные для Funnel plot [33, 35]) – SE; *a* – вся исходная выборка (выпадающие по критерию Шовене значения показаны светлыми символами); *b* – конечная выборка после удаления выпадающих значений

Fig. 1. Funnel plot for meta-meta-analysis of synthetic studies of the effect of SHS on CVD mortality. Abscissa axes – the risk value (OR, RR), ordinate axes (reverse for Funnel plot [33, 35]) – SE; *a* – is the entire original sample (outliers according to the Chauvenet's criterion are shown with light symbols); *b* – is the final sample after removing outliers

Сравнение рисков смертности от основных патологий для SHS и для занятости в области ядерной индустрии

Результаты отобранного мета-анализа для смертности от всех раков и выполненных здесь мета-мета-анализов для рисков двух остальных патологий представлены в табл. 4 в сравнении с рисками для NW.

Видно, что чтобы достичь рисков SHS по всем трем типам заболеваний, NW необходимо получить внушительные дозы облучения, от 129–183 мЗв до 1,07–2,67 Зв. Нет ни единого случая (см. в табл. 4), когда риск от SHS был бы эквивалентен воздействию радиации в малых дозах (до 100 мГр [52]). Для 11 сравнений из 13 дозы находятся в районе средних (0,1–1,0 Гр [52]), причем нередко ощутимых средних – порядка 300–800 мЗв. А в 2 случаях дозы укладываются в диапазон больших (>1,0 Гр [52]), порой весьма больших (до 2,67 Зв).

Подобные дозы получает или относительно малая, или исчезающее малая часть NW как таковых (табл. 5; представлены как включенные в табл. 4 исследования, так и иные).

Таким образом, риски для 80–96 % NW из разных стран, в том числе для кумулятивных экспозиций, начиная с деятельности в 1940-х гг., не достигают вреда

Таблица 4

Сравнение рисков смертности от основных патологий для NW и SHS: дозы для NW, при которых достигаются риски, эквивалентные рискам SHS

Comparison of mortality risks from major pathologies for NW and SHS: doses for NW at which risks equivalent to those of SHS are achieved

Exposure condition	Risk all cancer	Risk lung cancer	Risk CVD
SHS	Meta-analysis Kim A.S. et al, 2018 [39]: OR = **1,22** (1,13; 1,33)	Our meta-meta-analysis: all data: n = 10. H = 1,0; I^2 = 8 %; Egger's test p = 0,084; Fixed effect: **1,22** (1,19; 1,26); without China: n = 7. H = 1,0; I^2 = 0 %; Egger's test p = 0,118; Fixed (= Random) effect: **1,24** (1,20; 1,29). Accepted RR = **1,24** (1,20; 1,29)	Our meta-meta-analysis: $F + M$: All data: n = 18 (14 studies). H = 2,1; I^2 = 78 %; Egger's test p = 0,014; Random effect: **1,22** (1,16; 1,27); after fall out: n = 13 (10 studies). H = 1,0; I^2 = 0%; Egger's test p = 0,498; Fixed (= Random) effect: **1,24** (1,21; 1,27). Accepted RR = **1,24** (1,21; 1,27)
Dose for NW (nuclear workers) corresponding to the risk of SHS	a) Котеров А.Н. и др., 2021 (Koterov A.N. et al., 2021), meta-analysis (6 countries and pooled cohorts) [24]: **431 mSv** (ERR/1 Gy = 0,51; table 2). b) Wing S., Richardson D.B., 2005 (Hanford, USA) [43]: **786 мЗв** (ERR/1 Gy = 0,28; p. 467). c) Cardis E. et al, 2007 (pooled-analysis for 15 countries) [44]: **253 mSv** (ERR/1 Gy = 0,87; table 1). d) Wakeford R., 2014 (pooled-analysis for 14 countries; as like the previous one, but without Canada giving the error) [45]: **379 мЗв** (ERR/1 Gy = 0,58; p. 1). e) Daniels R.D. et al., 2017 (INWORK: pooled for 3 countries) [46]: **524 мЗв** (ERR/1 Gy = 0,42; p. 6). f) Richardson D.B. et al, 2015, (INWORK) [47]: **458 мЗв** (ERR/1 Gy = 0,48; table 2).	a) Wing S., Richardson D.B., 2005 (Hanford, USA) [43]: **183 мЗв** (ERR/1 Gy = 1,31; p. 467). b) Cardis E. et al, 2007 (pooled-analysis for 15 countries) [44]: **129 mSv mSv** (ERR/1 Gy = 1,86; table 1). c) Daniels R.D. et al, 2017 (INWORK: pooled for 3 countries) [46]: **282 мЗв** (ERR/1 Gy = 0,85; p. 7).	a) Azizova T.V. et al. 2018 ('Sellafield', UK) [48]: **571 mSv** (ERR/1 Gy = 0,42; table 3). b) McGeoghegan D., Binks K. J., 2001 (UK Chapelcross NW) [49]: **649 mSv** (ERR/1 Gy = 0,37; p. 240). c) Zablotska L.B. et al, 2013 (uranium processing; USA) [50]: **1263 mSv** (ERR/1 Gy = 0,19; table 5). d) Vrijheid M. et al, 2007 (pooled-analysis for 15 countries) [51]: **2667 mSv** (ERR/1 Gy = 0,09; abstract).

Таблица 5

Распределение NW различных стран и ядерных инсталляций по дозовым группам
Distribution of NW of various countries and nuclear installations by dose groups

Source	% <100 mSv	% >200 mSv	% >500 mSv	% >1000 mSv
Azizova TV et al, 2018 [48]. 'Sellafield', UK (1947–2002)	80	~15*	~3*	0,2
Beral V et al. Br Med J (Clin Res Ed). 1985;291(6493):440–7. UK Atomic Energy Authority (1946–1979)	85,5	–	–	–
Boice J Jr J Radiol Prot. 2001;21(4):400–3. Nuclear shipyard workers (ядерные верфи), USA (1957–1981)	94	–	0 (>400 mSv)	–
Boice J Jr et al. Health Phys. 2006;90(5):409–30. Rocketdyne NW, USA (1948–1999)	87	2	–	–
Bouville A et al. Health Phys. 2015;108(2):206–20. REIRS and other cohort USA NW (at 1957; study for 2011)	96	2	–	–
Cardis E et al. Radiat Res. 1995;142(2):117–32. Pooled NW of USA, Canada and UK (1944–1988 in total)	80 (<50 mSv)		2 (>400 mSv)	–
Cardis E et al. Brit Med J. 20059;331(7508):77–80. Pooled NW 15 countries (1944–2000 in total)	~95*	~5*	0,1	–

Примечание:
* Рассчитано после оцифровки диаграммы из оригинала.
* Calculated after digitizing the diagram from the original.

хронического воздействия SHS дома, на работе или в «общественных местах». Из данных в табл. 5 видно, что почти никакие NW не имеют рисков, соизмеримых с рисками от SHS для основных исследуемых патологий.

Дальнейшие комментарии, вероятно, излишни. Следует только иметь в виду, что ведущееся десятилетие за десятилетием озабоченное изучение рисков для NW, в частности «малых доз», и трата на это сил и средств, как то имеет место, к примеру, для CVD у западных авторов (см. обсуждение в наших обзорах [53–55]), сразу разбивается при столкновении с реальностью – с величиной даже слабых, но малоконтролируемых рисков обыденной жизни.

Ограничения исследования

а) В настоящее исследование были включены опубликованные мета-анализы, которые, по идее, должны отвечать требованиям как PRISMA [56], так и соответствующих отечественных методических рекомендаций для мета-анализа (Омельяновский В.В. и др., 2017 [57]. Первичные данные, охваченные этими мета-анализами, представляли собой скорректированные на различные вмешивающиеся факторы риски (что видно из оригиналов), и уже были отобраны, как и первоисточники, по их качеству. Поэтому дополнительная корректировка перед мета-мета-анализом по требованиям [56, 57] не представлялась целесообразной, однако формально источники для наших мета-мета-анализов по их качеству не отбирались.

б) Как уже говорилось выше, мало данных применительно к эффекту SHS на смертность от всех видов рака при воздействии не только во взрослом, но и в детском возрасте. Этот пробел китайские авторы попытались заполнить, проведя мета-анализ всего, что ими, вероятно, было найдено для показателей, касающихся раков, независимо от того, каких раков и сколько работ для того или иного типа рака включалось. Так, нами было взято значение рисков из Kim A.S. et al, 2018 [39], но данное исследование объединило для дизайна случай – контроль 11 работ по раку легкого, 10 работ по раку молочной железы, 2 по раку мочевого пузыря, 2 по раку почки и еще 4 единичных по иным типам рака. Охваченные этим мета-анализом когортные исследования, в свою очередь, насчитывали 5 публикаций по раку молочной железы, 4 – по раку прямой кишки, 2 – мочевого пузыря, 2 – поджелудочной железы, 2 – шейки матки, по одной для рака легкого и неходжкинской лимфомы, а также единственную работу с показателем «все раки», причем для воздействия SHS в детском возрасте [40].

Такая эклектика, а также гетерогенность в плане возраста воздействия, понятно, не придают мета-анализу [39] высокой достоверности, но иных данных применительно к искомому показателю, как уже отмечалось, не имеется. К тому же величина полученного в [39] риска не выходит за рамки показателей для иных патологий (см. табл. 4) и не выглядит неправдоподобной.

в) Многие взятые в синтез мета-анализы суммировали данные для исследований разного качества, включая дизайны не только когортные и случай – контроль, но, порой, даже кросс-секционные (для CVD). Иногда авторы представляли отдельно данные мета-анализа для когортного дизайна и для дизайна случай – контроль (например, [39]), но нами были взяты из этих работ, как правило, только объединенные риски. Впрочем, данный момент касается практически всех конечных мета-анализов, объединяющих первичные синтетические исследования, включая фундаментальные от МАИР [29] и Surgeon General [6] (см. в табл. 3).

г) Одним из возможных недостатков при проведении мета-мета-анализа, как указывается в [19], может являться перекрывание материалов, использованных в охватываемых первичных мета-анализах. Вряд ли этого можно избежать в рамках концепции «мета-мета-анализ» как надстройки: ведь селекция источников в первичных мета-анализах с последующим объединением оставшихся будет иметь результатом не мета-мета-анализ (или umbrella review), а некий самый обширный, но первичный pooled-анализ.

д) Выборка по ERR на 1 Гр для исследований NW, разумеется, неполна (как указывалось, в базе данных порядка 3500 источников; конечно, не все они посвящены рискам, но все же). Однако нами были отобраны синтетические исследования, объединяющие как персонал многих стран [44–47, 51], так и множество отдельных исследований [24]. Вошедшие когорты имеют значительный уровень доз среди мировых NW. Так, ранее нами были оценены средние и медианные дозы для NW различных стран и инсталляций (63 позиции; 18 стран), и из этой оценки следовало, что максимальные дозы накопил персонал центра 'Sellafield' и в целом ядерной индустрии Великобритании (когорта BNFL) [25, 26]. Поэтому выборка рисков и доз для NW в настоящем исследовании представляется репрезентативной применительно к решаемой задаче.

Таким образом, перечисленные ограничения носят, в основном, либо общий характер, и их можно отнести к большинству подобных работ, либо имеют снимающие претензии объяснения.

Заключение

В настоящем разделе ссылки, которые можно найти выше, за некоторыми исключениями не приводятся.

Хотя понятие и термин SHS введены еще в 1936 г., долгое время этот эффект всерьез не рассматривался, и только в последние лет 40 проблема начала приобретать медицинскую и общественно-социальную значимость, а число соответствующих исследований, в том числе синтетических (обзоры, систематические обзоры, мета-анализы), стало нарастать лавинообразно. К настоящему моменту известно порядка 150 мета-анализов по действию SHS на смертность от разных причин и порядка 100 мета-анализов для рака легкого и CVD (то есть для главных причин смертности как результата курения). Имеются попытки как отдельных авторов, да и официальных организаций (МАИР, Министерства здравоохранения (Surgeon General) США) вывести путем мета-анализов и даже мета-мета-анализов окончательные величины рисков смертности от разных типов рака (с упором на рак легкого), от CVD и др. Полученные величины рисков (RR, OR или HR) находятся в диапазоне 1,2–1,3, но пока так и нет окончательно принятых оценок, и многие из таковых сделаны отнюдь не в последние годы.

С одной стороны, по канонам градации рисков в классической эпидемиологии величина RR = 1,2–1,3 для SHS – это или самая граница доказательности риска, или отражение слабой ассоциации, однако общественно-социальная значимость феномена, учитывая массы населения, подверженные SHS, очень велика. Поэтому SHS стало стереотипом в обыденном и обыденно-научном сознании, означающим нечто очевидное и весьма вредное.

Иным стереотипом, хотя и более узким, является представление о деятельности на объектах ядерной индустрии как о чем-то наиболее опасном в профессиональном плане («урановые рудники», «радиационные мутанты-потомки»), что «вызывает раки» и имеет иные серьезные последствия (ныне – еще и увеличение смертности от CVD, о чем как бы свидетельствует масса соответствующих обзоров и мета-анализов [54, 55]). Оказалось, однако, что риски для большинства NW, порой для подавляющего большинства, несравнимы с рисками смертности от SHS. Выявленный попутно, данный феномен получил численные подтверждения в настоящем исследовании.

На первом этапе были выполнены umbrella review (обзор обзоров; overview) и мета-анализы мета-анализов (мета-мета-анализы) по рискам смертности от основных патологий (от всех раков, от рака легкого и от CVD) как эффектов SHS. Это требовалось для получения интегральных оценок рисков (к тому же с учетом недавних синтетических исследований) для последующего сопоставления с этими рисками показателей для NW. Umbrella review и мета-мета-анализ расцениваются как наивысший уровень доказательности («третий уровень» над «вторым уровнем» – систематическими обзорами и мета-анализами) и, таким образом, выявленные величины рисков могут рассматриваться отчасти как «стандартизованные», или «табельные».

Для показателя смертности от всех раков после SHS не имелось достаточно данных и, потому, использовались результаты из единственного относительно приемлемого источника – мета-анализа Kim A.S. et al, 2018 [39], а для смертности от рака легкого и от CVD были выполнены мета-мета-анализы. Величины рисков (OR, RR) в указанных случаях локализовались в диапазоне 1,22–1,24, что в целом воспроизводит данные предыдущих авторов.

На втором этапе было проведено сравнение выявленных для SHS рисков с рисками смертности от названных патологий для NW. Выборка публикаций для NW, экстрагированных из поддерживаемой нами базы данных, включала одни из наиболее репрезентативных контингентов NW, в том числе с максимальными дозами, а также объединенные когорты (14–15 стран и INWORK – 3 страны). На основе опубликованных ERR на 1 Гр для того или иного контингента NW рассчитывались те дозы облучения, которые им было необходимо накопить, чтобы приблизиться к рискам смертности от SHS.

Оказалось, что чтобы достичь рисков SHS по всем трем типам заболеваний, NW необходимо получать внушительные дозы облучения: от 129–183 мЗв до 1,07–2,67 Зв. Не было ни единого случая, когда риск от SHS оказался эквивалентен воздействию радиации в малых дозах (до 100 мГр [52]). Для 11 сравнений из 13 дозы находились в районе средних (0,1–1,0 Гр [52]), причем нередко порядка 300–800 мЗв. А в 2 случаях дозы укладываются в диапазон больших (>1,0 Гр [52]), вплоть до 2,67 Зв.

Анализ опубликованных данных по дозовым распределениям для контингентов NW продемонстрировал, что подобные дозы получает или относительно малая, или исчезающее малая часть NW. Риски для 80–96 % NW из разных стран, в том числе для кумулятивных экспозиций, начиная с деятельности в 1940-х гг., не достигали вреда хронического воздействия SHS дома, на работе или в «общественных местах».

Таким образом, ведущееся десятилетие за десятилетием озабоченное изучение рисков для NW, в частности от малых доз, и трата на это сил и средств, как то имеет место, к примеру, для CVD у западных авторов (см. обсуждение в наших обзорах [53–55]), разбивается при столкновении с реальностью – с величиной даже слабых, но малоконтролируемых рисков обыденной жизни. Это необходимо учитывать, особенно при изучении смертности NW от CVD.

Исходя из философии рисков, результаты настоящего исследования подобны двуликому Янусу. С одной стороны, общественно-социальной, относительно слабые риски от SHS могут быть конъюнктурно преувеличены тем, что они «даже больше, чем на ядерном производстве». С другой стороны, очевидна малая, нередко ничтожная степень рисков для NW, которая «в среднем меньше вреда SHS». Причем включая работников, начавших деятельность еще в конце 1940-х гг. На наш взгляд, предпочтительнее вторая сторона Януса, которая в очередной раз [24–28] улучшает имидж занятости в области ядерной энергетики.

Результаты настоящей работы, в которой обнаружено, что риск от SHS в системе предприятий ядерной индустрии может быть *больше*, чем от собственно профессиональной деятельности в течение десятилетий, с неизбежностью указывают как на необходимость наиболее широкого освещения этого научного факта среди персонала, так и на важности ужесточения борьбы с курением на таких предприятиях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Smith G.D., Egger M. The First Reports on Smoking and Lung Cancer: Why are they Consistently Ignored? // Bull. World Health Organ. 2005. V.83. No.10. P.799–800.
2. Bachinger E., McKee M. Tobacco Policies in Austria during the Third Reich // Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2007. V.11. No.9. P.1033–1037.
3. Brawley OW, Glynn TJ, Khuri FR, et al. The First Surgeon General's Report on Smoking and Health: the 50th Anniversary // CA Cancer J. Clin. 2014. V.64. No.1. P.5–8. https://doi.org/10.3322/caac.21210.
4. Котеров А.Н. Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 2. Постулаты Генле-Коха и критерии причинности неинфекционных патологий до Хилла // Радиац. биология. Радиоэкология. 2019. Т.59. №4. С. 341–375. https://doi.org/10.1134/S0869803119040052.
5. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Involuntary Smoking. A Report of the Surgeon General. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, Center for Health Promotion and Education, Office on Smoking and Health, DHHS Publication No. (CDC) 87-8398. USDHEW, 1986. 359 p. https://stacks.cdc.gov/view/cdc/20799 (accessed date: 2024/02/02).
6. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Coordinating Center for Health Promotion, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. Washington, DC, 2006. 710 p. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44324/pdf/Bookshelf_NBK44324.pdf (accessed date: 2024/02/02).
7. Руководство по международной статистической классификации болезней, травм и причин смерти. Классификация основана на рекомендациях Конференции по Девятому пересмотру (1975 г.) и принята Двадцать девятой Всемирной ассамблеей здравоохранения / Пер. с англ. Том 1. Женева, ВОЗ. М.: Медицина, 1980. 758 с.
8. Classification of Diseases, Functioning, and Disability. CDC. Center for Disease Control and Prevention. NCHS. National Center for Health Statistics. World Health Organization (WHO). 2021. https://www.cdc.gov/nchs/icd/index.htm (accessed date: 2024/01/25).
9. Jadad A.R., Enkin M.W. Randomized Controlled Trials. Questions, Answers, and Musings. 2nd edition. Malden, Oxford, Carlton: BMJ Books, 2007. 136 p.
10. Blettner M., Sauerbrei W., Schlehofer B., Scheuchenpflug T., Friedenreich C. Traditional Reviews, Meta-Analyses and Pooled Analyses in Epidemiology // Int. J. Epidemiol. 1999. V.28. No.1. P. 1–9. https://doi.org/10.1093/ije/28.1.1.
11. Boderie N.W., Sheikh A., Lo E., Sheikh A., Burdorf A., Van Lenthe F.J., et al. Public Support for Smoke-Free Policies in Outdoor Areas and (Semi-)Private Places: a Systematic Review and Meta-Analysis // EClinicalMedicine. 2023. V.59. Article 101982. 15 p. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101982.
12. Germain D. Exposure to and Perceptions of the Dangers and Illnesses of Passive Smoking among Victorians: 2004 // CBRC Research Paper Series No.17. Site 'Cancer Council Victoria'. https://www.cancervic.org.au/research/behavioural/research-papers/abstract_exposure_passive_smok.html (accessed date: 2024/02/02).
13. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С., Вайнсон А.А., Калинина М.В., Бирюков А.П. Сила связи. Сообщение 1. Градации относительного риска // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2019. Т.64. №4. С.5–17. https://doi.org/10.12737/article_5d1adb25725023.14868717.
14. Котеров А.Н. Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 3. Часть 1: первые пять критериев Хилла: использование и ограничения // Радиац. биология. Радиоэкология. 2021. Т.61. №3. С. 300–332. https://doi:10.31857/S0869803121030085.
15. Boffetta P., Jarvholm B., Brennan P., Nyren O. Incidence of Lung Cancer in a Large Cohort of Non-Smoking Men from Sweden // Int. J. Cancer. 2001. V.94. No.4. P.591–593. https://doi.org/10.1002/ijc.1507.
16. Wakelee H.A., Chang E.T., Gomez S.L., Keegan T.H., Feskanich D., Clarke C.A., et al. Lung Cancer Incidence in Never Smokers // J. Clin. Oncol. 2007. V.25. No.5. P.472–478. https://doi.org/10.1200/JCO.2006.07.2983.
17. СКС, болезни органов кровообращения, в любом возрасте, на 100000 населения. Всемирная организация здравоохранения. Европейский портал информации здравоохранения. Электронный ресурс: https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa_101-1320-sdr-diseases-of-circulatory-system-all-ages-per-100-000/#id=19024 (дата обращения 02.02.2024).
18. Umbrella Reviews: Evidence Synthesis with Overviews of Reviews and Meta-Epidemiologic Studies. Ed. by G. Biondi-Zoccai. 1st Edition. Springer International Publishing, Switzerland, 2016. 526 p.
19. Trinquart L, Dechartres A, Ravaud P. Commentary: Meta-Epidemiology, Meta-Meta-Epidemiology or Network Meta-Epidemiology? // Int. J. Epidemiol. 2013. V.42. No.4. P.1131–1133. https://doi.org/10.1093/ije/dyt137.
20. Sturmberg J.P. Evidence-Based Medicine – Not a Panacea for the Problems of a Complex Adaptive World // J. Eval. Clin. Pract. 2019. V.25. No.5. P.706–716. https://doi.org/10.1111/jep.13122.
21. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Вайнсон А.А. Работники ядерной индустрии – к вопросу об унификации русскоязычной терминологии (краткое сообщение) // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т.68. №3. С.80–84. https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-3-80-84.
22. ICRP Publication 118. ICRP Statement on Tissue Reactions and Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs – Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context. Annals of the ICRP. Ed. by C.H. Clement. Amsterdam – New York: Elsevier, 2012. 325 p.
23. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Калинина М.В., Бирюков А.П. Краткий обзор мировых исследований лучевых и нелучевых эффектов у работников ядерной индустрии. Медико-биологические проблемы жизнедеятельности (Гомель). 2020. №1. С.17–31. https://doi.org/10.33266/2070-1004-2021-3-34-41.
24. Котеров АН, Ушенкова ЛН, Калинина МВ, Бирюков АП. Сравнение риска смертности от солидных раков после радиационных инцидентов и профессионального облучения // Медицина катастроф. 2021. №3. С.34–41. https://doi.org/10.33266/2070-1004-2021-3-34-41.
25. Котеров А.Н., Туков А.Р., Ушенкова Л.Н., Калинина М.В., Бирюков А.П. Средняя накопленная доза облучения для работников мировой ядерной индустрии: малые дозы, малые эффекты. Сравнение с дозами для медицинских радиологов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2022. Т.62. №3. С.227–239.
26. Koterov A.N., Tukov A.R., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Average Accumulated Radiation Doses for Global Nuclear Workers: Low Doses, Low Effects, and Comparison with Doses For Medical Radiologists // Biology Bulletin. 2022. V.49. No.12. P.2475–2485. https://doi.org/10.1134/S106235902212007X.
27. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Дибиргаджиев И.Г., Вайнсон А.А., Калинина М.В., Бирюков А.П. Избыточный относительный риск катарактогенных нарушений хрусталика у работников ядерной индустрии: систематический обзор и мета-анализ // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т.68. №3. С.21–32. https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-3-21-32.
28. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Калинина М.В., Бирюков А.П. «Эффект здорового работника» по показателям общей смертности и смертности от злокачественных новообразований у персонала предприятий ядерной и химической индустрии: мета-анализ // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2023. Т.68. №4. С.43–50. https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-4-43-50.
29. IARC 2004. Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. Vol. 83. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks To Humans. France, Lyon, 2004. 1473 p.
30. Webb P, Bain C. Essential Epidemiology. An Introduction for Students and Health Professionals. 2nd Edition. Cambridge etc.: Cambridge University Press, 2011. 445 p.
31. Higgins J.P., Thompson S.G., Deeks J.J., Altman D.G. Measuring Inconsistency in Meta-Analyses // Brit. Med. J. 2003. V.327. No.7414. P.557–560. https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557.
32. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in Meta-Analysis Detected by a Simple, Graphical Test // Brit. Med. J. 1997. V.315. No.7109. P.629–34. https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629.
33. Sterne J.A.C., Egger M. Funnel Plots for Detecting Bias in Meta-Analysis: Guidelines on Choice of Axis // J. Clin. Epidemiol. 2001. V.54. No.10. P.1046–1055. https://doi.org/10.1016/s0895-4356(01)00377-8.
34. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов // Укр. биохим. журн. 1975. Т.47. №6. С.776–790.
35. Higgins J.P.T., Li T., Deeks J.J. Chapter 6: Choosing Effect Measures and Computing Estimates of Effect. 6.3 Extracting Estimates of Effect Directly. 6.3.1 Obtaining Standard Errors from Confidence Intervals and P Values: Absolute (Difference) Measures. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, 2nd Edition. Ed. by J.P.T. Higgins, T. James, J. Chandler, M. Cumpston, T. Li, M.J. Page, V.A. Welch. 2019. https://doi.org/10.1002/9781119536604. https://training.cochrane.org/handbook/current/chapter-06/ (accessed date: 2024/02/02).
36. Lv X., Sun J., Bi Y., Xu M., Lu J., Zhao L., Xu Y. Risk of All-Cause Mortality and Cardiovascular Disease Associated with Secondhand Smoke Exposure: a Systematic Review and Meta-Analysis // Int. J. Cardiol. 2015. V.199. P.106–115. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.07.011.
37. Boffetta P., Tredaniel J., Greco A. Risk of Childhood Cancer and Adult Lung Cancer after Childhood Exposure to Passive Smoke: a Meta-Analysis // Environ. Health Perspect. 2000. V.108. No.1. P.73–82. https://doi.org/10.1289/ehp.0010873.
38. Wang Y.T., Hu K.R., Zhao J., Ai F.L., Shi Y.L., Wang X.W. et al. The Association Between Exposure to Second-Hand Smoke and Disease in the Chinese population: a Systematic Review and Meta-Analysis // Biomed. Environ Sci. 2023. V.36. No.1. P.24–37. https://doi.org/10.3967/bes2023.003.
39. Kim A.S., Ko H.J., Kwon J.H., Lee J.M. Exposure to Secondhand Smoke and Risk of Cancer in Never Smokers: a Meta-Analysis of Epidemiologic Studies // Int. J. Environ. Res. Public. Health. 2018. V.15. No.9. Article E1981. 17 p. https://doi.org/10.3390/ijerph15091981.
40. Chuang S.C., Gallo V., Michaud D., Overvad K., Tjonneland A., Clavel-Chapelon F., et al. Exposure to Environmental Tobacco Smoke in Childhood and Incidence of Cancer in Adulthood in Never Smokers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition // Cancer Causes Control. 2011. V.22. No.3. P.487–494. https://doi.org/10.1007/s10552-010-9723-2.
41. Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T., Rothstein H.R. Introduction to Meta-Analysis. John Wiley & Sons, Ltd, 2009. 421 p.
42. LeVois M.E., Layard M.W. Publication Bias in The Environmental Tobacco Smoke/Coronary Heart Disease Epidemiologic Literature // Regul. Toxicol. Pharmacol. 1995. V.21. No.1. P.184–191. https://doi.org/10.1006/rtph.1995.1023.
43. Wing S., Richardson D.B. Age at Exposure to Ionising Radiation and Cancer Mortality among Hanford Workers: Follow up through 1994 // Occup. Environ. Med. 2005. V.62. No.7. P.465–472. https://doi.org/10.1136/oem.2005.019760.
44. Cardis E., Vrijheid M., Blettner M., Gilbert E., Hakama M., Hill C., et al. The 15-Country Collaborative Study of Cancer Risk among Radiation Workers in the Nuclear Industry: Estimates of Radiation-Related Cancer Risks // Radiat. Res. 2007. V.167. No.4. P.396–416. https://doi.org/10.1667/RR0553.1.
45. Wakeford R. Nuclear Worker Studies: Promise and Pitfalls // Br. J. Cancer. 2014. V.110. No.1. P.1–3. https://doi.org/10.1038/bjc.2013.713.
46. Daniels R.D., Bertke S.J., Richardson D.B., et al. Examining Temporal Effects on Cancer Risk in the International Nuclear Workers' Study // Int. J. Cancer. 2017. V.140. No.6. P.1260–1269. https://doi.org/10.1002/ijc.30544.
47. Richardson D.B., Cardis E., Daniels R.D., et al. Risk of Cancer from Occupational Exposure to Ionising Radiation: Retrospective Cohort Study of Workers in France, the United Kingdom, and the United States (INWORKS) // Br. Med. J. 2015. No.351. Article h5359. https://doi.org/10.1136/bmj.h5359.
48. Azizova T.V., Batistatou E., Grigorieva E.S., McNamee R., Wakeford R., Liu H., et al. An Assessment of Radiation-Associated Risks of Mortality from Circulatory Disease in the Cohorts of Mayak and Sellafield Nuclear Workers // Radiat. Res. 2018. V.189. No.4. P.371–388. https://doi.org/10.1667/RR14468.1.

49. McGeoghegan D., Binks K. The Mortality and Cancer Morbidity Experience of Employees at the Chapelcross Plant of British Nuclear Fuels plc, 1955–95 // J. Radiol. Prot. 2001. V.21. No.3. P.221–250. https://doi.org/10.1088/0952-4746/21/3/302.
50. Zablotska L.B., Lane R.S., Frost S.E. Mortality (1950–1999) and Cancer Incidence (1969–1999) of Workers in the Port Hope Cohort Study Exposed to a Unique Combination of Radium, Uranium and γ-Ray Doses // BMJ Open. 2013. V.3. No.2. Article e002159. 19 p. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-002159.
51. Vrijheid M., Cardis E., Ashmore P., Auvinen A., Bae JM., Engels H., et al. Mortality from Diseases other than Cancer Following Low Doses of Ionizing Radiation: Results from the 15-Country Study of Nuclear Industry Workers // Int. J. Epidemiol. 2007. V.36. No.5. P.1126–1135. https://doi.org/10.1093/ije/dym138.
52. Котеров А.Н. От очень малых до очень больших доз радиации: новые данные по установлению диапазонов и их экспериментально-эпидемиологические обоснования // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2013. Т.58. №2. С.5–21.
53. Котеров А.Н., Вайнсон А.А. Конъюнктурный подход к понятию о диапазоне малых доз радиации с низкой ЛПЭ в зарубежных обзорных источниках: нет изменений за 18 лет // Мед. радиол. и радиац. безопасность. 2022. Т.67. №5. С.33–40. https://doi.org/10.33266/1024-6177-2022-67-5-33-40.
54. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Вайнсон А.А., Дибиргаджиев И.Г., Бирюков А.П. Избыточный относительный риск смертности от болезней системы кровообращения после облучения. Сообщение 1. Обзор обзоров и мета-анализов, декларирующих эффекты малых доз // Радиац. биология. Радиоэкология. 2023. Т.63. №1. С.3–33. https://doi.org/10.31857/S0869803123010095.
55. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Wainson A.A., Dibirgadzhiev I.G., Biryukov A.P. Excess Relative Risk of Mortality from Diseases of the Circulation System after Irradiation: Report 1. Overview of Reviews and Meta-Analysis Declared Effects of Low Doses // Biology Bulletin. 2023. V.50. No.12. P.3155–3183. https://doi.org/10.1134/S1062359023120142.
56. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G. (PRISMA Group). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: the PRISMA Statement // PLoS Med. 2009. V.6. No.7. Article e1000097. 6 p. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097.
57. Омельяновский В.В., Авксентьева М.В., Сура М.В., Хачатрян Г.Р., Федяева В.К. Методические рекомендации по проведению мета-анализа. М.: ФГБУ ЦЭККМП Минздрава России, 2017. 28 с.

REFERENCES

1. Smith G.D., Egger M. The First Reports on Smoking and Lung Cancer: Why are they Consistently Ignored? Bull. World Health Organ. 2005;83;10:799–800.
2. Bachinger E., McKee M. Tobacco Policies in Austria during the Third Reich. Int. J. Tuberc. Lung Dis. 2007;11;9:1033–1037.
3. Brawley OW, Glynn TJ, Khuri FR, et al. The First Surgeon General's Report on Smoking and Health: the 50th Anniversary. CA Cancer J. Clin. 2014;64;1:5–8. https://doi.org/10.3322/caac.21210.
4. Koterov A.N. Causal Criteria in Medical and Biological Disciplines: History, Essence and Radiation Aspect. Report 2. Henle-Koch Postulates and Criteria for Causality of Non-Communicable Pathologies before Hill. *Radiats. Biol. Radioecol.* = Radiation Biology. Radioecology. 2019;59;4:341–75 (In Russ.). https://doi.org/10.1134/S0869803119040052.
5. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Involuntary Smoking. A Report of the Surgeon General. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control, Center for Health Promotion and Education, Office on Smoking and Health, DHHS Publication No. (CDC) 87-8398. USDHEW, 1986. 359 p. https://stacks.cdc.gov/view/cdc/20799 (accessed date: 2024/02/02).
6. U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Coordinating Center for Health Promotion, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health. Washington, DC, 2006. 710 p. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK44324/pdf/Bookshelf_NBK44324.pdf (accessed date: 2024/02/02).
7. Manual of the International Statistical Classification of Diseases, Injuries, and Causes of Death: Based on the Recommendations of the Ninth Revision Conference, 1975, and Adopted by the Twenty-ninth World Health Assembly, 1975 revision. Volume I. World Health Organization: Geneva, 1980. 758 p.
8. Classification of Diseases, Functioning, and Disability. CDC. Center for Disease Control and Prevention. NCHS. National Center for Health Statistics. World Health Organization (WHO). 2021. https://www.cdc.gov/nchs/icd/index.htm (accessed date: 2024/01/25).
9. Jadad A.R., Enkin M.W. Randomized Controlled Trials. Questions, Answers, and Musings. 2nd edition. Malden, Oxford, Carlton: BMJ Books, 2007. 136 p.
10. Blettner M., Sauerbrei W., Schlehofer B., Scheuchenpflug T., Friedenreich C. Traditional Reviews, Meta-Analyses and Pooled Analyses in Epidemiology. Int. J. Epidemiol. 1999;28;1:1–9. https://doi.org/10.1093/ije/28.1.1.
11. Boderie N.W., Sheikh A., Lo E., Sheikh A., Burdorf A., Van Lenthe F.J., et al. Public Support for Smoke-Free Policies in Outdoor Areas and (Semi-) Private Places: a Systematic Review and Meta-Analysis. EClinicalMedicine. 2023;59;Article101982:15p. https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.101982.
12. Germain D. Exposure to and Perceptions of the Dangers and Illnesses of Passive Smoking among Victorians: 2004.CBRC Research Paper Series No.17. Site 'Cancer Council Victoria'. https://www.cancervic.org.au/research/behavioural/research-papers/abstract_exposure_passive_smok.html (accessed date: 2024/02/02).
13. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S., Waynson A.A., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Strength of Association. Report 1. Graduation of Relative Risk. *Medits. Radiologiya Radiat. Bezopasnost* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2019;64(4):5–17 (In Russ.). https://doi.org/10.12737/article_5d1adb25725023.14868717.
14. Koterov A.N. Causal Criteria In Medical And Biological Disciplines: History, Essence And Radiation Aspect. Report 3, Part 1: First Five Hill's Criteria: Use and Limitations. *Radiats. Biol. Radioecol.* = Radiation Biology. Radioecology. 2021;61(3):300–32 (In Russ.) https://doi:10.31857/S0869803121030085.
15. Boffetta P., Jarvholm B., Brennan P., Nyren O. Incidence of Lung Cancer in a Large Cohort of Non-Smoking Men from Sweden. Int. J. Cancer. 2001;94;4:591–593. https://doi.org/10.1002/ijc.1507.
16. Wakelee H.A., Chang E.T., Gomez S.L., Keegan T.H., Feskanich D., Clarke C.A., et al. Lung Cancer Incidence in Never Smokers. J. Clin. Oncol. 2007;25;5:472–478. https://doi.org/10.1200/JCO.2006.07.2983.
17. SDR, Diseases of Circulatory System, All Ages, per 100,000. World Health Organization. European Health Information Gateway. URL: https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa_101-1320-sdr-diseases-of-circulatory-system-all-ages-per-100-000/#id=19024 (accessed date: 2024/02/02).
18. Umbrella Reviews: Evidence Synthesis with Overviews of Reviews and Meta-Epidemiologic Studies. Ed. by G. Biondi-Zoccai. 1st Edition. Springer International Publishing, Switzerland, 2016. 526 p.
19. Trinquart L, Dechartres A, Ravaud P. Commentary: Meta-Epidemiology, Meta-Meta-Epidemiology or Network Meta-Epidemiology? Int. J. Epidemiol. 2013;42;4:1131–1133. https://doi.org/10.1093/ije/dyt137.
20. Sturmberg J.P. Evidence-Based Medicine – Not a Panacea for the Problems of a Complex Adaptive World. J. Eval. Clin. Pract. 2019;25;5:706–716. https://doi.org/10.1111/jep.13122.
21. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Waynson A.A. Nuclear Workers — on the Question of Unification of Russian-Language Terminology (Brief Report). *Medits. Radiologiya i Radiat.* Bezopasnost = Medical Radiology and Radiation Safety. 2023;68;3:80–84 (In Russ.) https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-3-80-84.
22. ICRP Publication 118. ICRP Statement on Tissue Reactions and Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs – Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context. Annals of the ICRP. Ed. by C.H. Clement. Amsterdam – New York: Elsevier, 2012. 325 p.
23. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Brief Review of World Researches of Radiation and Non-Radiation Effects in Nuclear Industry Workers. *Mediko-biologicheskiye Problemy Zhiznedeyatel'nosti* = Medical and Biological Problems of Life Activity (Gomel). 2020;1:17–31 (In Russ.). https://doi.org/10.33266/2070-1004-2021-3-34-41.
24. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Comparison of the Risk of Mortality from Solid Cancers after Radiation Incidents and Occupational Exposures. *Meditsina Katastrof* = Disaster Medicine. 2021;3:34–41 (In Russ.). https://doi.org/10.33266/2070-1004-2021-3-34-41.
25. Koterov A.N., Tukov A.R., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Average Accumulated Radiation Doses for World Nuclear Workers: Low Doses, Low Effects. Comparison with Doses for Medical Radiologists. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya* = Radiation biology. Radioecology. 2022;62;3:227–239. (In Russ.). https://doi.org/10.31857/S0869803122030043.
26. Koterov A.N., Tukov A.R., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Average Accumulated Radiation Doses for Global Nuclear Workers: Low Doses, Low Effects, and Comparison with Doses For Medical Radiologists. Biology Bulletin. 2022;49;12:2475–2485. https://doi.org/10.1134/S106235902212007X.
27. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Dibirgadzhiev I.G., Waynson A.A., Kalinina M.V., Biryukov A.P. Excess Relative Risk of Cataractogenic Lense Disorders in Nuclear Workers: Systematic Review and Meta-Analysis. *Medits. Radiologiya i Radiat. Bezopasnost* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2023;68;3:21–32 (In Russ.). https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-3-21-32.
28. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Kalinina M.V., Biryukov A.P. The 'Healthy Worker Effect' on Indexes of Total Mortality and Malignant Neoplasms Mortality for Nuclear and Chemical Workers: Meta-Analysis. *Medits. Radiologiya i Radiat. Bezopasnost* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2023;68;4:43–50 (In Russ.). https://doi.org/10.33266/1024-6177-2023-68-4-43-50.
29. IARC 2004. Tobacco Smoke and Involuntary Smoking. Vol. 83. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. France, Lyon, 2004. 1473 p.
30. Webb P, Bain C. Essential Epidemiology. An Introduction for Students and Health Professionals. 2nd Edition. Cambridge etc.: Cambridge University Press, 2011. 445 p.
31. Higgins J.P., Thompson S.G., Deeks J.J., Altman D.G. Measuring Inconsistency in Meta-Analyses. Brit. Med. J. 2003;327;7414:557–560. https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557.
32. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in Meta-Analysis Detected by a Simple, Graphical Test. Brit. Med. J. 1997;315;7109:629–34. https://doi.org/10.1136/bmj.315.7109.629.
33. Sterne J.A.C., Egger M. Funnel Plots for Detecting Bias in Meta-Analysis: Guidelines on Choice of Axis. J. Clin. Epidemiol. 2001;54;10:1046–1055. https://doi.org/10.1016/s0895-4356(01)00377-8.
34. Kokunin V.A. Statistical Processing of Data from a Small Number of Experiments. *Ukr. Biokhim. Zh.* = Ukrainian Journal of Biochemistry. 1975;47;6:776–791 (In Russ.).
35. Higgins J.P.T., Li T., Deeks J.J. Chapter 6: Choosing Effect Measures and Computing Estimates of Effect. 6.3 Extracting Estimates of Effect Directly. 6.3.1 Obtaining Standard Errors from Confidence Intervals and P Values: Absolute (Difference) Measures. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions, 2nd Edition. Ed. by J.P.T. Higgins, T. James, J. Chandler, M. Cumpston, T. Li, M.J. Page, V.A. Welch. 2019. https://doi.org/10.1002/9781119536604. https://training.cochrane.org/handbook/current/chapter-06/ (accessed date: 2024/02/02).
36. Lv X., Sun J., Bi Y., Xu M., Lu J., Zhao L., Xu Y. Risk of All-Cause Mortality and Cardiovascular Disease Associated with Secondhand Smoke Exposure: a Systematic Review and Meta-Analysis. Int. J. Cardiol. 2015;199:106–115. https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.07.011.
37. Boffetta P., Tredaniel J., Greco A. Risk of Childhood Cancer and Adult Lung Cancer after Childhood Exposure to Passive Smoke: a Meta-Analysis. Environ. Health Perspect. 2000;108;1:73–82. https://doi.org/10.1289/ehp.0010873.
38. Wang Y.T., Hu K.R., Zhao J., Ai F.L., Shi Y.L., Wang X.W., et al. The Association Between Exposure to Second-Hand Smoke and Disease in the Chinese population: a Systematic Review and Meta-Analysis. Biomed. Environ Sci. 2023;36;1:24–37. https://doi.org/10.3967/bes2023.003.

39. Kim A.S., Ko H.J., Kwon J.H., Lee J.M. Exposure to Secondhand Smoke and Risk of Cancer in Never Smokers: a Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. Int. J. Environ. Res. Public. Health. 2018;15;9;Article E1981:17 p. https://doi.org/10.3390/ijerph15091981.
40. Chuang S.C., Gallo V., Michaud D., Overvad K., Tjonneland A., Clavel-Chapelon F., et al. Exposure to Environmental Tobacco Smoke in Childhood and Incidence of Cancer in Adulthood in Never Smokers in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Cancer Causes Control. 2011;22;3:487–494. https://doi.org/10.1007/s10552-010-9723-2.
41. Borenstein M., Hedges L.V., Higgins J.P.T., Rothstein H.R. Introduction to Meta-Analysis. John Wiley & Sons, Ltd, 2009. 421 p.
42. LeVois M.E., Layard M.W. Publication Bias in The Environmental Tobacco Smoke/Coronary Heart Disease Epidemiologic Literature. Regul. Toxicol. Pharmacol. 1995;21;1:184–191. https://doi.org/10.1006/rtph.1995.1023.
43. Wing S., Richardson D.B. Age at Exposure to Ionising Radiation and Cancer Mortality among Hanford Workers: Follow up through 1994. Occup. Environ. Med. 2005;62;7:465–472. https://doi.org/10.1136/oem.2005.019760.
44. Cardis E., Vrijheid M., Blettner M., Gilbert E., Hakama M., Hill C., et al. The 15-Country Collaborative Study of Cancer Risk among Radiation Workers in the Nuclear Industry: Estimates of Radiation-Related Cancer Risks. Radiat. Res. 2007;167;4:396–416. https://doi.org/10.1667/RR0553.1.
45. Wakeford R. Nuclear Worker Studies: Promise and Pitfalls. Br. J. Cancer. 2014;110;1:1–3. https://doi.org/10.1038/bjc.2013.713.
46. Daniels R.D., Bertke S.J., Richardson D.B., et al. Examining Temporal Effects on Cancer Risk in the International Nuclear Workers' Study. Int. J. Cancer. 2017;140;6:1260–1269. https://doi.org/10.1002/ijc.30544.
47. Richardson D.B., Cardis E., Daniels R.D., et al. Risk of Cancer from Occupational Exposure to Ionising Radiation: Retrospective Cohort Study of Workers in France, the United Kingdom, and the United States (INWORKS). Br. Med. J. 2015;351;Articleh5359. https://doi.org/10.1136/bmj.h5359.
48. Azizova T.V., Batistatou E., Grigorieva E.S., McNamee R., Wakeford R., Liu H., et al. An Assessment of Radiation-Associated Risks of Mortality from Circulatory Disease in the Cohorts of Mayak and Sellafield Nuclear Workers. Radiat. Res. 2018;189;4:371–388. https://doi.org/10.1667/RR14468.1.
49. McGeoghegan D., Binks K. The Mortality and Cancer Morbidity Experience of Employees at the Chapelcross Plant of British Nuclear Fuels plc, 1955–95. J. Radiol. Prot. 2001;21;3:221–250. https://doi.org/10.1088/0952-4746/21/3/302.
50. Zablotska L.B., Lane R.S., Frost S.E. Mortality (1950–1999) and Cancer Incidence (1969–1999) of Workers in the Port Hope Cohort Study Exposed to a Unique Combination of Radium, Uranium and γ-Ray Doses. BMJ Open. 2013;3;2;Article e002159:19p. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-002159.
51. Vrijheid M., Cardis E., Ashmore P., Auvinen A., Bae JM., Engels H., et al. Mortality from Diseases other than Cancer Following Low Doses of Ionizing Radiation: Results from the 15-Country Study of Nuclear Industry Workers. Int. J. Epidemiol. 2007;36;5:1126–1135. https://doi.org/10.1093/ije/dym138.
52. Koterov A.N. From Very Low to Very Large Doses of Radiation: New Data on Ranges Definitions and its Experimental and Epidemiological Basing. *Medits. Radiologiya i Radiat. Bezopasnost* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2013;58;2:5–21 (In Russ.).
53. Koterov AN, Waynson AA. Conjunctural Approach to the Concept of Low Dose Radiation Range with Low Let in Foreign Review Sources: No Changes for 18 Years. *Medits. Radiologiya i Radiat. Bezopasnost* = Medical Radiology and Radiation Safety. 2022;67;5:33–40. (In Russ.). https://doi.org/10.33266/1024-6177-2022-67-5-33-40.
54. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Waynson A.A., Dibirgadzhiev I.G., Biryukov A.P. Excess Relative Risk of Mortality from Disease of the Circulation System after Irradiation. Report 1. Overview of Reviews and Meta-Analysis Declared Effects of Low Doses. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya* = Radiation Biology. Radioecology. 2022;63;1:3–33 (In Russ.). https://doi.org/10.31857/S0869803123010095.
55. Koterov A.N., Ushenkova L.N., Waynson A.A., Dibirgadzhiev I.G., Biryukov A.P. Excess Relative Risk of Mortality from Diseases of the Circulation System after Irradiation: Report 1. Overview of Reviews and Meta-Analysis Declared Effects of Low Doses. Biology Bulletin. 2023;50;12:3155–3183. https://doi.org/10.1134/S1062359023120142.
56. Moher D., Liberati A., Tetzlaff J., Altman D.G. (PRISMA Group). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: the PRISMA Statement. PLoS Med. 2009;6;7;Article e1000097:6p. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097.
57. Omel'yanovskiy V.V., Avksentyeva M.V., Sura M.V., Khachatryan G.R., Fedyaeva V.K. Guidelines for Conducting a Meta-Analysis. Moscow Publ., 2017. 28 p. (In Russ.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-68-71

М.В. Черных, Т.А. Крылова

МЕТОДОЛОГИЯ КЛИНИЧЕСКИХ АУДИТОВ ОТДЕЛЕНИЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В РФ НА ОСНОВЕ ПРИНЦИПОВ АУДИТА МАГАТЭ QUATRO

НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва

Контактное лицо: Татьяна Алексеевна Крылова, e-mail: tanya_mifi@list.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Описать принципы, задачи и алгоритм всестороннего клинического аудита в радиотерапевтических отделениях лечебных учреждений Российской Федерации (РФ). В качестве образца использована методология проведения аудитов Международным агентством по атомной энергетике (МАГАТЭ), адаптированная к условиям РФ.

Глобальная цель проекта аудитов заключается в стандартизации и гармонизации процедур по обеспечению безопасности и контролю качества лечения онкологических больных в различных учреждениях, возможности сопоставления результатов лучевой терапии (ЛТ) среди участвующих учреждений, проведения межклинических исследований и, возможно, создания единого регистра данных.

Материал и методы: Одним из главных аспектов клинических аудитов является унификация стандартов между разными отделениями. Клинический аудит в ЛТ может стать важным инструментом межклинической программы гарантии качества (ГК), эффективности и безопасности ЛТ, а также синхронизации протоколов лечения. Аудит позволяет провести углубленный анализ процедур и процессов, регулирующих лечение пациентов в конкретной клинике. Подобные клинические аудиты охватывают всю цепочку лечения пациентов, организацию структурных подразделений, клинические, физические и технические аспекты, лежащие в основе радиотерапевтического отделения. Данный аудит представляет собой процесс экспертной оценки, проводимый аудиторской группой, состоящей из радиационного онколога (РО), медицинского физика (МФ) и радиационного технолога (РТ), известен как QUATRO и расшифровывается как Группа обеспечения качества в радиационной онкологии.

Инструменты проведения аудита включают:

1. Интервьюирование сотрудников.
2. Изучение структуры всего отделения.
3. Анализ и оценка процедур и всей соответствующей документации, включая анализ лучевых карт.
4. Проведение независимых измерений поглощенных доз и другие методы контроля процедур обеспечения ГК и функционирования локальных систем, там, где это уместно и целесообразно.
5. Наблюдение за практическим выполнением рабочих процедур.

Результаты: Для проведения клинических аудитов было принято решение использовать методику МАГАТЭ QUATRO и адаптировать их под специфику ЛТ в РФ. Одним из плюсов подобного клинического аудита является то, что формализм и алгоритм проведения аудитов одинаковы для всех отделений ЛТ, что позволяет сопоставлять и анализировать результаты. Для получения структурированной информации разработан подробный протокол прохождения аудита, представляющий собой анкету. Вопросы в анкете позволяют оценить ключевые аспекты процесса ЛТ, которые влияют на клинические результаты и эффективность лечения.

Ключевые слова: *лучевая терапия, аудит, гарантия качества, протокол, стандарты качества*

Для цитирования: Черных М.В., Крылова Т.А. Методология клинических аудитов отделений лучевой терапии в РФ на основе принципов аудита МАГАТЭ QUATRO // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 68–71. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-68-71

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-68-71

M.V. Chernykh, T.A. Krylova

Clinical Audits Methodology of the Radiotherapy Departments in Russian Federation Based on IAEA Audits Principles

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

Contact person: T.A. Krylova, e-mail: tanya_mifi@list.ru

ABSTRACT

Purpose: To describe the essence, tasks and algorithm of comprehensive audit in radiotherapy departments of medical institutions in Rus sian Federation. The methodology of audits conducted by the International Atomic Energy Agency (IAEA) and adapted for its further application, was used as a model. The global goal of the audit project is to standardize and harmonize procedures to ensure safety and quality control of treatment of cancer patients in different institutions, to enable comparison of radiation therapy results among participating institutions, to conduct interclinical studies and, possibly, to create a unified data register.

Material and methods: One of the main aspects of clinical audits is the harmonization of standards between different departments. Clinical audits in radiotherapy can be an important tool for interclinical quality assurance (QA) program, effectiveness and safety of radiotherapy, and treatment protocols synchronization. Audits allow an in-depth analysis of the procedures and processes governing patient care in a particular clinic. Such clinical audits cover the whole chain of patients care, the organization of structural units, the infrastructure, clinical, physics and technical aspects underlying the radiotherapy department. This audit is a peer review process conducted by an audit team consisting of a radiation oncologist (RO), medical physicist (MP) and radiation technologist (RTT) and is known as QUATRO and stands for Quality Assurance Team in Radiation Oncology).

Possible audit tools include:

1. Saff interviewing.
2. Examination of the structure of the entire department.
3. Review and evaluation of procedures and all relevant documentation, including analysis of patient charts.
4. Conducting independent measurements of absorbed doses and other methods of local procedures monitoring, where relevant and appropriate.
5. Observation of the practical implementation of operating procedures.

Results: It was decided to use the IAEA QUATRO methodology for clinical audits and to adapt it to the specifics of radiotherapy in Russian Federation. One of the advantages of such a clinical audit is that the formalism and algorithm of this approach will be identically applied in all departments, which will allow comparing and analyzing the results. In order to obtain structured information, a detailed research protocol, which is a questionnaire, has been developed. The questions in the questionnaire allow to assess key aspects of the radiotherapy process that affect clinical outcomes and treatment efficiency.

Keywords*: radiation therapy, audit, quality assurance, protocol, quality standards*

For citation: Chernykh MV, Krylova TA. Clinical Audits Methodology of the Radiotherapy Departments in Russian Federation Based on IAEA Audits Principles. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):68–71. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-68-71

Введение

По оценке ВОЗ, более 50 % всех онкологических больных нуждаются в лучевой терапии (ЛТ) в течение всего периода протекания онкологического заболевания. Для обеспечения качественного лучевого лечения необходимо стремиться к высоким стандартам радиотерапевтической практики на всех этапах ведения пациента с использованием наиболее подходящей техники, методик, протоколов и множества других составляющих ЛТ.

В последние десятилетия эффективность ЛТ значительно возросла благодаря появлению все более точных технологий подведения предписанной дозы, таких как ЛТ с модуляцией интенсивности. Усложнение техники и технологий, позволяющих минимизировать дозовую нагрузку на здоровые ткани и точно подводить предписанную дозу к опухоли, привело к тому, что без организации системы гарантии качества (ГК) в радиотерапевтическом отделении невозможно проведение эффективной ЛТ. Каждый этап радиотерапевтического процесса стал более многогранным, требующим строгого внимания к деталям для обеспечения безопасного подведения к мишени высоких доз радиации.

Для обеспечения качества ЛТ необходимо тщательно и систематически контролировать процесс, проводя регулярные проверки, оценку и анализ результатов. Однако внедрение мер контроля качества не всегда успевает за значительным технологическим прогрессом, достигнутым в последние годы. Именно поэтому разработка единого алгоритма проведения аудитов актуальна и значительно ускорит процесс стандартизации и синхронизации данных радиологических отделений различных клиник, а также позволит проводить межклинические исследования.

Согласно определению МАГАТЭ: «Аудит включает оценку способности учреждения поддерживать технологию ЛТ на уровне, соответствующем передовой клинической практике в конкретных экономических условиях» [1], общей целью аудитов является достижение постоянного улучшения качества путем осуществления корректирующих действий на основе рекомендаций, полученных в результате аудита. Более того, в здравоохранении повышение качества обязательно должно сопровождаться мерами по повышению безопасности. Поэтому клинические аудиты также играют важную роль в выявлении областей риска и продвижении профилактических мер по предотвращению инцидентов.

Для конкретного отделения целями прохождения аудита являются [3]:

– Получение помощи в совершенствовании клинической практики.
– Заполнение пробелов в программе ГК.
– Получение рекомендаций по дальнейшему развитию.

Целью настоящей работы является описание задач и состава всестороннего аудита для оценки качества структуры и процессов в ЛТ, адаптация методологии МАГАТЭ под дальнейшее её применение в радиотерапевтических отделениях медицинских организаций РФ. Глобальная цель проекта заключается в стандартизации и гармонизации процедур по обеспечению безопасности и контролю качества лечения онкологических больных в различных учреждениях, возможности сопоставления результатов ЛТ среди участвующих учреждений, проведения межклинических исследований и, возможно, создания единого регистра данных.

Материал и методы

Клинический аудит часто описывается диаграммой, подобно приведенной ниже (рис. 1). Ключевые компоненты клинического аудита цикла или спирали являются следующие:

1. Выбор раздела для проведения аудита.
2. Установление критериев и стандартов передовой клинической практики.
3. Наблюдение и сравнение рассматриваемой практики с этими критериями и стандартами.
4. Внедрение изменений, где это необходимо, чтобы эти критерии и стандарты были соблюдены или улучшены.
5. Дальнейший мониторинг для обеспечения поддержания стандартов передовой практики.

Последующие круги цикла отражают процесс улучшения качества, при установке более высоких передовых стандартов или новых критериев.

МАГАТЭ уже давно оказывает помощь в обучении и поддержке специалистов в области ЛТ, а также в создании рекомендаций в области радиотерапевтической практики. В 2007 г. МАГАТЭ опубликовало документ под названием «Комплексные аудиты радиотерапевтической практики: Инструмент для улучшения качества» [1], в котором предложена методология проведения комплексных клинических аудитов в радиотерапии, а в 2022 г. выпустило вторую его версию. Подобные клинические аудиты охватывают всю цепочку, оценивают инфраструктуру подразделения, клинические, физические и технические аспекты, лежащие в основе работы радиотерапевтического комплекса.

Аудит МАГАТЭ представляет собой процесс экспертной оценки, проводимый аудиторской группой, состоящей из радиационного онколога (РО), медицинского физика (МФ) и радиационного технолога (РТ) и известен как QUATRO или Группа обеспечения качества в радиационной онкологии. МАГАТЭ был проведен аудит

Рис. 1. Цикл процессов
для улучшения качества клинической практики
Fig. 1. The cycle of processes for improving the quality of clinical practice

в более чем 90 отделениях ЛТ по всему миру, а некоторые страны организовали собственные аудиты на его основе и на законодательном уровне присвоили им статус обязательных.

Разные клиники и отделения ЛТ имеют разный уровень оснащенности, кадрового обеспечения и загруженности, поэтому не всегда представляется возможным сравнивать их друг с другом по определенным критериям. И в целом, нельзя негативно оценивать уровень ЛТ из-за отсутствия тех или иных аппаратов или технологий. Один из главных критериев оценки — обоснованность тех или иных действий с учетом имеющихся обстоятельств, а также адекватность задач отделения ЛТ в контексте национальной онкологической помощи и степени достаточности имеющейся инфраструктуры для решения этих задач.

Задачи и инструменты проведения аудита включают в себя:

1. Интервьюирование сотрудников.
2. Изучение структуры всего отделения.
3. Анализ и оценка процедур и всей соответствующей документации, включая анализ лучевых карт.
4. Проведение независимых измерений поглощенных доз и другие методы контроля процедур обеспечения гарантии качества и функционирования локальных систем там, где это уместно и целесообразно.
5. Наблюдение за практическим выполнением рабочих процедур.

Для тех этапов процесса лечения, где требуются согласованные действия врачей, медицинских физиков и рентгенолаборантов, аудит следует проводить в составе всей группы аудита.

Результаты и обсуждение

В РФ аудиты в ЛТ на данный момент не являются обязательными, однако сотрудниками ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина накоплен определенный опыт проведения аудитов в ходе многочисленных визитов в региональные онкологические диспансеры.

Большинство рекомендаций аудитов, как правило, касаются оптимизации клинического процесса, поскольку одной из основных целей клинических аудитов является оценка реальной клинической картины как результата работы отделения ЛТ. С точки зрения техники и технологий, аудиты позволяют выявлять необходимость замены или обновления оборудования. Рекомендации по организационным вопросам касаются отсутствия четких организационных схем, формализующих иерархическую структуру отделения ЛТ и обязанности персонала. Значительное количество аудитов выявляет отсутствие систематизации наблюдения за пациентами после проведения ЛТ. Последующее наблюдение за острой и поздней токсичностью и клиническое воздействие методов ЛТ являются важными элементами гарантии качества. Рекомендации, касающиеся персонала, в первую очередь, направлены на средний медицинский персонал, рентгенолаборантов или процедурных медсестер. К сожалению, в основном это связано с отсутствием специальных программ обучения для медсестер, работающих в области ЛТ.

Для проведения клинических аудитов было принято решение использовать методику МАГАТЭ QUATRO и адаптировать ее к условиям работы отделений ЛТ в РФ. Одним из плюсов подобного клинического аудита является то, что алгоритм его проведения будет идентичен во всех отделениях, что позволит сравнивать и анализировать результаты.

Для получения структурированной информации об отделениях нами был разработан подробный единый протокол, представляющий собой анкету. Вопросы в анкете позволяют оценить ключевые аспекты процесса ЛТ, которые влияют на клинические результаты и эффективность лечения. Имеют место следующие основные разделы анкеты:

- данные о сотрудниках отделения;
- распределение обязанностей;
- данные о пациентах;
- протоколы оконтуривания;
- протоколы лечения;
- топометрическая подготовка;
- использование устройств иммобилизации;
- оборудование для ДЛТ, используемые технологии;
- дозиметрическое оборудование;
- протоколы периодических проверок и верификаций дозиметрических планов;
- организация работы на аппарате для ДЛТ;
- брахитерапия;
- документооборот, отчетность о проведенном лечении;
- действия в случае спорных ситуаций или обнаруженных ошибок.

Каждый аудит должен завершаться составлением подробного отчета с описанием собранных данных и наблюдений, сделанных в процессе аудита, а также включать набор рекомендаций или предложений [2]. Эти отчеты в дальнейшем направляются на рассмотрение в департамент. В дальнейшем предполагается создание анонимного отчета, обобщающего результаты аудитов в радиологических отделениях клиник РФ.

Предлагаемая структура отчета включает следующие пункты:

1. Краткое описание деятельности групп аудита.
2. Описание инфраструктуры, рабочей нагрузки подразделения.
3. Полученные сведения и результаты визита, включая контрольные списки проверок.
4. Замечания, рекомендации.
5. Выводы.

Все рекомендации из индивидуальных аудиторских отчетов собираются в электронном виде в базе данных и распределяются по четырём основным разделам, относящимся соответственно к; (1) кадровому обеспечению, (2) инфраструктуре, (3) процессу ЛТ, (4) организационным вопросам. Используя такую классификацию, мож-

но упорядочить и получить представление о процентном соотношении конкретных рекомендаций.

Рекомендации, касающиеся инфраструктуры, могут содержать информацию о структурных особенностях учреждения, планировке отделения, логистике и доступности необходимых помещений, технике и парке оборудования. Что касается технологического оснащения, инфраструктуры и процедур, то группа аудита может выделить два уровня проблем:

1) Легко разрешимые проблемы. Здесь могут требоваться незначительные изменения, которые легко реализовать, либо крупные изменения, требующие модификации инфраструктуры, но реализуемые. Такие проблемы включаются в детальные рекомендации группы аудита.
2) Крупные проблемы, которые не могут быть разрешены отделением ЛТ без значительных организационных преобразований в регионе или без значительных дополнительных ресурсов. Для решения таких проблем может потребоваться помощь руководящих структур. В этом случае в отчет включаются соответствующие рекомендации.

Рекомендации по организации работы отделений, связанные с обеспечением и оптимизацией лечебного процесса, политикой безопасности онкологических больных, документооборотом и систематизацией отдаленных наблюдений, а также рекомендации, касающиеся персонала, необходимо фокусировать на выполняемых обязанностях, обучении и профессиональной подготовке специалистов, коммуникации внутри каждой из профессиональных групп и между ними.

Одновременно с организацией региональных аудитов необходимо проводить методическую работу с персоналом проверяемых департаментов. В этой связи для оценки пользы и эффективности аудитов предлагается высылать персонализированный опросник, в котором руководителю радиотерапевтического отделения и сотрудникам будет предложено:

- оценить пользу от аудита вообще;
- оценить актуальность аудита;
- фактический ответ на каждую рекомендацию, адресованную отделению.

Респондентам предлагается выставить оценки по 5-балльной порядковой шкале, допускающей ответы от «не полезно/не актуально/нет влияния до «первостепенной полезности/первостепенной значимости/первостепенного воздействия». Заполненные анкеты будут проанализированы для составления заключения о корреляции между типом рекомендаций и последующей возможностью их выполнения.

Заключение и выводы

Конечной целью аудита является повышение качества ЛТ онкологических больных в клиниках путем стандартизации и унификации, а также оценка текущей ситуации в радиологических отделениях. Для реализации подобной программы в ряде региональных центров РФ была адаптирована методология аудита МАГАТЭ QUATRO.

В ходе всестороннего аудита выполняется анализ и оценка качества всех элементов, входящих в систему ЛТ, включая персонал, оборудование и процедуры, защиту и безопасность пациентов, общие показатели работы отделения, а также взаимодействие с внешними сервисными службами. Выявляются возможные пробелы в вопросах технологии, персонала и процедур, с тем чтобы соответствующие лечебные учреждения могли документально обосновать области, требующие улучшения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Всесторонние аудиты практики лучевой терапии: средство для повышения качества. Вена, Международное агентство по атомной энергии, 2008. [Comprehensive Audits of Radiotherapy Practice: a Tool for Improving Quality. Vienna, International Atomic Energy Agency Publ., 2008 (In Russ.)].
2. Vaandering Aude, Lievens Yolande, Scalliet Pierre. Feasibility and Impact of National Peer Reviewed Clinical Audits in Radiotherapy Departments. Radiotherapy and Oncology. 2020;144: 218–223.
3. On-Site Visits to Radiotherapy Centres: Medical Physics Procedures. IAEA-TECDOC-1543. 2007; March.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-72-76

О.Д. Брагина[1, 2], М.Е. Бородина[4], В.И. Чернов[1, 2], С.М. Деев[2, 3], М.А. Вострикова[1], А.А. Романова[1]

ОЦЕНКА ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА $^{99m}Tc(CO)_3$-$(HE)_3$-DARPinG3 У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

[1] Научно-исследовательский институт онкологии,
Томский национальный исследовательский медицинский центр (НМИЦ) РАН, Томск
[2] Научно-исследовательский центр «Онкотераностика»,
Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск
[3] Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва
[4] Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена
Минздрава России, Москва

Контактное лицо: Ольга Дмитриевна Брагина, e-mail: bragina_od@mail.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Изучение острой токсичности радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3 у больных раком молочной железы.
Материал и методы: В исследование было включено 10 больных раком молочной железы ($T_{1-4}N_{0-2}M_0$) с различной экспрессией HER2/neu до начала системного/хирургического лечения, которым было введенот по 1000 мкг протеина DARPinG3, меченного технецием-99m ([^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3). На всем протяжении исследования (48 ч) больные находились под наблюдением медицинского персонала, в течение которого проводилась оценка жалоб, измерение частоты сердечных сокращений (ЧСС), артериального давления (АД) и температуры тела до введения препарата, а также через 2, 4, 6, 24 и 48 ч после инъекции. Дополнительно выполнялись лабораторные исследования в объеме общего и биохимического анализов крови и общего анализа мочи до введения исследуемого соединения, через 48 ч и 7 сут.
Результаты: Наличие жалоб, а также выявление побочных реакций у включенных в исследование больных раком молочной железы на момент введения препарата [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3, а также через 2, 4, 6, 24, 48 ч и 7 сут после инъекции выявлено не было. Измерения ЧСС, температуры тела, а также АД также не показали патологических отклонений. По данным общего и биохимического анализа крови, общего анализа мочи и результатов ЭКГ через 2, 4, 6, 24 и 48 ч, а также 7 сут после введения препарата [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3 отклонений от нормы также обнаружено не было
Заключение: Выполненные исследования в полной мере демонстрируют безопасность клинического использования препарата [^{99m}Tc]Tc-$(HE)_3$-G3 для радионуклидной диагностики больных раком молочной железы. Полученные данные были подтверждены как субъективными ощущениями непосредственно вошедших в анализ пациенток, так и данными клинических количественных параметров до начала, а также через 2, 4, 6, 24 и 48 ч после введения препарата.

Ключевые слова: *радионуклидная диагностика, ^{99m}Tc-DARPinG3, рак молочной железы, HER2/neu*

Для цитирования: Брагина О.Д., Бородина М.Е., Чернов В.И., Деев С.М., Вострикова М.А., Романова А.А. Оценка острой токсичности препарата $^{99m}Tc(CO)_3$-$(HE)_3$-DARPinG3 у больных раком молочной железы // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 72–76. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-72-76

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-72-76

O.D. Bragina[1, 2], M.E. Borodina[4], V.I. Chernov[1, 2], S.M. Deyev[2, 3], M.A. Vostrikova[1], A.A. Romanova[1]

Assessment of Acute Toxicity of the ^{99m}Tc(CO)3-(HE)3-DARPinG3 in Breast Cancer Patients

[1] National Research Medical Center, Tomsk, Russian
[2] Research Center “Oncotheranostics”, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia
[3] M.M. Shemyakin & Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia
[4] National Medical Research Radiological Centre, Moscow, Russia

Contact person: O.D. Bragina, e-mail: bragina_od@mail.ru

ABSTRACT

Purpose: Study the acute toxicity of the radiopharmaceutical [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 in breast cancer patients.
Material and Methods: The study included 10 breast cancer patients ($T_{1-4}N^{0-2}M_0$) with different HER2/neu expression before systemic/surgical treatment, who were injected with 1000 μg of DARPinG3 protein labeled with technetium-99m ([^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3). Throughout the study (48 hours), patients were monitored by medical personnel, during which complaints were assessed, heart rate, blood pressure and body temperature were measured before injection of the radiopharmaceutical, as well as 2, 4, 6, 24 and 48 hours after injection. Additionally, laboratory tests such as general and biochemical blood tests and general urine analysis were performed before injection, 48 hours and 7 days later.
Results: The presence of complaints, as well as the detection of adverse reactions in breast cancer patients included in the study at the time of injection of the radiopharmaceutical [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3, as well as 2, 4, 6, 24, 48 hours and 7 days after injection were not detected. The measurement of heart rate, body temperature, and blood pressure also showed no pathological abnormalities. According to general and biochemical blood analysis, general urine analysis and ECG results, no abnormalities were found 2, 4, 6, 24 and 48 hours, as well as 7 days after of the radiopharmaceutical [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3.

Conclusion: The performed studies fully demonstrate the safety of the clinical use of the radiopharmaceutical [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 for radionuclide diagnosis of breast cancer patients. The data obtained were confirmed both by the subjective sensations of the patients directly included in the analysis, and by the data of clinical quantitative parameters before the start, as well as 2, 4, 6, 24 and 48 hours after injection of the radiopharmaceutical [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3.

Keywords: *radionuclide diagnostics, scaffold proteins, ^{99m}Tc-DARPinG3, breast cancer, HER2/neu*

For citation: Bragina OD, Borodina ME, Chernov VI, Deyev SM, Vostrikova MA, Romanova AA. Assessment of Acute Toxicity of the ^{99m}Tc(CO)3-(HE)3-DARPinG3 in Breast Cancer Patients. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):72–76. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-72-76

Введение

В настоящее время проводится активное изучение диагностических возможностей радиофармпрепаратов на основе различных синтетических протеинов у больных раком молочной железы (РМЖ) [1, 2]. Прежде всего это обусловлено небольшими размерами их молекул, низкой иммуногенностью, высокими аффинностью и специфичностью к «искомому» рецептору, а также быстрым выведением из организма больного, что предполагает сокращение времени от момента введения в организм до получения качественного изображения [3].

Одним из рецепторов, к которому синтезируются направленные молекулы, является рецептор эпидермального фактора роста 2 типа (HER2/neu). Главными характеристиками данного антигена является высокая частота встречаемости гиперэкспрессии у больных раком молочной железы (15–20 %), а также необходимость проведения направленного таргетного лечения у данной категории пациентов, улучшающего показатели общей и безрецидивной выживаемости [4, 5].

Одним из представителей протеинов, сконструированных для связывания с рецептором HER2/neu, является альтернативный каркасный белок DARPinG3, имеющий небольшой размер (14–20 кДа), стабильную структуру, высокую специфичность и аффинность к рецептору эпидермального фактора роста 2 типа [6]. Результаты доклинических исследований препаратов на основе DARPinG3, меченного технецием-99m, продемонстрировали его высокую специфичность в *in vitro* и *in vivo* анализах, а также отсутствие токсического воздействия на организм лабораторных животных за весь период наблюдений [7, 8].

Целью настоящего исследования является изучение острой токсичности радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 у больных раком молочной железы.

Материал и методы

До начала проведения исследование получило одобрение биоэтического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ, все пациенты заполняли согласие с информацией о разглашении полученных сведений (п. 3, статья 13 Федерального закона Российской Федерации №323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.). В исследование было включено 10 больных раком молочной железы ($T_{1-4}N_{0-2}M_0$) с различной экспрессией HER2/neu до начала системного/хирургического лечения, которым было введено 1000 мкг протеина DARPinG3, меченного технецием-99m ([^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3).

Радионуклидные исследования

Приготовление препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 выполнялось на базе отделения радионуклидной терапии и диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ по трикарбонильной методике с использованием набора CRS Isolink (Center for Radiopharmaceutical Science, Paul Scherrer Institute, Villigen, Швейцария) в асептических условиях непосредственно перед введением по методике, описанной ранее (Брагина, 2022) [9].

Сцинтиграфические исследования выполнялись на гамма-камере E.CAM 180 фирмы Siemens (Германия) через 2, 4, 6 и 24 ч после введения методом планарной сцинтиграфии в режиме WholeBody с использованием плоскопараллельных высокоразрешающих коллиматоров для энергии 140 кэВ и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ/КТ) органов грудной клетки в положении лежа на спине в передней и задней поверхности со скоростью сканирования 12 см/мин.

На всем протяжении исследования (48 ч) больные находились под наблюдением медицинского персонала, в течение которого проводились оценка жалоб, измерения частоты сердечных сокращений (ЧСС), артериального давления (АД) и температуры тела до введения препарата, а также через 2, 4, 6, 24 и 48 ч после инъекции. Дополнительно всем пациентам выполнялись лабораторные исследования в объеме общего и биохимического анализов крови и общего анализа мочи до введения исследуемого соединения через 48 ч и 7 сут в условиях лаборатории НИИ онкологии Томского НИМЦ.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программ IBM SPSS Statistics v.20.0 и Statistica 10.0. Проверку нормальности распределения показателей осуществляли с помощью критерия Шапиро–Вилки. Учитывая отсутствие нормальности распределения изучаемых количественных признаков, оценку достоверности различий медиан для сравнения независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, Краскала–Уоллиса для независимых выборок. Результаты отражали в виде медианы (Me), первого (Q_1) и третьего (Q_3) квартилей.

Результаты

Наличие жалоб, а также выявление побочных реакций у включенных в исследование больных раком молочной железы на момент введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3, а также через 2, 4, 6, 24, 48 ч и 7 дн после инъекции выявлено не было. Измерения ЧСС, температуры тела, а также АД также не показали патологических отклонений (табл. 1).

По данным общего и биохимического анализа крови, общего анализа мочи и результатов ЭКГ через 2, 4, 6, 24 и 48 ч, а также 7 дн после введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 отклонений от нормы также обнаружено не было (табл. 1–4).

Обсуждение

Выполненные исследования в полной мере демонстрируют безопасность клинического использования препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 для радионуклидной диагностики больных раком молочной железы. Полученные данные были подтверждены как субъективными ощущениями непосредственно вошедших в анализ пациенток, так и данными клинических количественных параметром до начала, а также через 2, 4, 6, 24 и 48 ч после введения препарата.

Проведенные ранее доклинические исследования в полной мере показывают диагностический потен-

Таблица 1

Количественные показатели измерений артериального давления, частоты сердечных сокращений и температуры тела у больных раком молочной железы на этапах динамического наблюдения на фоне введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N*=10))

Quantitative indicators of measuring blood pressure, heart rate and body temperature in patients with breast cancer at the stages of dynamic observation during the administration of the drug [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N*=10))

Показатели	До введения Me [Q_1–Q_3]	Через 2 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 4 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 6 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 24 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 48 ч Me [Q_1–Q_3]
АД, мм рт. ст.	113 [109–128]	123 [121–139]	124 [115–130]	117 [110–130]	120 [115–130]	123 [110–125]
		p = 0,11	p = 0,26	p = 0,48	p = 0,08	p = 0,08
ЧСС, уд/мин	72,5 [66,0–75,0]	78,5 [84,0–94,0]	80,7 [73,1–87,1]	72,5 [70,0–76,0]	67,1 [64,1–74,4]	65,4 [63,3–71,1]
		p = 0,25	p = 0,23	p = 0,27	p = 0,25	p = 0,29
Температура тела, °С	37,5 [35,2–37,4]	36,4 [36,3–36,6]	36,4 [36,5–36,6]	36,3 [36,2–36,6]	36,3 [36,2–36,4]	36,6 [36,2–36,7]
		p = 0,14	p = 0,21	p = 0,19	p = 0,12	p = 0,14

Таблица 2

Количественные показатели общего анализа крови у больных раком молочной железы на этапах динамического наблюдения на фоне введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N*=10))

Quantitative indicators of general blood test in patients with breast cancer at the stages of dynamic observation during the administration of the drug [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N*=10))

Показатели	До введения Me [Q_1–Q_3]	Через 2 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 4 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 6 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 24 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 48 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 7 дн Me [Q_1–Q_3]
Гемоглобин, г/л	129,8 [125–132]	123,5 [123–127]	130,5 [125–133]	121,0 [119–126]	129,0 [125–131]	128,5 [125–130]	125,5 [126–133]
		p = 0,33	p = 0,16	p = 0,24	p = 0,21	p = 0,22	p = 0,13
Эритроциты, 10^{12}/л	4,25 [3,6–4,7]	4,05 [3,8–4,0]	4,25 [4,0–4,3]	4,15 [3,8–4,2]	4,0 [3,7–4,2]	4,05 [4,1–4,3]	4,10 [4,1–4,3]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00
Ретикулоциты, ‰	0,92 [0,87–1,00]	0,91 [0,87–0,96]	0,94 [0,82–0,98]	0,95 [0,88–1,1]	0,93 [0,88–1,0]	0,97 [0,90–1,0]	1,0 [0,96–1,1]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00
Тромбоциты, 10^9/л	216,5 [193–237]	210,5 [198–237]	215,0 [190–238]	213,5 [195–239]	218,0 [199–230]	228,5 [206–271]	244,0 [210–268]
		p = 0,35	p = 0,35	p = 0,35	p = 0,35	p = 0,35	p = 0,35
СОЭ, мм/ч	2,0 [1–5]	2,0 [1–5]	2,0 [1–5]	2,0 [1–5]	3,5 [1–6]	4,5 [2–6]	5,5 [3–7]
		p = 0,15	p = 0,12	p = 0,10	p = 0,15	p = 0,33	p = 0,25
Общее число лейкоцитов, 10^{12}/л	5,25 [4,3–5,2]	5,05 [4,6–5,6]	5,10 [4,4–5,3]	5,10 [4,3–5,5]	5,20 [4,8–5,7]	5,35 [5,2–6,0]	5,7 [5,2–6,1]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00
Палочко-ядерные лейкоциты, %	2,0 [2–4]	2,5 [2–3]	2,0 [2–3]	3,0 [2–3]	2,5 [1–3]	5,0 [3–5]	5,0 [4–6]
		p = 0,05	p = 0,07	p = 0,17	p = 0,09	p = 0,16	p = 0,29
Сегменто-ядерные лейкоциты, %	58,0 [44–63]	56,0 [49–58]	54,5 [48–56]	55,0 [49–58]	54,5 [45–56]	56,0 [50–57]	54,0 [50–57]
		p = 0,20	p = 0,25	p = 0,18	p = 0,22	p = 0,37	p = 0,48
Эозинофилы, %	1,5 [1–3]	2,5 [1–4]	2,5 [1–3]	2,5 [1–4]	3,5 [1–4]	3,0 [1–3]	3,5 [1–4]
		p = 0,22	p = 0,24	p = 0,25	p = 0,33	p = 0,26	p = 0,68
Базофилы, %	0,5 [0–1]	0,5 [0–1]	0,0 [0–1]	0,5 [0–1]	0,0 [0–1]	0,5 [0–1]	0,5 [0–1]
		p = 0,13	p = 0,17	p = 0,17	p = 0,13	p = 0,17	p = 0,13
Моноциты, %	3,0 [3–6]	3,5 [3–6]	4,5 [3–6]	4,5 [4–6]	5,5 [3–6]	4,0 [4–6]	5,0 [4–6]
		p = 0,16	p = 0,17	p = 0,22	p = 0,21	p = 0,31	p = 0,28
Лимфоциты, %	22,6 [21–34]	23,5 [21–25]	22,5 [2–36]	21,5 [19–23]	23,0 [21–30]	25,5 [20–27]	27,5 [21–29]
		p = 0,25	p = 0,36	p = 0,31	p = 0,38	p = 0,23	p = 0,34

циал исследуемого соединения в диагностике HER2-позитивных опухолей молочной железы, демонстрируя его высокую специфичность и аффинность к таргетному антигену *in vitro* и *in vivo*, а также быстрое выведение из организма лабораторного животного. Учитывая это, начало клинического анализа является особенной актуальным и необходимым этапом, так как при положительном результате позволит существенно повлиять на эффективность диагностического этапа, а также на улучшение показателей эффективности лечения больных раком молочной железы с HER2-позитивными опухолями молочной железы.

Перспективность дальнейших в данном направлении исследовании диктуют результаты ранее выполненных в отделении радионуклидной терапии и диагностики клинических исследований с использованием других представителей альтернативных каркасных протеинов, меченных технецием-99m, а именно ADAPT6 и молекул аффибоди. Оба препарата продемонстрировали статистически значимые различия в дифференцировке статуса рецептора эпидермального фактора роста 2 типа HER2/neu в первичных опухолях молочной железы с наибольшим накоплением соединений у больных с HER2-позитивными опухолями по сравнению с группой контроля, имеющей отрицательные значения данного маркера (p<0,05, Mann–Whitney test) [10, 11].

Выводы

Таким образом, продемонстрированные результаты показывают целесообразность и необходимость продолжения клинических исследований с использованием препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 у больных раком молочной железы и решения вопроса о его дальнейшем использовании в качестве диагностического радиофармпрепарата для пациентов с высокой экспресией HER2/neu.

Таблица 3

Количественные показатели биохимического анализа крови у больных раком молочной железы на этапах динамического наблюдения на фоне введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N* = 10))

Quantitative indicators of biochemical blood analysis in patients with breast cancer at the stages of dynamic observation during the administration of the drug [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N* = 10))

Показатели	До введения Me [Q_1–Q_3]	Через 2 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 4 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 6 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 24 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 48 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 7 дн Me [Q_1–Q_3]
АлАТ, ЕД/л	11,0 [9–13]	14,5 [10–16]	13,5 [12–15]	13,0 [11–14]	13,5 [10–16]	14,5 [11–16]	13,5 [10–16]
		p = 0,16	p = 0,21	p = 0,25	p = 0,30	p = 0,26	p = 0,19
АсАТ, ЕД/л	14,0 [11–17]	13,5 [10–14]	13,0 [12–16]	14,5 [13–17]	14,5 [11–16]	15,5 [10–14]	14,5 [11–16]
		p = 0,12	p = 0,16	p = 0,23	p = 0,17	p = 0,16	p = 0,31
Щелочная фосфатаза, Е/л	158,0 [148–210]	158,0 [146–158]	159,5 [147–200]	160,0 [149–197]	159,5 [147–203]	161,0 [151–201]	161,0 [152–203]
		p = 0,30	p = 0,30	p = 0,30	p = 0,40	p = 0,30	p = 0,30
Глюкоза, ммоль/л	4,2 [4,0–5,5]	4,4 [4,2–5,3]	4,45 [4,1–5,3]	4,55 [4,0–5,4]	4,65 [4,1–5,3]	4,5 [4,2–5,1]	4,60 [4,3–5,2]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00
Мочевина, ммоль/л	5,0 [3,3–5,1]	5,15 [3,0–5,2]	5,20 [3,4–5,45]	5,35 [3,5–5,4]	5,35 [3,3–5,5]	5,15 [3,2–5,6]	5,25 [3,3–5,4]
		p = 0,79	p = 0,81	p = 0,65	p = 0,71	p = 0,72	p = 0,63
Креатинин, мкмоль/л	84,2 [65–88]	84,5 [65–88]	85,5 [65–89]	84,0 [66–92]	85,5 [66–90]	85,5 [67–91]	84,5 [67–90]
		p = 0,22	p = 0,25	p = 0,21	p = 0,23	p = 0,19	p = 0,23
Белок, г/л	71,5 [64–76]	72,0 [66–73]	73,5 [66–77]	72,0 [67–75]	73,5 [68–76]	73,5 [67–77]	72,5 [65–75]
		p = 0,21	p = 0,19	p = 0,21	p = 0,22	p = 0,24	p = 0,34
Холестерин, ммоль/л	4,85 [4,0–5,1]	4,95 [4,2–5,0]	5,05 [4,1–5,2]	4,90 [4,0–5,2]	4,90 [4,1–5,1]	5,05 [4,2–5,0]	5,0 [4,1–5,2]
		p = 1,00	p = 0,25	p = 0,93	p = 1,00	p = 0,26	p = 0,90
Билирубин, мкмоль/л	9,0 [6,0–11,5]	8,6 [6,0–11,9]	9,7 [6,5–12,4]	10,1 [6,0–10,8]	9,7 [6,3–10,2]	9,0 [6,1–11,5]	8,8 [5,7–12]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00

Таблица 4

Количественные показатели электрокардиограммы у больных раком молочной железы на этапах динамического наблюдения на фоне введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)$_3$-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N* = 10))

Quantitative electrocardiogram indicators in patients with breast cancer at the stages of dynamic observation during the administration of the drug [^{99m}Tc]Tc-(HE)3-G3 (Kruskal–Wallis test: H (4, *N* = 10))

Показатели	До введения Me [Q_1–Q_3]	Через 2 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 4 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 6 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 24 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 48 ч Me [Q_1–Q_3]	Через 7 дн Me [Q_1–Q_3]
ЧСС, уд./мин	69,0 [65,0–74,0]	82,0 [81,0–91,0]	81,5 [72,0–85,0]	73,0 [71,0–75,0]	65,0 [63,0–71,0]	63,5 [63,0–66,0]	71,5 [67,0–74,0]
		p = 0,16	p = 0,18	p = 0,20	p = 0,236	p = 0,26	p = 0,19
P, с	0,08 [0,07–0,09]	0,1 [0,09–0,1]	0,09 [0,08–0,09]	0,09 [0,07–0,09]	0,08 [0,07–0,09]	0,10 [0,09–0,11]	0,1 [0,09–0,11]
		p = 0,27	p = 0,29	p = 0,31	p = 0,28	p = 0,27	p = 0,31
P-R(P-Q), с	0,12 [0,10–0,14]	0,15 [0,11–0,16]	0,15 [0,10–0,16]	0,15 [0,15–0,16]	0,16 [0,14–0,17]	0,14 [0,15–0,16]	0,17 [0,14–0,19]
		p = 0,87	p = 0,90	p = 0,82	p = 0,72	p = 0,78	p = 0,92
QRS, с	0,06 [0,05–0,07]	0,08 [0,06–0,09]	0,08 [0,07–0,09]	0,09 [0,07–0,09]	0,06 [0,06–0,08]	0,08 [0,06–0,08]	0,07 [0,07–0,09]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00
QT, с	0,4 [0,3–0,4]	0,2 [0,2–0,3]	0,3 [0,2–0,4]	0,3 [0,2–0,3]	0,4 [0,3–0,4]	0,3 [0,2–0,3]	0,3 [0,2–0,3]
		p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00	p = 1,00

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Bragina O, Deyev SM, Chernov VI, Tolmachev VM. The Evolution of Targeted Radionuclide Diagnosis of HER2-Positive Breast Cancer Acta Naturae. 2022;Apr-Jun;14(2):4–15. DOI: 10.32607/actanaturae.11611. PMID:35923562.
2. Hricak H, Abdel-Wahab M, Atun R, Lette MM, Paez D, Brink JA, Donoso-Bach L, Frija G, Hierath M, Holmberg O, Khong PL, Lewis JS, McGinty G, Oyen WJG, Shulman LN, Ward ZJ, Scott AM. Medical Imaging and Nuclear Medicine: a Lancet Oncology Commission. Lancet Oncol. 2021;Apr;22(4):136-172. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30751-8. PMID: 33676609.
3. Bodei L, Herrmann K, Schöder H, Scott AM, Lewis JS. Radiotheranostics in Oncology: Current Challenges and Emerging Opportunities. Nat Rev Clin Oncol. 2022;Aug;19(8):534-550. DOI: 10.1038/s41571-022-00652-y. PMID: 35725926.
4. Giordano SH, Franzoi MAB, Temin S, Anders CK, Chandarlapaty S, Crews JR, Kirshner JJ, Krop IE, Lin NU, Morikawa A, Patt DA, Perlmutter J, Ramakrishna N, Davidson NE. Systemic Therapy for Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: ASCO Guideline Update. J Clin Oncol. 2022;Aug 10;40(23):2612-2635. DOI: 10.1200/JCO.22.00519. PMID: 35640077.
5. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology. College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. J Clin Oncol. 2013;31:3997-4013. DOI: 10.1200/JCO.2013.50.9984. PMID: 24101045.
6. Tolmachev V, Orlova A, Sorensen J. The Emerging Role of Radionuclide Molecular Imaging of Her2 Expression in Breast Cancer. Semin Cancer Biol. 2021;72:185-197. DOI: 10.1016/j.semcancer.2020.10.005. PMID: 33465471.
7. Брагина О.Д., Чернов В.И., Гарбуков Е.Ю., Дорошенко А.В., Воробьева А.Г., Орлова А.М., Толмачев В.М. Возможности радионуклидной диагностики HER2-позитивного рака молочной железы с использованием меченных технецием-99m таргетных молекул: первый опыт клинического применения // Бюллетень сибирской медицины. 2021. Т. 20. №1. С. 23–30. https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2021-1-

23-30. [Bragina OD, Chernov VI, Garbukov EYu, Doroshenko AV, Vorobyeva AG, Orlova AM, Tolmachev VM. Possibilities of Radionuclide Diagnostics of Her2-Positive Breast Cancer Using Technetium-99m-Labeled Target Molecules: the First Experience of Clinical Use. Bulletin of Siberian Medicine. 2021;20(1):23–30. https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2021-1-23-30. (In Russ.)].

8. Tolmachev V, Bodenko V, Oroujeni M, Deyev S, Konovalova E, Schulga AS, Hober S, Bragina OA, Vorobyeva A. Direct in Vivo Comparison of 99mTc-Labeled Scaffold Proteins DARPin G3 and ADAPT6 for Visualization of HER2 Expression and Monitoring of Early Response for Trastuzumab Therapy. International Journal of Molecular Sciences. 2022;Dec;2;23(23):15181. DOI: 10.3390/ijms232315181. PMID: 36499504.
9. Bragina O, Chernov V, Schulga A, Konovalova E, Hober S, Deyev S, Sörensen J, Tolmachev V. Direct Intra-Patient Comparison of Scaffold Protein-Based Tracers, [99mTc]Tc ADAPT6 and [99mTc]Tc-(HE)3-G3, for Imaging of HER2-Positive Breast Cancer. Cancers. 2023;15(12):3149. https://doi.org/10.3390/cancers15123149.
10. Bragina O, von Witting E, Garousi J, Zelchan R, Sandström M, Orlova A, Medvedeva A, Doroshenko A, Vorobyeva A, Lindbo S, Borin J, Tarabanovskaya N, Sörensen J, Hober S, Chernov V, Tolmachev V. Phase I Study of 99mTc-ADAPT6, a Scaffold Protein-Based Probe for Visualization of HER2 Expression in Breast Cancer. J Nucl Med. 2021;Apr;62(4):493-499. DOI: 10.2967/jnumed.120.248799. PMID: 32817142.
11. Bragina O, Chernov V, Larkina M, Rybina A, Zelchan R, Garbukov E, Oroujeni M, Loftenius A, Orlova A, Sörensen J, Frejd FY, Tolmachev V. Phase I Clinical Evaluation of 99mTc-labeled Affibody Molecule for Imaging HER2 Expression in Breast Cancer. Theranostics. 2023;Sep;4;13(14):4858-4871. DOI: 10.7150/thno.86770. PMID: 37771776.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 22-15-00169 по теме «Фенотип BRCA-подобных опухолей в процессе канцерогенеза и лечения».

Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.

Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

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

Financing. The work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant No. 22-15-00169 on the topic “Phenotype of BRCA-like tumors in the process of carcinogenesis and treatment.”

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

Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-77-80

И.О. Томашевский, О.С. Корникова

ЗНАЧЕНИЕ ОФЭКТ/КТ В ОДНОВРЕМЕННОЙ ОЦЕНКЕ КАЛЬЦИНОЗА КОРОНАРНЫХ АРТЕРИЙ, ПЕРФУЗИИ И КОНТРАКТИЛЬНОЙ ФУНКЦИИ МИОКАРДА У МУЖЧИН С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Частное учреждение здравоохранения «Центральная клиническая больница «РЖД–Медицина», Москва

Контактное лицо: Игорь Остапович Томашевский, e-mail: tomash_io@mail.ru

РЕФЕРАТ

Цель: Изучить частоту встречаемости кальциноза коронарных артерий и его влияние на перфузию и контрактильную функцию миокарда у мужчин с ишемической болезнью сердца.
Материал и методы: У 1175 мужчин в возрасте от 30 до 83 лет с ишемической болезнью сердца (ИБС) были проведены одновременная оценка кальциноза коронарных артерий, перфузии и контрактильной функции с ^{99m}Tc-технетрилом при использовании гибридного однофотонного эмиссионного и рентгеновского компьютерного томографа (ОФЭКТ/КТ) с ЭКГ-синхронизацией и КТ-коррекцией ослабления излучения, а также ЭКГ, эхокардиография, клинический и биохимический анализ крови, коронарокардиография.
Результаты: Из 1175 обследованных мужчин с использованием ОФЭКТ/КТ кальциноз коронарных артерий был выявлен у 426 (35 %): в возрастной группе старше 55 лет – у 142 (12 %), в возрастной группе 46–55 лет – у 200 (17 %), в возрастной группе 27–45 лет – у 74 (6 %). Интервал показателей кальциевого индекса в соответствии со шкалой Agatston был установлен следующим: при максимальной степени >400 единиц – у 87 мужчин (7 % от всех обследованных); при 101−400 единиц – у 121 (10 %); при 11−100 единиц – у 162 (14 %); при 1−10 единиц – у 46 (4 %); при минимальной степени − 0 единиц – у 759 мужчин (65 % от всех обследованных). У 34 мужчин, из которых у 15 имелся кальциноз коронарных артерий, а у 19 его не было, сумма баллов при анализе аккумуляции радиофармпрепарата миокардиальной тканью в покое по 5-балльной шкале показатель перфузии (СПБ) был либо в норме, либо соответствовал начальной степени снижения перфузии, а контрактильная функция была незначительно нарушена, фракция выброса не была снижена.
Заключение: Использование ОФЭКТ/КТ-технологии с ЭКГ-синхронизацией и КТ-коррекцией ослабления излучения, у 1175 мужчин с ИБС позволило выявить кальциноз коронарных артерий у 35 %: в возрасте старше 55 лет у 12 %, в возрасте 46–55 лет – у 17 %, в возрасте 27–45 лет – у 6 %. У мужчин с ИБС без острых коронарных событий как с кальцинозом коронарных артерий, так и без такового СПБ был либо в норме, либо соответствовал начальной степени снижения перфузии, а контрактильная функция была незначительно нарушена, ФВ не была снижена. Через три года у мужчин, у которых кальциноз коронарных артерий был средней степени, несмотря на его увеличение до высокой степени, показатели перфузии (СПБ) и контрактильной функции достоверно не изменились, причём таковые показатели достоверно не изменились и при отсутствии кальциноза коронарных артерий.

Ключевые слова: *рентгеновская компьютерная томография сердца, однофотонная эмиссионная компьютерная томография сердца, кальциноз коронарных артерий, перфузия и контрактильная функция миокарда*

Для цитирования: Томашевский И.О., Корникова О.С. Значение ОФЭКТ/КТ в одновременной оценке кальциноза коронарных артерий, перфузии и контрактильной функции миокарда у мужчин с ишемической болезнью сердца // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 77–80. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-77-80

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-77-80

I.O. Tomashevsky, O.S. Kornikova

The Importance of SPECT/CT in Simultaneous Assessment of Calcinosis of Coronary Arteries, Perfusion and Contractile Function of the Myocardium among Men's with Coronary Heart Disease

Central Clinical Hospital "Russian Railways–Medicine, Moscow, Russia

Contact person: I.O. Tomashevsky, e-mail: tomash_io@mail.ru

ABSTRACT

Purpose: To study the frequency of calcinosis of coronary arteries and its effect on myocardial perfusion and contractile function among men's with coronary heart disease (CHD).
Material and methods: A survey was conducted among 1175 men's aged 30 to 83 years with coronary artery disease (CHD): simultaneous assessment of coronary artery calcinosis, perfusion and contractile function with ^{99m}Tc-MIBI using SPECT/CT with ECG-synchronization and X-ray radiation attenuation correction, as well as comparison of data with the results of electrocardiography (ECG), echocardiography (ECHO-CG), clinical and biochemical blood tests.
Results: Of the 1175 men examined using SPECT/CT, coronary artery calcification was detected in 426 (35 %): in the age group over 55 years old – in 142 (12 %), in the age group 46−55 years old – in 200 (17 %), in the age group 27–45 years old – in 74 (6 %). The interval of calcium index indicators in accordance with the Agatston scale was established as follows: at the maximum degree > 400 units – in 87 males (7 % of all examined); at 101−400 units – at 121 (10 %); at 11−100 units – at 162 (14 %); at 1−10 units – in 46 (4 %); with a minimum degree − of 0 units – in 759 men (65 % of all examined). In 34 men of whom 15 had coronary calcification and

19 did not have it, perfusion index (SPB) was either normal or corresponded to the initial degree of decrease in perfusion, and contractile function was slightly impaired, the ejection fraction was not reduced.
Conclusion: The use of SPECT/CT technology with ECG-synchronization and CT-attenuation correction of radiation, in 1175 men with CHD made it possible to detect coronary calcification in 35 %: at the age of 55 years in 12 %, at the age of 46–55 years in 17 %, at the age of 27–45 years – in 6 %. In men with CHD without acute coronary events, both with and without coronary calcinosis, SPB was either normal or corresponded to the initial degree of reduced perfusion, and contractile function was slightly impaired, EF was not reduced. Three years later, in men whose coronary artery calcification was moderate despite its increase to a high degree, the perfusion (SPB) and contractile function indicators did not significantly change, and such indicators did not significantly change in the absence of coronary artery calcification.

Keywords: *heart, SPECT/CT, calcinosis of coronary arteries, perfusion, contractile function of the myocardium*

For citation: Tomashevsky IO, Kornikova OS. The Importance of SPECT/CT in Simultaneous Assessment of Calcinosis of Coronary Arteries, Perfusion and Contractile Function of the Myocardium among Men's with Coronary Heart Disease. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):77–80. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-77-80

Введение

Атеросклероз коронарных артерий и ишемическая болезнь сердца (ИБС) – самые распространённые причины смертности и инвалидизации в большинстве индустриально развитых стран мира. При диагностике ИБС на сегодняшний день состояние микроциркуляции миокарда в клинической практике можно оценивать косвенно, с помощью неинвазивных технологий определения резерва миокардиального кровотока и коронарного резерва: радионуклидных методов (ОФЭКТ, ПЭТ), высокочастотной трансторакальной эхокардиографии (Эхо-КГ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Для оценки состояния систолической и диастолической функций миокарда применяются Эхо-КГ, МРТ и синхронизированные с ЭКГ радионуклидные методы: радионуклидная вентрикулография, синхронизированная с ЭКГ однофотонная эмиссионная компьютерная томография.

В последние годы появились гибридные томографы, позволяющие одновременно проводить рентгеновскую компьютерную томографию и однофотонную эмиссионную томографию любого органа, в том числе и сердца. Эти приборы дают возможность за одно исследование оценивать показатели кальциевого индекса коронарных артерий (КИКА), а также после дополнительного внутривенного введения радиофармпрепарата (например, ^{99m}Tc-технетрила) определять перфузию, состояние систолической и диастолической функций миокарда с ЭКГ-синхронизацией и КТ коррекцией ослабления гамма-излучения, что существенно увеличивает точность гибридного исследования. Считается, что увеличенный КИКА является самым высоким фактором риска будущих осложнений ИБС, выше, чем все остальные факторы вместе взятые (увеличение показателей общего холестерина и липопротеинов высокой плотности в крови, наличие сахарного диабета, табакокурение, артериальная гипертензия) [1, 2]. Следует подчеркнуть, что частота встречаемости повышенного КИКА и влияние увеличенного кальциноза коронарных артерий на перфузию и контрактильную функцию при ИБС у мужчин изучено недостаточно.

Целью настоящей работы – изучение частоты встречаемости кальциноза коронарных артерий и его влияние на перфузию и контрактильную функцию миокарда у мужчин с ишемической болезнью сердца [3, 4].

Материал и методы

Было обследовано 1175 мужчин с ИБС в возрасте от 30 до 83 лет, 34 из которых обследованы дважды с интервалом в 3 года (см. табл. 1). Для постановки диагноза использовались ЭКГ, эхокардиография, холтеровское мониторирование, клинический и биохимический анализ крови, коронароангиография (КАГ). Всем обследованным была проведена оценка кальциноза коронарных артерий по результатам рентгеновской компьютерной томографии (РКТ) на гибридном однофотонном эмиссионном компьютерном томографе, совмещённом с рентгеновским компьютерным томографом (ОФЭКТ/КТ). ОФЭКТ/КТ на аппарате SymbiaT16 фирмы Siemens с отечественным радиофармпрепаратом ^{99m}Tc-технетрил проводилась в покое с ЭКГ-синхронизацией и КТ-коррекцией ослабления гамма-излучения. У всех обследованных оценивались следующие показатели: при РКТ – суммарный показатель кальциевого индекса коронарных артерий (КИКА); при ОФЭКТ – один показатель перфузии в виде суммы баллов для оценки аккумуляции радиофармпрепарата миокардиальной тканью в покое по 5-балльной шкале (нормальные значения – 0) и четыре показателя следующих функций: подвижность сердечной стенки – фракция выброса (ФВ) левого желудочка (нормальные значения > 50 %); пиковая объемная скорость изгнания крови из полостей сердца (ПИС) параметр, который определяет состояние систолической функции миокарда (нормальные значения 2–3 КДО/с); средняя скорость наполнения левого желудочка в первую треть диастолы – считается наиболее чувствительным показателем, первым реагирует на нарушения диастолической функции, оценивает раннюю, активную фазу наполнения ЛЖ (нормальные значения 1,5–2 КДО/с); длительность диастолы – показатель характеризует диастолическую дисфункцию (нормальные значения 100–150 мс).

Результаты и обсуждение

Из 1175 обследованных мужчин с использованием ОФЭКТ/КТ кальциноз коронарных артерий был выявлен у 426 (35 %): в возрастной группе старше 55 лет – у 142 (12 %), в возрастной группе 46–55 лет – у 200 (17 %), в возрастной группе 27–45 лет – у 74 (6 %). Интервал показателей кальциевого индекса в соответствии со шкалой Agatston был установлен следующим: при максимальной степени > 400 единиц – у 87 мужчин (7 % от всех обследованных); при 101−400 единиц – у 121(10 %); при 11−100 единиц – у 162 (14 %); при 1−10 единиц— у 46 (4 %); при минимальной степени − 0 единиц – у 759 мужчин (65 % от всех обследованных). У 34 мужчин в возрастной группе 46–55 лет с кальцинозом коронарных артерий и без такового, которые были обследованы дважды с интервалом три года, показатель перфузии в покое по 5-балльной шкале (СПБ) колебался у обследованных от 3 до 6 (см. табл. 1), что свидетельствовало о начальной степени снижения перфузии при среднем значении СПБ 6 и 4 и об отсутствии нарушения перфузии – при СПБ, равном 3.

Следует подчеркнуть, что увеличение кальциноза коронарных артерий через три года с 107 единиц (среднее значение) до 287, как и его отсутствие, достоверно не влияло на снижение перфузии (см. табл. 1, показатели КИКА и СПБ) и на изменение контрактильной функции (см. табл. 1, показатели ФВ, ПИС, СНЖ/3, ДД). Надо отметить, что у всех 34 обследованных мужчин среднее значение: 1) фракции выброса (ФВ) не было снижено; 2) пиковой объемной скорости изгнания крови из полостей сердца (ПИС), параметра, который определяет состояние систолической функции миокарда, было незначительно выше нормы; 3) средней скорости наполнения левого желудочка в первую треть диастолы (СНЖ/3), который считается наиболее чувствительным показателем, первым реагирующим на нарушения диастолической функции и оценивающий раннюю, активную фазу наполнения левого желудочка, было незначительно ниже нормы; 4) длительности диастолы (ДД) – показатель характеризует диастолическую дисфункцию – было незначительно выше нормы.

Таким образом, у 34 мужчин с ИБС без острых коронарных событий, из которых у 15 имелся кальциноз коронарных артерий, а у 19 его не было, СПБ был либо в норме, либо соответствовал начальной степени снижения перфузии, а контрактильная функция была незначительно нарушена, ФВ не была снижена. Через три года у 15 пациентов, у которых кальциноз коронарных артерий был средней степени (M =107 единиц), несмотря на его увеличение до высокой степени (M = 287 единиц), показатели перфузии (СПБ) и контрактильной функции (ФВ, ПИС, СНЖ/3, ДД) достоверно не изменились, в том числе и при отсутствии кальциноза коронарных артерий. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при кальцинозе коронарных артерий средней и высокой степени благодаря компенсаторным механизма организма миокардиальная перфузия и контрактильная функция достоверно не изменяются.

Таблица 1

Показатели кальциевого индекса коронарных артерий, перфузии и контрактильной функции левого желудочка ($M\pm\sigma$) у мужчин с ишемической болезнью сердца

Indicators of the coronary artery calcium index, perfusion and contractile function of the left ventricle ($M\pm\sigma$) in men with coronary heart disease

№ п/п	Ч	КИКА	СБП	ФВ	ПИС	СНЖ/3	ДД
1	15	M=107	6 ± 4	65 ± 5	–3,4 ± 0,5	1,2 ± 0,4	162 ± 38
2	15	M=287	3 ± 1	67 ± 8	–3,2 ± 0,8	1,3 ± 0,3	156 ± 17
3	19	M=0	3 ± 2	87 ± 24	–3,6 ± 0,5	1,4 ± 0,4	151 ± 29
4	19	M=0	4 ± 2	90 ± 21	–3,3 ± 0,7	1,2 ± 0,2	167 ± 13

Примечание: № п/п – номер по порядку; Ч – число обследованных; КИКА – показатель кальциевого индекса коронарных артерий (нормальные значения – 0); СБП – показатель перфузии по 5-балльной шкале (нормальные значения – 0); ФВ – фракция выброса левого желудочка (нормальные значения > 50 %); ПИС – пиковая объемная скорость изгнания крови из полостей сердца (нормальные значения 2–3 КДО/с); СНЖ/3 средняя скорость наполнения левого желудочка в первую треть диастолы (нормальные значения 1,5–2 КДО/с); ДД – длительность диастолы (нормальные значения 100–150 мс)

Выводы

1. Применение у мужчин с ИБС гибридной технологи ОФЭКТ/КТ с ЭКГ – синхронизацией и РКТ коррекцией излучения позволяет за одно исследование оценить кальциноз коронарных артерий и в сочетании с внутривенным введением радиофармпрепарата ^{99m}Tc-технетрил определить характер, распространенность и выраженность нарушений перфузии, и одновременно оценить контрактильную функцию.
2. Использование ОФЭКТ/КТ с ЭКГ-синхронизацией и КТ-коррекцией ослабления излучения у 1175 мужчин с ИБС позволило выявить кальциноз коронарных артерий у 35 % пациентов: в возрасте старше 55 лет – у 12 %, в возрасте 46–55 лет – у 17 %, в возрасте 27–45 лет – у 6 %.
3. Интервал показателей кальциевого индекса в соответствии со шкалой Agatston был установлен следующим: при максимальной степени >400 единиц – у 7 % обследованных мужчин; при 101–400 единиц – у 10 %; при 11–100 единиц – у 14 %; при 1–10 единиц – 4 %; при минимальной степени – 0 единиц – у 65 %.
4. У мужчин с ИБС без острых коронарных событий как с кальцинозом коронарных артерий, так и без такового СПБ был либо в норме, либо соответствовал начальной степени снижения перфузии, а контрактильная функция была незначительно нарушена, ФВ не была снижена.
5. Через три года у мужчин, у которых кальциноз коронарных артерий был средней степени несмотря на его увеличение до высокой степени, показатели перфузии (СПБ) и контрактильной функции (ФВ, ПИС, СНЖ/3, ДД) достоверно не изменились, причём таковые показатели достоверно не изменились и при отсутствии кальциноза коронарных артерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аншелес А.А., Сергиенко В.Б. Ядерная кардиология. М.: ФГБУ НМИЦ кардиологии Минздрава России, 2021. С. 75–125.
2. Аншелес А.А., Шульгин Д.Н., Соломяный В.В., Сергиенко В.Б. Сопоставление результатов нагрузочных проб, данных однофотонной эмиссионной компьютерной томографии миокарда и коронарографии у больных ишемической болезнью сердца // Кардиологический вестник. 2012. Т.VII. №2(XIX). С. 10-16.
3. Рудой А.С., Загашвили И.В. Микроваскулярная стенокардия // Военная медицина. 2013. №1. С. 143-148.
4. Журавлев К.Н., Васильева Е.Ю., Синицын В.Е., Шпектор А.В. Кальциевый индекс как скрининговый метод диагностики сердечно-сосудистых заболеваний // Российский кардиологический журнал. 2019. №12. С. 153-161. https://doi.org/10.15829/1560-4071-2019-12-153-161

REFERENCES

1. Ansheles A.A., Sergienko V.B. Nuclear Cardiology. Moscow Publ., 2021. P. 75-125 (In Russ.).
2. Ansheles A.A., Shulgin D.N., Solomyanyy V.V., Sergienko V.B. Comparison of the Results of Stress Tests, Data of Single-Photon Emission Computed Tomography of Myocardium And Coronarography in Patients with Ischemic Heart Disease. Cardiologicheskiy Vestnik. 2012;VII;2(XIX):10-16 (In Russ.).
3. Rudoy A.S., Zagashvili I.V. Microvascular Angina. Voennaya Meditsina = Military Medicine. 2012;(1):143–8 (In Russ.).
4. Zhuravlev K.N., Vasilyeva E.Yu., Sinitsin V.E., Spector A.V. Calcium Score as a Screening Method for Cardiovascular Disease Diagnosis. Rossiyskiy Kardiologicheskiy Zhurnal = Russian Journal of Cardiology. 2019;12:153-161 (In Russ.) .

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. В разработке концепции, дизайна, теоретической основы, модификацией методик исследования принимал участие Томашевский И.О. В сборе и анализе литературного материала, статистической обработке данных, написании и научном редактировании текста принимала участие Корникова О.С.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. I.O. Tomashevsky took part in the development of the concept, design, theoretical basis, modification of research methods. O. Kornikova took part in the collection and analysis of literary material, statistical data processing, writing and scientific editing of the text.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-81-85

Муайед Ф. Аль-Рави, Изз К. Аббуд и Насир А. Аль-Авад

НОВЫЙ ПОДХОД НА ОСНОВЕ ТРАНСФЕРНОГО ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Инженерный колледж Университета Мустансирия, Багдад, Ирак

Контактное лицо: Муайед Ф. Аль-Рави, e-mail: muaayed@uomustansiriyah.edu.iq

РЕФЕРАТ

Опухоль головного мозга – это аномальное скопление клеток в головном мозге, которое потенциально может представлять угрозу для жизни из-за способности клеток проникать в близлежащие органы и давать метастазы. Правильно диагностировав это потенциально смертельное заболевание, можно спасти жизни. За последние несколько лет функциональность приложений глубокого обучения при автоматическом распознавании МРТ-изображений опухолей головного мозга заметно расширилась. В результате усовершенствование архитектуры модуля приводит к более точному отображению отслеживаемой конфигурации. Благодаря предоставлению надежных наборов данных, в классификации опухолей с помощью алгоритмов глубокого обучения был достигнут значительный прогресс. Цель статьи – использовать алгоритмы модуля переноса для прогнозирования опухолей головного мозга. К таким модулям относятся MobileNet, VGG19, InceptionResnetV2, Inception и DenseNet201. В предлагаемом модуле используются три основных оптимизатора: Adam, SGD и RMSProp. Результаты моделирования показывают, что предварительно обученный модуль MobileNet с оптимизатором RMSProp превзошел все другие оцененные модули. В дополнение к минимальному времени, затрачиваемому на вычисления, он обеспечил точность в 99,6 %, чувствительность в 99,4 % и специфичность в 100 %.

Ключевые слова: *медицинские изображения, опухоль головного мозга, автоматическое распознавание, машинное и глубокое обучение, компьютерное зрение, МРТ*

Для цитирования: Муайед Ф. Аль-Рави, Изз К. Аббуд и Насир А. Аль-Авад. Новый подход на основе трансферного глубокого обучения для прогнозирования опухолей головного мозга // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 81–85. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-81-85

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-81-85

Muaayed F. Al-Rawi, Izz K. Abboud, and Nasir A. Al-Awad

Novel Approach Using Transfer Deep Learning for Brain Tumor Prediction

College of Engineering, Mustansiriyah University, Baghdad, Iraq

Contact person: Muaayed F. Al-Rawi, e-mail: muaayed@uomustansiriyah.edu.iq

ABSTRACT:

A brain tumor refers to an abnormal collection or aggregation of cells in the brain that has the potential to be life-threatening owing to the cells' capacity to penetrate and metastasize to organs that are nearby. It is possible to save lives by making a correct diagnosis of this potentially fatal condition. Within the last several years, there has been a noticeable increase in the functionality of deep learning applications. As a result, improving the module's architecture leads to better approximations in the monitored configuration. Through the provision of trustworthy datasets, the categorization of tumors via the use of deep learning algorithms has successfully achieved significant progress. The purpose of this article is to use transfer module algorithms for the prediction of brain tumors. These modules include MobileNet, VGG19, InceptionResNetV2, Inception, and DenseNet201. The suggested module uses three main optimizers: Adam, SGD, and RMSprop. The simulation findings indicate that the pre-trained MobileNet module with the RMSprop optimizer outperformed all other evaluated modules. In addition to having the shortest amount of time required for computing, it obtained an accuracy of 99.6 %, a sensitivity of 99.4 %, and a specificity of 100 %.

Keywords: *medical images, brain tumor, machine and deep learning, computer vision, MRI*

For citation: Muaayed F. Al-Rawi, Izz K. Abboud, and Nasir A. Al-Awad. Novel Approach Using Transfer Deep Learning for Brain Tumor Prediction. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):81–85. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-81-85

1. Introduction

The global health organization's numbers indicate that cancer ranks as the second leading cause of death worldwide. When it comes to the many forms of cancer, the aggressive nature of the tumor, its diverse traits, and its poor relative survival rate have contributed to its reputation as one of the most lethal forms of cancer. A brain tumor can significantly alter the quality of life for patients and their families, impacting their standard of living. When it comes to treating brain cancer and boosting the percentage of patients who survive the disease, early identification and accurate classification of the disease are the most important factors. It is possible to differentiate between different types of tumors, such as meningiomas, pituitary tumors, and gliomas, by taking into consideration a number of criteria, including the shape, texture, and location of the tumor [1]. Accurately determining the type of tumor is crucial as it significantly impacts the available treatment options and can also predict the patient's survival rate. Doctors often use resonance imaging and biopsies to diagnose brain tumors. Doctors advise

magnetic resonance imaging (MRI) because it does not involve any intrusive procedures. In some instances, however, magnetic resonance imaging (MRI) alone is not sufficient to determine the kind of tumor that calls for a biopsy for diagnosis. The procedure carries considerable dangers and the findings of the biopsy are not guaranteed to be correct. Those technicians who carry out these actions will have a favorable influence on the outcomes, but they will also add problems related to human error. To assist medical professionals in making the appropriate choices, we want a computerized system.

There has been a significant amount of study conducted on this topic in recent years, utilizing a variety of machine learning approaches. Prior to the development of deep learning, researchers utilized feature selection methods such as principal component analysis (PCA) and discrete wavelet transform (DWT). Later, researchers utilized classifiers such as support vector machines (SVM) and artificial neural networks (ANN). In the present moment, the primary emphasis is on the use of neural networks in order to produce better outcomes [2]. There are a number of variables that influence the prognosis of a brain tumor. These factors include the location of the tumor, the histological subtype of the tumor, and the margin of the tumor. State-of-the-art imaging methods, such as magnetic resonance imaging (MRI), can be used for various diagnostic purposes. MRI can investigate the tumor's course and identify areas used for surgical planning before the procedure. Magnetic resonance imaging also analyzes the anatomy, physiology, and metabolic activity of lesions, as well as their hemodynamics. Because of this, magnetic resonance imaging (MR) pictures continue to be the predominant diagnostic technique for brain malignancies. Cancer identification, particularly early discovery, may have a significant impact on the therapy that is administered.

Early diagnosis is crucial because it increases the likelihood of healing for lesions detected at an early stage [3]. Therefore, early intervention has the potential to be the deciding factor in whether or not a person lives or dies. Deep learning and its associated approaches can automate the process of identifying and categorizing brain lesions. In addition, limiting the focus of the radiologist's attention to malignant lesions might provide relief from the strain of having to read a large number of pictures. Consequently, this finally results in an increase in overall efficiency and a decrease in diagnostic mistakes. 6. According to the findings of recent research, deep learning techniques in the area of radiology have already attained superhuman levels of effectiveness in the diagnosis of some diseases [4], [5].

2. Related Work

Researchers have conducted a significant amount of research to automate the identification and categorization of brain tumors due to their fatal nature. Because of recent developments in machine learning, neural networks are becoming more popular for use in the process of constructing models for the diagnosis of brain cancer. The principles of transfer learning may be applied to these models, and they can also be utilized for other diagnoses that are comparable [1]. This study aims to examine established methods for categorizing brain tumors. In this respect, more study and modifications to the approach are still required in order to make it possible for the system that was created to be implemented for use by medical professionals.

The article [2] announced a novel multigrade brain tumor classification system based on a convolutional neural network (CNN). The researchers use the InputCascade CNN algorithm to segment the tumor region. The researchers determined that the pre-trained VGG19CNN architecture optimally categorizes tumor grades. The influence of the data expansion was shown by the fact that the original data achieved an accuracy of 87 %, while the extended data achieved an accuracy of 90 %.

The paper [3] put out the concept of further improving a CNN architecture for the purpose of tumor classification by making use of genetic algorithms (GA). This investigation makes use of a gadolinium-enhanced T1 image that has a resolution of 128 by 128 pixels. Increasing the size of the dataset may be accomplished by the use of simple methods like as rotation, scaling, and mirroring. The implementation of GA allows for the selection of parameters such as the number of convolution layers and maximum pooling layers, as well as the number of filters and the size of each filter. The accuracy achieved for glioma staging and tumor staging was 90.9 % and 94.2 % respectively.

In the study [4], transfer learning was employed to extract features from the classification system. First, the researchers reduced the image obtained from magnetic resonance imaging (MRI) to 224×224 pixels and then normalized it as a first therapeutic therapy. The pre-trained GoogleNet has been tweaked so that it may learn function from magnetic resonance imaging of the brain. The researchers evaluate the effectiveness of the collected features using the support vector machine (SVM) and artificial neural network (ANN) classifier models, in addition to the GoogleNetsoftmax layer. The classification accuracy of the Deep Transfer Learned (standalone) model, the Support Vector Machine, and the Artificial Neural Network is 92.3 %, 97.8 %, and 98 %, respectively.

Researchers used the capsule neural network, also known as CapsNet, in the research paper [5] to assess how pretreatment methods affect the categorization of brain tumors. Rotation and patch extraction are two pretreatment processes used in the study. CapsNet applies the original dataset, resulting in an accuracy of 87°. Applying the same architecture to the preprocessed data yields an accuracy of 92.6, demonstrating an improvement in accuracy through preprocessing.

The researchers that published the study [6] used a deep CNN model that had been pre-trained. This paper suggests a fine-tuning technique that is based on transfer learning and is implemented block-by-block. The performance is evaluated using a cross-validation that is performed in five different directions. The suggested approach achieves an accuracy of 94.82 %.

The paper [7] attempted to determine the most effective CNN architecture for classifying brain tumors. Currently, researchers are investigating five alternative CNN designs, each with a unique combination of convolutional layers and fully connected layers. The CNN architecture, which comprises of two convolutional layers with 32 filters: activation (ReLu) and Maxpool, followed by a fully connected layer with 64 neurons, has 84.19 % verification accuracy.

The study [8] found that researchers developed a statistical system to detect and classify high-grade glioma (HGG) and low-grade glioma (LGG) tumors. Binarization is often used to convert photos into binary files. After implementing the discrete wavelet transform, we subject the segmented picture to the process of feature extraction. This not only assists in the extraction of features, but it also helps to minimize noise. We tested this system with one hundred different photos, and it achieved a 99 % accuracy rate.

The research publication [9] explored a deep neural network to categorize 66 brain MRI datasets into four distinct categories. A deep neural network (DNN) with seven hidden layers, an artificial neural network (ANN) with k = 1 and k = 3, linear discriminant analysis (LDA), and support vector machines (SMOSVM) are the classifiers that are used.

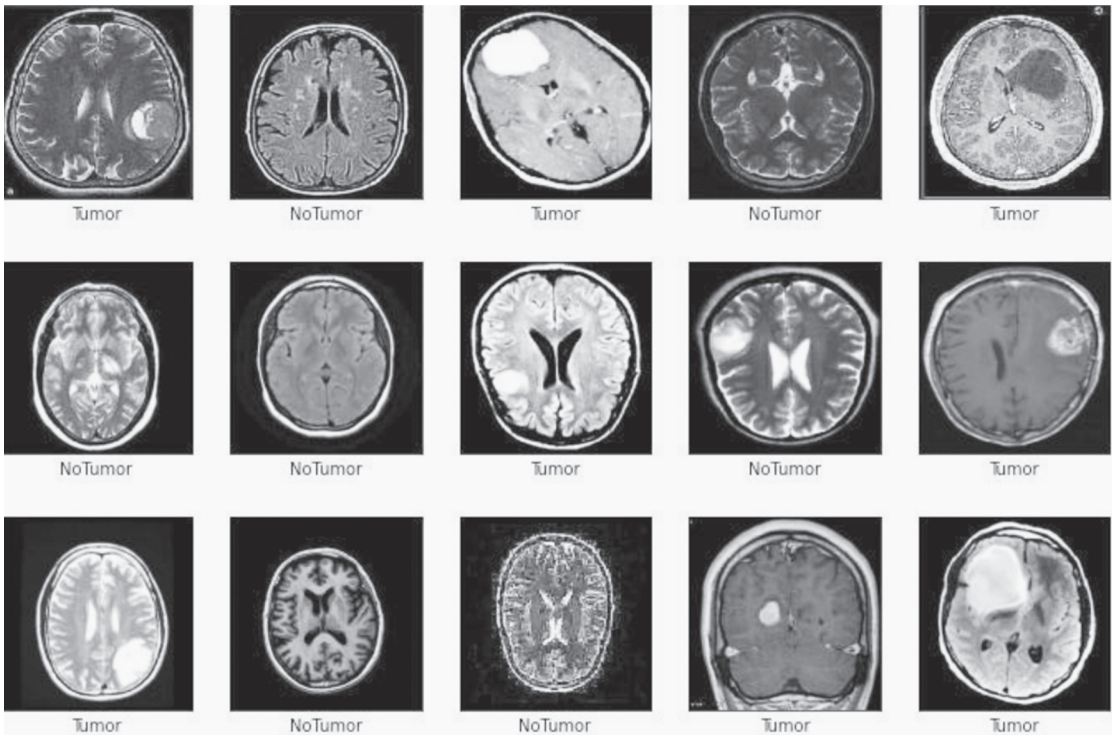


Fig. 1 The raw image of the dataset

Рис. 1. Необработанные изображения набора данных

With an accuracy rate of 98.4 %, DNN is the most accurate technology currently available.

The paper [10] presented a method for classifying brain tumors that was based on the use of a normalized histogram and segmentation via the application of a K-means clustering algorithm. When compared to Naive Bayes, support vector machines (SVMs) have been shown to be more effective, with a 91.49 % efficiency rate. The K-means technique was used in order to segment the images, which included tumors that were being identified.

Based on the findings of the study [11], it developed a CapsNet architecture for categorizing brain tumors. With a accuracy of 90.89 %, the suggested architecture is effective.

3. Proposed Approach

3.1 Image Processing

As can be seen in Fig. 1, the dataset is made up of unprocessed images, which need some kind of preprocessing.

As can be seen in Fig. 2, the images of the dataset after the application of image processing with histogram equalization. This method generally improves the overall contrast of a large number of images, especially when the image is represented by a limited range of intensity values. By making this modification, you will be able to employ the complete spectrum of intensities in an equitable manner and improve the distribution of the intensities on the histogram accordingly. It is possible for regions that have low local contrast to have high contrast as a consequence of this.

3.2. Procedures for the deep transfer learning proposed technique

By the steps that are provided for the construction of the transfer model are as follows, as illustrated in Fig. 3:

1. Loading images from directories as a class for each directory is the first step in the data loading process.
2. Apply histogram equalization by using the sci-lit images application programming interface (API) for imagine processing.
3. Split the data into sets that can be used for training, testing, and validating.
4. Utilize the tf.keras.applications file to load the required application in Keras.
5. Downloading the base model from the Keras API is the fifth step in the load transfer model.
6. Train the model and evaluate its performance by using the sci-kit-learn metrics API to assess the efficiency of the training process.

4. Empirical results and discussion

There is an application and testing of the most famous deep transfer learning modules utilized in the Br35H (Brain Tumor Detection 2020) dataset [12].The accuracy comparison of these modules that were optimized with three distinct optimizers is shown in Table 1, as can be seen in the attached table. It is clear that MobileNet, which was optimized using RMSprop, attained the highest level of accuracy, which was 99.55 %. Furthermore, Fig. 4 illustrates a comparison of accuracy.

Table 1

Comparing module accuracy with three optimizers

Сравнение модуля с тремя оптимизаторами по точности

Module/optimizer	Adam %	RMSprop %	SGD %
MobileNet	98.76	**99.55**	97.92
VGG19	97.43	96.22	80.76
InceptionResNetV2	98.23	98.29	95.55
Inception	99.12	98.76	97.12
DenseNet201	99.10	99.22	97.40

As can be seen in Table 2, it gives a comparison of the sensitivity of three distinct optimizers compared to five different modules that were optimized. According to the results,

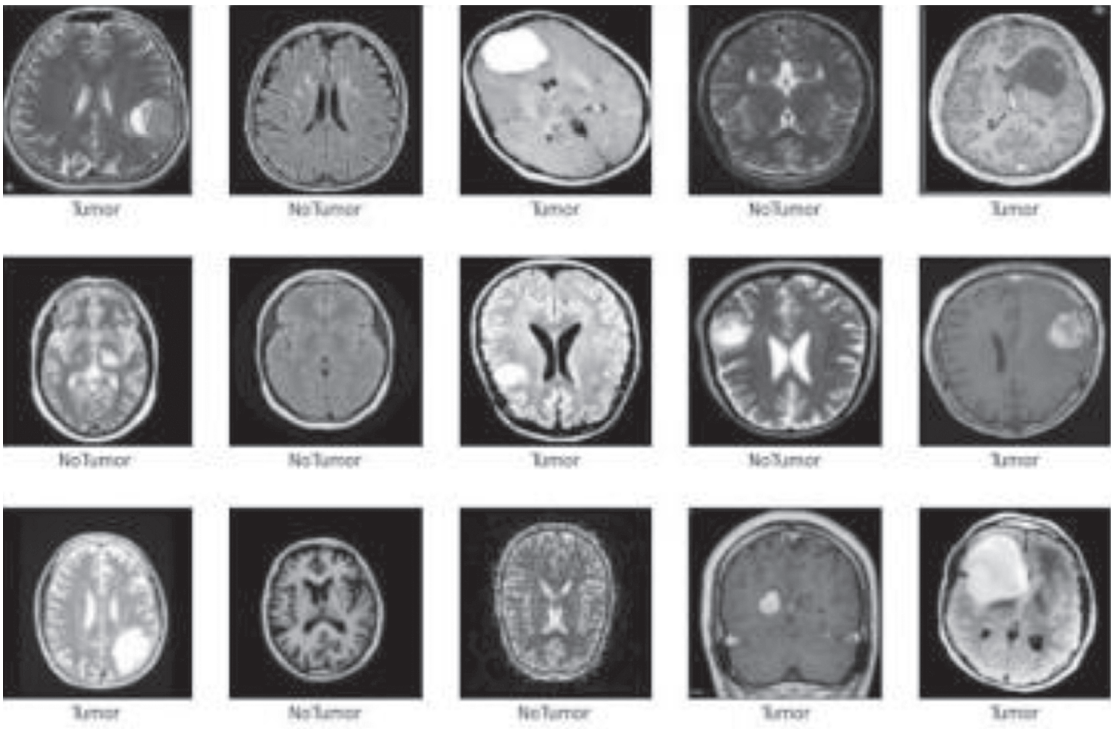


Fig. 2. Images after the use of image processing

Рис. 2. Изображения после использования программы обработки изображений

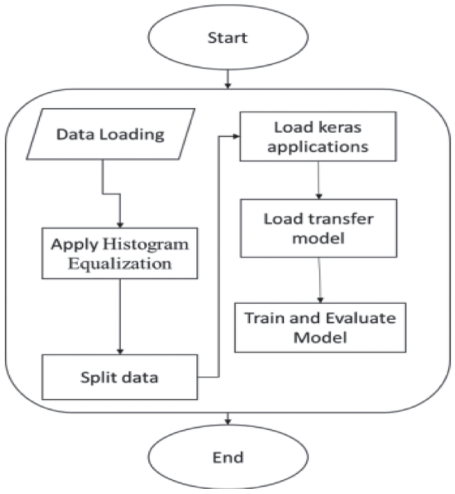


Fig. 3. The steps of deep transfer learning proposed technique

Рис. 3. Этапы предложенной методики глубокого трансферного обучения

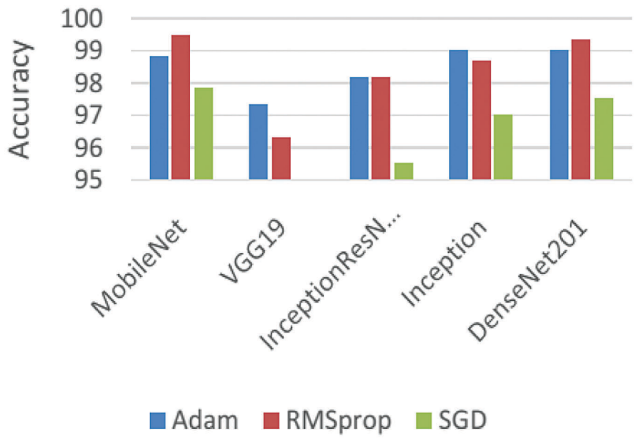


Fig. 4. Comparing module accuracy with three optimizers

Рис. 4. Сравнение точности модуля с тремя оптимизаторами

MobileNet and DenseNet201 obtained the maximum sensitivity, which was 99.4 %. Additionally, the comparison of sensitivity between the various modules is shown in Fig. 5.

Table 2

Comparing module sensitivity with three optimizers

Сравнение чувствительности модуля с тремя оптимизаторами

Module/optimizer	Adam %	RMSprop %	SGD%
MobileNet	99.12	**99.40**	97.10
VGG19	96.00	93.76	83.76
InceptionResNetV2	96.52	97.22	93.44
Inception	99.12	98.76	95.65
DenseNet201	99.10	**99.40**	97.23

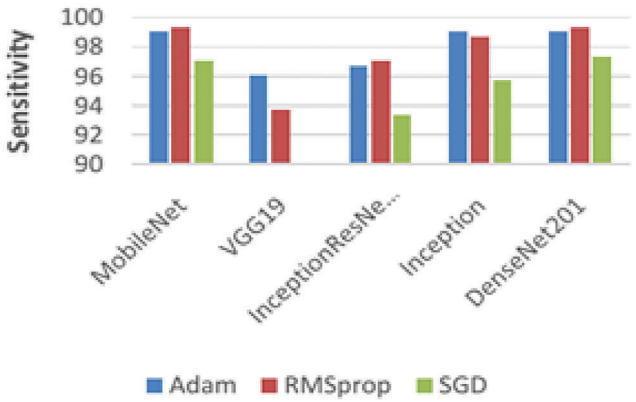


Fig. 5. Comparing module sensitivity with three optimizers

Рис. 5. Сравнение чувствительности модуля с тремя оптимизаторами

Table 3 presents a comparison of the specificity of modules optimized using three different optimizers. Fig. 6 shows a comparison of the specificity of the different modules. According to the results, MobileNet obtained the maximum specificity, which was 100 %.

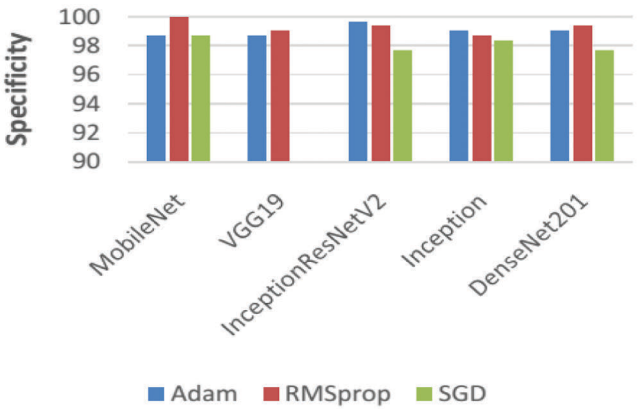


Fig.6. Comparig module specifity with three optimizers
Рис. 6. Сравнение специфичности модуля тремя оптимизаторами

Table 3

Comparing module specificity with three optimizers

Сравнение специфичности модуля с помощью трех оптимизаторов

Module/optimizer	Adam%	RMSprop%	SGD%
MobileNet	98.78	**100.00**	98.67
VGG19	98.56	99.00	77.76
InceptionResNetV2	99.56	99.21	97.74
Inception	99.00	98.66	98.33
DenseNet201	99.00	99.22	97.76

5. Conclusion

In Various deep transfer learning techniques found in this article were used to classify brain tumors. Deep learning and CNN training from scratch with a tiny data set might be challenging to implement in some medical imaging applications because of the limited amount of data available. The solution that we offer is a block-by-block fine-tuning method that is supported by transfer learning modules such as MobileNet, VGG19, InceptionResNetV2, Inception, and DenseNet201. This will allow us to tackle this problem. With a maximum effective accuracy of 99.6 %, 99.4 % sensitivity, and 100 % specificity for RMSprop-optimized MobileNet modules, the suggested module does not make use of hand-crafted features, has little pre-processing, and has the greatest effective accuracy.

REFERENCES

1. Mzoughi H., et al. Deep Multi-Scale 3d Convolutional Neural Network (CNN) for MRI Gliomas Brain Tumor Classifcation. J. Digit. Imaging. 2020;33;903–915.
2. Muhammad Sjjad, Salman Khan, Khan Muhammad, Wanqing Wu, Amin Ullah, Sung Wook Baik. Multigrade Brain Tumor Classification Using Deep CNN with Extensive Data Augmentation. Elsevier. Journal of Computational Science. 2019;30:174-182.
3. Amin Kabir Anaraki, Moosa Ayati, Foad Kazemi. Magnetic Resonance Imaging-Based Brain Tumor Grades Classification and Grading Via Convolutional Neural Networks and Genetic Algorithms. Elsevier. Biocybergenetics and Biomedical Engineering. 2019;39:63-74.
4. Deepak P.M. Ameer. Brain Tumor Classification Using Deep CNN Features Via Transfer Learning. Elsevier. Computers in Biology and Medicine. 2019;111:1-7.
5. R.Vimal Kurup, V.Sowmya, K.P.Soman. Effect of Data Preprocessing on Brain Tumor Classification Using Capsulenet. Springer. ICICCT System Reliability, Quality Control, Safety, Maintenance and Management. 2019:110-119.
6. Zar Nawab Khan Swati, Qinghua Zhao, Muhammad Kabir, Farman Ali, Zakir Ali, Saeed Ahmed, Jianfeng Lu. Brain Tumor Classification for MR Images Using Transfer Learning and Finetuning. Elsevier. Computerized Medical Imaging and Graphics. 2019;75:34-46.
7. Nyoman Abiwinanda, Muhammad Hanif, S. TafwidaHesaputra, Astri Handayani, Tati Rajab Mengko. Brain Tumor Classification Using Convolutional Neural Network. Springer. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering. 2018:183-189.
8. F.P.Polly, S.K.Shil, M.A.Hossain, A.Ayman, Y.M.Jang. Detection and Classification of HGG and LGG Brain Tumor Using Machine Learning. IEEE. International Conference on Information Networking (ICOIN), 2018.
9. Heba Mohsen, El-Sayed A.El-Dahshan, El-Sayed M.El-Horbaty, Abdel-Badeeh M.Salem. Classification Using Deep Learning Neural Networks for Brain Tumors. Elsevier. Future Computing and Informatics Journal. 2018;3:68-71.
10. Garima Singh, Dr M.A.Ansari. Efficient Detection of Brain Tumor from MRIs Using K-Means Segmentation and Normalized Histogram. IEEE. 1st India International Conference on Information Processing (IICIP), 2016.
11. Parnian Afshar, Konstantinos N. Plantaniotis, Arash Mohammadi. Capsule Networks for Brain Tumor Classification Based on MRI Images Coarse Tumor Boundaries. IEEE. International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing, 2019.
12. https://www.kaggle.com/datasets/ahmedhamada0/braintumor-detection.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АСПЕКТЫ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОЙ НАУКИ И ПРАКТИКИ – К 100-ЛЕТИЮ А.К. ГУСЬКОВОЙ: НАПУТСТВИЕ ВРАЧАМ И УЧЕНЫМ

АНГЕЛИНА КОНСТАНТИНОВНА ГУСЬКОВА

доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН

29 марта 1924 – 7 апреля 2015

Гуськова Ангелина Константиновна (1974-2015) – 41 год научно-творческого руководства клиническим отделом радиационной медицины: заведующяя Клиническим отделом радиационной медицины (1974–1996), главный научный сотрудник (1996–2015 гг.). В одном из разделов написанной ею книги «Атомная отрасль страны глазами врача» (2004), в главе Вместо заключения – «Услышать будущего зов!», Ангелина Константиновна представила аспекты медико-биологической науки, которые с учетом накопленных данных могут стать, по её мнению, наиболее перспективными для будущего и требуют преимущественного развития в нашей стране, в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна и в Клиническом отделе радиационной медицины, в частности, в связи с радикально изменившимся «набором» основных действующих факторов в условиях обычной эксплуатации всех атомных предприятий, особенно по удельной значимости радиационного компонента. При этом одновременно должна постоянно существовать готовность к адекватным действиям в условиях нештатной ситуации и, тем более, радиационной аварии крупного масштаба.

Какие же аспекты медико-биологической науки с учетом накопленных данных могут стать наиболее перспективными для будущего и требуют преимущественного развития? По типу работы отделений RERF, созданных не в столице Японии, а в пострадавших от атомного взрыва городах, должна быть организована планомерная, рассчитанная на много лет работа по совершенствованию и максимальному наполнению медико-дозиметрического регистра отрасли на базе основных ее предприятий атомной промышленности и энергетики Росэнергоатома.

Роль клинического отдела радиационной медицины центрального института в Москве станет иной, чем раньше. Она должна быть ориентирована на:

1. Дополнение данными динамического наблюдения за отраслевыми стажированными работниками длительно работающими в контакте с ионизирующим излучением атомной промышленности и энергетики и ЗАТО.
2. Формирование периодически меняющихся отраслевых нозологических регистров (сердечно-церебрососудистая патология, психосоматический круг болезней и др.) для целенаправленной клинической проработки вопросов, возникающих, но не разрешаемых в рамках дозиметрических отраслевых регистров.
3. Введение в базу данных сведений о более редких формах профессиональной патологии, закономерно концентрировавшихся ранее в клинке ИБФ (заболевания от воздействия плутония, полония, бериллия, пылевые и токсические бронхопульмональные болезни). Обоснованно сохранение отраслевого Чернобыльского архива данных, достаточно успешно действующего и самостоятельно, и в комплексе в РГМДР в Обнинске.

Таким образом, будет обеспечена полнота материалов по отдаленным последствиям профессионального облучения в широком диапазоне доз и условий воздействия (вместе с представленными по своему разделу данными квалифицированных гигиенистов и биофизиков). Будут даны аргументированные оценки клинической обоснованности принятых нормативов и величин риска, особенно для ситуаций длительного хронического облучения. Будет определен вклад облучения в комплекс рисков для здоровья в отдаленном периоде у персонала и потомков.

Другим направлением, требующим развития и современного технического и лекарственного обеспечения, является совершенствование клинических программ по оказанию помощи при всегда возможных в отрасли радиационных аварий различного масштаба. Можно предупредить появление хронических заболеваний, но нельзя исключить потенциальную возможность местных и общих острых эффектов у человека.

Адекватной клинической моделью этих состояний, позволяющей совершенствовать профессиональный уровень и разрабатывать новые перспективные средства терапии, являются в первую очередь онкогематологические заболевания. В программах их интенсивной терапии используются те же приемы и средства, что и при лучевой болезни: трансплантация кроветворных клеток, факторы роста и другие средства терапии основных осложнений (инфекции, полиорганная недостаточность).

К этому направлению примыкают проблемы диагностики и терапии, наиболее частых в реальных условиях местных лучевых поражений со своей сферой диагностических и лечебных приемов и обеспечением возможности ретроспективной реконструкции доз облучения.

Целесообразно сохранить и развивать работы экспериментальной группы для предклинических испытаний препаратов и проверки идей, возникающих в ходе клинических наблюдений.

Для клиники тяжелых профессиональных поражений и особенно оценки субклинических форм реакции на хроническое воздействие особую актуальность приобретает методическое руководство по целенаправленной модификации объема исследований при текущих и внеплановых медицинских осмотрах. При этом расширяется спектр приемов на основе современных технологий, возрастают и возможности количественной оценки огромного объема информации.

Трансформации направлений потребует и определенной переориентации медицинского персонала и болезненного «отсечения» в учреждениях некоторых неперспективных структур. Но это следует осуществить, и возможно скорее, в том числе в нашем институте.

Предстоит огромная, трудоемкая работа с клиническим архивом, с оцифровкой первичной документации. Необходим перевод в цифровой формат наиболее существенной части информации из баз данных, из историй болезни и журналов (дозиметрические и биофизические показатели конкретных пациентов). Прежде всего, это касается верифицированных случаев лучевой болезни и продуманных экспертных заключений, отрицающих этот диагноз.

Нуждаются в пересмотре и обновлении ссылки на литературу и тексты программ экзаменов по разделу клинической и экспериментальной радиобиологии. Одновременно с этим необходимо, в связи с ростом объема информации и совершенствованием информационной техники, выпускать сборники, книги в различных электронных форматах, а также использовать для хранения информации компакт-диски, флеш-накопители и жесткие диски компьютеров.

Создавать отдельные перечни и аннотации тематической библиографии, по монографиям и публикациям программного характера, выполненным в профилированных научных учреждениях на должном методическом уровне.

Атомная отрасль своевременно собрала и опубликовала персоналии ее ведущих специалистов. В радиационной медицине и радиобиологии имеются лишь отдельные фрагментарные попытки восполнить этот пробел (С.П. Ярмоненко, частично Л.Д. Линденбратен – в основном в сфере медицинского использования излучений).

Остро стоит и еще один вопрос – подбора и системы подготовки кадров для обеспечения адекватной деятельности медико-санитарных частей и НИИ, обслуживающих предприятия атомной промышленности, энергетики и профильные научные учреждения на базе исследовательских реакторов и ускорителей. Едва ли адекватна компетенция тех, кто ныне готовит по радиационной медицине специалистов для служб гражданской обороны, военной медицины и МЧС.

Следует иметь в виду, что радикально изменился «набор» основных действующих факторов в условиях обычной эксплуатации всех атомных предприятий, особенно по удельной значимости радиационного компонента. Министерству здравоохранения РФ необходимо ввести квалификацию врача по специальности «Радиационная медицина». При этом одновременно должна постоянно существовать готовность к адекватным действиям в условиях нештатной ситуации и тем более радиационной аварии крупного масштаба.

В этих условиях оправдана подготовка специалистов в следующих основных вариантах:

1. Врачей для работы в аварийных бригадах и на специализированных койках ближайшего и головного стационара, где будет оказываться помощь пострадавшим от первых часов–суток после облучения до полного излечения;
2. Врачей, обеспечивающих диспансеризацию контингентов, работающих в обычных условиях деятельности предприятия отрасли и (или) проживающих в регионе их размещения. Это касается и обычного поликлинического врачебного приема, а также в какой-то мере и первых мероприятий после возникновения нештатной ситуации в регионе или получения сигнала о ней.
3. Минимум сведений по обычной ситуации в регионе и основным правилам неотложных действий при возникновении аварии в нем необходим каждому современному врачу любой специальности, работающему в стационаре или поликлинике.
4. Врач должен быть осведомлен и о потенциальных источниках радиационной опасности там, где он работает и живет, должен знать основные проявления лучевой болезни и МЛП, меры первой помощи, адреса учреждений, куда он может обратиться за советом и направить пострадавших на консультацию к специалистам.

Врачи, готовящиеся к работе в аварийных условиях, постоянно должны работать в стационаре крупной многопрофильной больницы – в качестве терапевтов-гематологов, терапевтов-инфекционистов, трансфузиологов, врачей-клинических лаборантов, владеющих методиками взятия материала из костного мозга и периферической крови и их анализа. Хирурги должны работать постоянно в ожоговых отделениях или в отделениях травматологии и пластической хирургии. Однако необходимо и дополнительное обучение всех их на курсах по профпатологии и радиационной медицине с подтверждением подготовки соответствующими периодически обновляемыми документами-сертификатами. В состав аварийной бригады вводятся также специалисты-гигиенисты и физики, чаще из муниципальных СЭС или профильных институтов, расположенных в регионе. Поскольку работа ведется под руководством главных врачей больницы и поликлиники, это диктует необходимость специальной подготовки и организаторов здравоохранения.

Таковы формальные критерии, по которым проводится отбор врачей, и основной минимум требований к их подготовке. Однако большое значение, помимо профессиональной культуры, приобретают социальная и трудовая мотивация к работе по указанному профилю, а также личные качества врача. Ведь, по сути, он будет действовать в системе мероприятий Министерства по чрезвычайным ситуациям. Врач должен быть любознателен, подвижен, деятелен, решителен и при этом владеть определенным набором навыков для ориентации в радиационной обстановке, приемами

диагностического плана и методами оказания неотложной помощи по клиническим показаниям в условиях одновременного действия радиационного и других факторов. Сориентировавшись в ситуации, он должен суметь успокоить пациентов и объяснить вовлеченным в аварию людям правила их поведения, а также обеспечить транспортировку в соответствующее лечебное учреждение нуждающихся в этом лиц.

Целенаправленный опрос и осмотр пациента (или группы лиц, имевших контакт с источником), особенно детей, позволяет срочно принять необходимые меры по обнаружению и изоляции источника. Появляется возможность хотя бы ориентировочно оценить степень опасности, принять неотложные меры по минимизации возможных, иногда очень тяжелых последствий и госпитализировать пострадавшего в учреждение, где ему будет оказана квалифицированная помощь в полном объеме. Иногда эти лица длительно не находят адекватной помощи даже при наличии уже очевидных признаков лучевого поражения, и расследование идет как бы в обратном порядке: болезнь – источник. Порой, наоборот, информация о контакте с источником или о его наличии (в школьном классе, жилом помещении, музее) инициирует поиск людей, имевших с ним контакт, и способствует выявлению среди большой группы участников ситуации немногих лиц, реально пораженных.

Нищенское существование влачит единственная в стране известная во всем мире клиника радиационной медицины, способная, но весьма ограниченная в возможности оказывать помощь пострадавшим от радиации. Значимость врачебного и научного потенциала ее специалистов в проблеме обеспечения безопасности страны несомненна. Но требуется существенное целевое подкрепление ее ресурсов по оснащению, медикаментами, оплате высокоспециализированного персонала, деятельность которого может быть срочно востребована страной в чрезвычайных обстоятельствах, подобных аварии на ЧАЭС.

Еще М. Монтень говорил, что плодотворным и естественным стремлением общества является умение выслушать ученых. Наверное, нужно, чтобы руководство страны нашло время для этого и прислушалось к мнению ученых – специалистов по радиационной медицине, учитывая и угрозу ядерного терроризма и расширяющийся перечень стран, владеющих ядерным оружием в современном мире. Министерству здравоохранения РФ необходимо ввести квалификацию врача по специальности «Радиационная медицина».

Метляева Н.А.
Учёный секретарь Клинического отдела
радиационной медицины, доктор мед наук, доцент

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-89-90

И.В. Иванов[1, 2], В.Н. Вялых[1]

ПАМЯТИ РАДИОТОКСИКОЛОГА ЮРИЯ АЛЕКСАНДРОВИЧА КЛАССОВСКОГО. К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ 15.01.1924–27.04.1982

[1] НИИ медицины труда им. академика Н.Ф. Измерова, Москва
[2] Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины МО РФ, Санкт-Петербург

Контактное лицо: Иван Васильевич Иванов, e-mail: ivanov-iv@yandex.ru

Для цитирования: Иванов И.В., Вялых В.Н. Памяти радиотоксиколога Юрия Александровича Классовского. К 100-летию со дня рождения 15.01.1924–27.04.1982 // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2024. Т. 69. № 3. С. 89–90. DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-89-90

DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-89-90

I.V. Ivanov[1, 2], V.N. Vyalykh[1]

In Memory of Radiotoxicologist Yuri Alexandrovich Klassovsky for the 100th Anniversary of his Birth on 01/15/1924–04/27/1982

[1] N.F. Izmerov Research Institute of Occupational Medicine, Moscow, Russia
[2] State Scientific-Research Taste Institute of Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia

Contact person: I.V. Ivanov, e-mail: ivanov-iv@yandex.ru

For citation: Ivanov IV, Vyalykh VN. In Memory of Radiotoxicologist Yuri Alexandrovich Klassovsky. 100th Anniversary of his Birth on 01/15/1924–04/27/1982. Medical Radiology and Radiation Safety. 2024;69(3):89–90. (In Russian). DOI:10.33266/1024-6177-2024-69-3-89-90

ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ КЛАССОВСКИЙ

15 января 1924 – 27 апреля 1982

Юрий Александрович Классовский – кандидат медицинских наук, участник Великой Отечественной войны, участник испытаний ядерного оружия в атмосфере и подземном пространстве, полковник медицинской службы – родился в г. Коканде 15 января 1924 г. в семье военнослужащего. Отец – Классовский Александр Владимирович погиб в первые месяцы Великой Отечественной войны в боях под Москвой.

Юрий Александрович был призван в ряды Красной Армии в 17-летнем возрасте 27.05.1941 в г. Алма-Ате и направлен на фронт рядовым отдельной разведывательной роты. В боях под Воронежем 25.04.1942 был тяжело ранен. После ранения окончил курсы по подготовке механиков самолетов и с 05.02.1945 служил бортмехаником истребительно-авиационного корпуса, участвовавшего в боях в составе фронтовой авиации 3-го Прибалтийского, затем 1-го Белорусского фронтов.

Без увольнения из рядов Советской Армии в 1950 г. поступил в Военно-медицинскую академию им. С.М. Кирова, в 1956 г. с отличием её окончил и был направлен для прохождения дальнейшей службы в качестве офицера опытно-научного подразделения на Семипалатинский испытательный полигон. На полигоне прошел путь от младшего научного сотрудника до начальника отдела медико-биологических исследований (1967 г.), в 1966 г. защитил кандидатскую диссертацию и в 1969 г. Высшей аттестационной комиссией ему присвоено ученое звание «старший научный сотрудник» по специальности «патологическая анатомия». Участник медико-биологических исследований при воздушных, наземных и подземных испытаниях ядерного оружия. Уволился из Вооруженных Сил в 1978 г. Будучи уже уволенным из Вооруженных Сил Юрий Александрович с разрешения начальника полигона остался в г. Курчатове (Семипалатинск-21) для завершения работы над своей докторской диссертацией и только в 1980 г. переехал с семьёй в г. Серпухов Московской области.

Область научных интересов Юрия Александровича составляли недостаточно изученные в то время разделы радиационной медицины – патологоанатомические ис-

следования форм и последствий лучевой болезни, радиотоксикологическое изучение патогенетических механизмов действия инкорпорированных продуктов ядерного деления в экспериментах на животных. Многие годы в условиях Семипалатинского полигона он проводил экспериментальные исследования по оценке воздействия на щитовидную железу радиоактивных изотопов йода, входящих в состав короткоживущих продуктов ядерного деления, выполнял гистологические и гистоаутографические исследования органов и тканей, радиоизотопную диагностику функционального состояния щитовидной железы при острой лучевой болезни различного генеза [1–5], впервые количественно оценил вклад внутреннего поступления радиоактивных продуктов при сочетанных радиационных поражениях. При этом обосновал пути экстраполяции полученных экспериментальных данных с животных на человека.

Защищенная им кандидатская диссертация была посвящена радиотоксикологическому изучению эффектов инкорпорированных продуктов деления ядер по данным натурных и модельных экспериментов на животных, создав методологический плацдарм к выполненному позднее пожизненному изучению последствий облучения в общей постановке проблемы и в части переноса их на организм человека. Приоритетными и заслужившими высокой оценки специалистов-радиобиологов направлениями научной деятельности Ю.А. Классовского были этиопатогенетическое истолкование развития патологических процессов, обусловленных одновременным внешним и внутренним облучением по ингаляционному и алиментарному каналам дозоформирования в актуальных и вариантно изменяемых сочетаниях. Позже этот вид патологии был определен как сочетанные радиационные поражения.

Наибольшие достижения Ю.А. Классовского отмечены в области описания и интерпретации происхождения опухолевых последствий таких поражений на материале биологических опытов при испытательных ядерных взрывах и пожизненном динамическом обследовании гистоструктурного состояния критических органов подопытных животных. На патогенетическом уровне он впервые связал инициацию опухолей других органов с опережающим влиянием радиационно-обусловленных опухолей органов эндокринной системы облученных животных [5].

Результаты научных изысканий Ю.А. Классовского в документальном виде вошли в отчеты по результатам испытаний и в разделы научно-технических отчетов по НИР и методических рекомендаций по оценке последствий инкорпорации продуктов ядерного деления по данным натурных и модельных экспериментов на животных. Под научным руководством Юрия Александровича подготовлено 4 кандидата медицинских наук, за заслуги в научно-исследовательской и испытательной работе он награжден орденами Красной Звезды (1956), Трудового Красного Знамени (1974) и 13 медалями. Теплые воспоминания о нем как о талантливом и корректном руководителе, широкой души и эрудиции человеке, пытливом и самоотверженном ученом сохраняются в памяти всех знавших его сослуживцев. Скончался 27.04.1982 г., похоронен на Ивановском кладбище г. Серпухова Московской области.

Заключительный научный труд всей своей жизни Ю.А. Классовский закончил и документально оформил в 1979–1981 гг., но не смог представить его к защите в виде докторской диссертации. Хотя каждый отдельный случай не является основанием к такому обобщению, но нельзя исключить что именно его роль в исследованиях с радиоактивными изотопами привела в последующем к резкому ухудшению состояния здоровья и к скоропостижной смерти в 1982 г. от рака лёгкого.

Соратниками к его 100-летнему юбилею при организационном участии дочери Ю.А. Классовского подготовлена к изданию монография [6], где опубликованы уникальные материалы, полученные автором в указанных выше экспериментах на животных различных биологических видов. Её издание позволило пополнить широкий спектр знаний у специалистов по радиобиологии, радиотоксикологии и радиационной медицине новыми сведениями в области этиологии, патогенеза и патологической анатомии воздействия инкорпорированных продуктов ядерного деления и механизма развития разновременных радиационных эффектов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Классовский Ю.А. Регенерация и опухолеобразование в щитовидной железе после облучения йодом-131 // Восстановительные процессы при поражении: организма ионизирующей радиацией: Материалы конференции. М., 1966. С. 93–95.
2. Классовский Ю.А. Зависимость эффекта облучения от распределения дозы в гистологических структурах щитовидной железы // Радиационная эндокринология. Обнинск. 1967. С. 40–42.
3. Классовский Ю.А. О влиянии фактора микрораспределения дозы на эффект облучения щитовидной железы // Вестник Академии медицинских наук. 1967. № 12. С. 25–30.
4. Классовский Ю.А., Василенко И.Я., Терехов Н.Л. Методы и результаты оценки эквивалентной дозы облучения щитовидной железы экспериментальных животных и человека различными радиоактивными изотопами йода и их смесями // В кн.: Радиобиологический эксперимент и человек. – М.: Атомиздат, 1970. – С. 155 – 167.
5. Классовский Ю.А. Вопросы этиологии и патогенеза опухолей щитовидной железы при внутреннем облучении радиоактивными изотопами йода // Распределение, кинетика обмена и биологическое действие радиоактивных изотопов йода. М.: Медицина, 1970. С. 134–143.
6. Классовский Ю.А. Радиационные эффекты от облучения на радиоактивном следе после испытательных ядерных взрывов. Вопросы этиологии и патогенеза. М.: Издательство МДВ, 2024. 360 с.

REFERENCES

1. Klassovsky Yu.A. Regeneration and Tumor Formation in the Thyroid Gland after Irradiation with Iodine-131. *Vosstanovitelnyye Protsessy pri Porazhenii: Organizma Ioniziruyushchey Radiatsiyey* = Restorative Processes when the Body Is Damaged by Ionizing Radiation. Conference Materials. Moscow, 1966. P. 93–95 (In Russ.).
2. Klassovsky Yu.A. Dependence of the Effect of Radiation on the Dose Distribution in the Histological Structures of the Thyroid Gland. *Radiatsionnaya Endokrinologiya* = Radiation Endocrinology. Obninsk. 1967. P. 40–42 (In Russ.).
3. Klassovsky Yu.A. On the Influence of the Dose Microdistribution Factor on the Effect of Irradiation of the Thyroid Gland. Bulletin of the Academy of Medical Sciences. 1967;12:25–30 (In Russ.).
4. Klassovsky Yu.A., Vasilenko I.Ya., Terekhov N.L.. Methods and Results of Assessing the Equivalent Dose of Irradiation of the Thyroid Gland of Experimental Animals and Humans with Various Radioactive Isotopes of Iodine and Their Mixtures. *Radiobiologicheskiy Eksperiment i Chelovek* = Radiobiological Experiment and Man. Moscow, Atomizdat, 1970. P. 155–167. (In Russ.).
5. Klassovsky Yu.A. Questions of the Etiology and Pathogenesis of Thyroid Tumors During Internal Irradiation with Radioactive Iodine Isotopes. *Raspredeleniye, Kinetika Obmena i Biologicheskoye Deystviye Radioaktivnykh Izotopov Yoda* = Distribution, Kinetics of Metabolism and Biological Effect of Radioactive Iodine Isotopes. Moscow, Meditcina, 1970. P. 134–143 (In Russ.).
6. Klassovsky Yu.A. Effects of external and internal exposures that arise from the fallout processes of nuclear explosions. Some questions of aetiology and pathogenesis. *Dejstvie vneshnego i vnutrennego obluchenij v usloviyah formirovaniya radioaktivnyh sledov yadernyh vzryvov. Voprosy etiologii i patogeneza.* Moscow, MDV Publishing House, 2024. 360 p. (In Russ.).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.
Участие авторов. Статья подготовлена с равным участием авторов.
Поступила: 20.01.2024. Принята к публикации: 27.02.2024.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.
Financing. The study had no sponsorship.
Contribution. Article was prepared with equal participation of the authors.
Article received: 20.01.2024. Accepted for publication: 27.02.2024.

ДЕЛЕГАЦИЯ ИЗ ТУРЕЦКОЙ РЕСПУБЛИКИ ПОСЕТИЛА ФМБЦ им.А.И. БУРНАЗЯНА

Делегация атомной электростанции «Аккую» (Турецкая Республика) и представители Министерства здравоохранения Турции посетили Федеральный медицинский биофизический центр им.А.И. Бурназяна ФМБА России, являющийся флагманским учреждением российского здравоохранения в области биофизики, радиационной и ядерной медицины, для изучения передового опыта в вопросах радиационно-гигиенического и медицинского обслуживания сотрудников АЭС.

АЭС «Аккую» станет первой атомной электростанцией в истории Турции и будет состоять из четырех энергоблоков, которые после ввода в эксплуатацию смогут обеспечивать 10% потребностей Турции в электроэнергии. Запустить первый энергоблок планируют в 2025 году.

Делегацию Турецкой республики встретил генеральный директор ГНЦ ФМБЦ им.А.И. Бурназяна ФМБА России, Александр Самойлов, заместитель директора департамента кадровой политики – начальник отдела вознаграждения и социальной работы ГК «Росатом» Мария Калинина и начальник отдела радиационной, промышленной безопасности и охраны труда генеральной инспекции ГК «Росатом» Владимир Романов, а также представители ФМБА России.

В рамках визита зарубежная делегация посетила уникальный измерительный комплекс «Счетчик излучения человека», аналогов которого в мире нет: внутри помещения нулевой радиационный фон, так как он построен из металла, изготовленного до проведения ядерных испытаний. Оборудование, установленное внутри комплекса, позволяет определять с большой точностью все типы радионуклидов, содержащихся в организме человека и биологических объектах. Также, вниманию гостей был представлен мобильный госпиталь (машины реанимации, рентгенологии, скорой помощи), который способен оказывать медицинскую помощь в труднодоступных отдаленных участках местности.

На встрече генеральный директор Александр Самойлов рассказал об истории развитии Центра и перспективах сотрудничества. Отметив, что основным направлением деятельности Центра является проведение фундаментальных и прикладных научных исследований в области: радиобиологии, радиационной медицины и гигиены, обеспечения радиационной безопасности, аварийной медико-дозиметрической готовности и экстренного реагирования, разработки препаратов в сфере ядерной медицины, биомедицинских технологий.

Учеными Центра были представлены несколько докладов: «Радиационно-гигиеническое сопровождение эксплуатации атомной станции», «Мониторинг состояния здоровья населения, проживающего на территории влияния АЭС», «Организация аварийного медицинского реагирования ФМБА России в случае радиационных аварий на АЭС».

Одним из акционеров АЭС «Аккую» является Госкорпорация «Росатом». На встрече начальник отдела радиационной, промышленной безопасности и охраны труда генеральной инспекции ГК «Росатом» Владимир Романов рассказал о деятельности по контролю за радиационной безопасностью, отметил результаты мониторинга и осветил системы нормативного и законодательного обеспечения этих вопросов.

В завершении встречи стороны отметили потенциальные направления сотрудничества в области радиационной защиты и ядерной безопасности, изучения радиологических последствий аварий, медицинских последствий у пострадавших при радиационных авариях, оказание медицинской помощи пострадавшим в ЧС, обучения специалистов, а также организации методического сопровождения работы медицинской и санитарно-эпидемиологической службы АЭС, в том числе при чрезвычайных ситуациях.

ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС
В ON-LINE КАТАЛОГЕ
«ПРЕССА РОССИИ»
АГЕНТСТВА «КНИГА-СЕРВИС»
71450

УЧЕНЫЕ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. БУРНАЗЯНА ПРИНЯЛИ УЧАСТИЕ В РАБОТЕ 71-Й СЕССИИ НКДАР ООН

С 20 по 24 мая 2024 года в г. Вена, Австрия, состоялась 71-я сессия Научного комитета по действию атомной радиации Организации Объединенных Наций. ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России представляли постоянные члены официальной российской делегации заведующий отделом промышленной радиационной гигиены д.т.н. С.М. Шинкарев и заведующий лабораторией регулирующего надзора за объектами ядерного наследия, к.б.н. С.М. Киселев.

В этом году к работе надо проектами и документами Комитета в качестве экспертов были привлечены молодые специалисты Центра Кроткова Юлия, Бельских Юрий, Максимов Алексей, Малахова Анна, Шитова Анастасия. В процессе подготовки к работе Комитета сотрудники проанализировали и дали свои комментарии на документы, направленные для рецензирования.

Основное внимание было уделено обсуждению проектов двух важных научных документов: «Оценка повторного первичного рака после радиотерапии» и «Оценка облучения населения от источников ионизирующего излучения», которые планируется опубликовать в 2025 г. Целью первого документа является ознакомление научной и медицинской аудитории с тем фактом, что лечение рака с помощью лучевой терапии может сопровождаться нецелевым воздействием, которое в некоторых случаях может выражаться возникновением повторного первичного рака.

Оценки, представленные Комитетом, базируются на выводах рабочей группы, включающей радиационных онкологов, дозиметристов и эпидемиологов. Второй документ является обновлением доклада НКДАР ООН 2008 г. и призван представить современную научные оценки облучения населения от источников ионизирующего излучения. Над его разработкой трудилось 37 экспертов из 17 государств-членов ООН, в том числе специалисты нашего Центра.