

СОДЕРЖАНИЕ

Том 60, номер 4, 2020

Изучение последствий радиационных аварий

Клеточный состав периферической крови у внутриутробно облученных жителей р. Теча

*А. В. Возилова, Ю. Р. Ахмадуллина, В. П. Пушкарев,
Я. В. Кривошапова, А. В. Аклеев*

341

Радиационная физиология

Экспериментальные подходы к подготовке и проведению изучения эффектов облучения на когнитивные функции низших приматов

*И. В. Бондарь, Л. Н. Васильева, Л. В. Терещенко, И. Д. Шамсиев,
В. Н. Анисимов, Г. В. Мицын, А. В. Латанов*

352

Молекулярная радиобиология

Радиационно-индуцированные изменения ядерной ДНК в нейронах головного мозга

И. Б. Ушаков, В. П. Федоров

362

Радиационная биофизика

Изменение конформации каротиноидов семян гибридов кукурузы при действии ультрафиолета и α -частиц

О. В. Слатинская, Ч. Н. Раденович, В. В. Шутова, Г. В. Максимов

371

Модификация радиационных эффектов

Препарат Б-190 (индралин) в свете истории формирования представлений о механизме действия радиопротекторов

М. В. Васин

378

Оценка эффективности профилактического применения Б-190 и ацизола у белых беспородных мышей при комбинированном воздействии рентгеновского излучения и монооксида углерода

А. В. Завирский, В. А. Башарин, В. В. Зацепин, П. Г. Толкач

396

Экспериментальная оценка противолучевой эффективности β -эстрадиола, индометоефена и препарата ВР-С2

В. Н. Быков, И. С. Драчёв, А. В. Панченко, Е. И. Федорос, С. Е. Пигарев

404

Неионизирующие излучения

Изучение процессов УФ-модификации фицина, свободного и иммобилизованного на матрице хитозана

*С. М. Панкова, М. Г. Холявка, М. С. Кондратьев,
Ю. М. Вышкворкина, А. Н. Лукин, В. Г. Артюхов*

411

Радионуклиды

Оценка накопления ^{137}Cs рыбой пресноводного водоема: результаты исследований в Щекинском водохранилище

*Н. В. Кузьменкова, Л. Е. Ефимова, М. М. Иванов, А. К. Рожкова,
Т. Вада, К. Ханба, В. Н. Голосов*

418

Радиоэкология

Распределение естественных радионуклидов и ^{137}Cs в профилях почв лесных, агро- и урбоэкосистем Московской области

Д. Н. Липатов, Д. В. Манахов, С. В. Мамихин, Г. И. Агапкина

426

Хроника

XLVIII Международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому

С. И. Санжарова, О. Э. Пронина

439

Радиобиологический марафон Юрия Григорьевича Григорьева

И. Б. Ушаков

441

Игорю Николаевичу Гудкову – 80 лет

446

Contents

Vol. 60, No. 4, 2020

Study of the Consequences of Radiation Accidents

Peripheral Blood Cell Composition in the In-Utero Exposed
Techa River Residents

*A. V. Vozilova, J. R. Akhmadullina, V. P. Pushkarev,
I. V. Krivoschapova, A. V. Akleyev*

341

Radiation Physiology

Experimental Approaches for Preparation and Conduction the Study
of the Effects of Radiation to Cognitive Functions of Non-human Primates

*I. V. Bondar, L. N. Vasilieva, L. V. Tereshchenko, I. D. Shamsiev,
V. N. Anisimov, G. V. Mytsin, A. V. Latanov*

352

Molecular Radiobiology

Radiation-induced Changes of Nuclear DNA in Neurons of the Brain

I. B. Ushakov, V. P. Fyodorov

362

Radiation Biophysics

The Changes of the Seed Carotenoids in the Corn Hybrids during
Ultraviolet Radiation and Radiation Actions

O. V. Slatinskaya, Ch. N. Radenivich, V. V. Shoutova, G. V. Maksimov

371

Modification of Radiation Effects

B-190 (Indralin) in the Light of History of Formation of Ideas
of the Mechanism of Action of Radioprotectors

M. V. Vasin

378

Estimation of Efficiency of Preventive Use of B-190 and Acysol
in White Outbred Mice under the Combined Exposure
of X-Ray Radiation and Carbon Monoxide

A. V. Zavrisky, V. A. Basharin, V. V. Zatsepin, P. G. Tolkach

396

Experimental Estimation of the Anti-radiation Efficiency of β -Estradiol,
Indometophene and Composition BP-C2

V. N. Bykov, I. S. Drachev, A. V. Panchenko, E. I. Fedoros, S. E. Pigarev

404

Non-Ionizing Radiation

Investigation of UV Modification Processes for Free and Immobilized
on the Chitosan Matrix Ficin

*C. M. Pankova, M. G. Holyavka, M. S. Kondratyev, Yu. M. Vyshkvorkina,
A. N. Lukin, V. G. Artyukhov*

411

Radionuclides

Assessment of ^{137}Cs Accumulation in Freshwater Fish: Investigation
Results in the Schekino Reservoir

*N. V. Kuzmenkova, L. E. Efimova, M. M. Ivanov, A. K. Rozhkova,
T. Wada, K. Nanba, V. N. Golosov*

418

Radioecology

Distribution of Natural Radionuclides and ^{137}Cs in Soil Profiles of Forest,
Agricultural and Urban Ecosystems of the Moscow Region

D. N. Lipatov, D. V. Manakhov, S. V. Mamikhin, G. I. Agapkina

426

Chronicle

XLVIII International Radioecological Readings Dedicated
to the Full Member of the VASHNIL V. M. Klechkovsky

S. I. Sanzharova, O. E. Pronina

439

Yuri Grigoriev Radiobiological Marathon

I. B. Ushakov

441

Igor Nikolaevich Gudkov is 80 Years Old

446

ИЗУЧЕНИЕ ПОСЛЕДСТВИЙ РАДИАЦИОННЫХ АВАРИЙ

УДК 611.018.5:611.013:614.876:539.1.047

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ВНУТРИУТРОБНО ОБЛУЧЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ р. ТЕЧА

© 2020 г. А. В. Возилова^{1,*}, Ю. Р. Ахмадуллина^{1,2}, В. П. Пушкарев¹,
Я. В. Кривошапова¹, А. В. Аклев^{1,2}

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск, Россия

² Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

*E-mail: vozilova@urcrm.ru

Поступила в редакцию 13.08.2019 г.

После доработки 16.09.2019 г.

Принята к публикации 18.09.2019 г.

Представлены результаты исследования клеточного состава периферической крови у жителей прибрежных сел р. Теча Челябинской области, хроническое облучение которых началось внутриутробно и продолжилось в постнатальный период. Исследование проводилось в отдаленный период после начала радиационного воздействия с 1963 по 2017 г. Диапазон доз от суммарного внутриутробного и постнатального облучения красного костного мозга у обследованных составил 1–1905 мГр. Группа сравнения (условный контроль) сформирована из лиц, проживавших в тех же районах, но подвергшихся радиационному воздействию только в постнатальный период онтогенеза. Показатели эритроцитарного, тромбоцитарного и лейкоцитарного ростка изучали в соответствии с возрастной периодизацией. Среднегрупповые значения показателей периферической крови как в группах внутриутробно облученных, так и в группах постнатально облученных людей соответствовали нормальным физиологическим значениям. Различия тромбоцитарного и эритроцитарного звеньев между облученными лицами преимущественно были отмечены в средней и старшей возрастной группе. Наиболее изменчивыми оказались количество эритроцитов, уровень гемоглобина и цветной показатель крови. У внутриутробно облученных мужчин всех возрастов уровень гемоглобина был выше, чем в группе сравнения. При оценке лейкоцитарного компартмента периферической крови выявлены разносторонние изменения для различных клеточных ростков между группами лиц, подвергшихся воздействию радиации во внутриутробный период или только в постнатальный этап онтогенеза. У лиц старшего возраста отличия от контроля отмечены во всех клеточных ростках. Показатели нейтрофилов были ниже, чем в контроле, а лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов выше.

Ключевые слова: внутриутробно облученные лица, гемопоэз, костный мозг, лейкоциты, лимфоциты, периферическая кровь, река Теча, нейтрофилы, эритроциты, тромбоциты

DOI: 10.31857/S0869803120030169

Гемопоэз играет важную роль в функционировании организма. Наряду с иммунной кроветворная система является одной из наиболее радиочувствительных. Считается, что радиационно-индуцированные нарушения системы гемопоэза значимы в формировании ранних и отдаленных последствий облучения [1].

Для оценки последствий воздействия ионизирующего излучения на здоровье человека, помимо дозовых характеристик, немаловажно учитывать период онтогенеза, в котором началось воздействие. Экспериментальные исследования указывают на то, что наиболее радиочувствительным периодом онтогенеза является внутриутробный период [2].

Данные о влиянии ионизирующего излучения на эмбрион и плод человека в основном были получены при обследовании детей, рожденных женщинами, прошедшими лучевую терапию во время беременности, а также при наблюдении за здоровьем внутриутробно облученных лиц во время атомной бомбардировки г. Хиросимы и г. Нагасаки (Япония) [3, 4]. Наиболее тщательно прослежены эффекты острого облучения на организм человека при больших мощностях доз. Вопрос о том, как влияет хроническое облучение, начавшееся внутриутробно, на состояние организма в отдаленные сроки — дискутируется. Отчасти это происходит из-за противоречивых оценок индивидуальных доз для облученного населения, а также из-за разнообразия факторов нерадиаци-

онной природы, которые достаточно сильно модифицируют эффект хронического низкоинтенсивного облучения.

Популяция людей, подвергшихся аварийному хроническому низкоинтенсивному облучению на Южном Урале, обследуется специалистами ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России более 60 лет. Хроническое облучение жителей прибрежных сел р. Теча началось с 1948 г., а максимальные мощности доз облучения наблюдались с 1949 г. по 1952 г. Облучение было сочетанным – внешнее γ -облучение преимущественно за счет ^{137}Cs , содержащегося в речной воде, донных отложениях и пойменных почвах, и внутреннее β -облучение за счет поступления долгоживущих радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$ с пищевыми продуктами и питьевой водой в организм [5].

Ранее анализ данных по состоянию гемопоэза у местных жителей больше концентрировался на группе лиц, у которых облучение началось в постнатальный период, т.е. тех, кто родился по декабрь 1949 г. включительно. Для этих людей были индивидуализированы дозы от внешнего γ -излучения на красный костный мозг (ККМ) и рассчитаны дозы на ККМ от внутреннего излучения на основании прижизненных измерений содержания радионуклидов ^{90}Sr в организме. Клеточный состав периферической крови у облученных жителей прибрежных сел р. Теча изучался в течение длительного времени и затронул период максимального радиационного воздействия, период восстановления гемопоэза и отдаленные сроки [6–8].

В 2011 г. в УНПЦ РМ была сформирована когорта внутриутробно облученных людей, куда было включено 11574 человека. Это были лица, которые родились в период с 02.01.1950 по 30.09.1961 г. Ионизирующее излучение воздействовало на них внутриутробно и влияние продолжилось постнатально. Более того эти люди – потомки облученных родителей (одного или обоих), что подразумевает облучение половых клеток матери и отца до зачатия. В тех условиях на эмбрион и плод воздействовало равномерное внешнее γ -излучение. Внутреннее облучение определялось ^{137}Cs , поступавшим в организм беременной женщины с продуктами питания местного производства и водой. Неравномерное облучение ККМ формировалось за счет поступления радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$ в костную ткань плода. Средняя доза внутриутробного облучения ККМ развивающегося организма составила 30 мГр, причем около 90% вносило β -излучение от радионуклидов $^{89,90}\text{Sr}$. Максимальные значения дозы на ККМ за внутриутробный период в когорте достигали 1050 мГр [9].

Индивидуализированные дозы для внутриутробно облученных лиц были рассчитаны в биологической лаборатории УНПЦ РМ, что позво-

лило провести анализ состояния гемопоэза у этих людей. В настоящее время старшие из них достигли 60-летнего возраста, что также делает возможным сравнивать полученные показатели с группой ранее обследованных лиц, облучение которых началось в постнатальный период.

Цель настоящей статьи – проанализировать особенности клеточного состава периферической крови в отдаленные сроки после начала радиационного воздействия у людей, хроническое облучение которых началось внутриутробно и продолжилось после рождения.

Впервые в работе при анализе данных была использована возрастная периодизация для обследуемых групп (юноши, взрослые, старшие лица). Развитие дозиметрической системы УНПЦ РМ (TRDS-2016) позволило использовать уточненные индивидуализированные дозы облучения для оценки зависимости доза–эффект для показателей гемопоэза у обследуемых лиц. В данном исследовании выбор группы сравнения для внутриутробно облученных был максимально приближен к требованиям “случай–контроль”.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Характеристика обследованных групп

Исследование клеточного состава периферической крови у облученных людей проводили в отдаленные сроки от начала хронического радиационного воздействия в период с 1963 по 2017 г. в клиническом отделении УНПЦ РМ (ранее ФИБ-4). Из анализа данных исключали те показатели, которые были получены в период заболеваний, влияющих на гемопоэз (паразитарные инвазии, онкологическая патология, острые и хронические кровопотери вследствие геморроя, миомы матки, период острых или обострения хронических воспалительных заболеваний).

Для исследования были сформированы две группы обследуемых людей:

1) группу внутриутробно облученных составили 446 человек, облучение которых началось в период внутриутробного развития и продолжилось после рождения. Эти лица родились в период с 1950 г. по 1960 г. Период внутриутробного и раннего постнатального развития этих людей пришелся на время формирования основной части кумулятивной дозы облучения ККМ. Дозы облучения ККМ плода у обследованных располагались в ряду от 0.0001 до 357.91 мГр. Дозы от постнатального облучения ККМ располагались в диапазоне 0.0007–1905.29 мГр. Мощности дозы постнатального облучения в период максимальных воздействий достигали 0.05–500 мГр/год. Дозы на гонады родителей были сопоставимы (для отцов от 0.0002 до 29 мГр, для матерей от 0.00007 до 30 мГр). При анализе данных для внутриутробно облучен-

Таблица 1. Характеристика обследованных групп
Table 1. Characteristics of the studied groups

Возрастные группы	Группы	Всего человек	Пол		Доза на ККМ, мГр/средняя		
			жен.	муж.	внутри- утробная	пост- натальная	суммарная
Младший возраст	внутриутробно облученные	49	38	11	0–358 46	1–1582 255	2–1583 302
	постнатально облученные	47	37	10	0	2–1592 331	2–1592 331
Средний Возраст	внутриутробно облученные	192	123	69	0–358 32	0–1905 151	1–1905 184
	постнатально облученные	185	116	69	0	1–1688 183	1–1688 183
Старший Возраст	внутриутробно облученные	205	160	45	0–358 33	0–1695 158	1–1695 191
	постнатально облученные	161	122	39	0	1–1590 180	1–1590 180

ных лиц были использованы суммарные значения доз на ККМ от внутриутробного и постнатального (внутреннего и внешнего) облучения;

2) группу постнатально облученных лиц составили 393 человека, родившихся до 1949 г. и проживавших в тех же административных районах, что и лица из первой группы. Доза облучения ККМ у обследованных в этой группе людей располагалась в ряду от 0.59 до 2831 мГр. Мощности дозы в период максимальных воздействий достигали от 30 до 1100 мГр/год. При анализе данных дозы облучения ККМ были рассчитаны как суммарные от внутреннего и внешнего облучения. В эту группу были включены пациенты, которые соответствовали группе внутриутробно облученных лиц по следующим показателям: возраст на момент обследования (по трем возрастным подгруппам), пол, национальность, кумулятивная доза облучения ККМ (разница с основной группой была не более 15 мГр). Таким образом, соответствие двух выборок было максимально приближено к требованиям “случай–контроль”.

Для того чтобы исключить влияние возраста на показатели гемопоэза, мы распределили всех обследованных лиц в соответствии с возрастной периодизацией, представленной в работе [10], на три возрастные группы:

– младшая возрастная группа – подростковый и юношеский возраст – от 13 до 21 года (юноши) и от 12 до 20 лет (девушки);

– средний возраст – от 22 до 60 лет включительно (мужчины) и от 21 до 55 лет включительно (женщины);

– старший возраст – 61 год и старше (мужчины) и 56 лет и старше (женщины).

После формирования групп для исследования с учетом возраста на момент анализа периферической крови по уникальному системному номеру человека были получены усредненные данные по исследуемому показателю гемопоэза, если его оценивали более 1 раза за указанный возрастной период.

Характеристики обследованных групп облученных лиц в трех возрастных периодах представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, в юношеском возрастном диапазоне обе подгруппы включают примерно равное количество обследованных: внутриутробно облученных – 49 человек, постнатально облученных – 47 человек. Две другие группы были также сопоставимы по количеству обследованных лиц и превышали юношескую группу по численности в 3–4 раза. В старшей группе постнатально облученных лиц было обследовано на 44 человека меньше, чем в группе внутриутробно облученных. Это объясняется тем, что лиц, подвергшихся в постнатальный период развития радиационному воздействию в малых дозах, было меньше, чем индивидов, облученных в высоких дозах. Диапазон доз на ККМ у обследованных от суммарного внутриутробного и постнатального облучения составил от 1 до 1905 мГр. Примерно 60–80% обследованных во всех группах были женщины, большинство обследованных лиц были представлены следующими национальностями: русские, татары и башкиры.

Методы исследования

Клеточный состав периферической крови за весь период наблюдений с 1963 г. по 2017 г. изучали с использованием стандартных методов лабо-

Таблица 2. Показатели тромбоцитарно-эритроцитарного звена периферической крови у женщин, ($M \pm SE$)
Table 2. Parameters of thrombocytic-erythrocytic lineage of the peripheral blood in females, ($M \pm SE$)

Показатели	Младшая группа 12–20 лет		Средняя группа 21–55 лет		Старшая группа >56 лет	
	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные
Эр, $\times 10^{12}/л$	3.94 \pm 0.17	4.23 \pm 0.06	4.35 \pm 0.03 <i>p</i> = 0.02	4.23 \pm 0.03	4.66 \pm 0.03 <i>p</i> = 0.0001	4.40 \pm 0.03
Нб, г/л	124 \pm 2	122 \pm 2	127 \pm 1	127 \pm 1	139 \pm 1 <i>p</i> = 0.003	135 \pm 1
ЦП	0.90 \pm 0.01	0.87 \pm 0.02	0.88 \pm 0.01	0.90 \pm 0.01 <i>p</i> = 0.007	0.90 \pm 0.01	0.92 \pm 0.01 <i>p</i> = 0.002
Ртц, %	4.51 \pm 0.60	5.06 \pm 0.53	5.58 \pm 0.70	5.48 \pm 0.35	–	5.38 \pm 0.48
Трц, $\times 10^9/л$	263 \pm 9	280 \pm 16	265 \pm 5	257 \pm 5	250 \pm 4	253 \pm 5

Примечание. Эр. – эритроциты, Нб – гемоглобин, ЦП – цветной показатель, Ртц – ретикулоциты, Трц – тромбоциты.

ракторной диагностики, которые были приняты в лабораторной практике в конкретный период. До 1968 г. уровень гемоглобина определяли, используя гемометр Сали, а с 1969 г. в клинико-диагностических лабораториях используется унифицированный гемиглобинцианидный метод. Количество эритроцитов и лейкоцитов определяли с помощью камеры Горяева, число тромбоцитов оценивали в мазках, окрашенных по Фонио. С 1969 г. клеточный состав периферической крови оценивали на автоматических анализаторах “Celloscope”, “Пикоскел”. С 1995 г. количество лейкоцитов, тромбоцитов и содержание гемоглобина оценивают на анализаторе “Digicell-1400”. Подсчет лейкоцитарной формулы крови во все сроки проводили при микроскопическом исследовании мазков, окрашенных по методу Романовского–Гимза. Подсчет количества ретикулоцитов проводили на препаратах после суправитальной окраски бриллианткрезилблау [7, 8]. В ходе исследования [8] для унификации результатов проведен анализ данных по гемопоэзу, полученных в разное время в лаборатории с использованием различного оборудования. Для этих целей взяты данные из справочной литературы и техническая документация анализаторов. Сделано заключение о сопоставимости и преемственности методик, применяемых в клинической лаборатории УНПЦ РМ и в стране. Отметим, что в нашем исследовании при анализе данных сравнивали показатели, полученные в одной и той же лаборатории и примерно в одно и то же время для всех обследуемых одной и той же возрастной группы, что уменьшает ошибку измерения.

Методы статистической обработки данных

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программных пакетов SPSS Statistic 17.0, Excel 2010. Статистическую

значимость различий в выборках оценивали непараметрическим критерием Манна–Уитни. Для проведения корреляционного анализа зависимости исследуемых показателей от дозы облучения на ККМ использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения показателей тромбоцитарного и эритроцитарного звена периферической крови обследованных групп представлены в табл. 2 и 3, а лейкоцитарного звена – в табл. 4 и 5.

Необходимо особо отметить, что выявленные среднегрупповые значения показателей периферической крови как у внутриутробно облученных, так и у постнатально облученных людей соответствуют нормальным физиологическим значениям [12].

Показатели эритроцитарного и тромбоцитарного звена периферической крови в зависимости от возраста и пола обследуемых лиц имели свои особенности (табл. 2, 3).

Как видно из табл. 2, внутриутробно облученные девушки по показателям эритроцитарного и тромбоцитарного звена не отличались от девушек, облучение которых пришлось только на постнатальный период.

У внутриутробно облученных женщин среднего и старшего возраста отмечали значимо повышенное количество эритроцитов и существенно пониженное значение цветного показателя крови относительно соответствующих показателей у постнатально облученных женщин. При этом уровень гемоглобина был значимо выше только у внутриутробно облученных женщин старшей возрастной группы.

Таблица 3. Показатели тромбоцитарно-эритроцитарного звена периферической крови у мужчин, ($M \pm SE$)
Table 3. Parameters of thrombocytic-erythrocytic lineage of the peripheral blood in males, ($M \pm SE$)

Показатели	Младшая группа 13–21 год		Средняя группа 22–60 лет		Старшая группа > 61 года	
	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные
Эр., $\times 10^{12}/л$	4.68 \pm 0.17	4.42 \pm 0.06	4.94 \pm 0.04 $p = 0.0001$	4.58 \pm 0.05	5.09 \pm 0.06 $p = 0.001$	4.62 \pm 0.06
Нб, г/л	137.27 \pm 5.90 $p = 0.038$	120.15 \pm 5.49	149.54 \pm 1.39 $p = 0.009$	143.11 \pm 1.65	155.00 \pm 1.53 $p = 0.001$	141.49 \pm 1.98
ЦП	0.88 \pm 0.02	0.82 \pm 0.04	0.91 \pm 0.01	0.95 \pm 0.01 $p = 0.01$	0.91 \pm 0.01	0.92 \pm 0.01
Ртц, %	3.93 \pm 0.49	6.20 \pm 2.08	5.08 \pm 0.60	4.55 \pm 2.30	–	5.00 \pm 0.90
Трц, $\times 10^9/л$	267.71 \pm 24.17	260.78 \pm 17.28	240.16 \pm 5.69	266.12 \pm 6.56 $p = 0.004$	231.00 \pm 6.80	234.00 \pm 9.30

Примечание. Эр. – эритроциты, Нб – гемоглобин, ЦП – цветной показатель, Ртц – ретикулоциты, Трц – тромбоциты.

Таблица 4. Показатели лейкоцитарного звена периферической крови у женщин, ($M \pm SE$)
Table 4. Parameters of the leukocytic lineage of the peripheral blood in females, ($M \pm SE$)

Показатели	Младшая группа 12–20 лет		Средняя группа 21–55 лет		Старшая группа >56 лет	
	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные
Лейкоциты, $10^9/л$	6.80 \pm 0.26	7.23 \pm 0.31	6.37 \pm 0.13	6.37 \pm 0.13	6.09 \pm 0.10	6.19 \pm 0.14
Нейтрофилы, сегмен., %	51.14 \pm 1.52 $p = 0.03$	44.94 \pm 1.17	56.00 \pm 0.63 $p = 0.0001$	52.00 \pm 0.81	52.00 \pm 0.60	57.00 \pm 0.66 $p = 0.0001$
Нейтрофилы, сегмен., $\times 10^9/л$	3.48 \pm 0.21 $p = 0.003$	3.28 \pm 0.18	3.56 \pm 0.09 $p = 0.026$	3.30 \pm 0.09	3.17 \pm 0.07	3.55 \pm 0.10 $p = 0.003$
Нейтрофилы, палоч., %	4.14 \pm 0.59	5.72 \pm 0.41 $p = 0.001$	3.90 \pm 0.27	4.10 \pm 0.23	0.69 \pm 0.11	3.43 \pm 0.20 $p = 0.0001$
Нейтрофилы, палоч., $10^9/л$	0.27 \pm 0.04	0.41 \pm 0.03 $p = 0.001$	0.26 \pm 0.03	0.27 \pm 0.02	0.04 \pm 0.007	0.22 \pm 0.01 $p = 0.0001$
Лимфоциты, %	33.17 \pm 1.17	37.03 \pm 1.28 $p = 0.045$	33.00 \pm 0.59	35.17 \pm 0.72 $p = 0.02$	35.11 \pm 0.58 $p = 0.04$	33.20 \pm 0.64
Лимфоциты, $\times 10^9/л$	2.20 \pm 0.10	2.66 \pm 0.16 $p = 0.024$	2.06 \pm 0.05	2.22 \pm 0.06	2.13 \pm 0.05	2.05 \pm 0.06
Моноциты, %	7.31 \pm 0.55	8.01 \pm 0.40	4.88 \pm 0.17	6.05 \pm 0.23 $p = 0.0001$	7.66 \pm 0.17 $p = 0.0001$	4.49 \pm 0.24
Моноциты, $\times 10^9/л$	0.48 \pm 0.04	0.57 \pm 0.03 $p = 0.048$	0.31 \pm 0.01	0.38 \pm 0.02 $p = 0.0001$	0.46 \pm 0.01 $p = 0.0001$	0.28 \pm 0.02
Эозинофилы, %	3.80 \pm 0.45	3.68 \pm 0.40	2.50 \pm 0.18	2.62 \pm 0.17	3.23 \pm 0.14 $p = 0.0001$	1.91 \pm 0.13
Эозинофилы, $\times 10^9/л$	0.24 \pm 0.03	0.26 \pm 0.03	0.15 \pm 0.01	0.17 \pm 0.01	0.19 \pm 0.009 $p = 0.0001$	0.12 \pm 0.008
Базофилы, %	0.51 \pm 0.13	0.49 \pm 0.11	0.34 \pm 0.04	0.30 \pm 0.04	1.51 \pm 0.06 $p = 0.0001$	0.21 \pm 0.04
Базофилы, $\times 10^9/л$	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.007	0.021 \pm 0.0003 $p = 0.05$	0.018 \pm 0.002	0.09 \pm 0.004 $p = 0.0001$	0.014 \pm 0.003

Таблица 5. Показатели лейкоцитарного звена периферической крови у мужчин, ($M \pm SE$)
Table 5. Parameters of the leukocytic lineage of the peripheral blood in males, ($M \pm SE$)

Показатели	Младшая группа 13–21 год		Средняя группа 22–60 лет		Старшая группа >61 года	
	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные	внутриутробно облученные	постнатально облученные
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6.42 ± 0.44	7.1 ± 0.24	6.94 ± 0.20	7.00 ± 0.18	7.36 ± 0.24 <i>p</i> = 0.015	6.5 ± 0.32
Нейтрофилы, сегмен., %	54.27 ± 1.90	46.08 ± 2.62	57.00 ± 0.94	54.26 ± 0.94	54.33 ± 1.01	57.46 ± 1.05 <i>p</i> = 0.042
Нейтрофилы, сегмен., $\times 10^9/\text{л}$	3.47 ± 0.25	3.27 ± 0.21	3.94 ± 0.15	3.80 ± 0.13	4.00 ± 0.15	3.78 ± 0.21
Нейтрофилы, палоч., %	2.00 ± 0.43	5.50 ± 0.70 <i>p</i> = 0.002	2.31 ± 0.22	4.06 ± 0.29 <i>p</i> = 0.0001	0.13 ± 0.06	3.62 ± 0.36 <i>p</i> = 0.0001
Нейтрофилы, палоч., $10^9/\text{л}$	0.13 ± 0.03	0.39 ± 0.06 <i>p</i> = 0.001	0.16 ± 0.02	0.28 ± 0.02 <i>p</i> = 0.0001	0.01 ± 0.005	0.24 ± 0.03 <i>p</i> = 0.0001
Лимфоциты, %	32.09 ± 1.76	34.48 ± 2.31	31.51 ± 0.73	32.54 ± 0.80	32.40 ± 0.86	31.69 ± 0.96
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2.07 ± 0.19	2.44 ± 0.16	2.15 ± 0.07	2.25 ± 0.61	2.39 ± 0.11 <i>p</i> = 0.031	2.05 ± 0.11
Моноциты, %	8.18 ± 1.10	8.73 ± 0.83	6.28 ± 0.31	6.04 ± 0.26	8.27 ± 10.29 <i>p</i> = 0.0001	4.54 ± 0.42
Моноциты, $\times 10^9/\text{л}$	0.52 ± 0.07	0.63 ± 0.07	0.44 ± 0.02	0.42 ± 0.02	0.61 ± 0.03 <i>p</i> = 0.0001	0.30 ± 0.03
Эозинофилы, %	3.00 ± 0.60	4.58 ± 0.82	2.64 ± 0.25	2.89 ± 0.24	3.49 ± 0.27 <i>p</i> = 0.0001	2.51 ± 0.33
Эозинофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0.20 ± 0.04	0.33 ± 0.07	0.18 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.25 ± 0.02 <i>p</i> = 0.0001	0.17 ± 0.02
Базофилы, %	0.41 ± 0.13	0.40 ± 0.15	0.70 ± 0.07 <i>p</i> = 0.0001	0.17 ± 0.05	1.37 ± 0.07 <i>p</i> = 0.0001	0.21 ± 0.06
Базофилы, $\times 10^9/\text{л}$	0.02 ± 0.007	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.005 <i>p</i> = 0.0001	0.012 ± 0.003	0.10 ± 0.005 <i>p</i> = 0.0001	0.018 ± 0.006

У внутриутробно облученных юношей среди всех показателей эритроцитарного и тромбоцитарного звена было отмечено только значимое повышение уровня гемоглобина относительно контрольной группы (табл. 3). У внутриутробно облученных мужчин среднего и старшего возраста были повышены уровни эритроцитов и гемоглобина. Кроме этого, для внутриутробно облученных мужчин средней возрастной группы было показано более низкое значение цветного показателя крови, а также у них было снижено количество тромбоцитов по сравнению с таковым показателем у постнатально облученных мужчин.

Таким образом, различия в показателях тромбоцитов и эритроцитов между сравниваемыми группами преимущественно были отмечены в средней и старшей возрастной группах. Наиболее изменчивым оказались количество эритроцитов, уровень гемоглобина и цветной показатель крови. Обращает на себя внимание, что у внутриутробно облученных мужчин всех возрастов уровень гемоглобина был выше, чем в группе сравнения.

Анализ лейкоцитарного звена периферической крови у обследуемых (табл. 4 и 5) обнаружил разнонаправленные изменения показателей клеточного состава белой крови в зависимости от по-

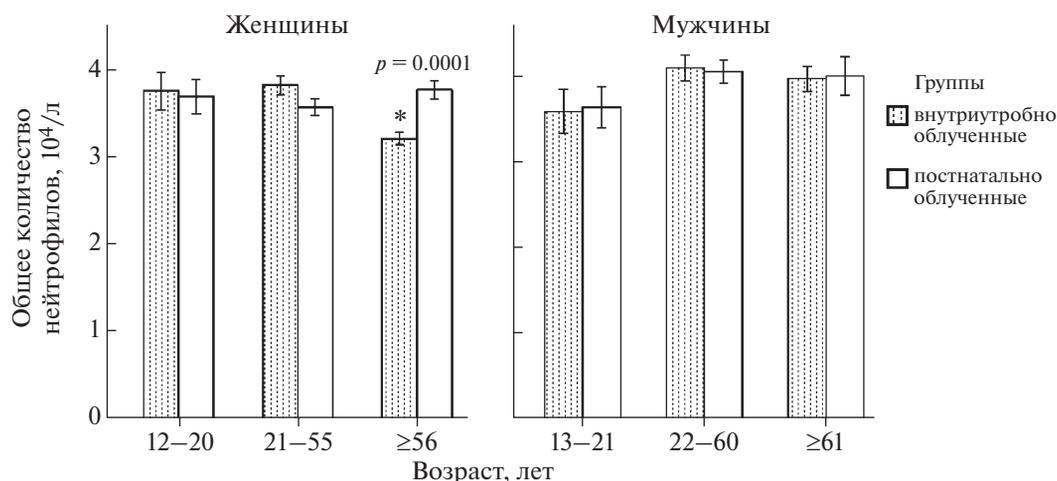


Рис. 1. Общее количество нейтрофилов у облученных людей (среднее и ошибка среднего).

Fig. 1. Total number of neutrophils in exposed persons (mean and SE).

ла и возраста. Например, общее количество лейкоцитов не отличалось между внутриутробно и постнатально облученными женщинами во всех возрастных диапазонах, но при оценке клеточности отдельных ростков наблюдались различия (табл. 4).

Так, у девушек в младшей возрастной группе статистически значимые изменения были отмечены в ростках нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов. У внутриутробно облученных девушек относительное и абсолютное значение сегментоядерных нейтрофилов было выше, а палочкоядерных нейтрофилов ниже по сравнению с такими показателями у постнатально облученных девушек. Абсолютное и относительное количество лимфоцитов, а также абсолютное значение количества моноцитов у внутриутробно облученных девушек было статистически значимо ниже, чем аналогичные показатели в группе сравнения.

У женщин в средней возрастной группе статистически значимые отличия были получены для таких клеточных ростков, как нейтрофилы, лимфоциты, моноциты и базофилы. У внутриутробно облученных женщин относительное и абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов, а также абсолютное значение количества базофилов значимо превышали рассматриваемые показатели у постнатально облученных женщин. Относительное количество лимфоцитов, относительное и абсолютное количество моноцитов было значимо ниже у внутриутробно облученных женщин по отношению к группе сравнения.

Между двумя группами обследованных женщин старшего возраста выявлены статистически значимые различия в отношении всех изученных клеточных ростков. У внутриутробно облученных женщин были снижены относительное и абсо-

лютное количество сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, но при этом повышены относительные и абсолютные показатели моноцитов, эозинофилов, базофилов и относительное количество лимфоцитов по сравнению с постнатально облученными женщинами.

На рис. 1 показано общее количество нейтрофилов у внутриутробно и постнатально облученных лиц. Обращает на себя внимание, что у внутриутробно облученных женщин старшей возрастной группы количество нейтрофилов значительно снижено по сравнению с постнатально облученными женщинами того же возраста ($3.21 \pm 0.07 \times 10^9/\text{л}$ против $3.77 \pm 0.1 \times 10^9/\text{л}$, при $p = 0.0001$).

Результаты анализа показателей лейкоцитарного звена у мужчин отражены в табл. 5. В младшей возрастной группе у внутриутробно облученных юношей было значимо снижено количество палочкоядерных нейтрофилов по сравнению с постнатально облученными юношами.

Для средней возрастной категории различия между обследованными группами лиц отмечены по абсолютному и относительному количеству палочкоядерных нейтрофилов и базофилов. У внутриутробно облученных мужчин количество палочкоядерных нейтрофилов было ниже, а базофилов выше, чем в группе сравнения.

Стоит отметить, что у мужчин старшего возраста, как и у женщин данного возрастного диапазона, наблюдалось наибольшее количество отличий по показателям белой крови среди всех клеточных ростков. У внутриутробно облученных мужчин этой возрастной категории общее количество лейкоцитов было значимо выше, чем такое в группе сравнения. При рассмотрении отдельных клеточных ростков в группе внутриутробно облученных мужчин по сравнению с

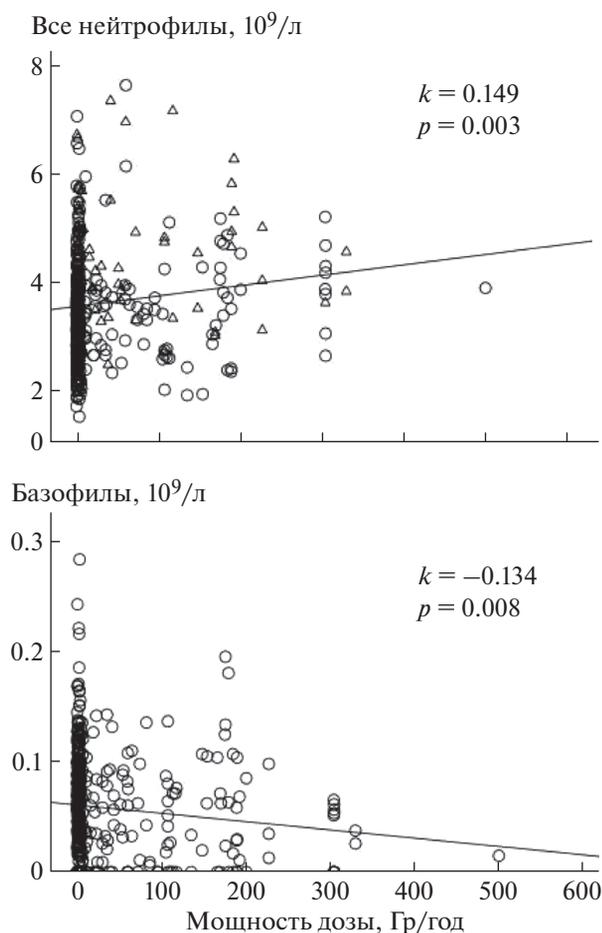


Рис. 2. Графики зависимости абсолютных значений всех нейтрофилов и базофилов от мощности дозы ККМ у всех обследованных.

Fig. 2. Graphs of the absolute number of all neutrophils and basophils dependency on dose rate to RBM in all the studied individuals.

группой сравнения отмечено понижение относительного количества сегментоядерных нейтрофилов, относительного и абсолютного количества палочкоядерных нейтрофилов, но при этом повышены уровни моноцитов, эозинофилов, базофилов, а также абсолютное количество лимфоцитов.

В группе внутриутробно облученных лиц при исследовании зависимости клеточных параметров гемопоэза от мощности дозы на максимальный период воздействия были выявлены слабые корреляционные связи для общего количества лейкоцитов ($k = 0.143$; $p = 0.004$), абсолютного и относительного количества палочкоядерных нейтрофилов ($k = 0.201$; $p = 0.0001$ и $k = 0.190$; $p = 0.0001$ соответственно), абсолютного количества сегментоядерных нейтрофилов ($k = 0.126$; $p = 0.013$), абсолютного и относительного количества базофилов ($k = -0.134$; $p = 0.008$ и $k = -0.193$; $p = 0.0001$ соответственно). На рис. 2 представле-

ны графики зависимости абсолютных значений уровня всех нейтрофилов и базофилов от мощности дозы ККМ. Видно, что с ростом дозы возрастает число нейтрофилов и снижается количество базофилов.

Таким образом, при оценке лейкоцитарного звена периферической крови у внутриутробно и постнатально облученных лиц были выявлены разносторонние изменения для показателей клеточных ростков. Обращает на себя внимание, что у мужчин и женщин старшего возраста, начавшихся облучаться внутриутробно, отличия от группы сравнения отмечены в отношении всех клеточных ростков. Причем показатели сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов были ниже, а лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов – выше.

ОБСУЖДЕНИЕ

Внутриутробный период развития организма человека состоит из нескольких стадий, которые сами по себе отличаются по радиочувствительности. Помимо размножения, роста и развития в этот период клетки эмбриона претерпевают дифференцировку, формируя ткани, и устанавливают сложнейшие связи между собой. Влияние ионизирующего излучения в этот период онтогенеза человека может рассматриваться как существенный модифицирующий фактор, приводящий к накоплению мутаций, нестабильности генома и изменению динамики гемопоэза и т.д. даже в отдаленные сроки в постнатальном периоде.

Целью настоящего исследования было проанализировать клеточные показатели гемопоэза у жителей Южного Урала, хроническое облучение которых началось во внутриутробном периоде и продолжилось постнатально. Для достижения цели было сформировано две группы лиц из жителей прибрежных сел р. Теча, для которых имелись данные показателей гемопоэза за несколько десятилетий работы клинической лаборатории ФИБ-4 (впоследствии УНПЦ РМ ФМБА России). Первую группу составили лица, облучение которых началось внутриутробно (включая гонады одного из родителей или обоих) и продолжилось постнатально. К настоящему времени эти лица достигли 60-летнего возраста, что позволило сравнить их показатели клеточного состава крови с группой лиц, облучение которых затронуло только постнатальный период (вторая группа обследуемых лиц или группа сравнения). Для того чтобы учесть влияние возраста на показатели крови, данные анализировали в трех возрастных группах – младшая, средняя и старшая, поскольку известно, что показатели гемопоэза варьируют в зависимости от возраста. Развитие дозиметрической системы TRDS-2016 позволило использовать уточненные индивидуальные дозы облучения для

внутриутробно облученных лиц, что сделало возможным сформировать группу сравнения из постнатально облученных индивидов максимально приближенно к требованиям дизайна исследования “случай—контроль”.

Клеточный состав периферической крови у облученных жителей прибрежных сел р. Теча, которые постнатально подвергались облучению в 1950–1956 гг., изучали ранее в динамике в течение длительного времени: сначала в период максимального радиационного воздействия, затем в период восстановления гемопоэза и в отдаленные сроки после радиационного воздействия. Среди обследованных лиц внутриутробно облученных индивидов не выделяли в отдельную группу и возрастной периодизации не проводили. Полученные результаты ранних исследований отражены в публикациях [6–8]. При изучении эритроцитарного звена у облученных жителей р. Теча за период 1951–2001 гг. было показано, что количество эритроцитов в периферической крови находилось в пределах нормы и не отличалось от контрольных значений за весь период наблюдений [7]. Такое постоянство можно объяснить тем, что поддержание гомеостаза эритропоэза в организме является приоритетным, поскольку обеспечивает критически важную функцию организма — тканевое дыхание. И поэтому организм стремится поддерживать именно эту ветвь гемопоэза, ослабляя, возможно, количественный состав тромбоцитов и лейкоцитов.

Что касается исследования группы внутриутробно облученных лиц, то в данной работе нами выявлено повышение числа эритроцитов в средней и старшей возрастной группе относительно группы сравнения в отдаленные сроки от начала облучения. У внутриутробно облученных мужчин всех возрастных групп и женщин старшего возраста был значимо повышен уровень гемоглобина. При этом цветной показатель крови, который соответствует среднему содержанию гемоглобина в эритроците, у внутриутробно облученных женщин среднего и старшего возраста и у мужчин среднего возраста был ниже, чем в группе сравнения. Эти данные косвенно могут указывать на то, что у внутриутробно облученных лиц старшего возраста в периферической крови достаточное количество гемоглобина достигается за счет большего количества клеток-эритроцитов. У постнатально облученных лиц количество эритроцитов было меньше, но при этом регистрировали более высокое содержание гемоглобина на один эритроцит. В этой связи интерес представляют результаты обследования детей 5–12 лет, подвергшихся облучению в утробе матери при бомбардировке г. Хиросимы и г. Нагасаки [13]. Так, показатели эритроцитов и гемоглобина в периферической крови обследуемых находились на уровне соответствующих показателей в популяциях амери-

канских и европейских детей, что было неожиданным для авторов, предполагавших увеличение количества случаев анемий.

Многолетнее воздействие низкоинтенсивного ионизирующего излучения на жителей прибрежных сел р. Теча в большей степени отразилось на показателях лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови. Наиболее выраженные изменения кроветворения отмечались в 1951–1953 гг., когда мощность дозы облучения ККМ достигала до 0,5 Гр/год. В это время выявили снижение числа лимфоцитов, нейтрофилов, моноцитов, базофилов и тромбоцитов у значительной части облученных людей. В 1954–1956 гг. произошло снижение мощности дозы облучения (мощность дозы достигала 0,1 Гр/год) и в периферической крови наблюдалась тенденция к восстановлению уровня лейкоцитов. Сначала происходило восстановление численности лимфоцитов и тромбоцитов. Так, начиная с 1961 г. средние значения показателей и количество лиц с лимфопениями и тромбоцитопениями не отличались от контрольных значений. Наиболее длительный период восстановления был характерен для нейтрофилов. Минимальный уровень нейтрофилов отмечался в 1956–1960 гг., а с 1976 г. частота нейтропений не превышала таковую в группе сравнения [7].

В нашем исследовании, которое затрагивает периоды наблюдений начиная с 1960-х годов, при анализе показателей лейкоцитарного звена у внутриутробно облученных мужчин старшего возраста было отмечено значимое повышение общего количества лейкоцитов, по сравнению с индивидами, подвергшимися воздействию радиации в постнатальный период онтогенеза (7.36 ± 0.24 и 6.5 ± 0.32 , $p = 0.015$). В младшей и средней возрастной группах отклонения показателей носили разнонаправленный характер. Так, у внутриутробно облученных женщин в этих возрастных группах отмечено значимое увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов. А у внутриутробно облученных юношей и мужчин средней возрастной группы не выявили существенных отличий уровня сегментоядерных нейтрофилов, а вот количество палочкоядерных нейтрофилов у них было значимо понижено. В старшей возрастной группе у внутриутробно облученных женщин и мужчин были отмечены схожие тенденции, а именно в этих группах были пониженные показатели нейтрофилов, а показатели остальных лейкоцитарных ростков значимо повышены относительно группы сравнения.

В группе внутриутробно облученных лиц общее количество лейкоцитов слабо коррелировало (положительно) с мощностью дозы на ККМ. Повышение количества белых кровяных клеток было преимущественно вызвано увеличением числа нейтрофилов. Вместе с тем нами отмечено, что с

возрастанием мощности дозы ККМ несколько снижалось число базофилов.

Подобные неоднозначные результаты были получены при обследовании лиц, переживших атомную бомбардировку в г. Хиросиме и г. Нагасаки. У внутриутробно облученных японцев через 5–12 лет после радиационного воздействия средний уровень общего количества лейкоцитов постепенно снижался, и основной вклад внесло падение уровня эозинофилов, что не было связано с заражением паразитарными инфекциями. Подобное снижение лейкоцитов было отмечено и для облученных взрослых японцев, обследованных в 1957 г. [13]. В исследовании [14] через 10 лет после бомбардировки у одной части пациентов зарегистрированы случаи снижения количества гранулоцитов и повышенные уровни лимфоцитов, у других индивидов наблюдалось увеличение числа эозинофилов, не связанное с паразитарной инфекцией.

Очевидно, что широкие функциональные возможности гранулоцитов компенсируют снижение показателей нейтрофилов увеличением количества других типов клеток (эозинофилов и базофилов), или наоборот, в разных возрастных группах внутриутробно облученных лиц.

В работах [15, 16] отмечено, что Т-лимфоциты способны усиливать регенерацию тканей различных органов (кровенворную в том числе), например, Т-лимфоциты предположительно могут участвовать в активации эритропоэза в эритробластических островках костного мозга. В качестве рабочей гипотезы можно предположить, что у внутриутробно облученных лиц в старшей и средней возрастных группах увеличение количества эритроцитов может быть опосредовано активной стимуляцией эритропоэза Т-лимфоцитами.

Таким образом, в отдаленные сроки при изучении клеточных показателей периферической крови у жителей Южного Урала, облучение которых началось во внутриутробном периоде и продолжилось постнатально, в диапазоне доз облучения ККМ от 1 до 1905 мГр, не выявили критических изменений гемопоэза по сравнению с группой лиц, облучение у которых началось только в постнатальном периоде. Все отмеченные изменения могут носить компенсаторный характер.

ВЫВОДЫ

1. При исследовании клеточных показателей гемопоэза в отдаленные сроки у лиц, подвергшихся хроническому облучению на Южном Урале, во всех возрастных группах среднегрупповые значения распределены в диапазоне нормальных значений.

2. Различия тромбоцитарного и эритроцитарного звена между внутриутробно и постнатально

облученными лицами преимущественно были отмечены в средней и старшей возрастных группах. Наиболее изменчивы были количество эритроцитов, уровень гемоглобина и цветной показатель крови.

3. В ходе анализа лейкоцитарного звена периферической крови у внутриутробно облученных лиц были выявлены разносторонние изменения. У внутриутробно облученных лиц старшего возраста изменения отмечены во всех клеточных ростках: уровни сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов были ниже, а лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов и базофилов выше, чем в группе сравнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Смирнова О.А.* Радиация и организм млекопитающих. Модельный подход. Москва, Ижевск: Регулярная и хаотическая динамика, Ижевский институт компьютерных исследований, 2006. 224 с. [*Smirnova O.A.* Radiation and the body of mammals. Model approach. Moscow, Izhevsk: Regular and chaotic dynamics, Izhevsk Institute for Computer Research, 2006. 224 p. (In Russian)]
2. *Barber R.C., Hardwick R.J., Shanks M.E. et al.* The effects of in utero irradiation on mutation induction and transgenerational instability in mice // *Mutat. Res.* 2009. № 664. P. 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.01.011>
3. *Preston D.L., Cullings H., Suyama A. et al.* Solid cancer incidence in atomic bomb survivors exposed in utero or as young children // *J. Nat. Cancer Inst.* 2008. V. 100. № 6. P. 428–436. <https://doi.org/10.1093/jnci/djn045>
4. *Boice J.D. Jr., Miller R.W.* Childhood and adult cancer after intrauterine exposure to ionizing radiation // *Teratology.* 1999. V. 59. № 4. P. 227–233. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9926\(199904\)59:4<227::AID-TERA7>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9926(199904)59:4<227::AID-TERA7>3.0.CO;2-E)
5. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи / Под ред. проф. А.В. Аклеева. Челябинск: Книга, 2016. 400 с. [Consequences of radioactive contamination of the Techa river / Ed. Prof. A.V. Akleev. Chelyabinsk: The Book, 2016. 400 p. (In Russian)]
6. *Аклеев А.В., Акушевич И.В., Димов Г.П. и др.* Реакции кроветворной системы на хроническое облучение у жителей прибрежных сел реки Течи // *Мед. радиология и радиац. безопасность.* 2011. Т. 56. № 5. С. 10–20. [*Akleyev A.V., Akushevich I.V., Dimov G.P. et al.* Hemopoietic System Reactions of Residents Chronically Exposed to Ionizing Radiation in the Techa River Catchment Area // *Medical radiology and radiation safety.* 2011. V. 56. № 5. P. 10–20. (In Russian)]
7. *Аклеев А.В., Варфоломеева Т.А.* Состояние гемопоэза в условиях многолетнего облучения костного мозга у жителей прибрежных сел р. Теча // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2007. Т. 47. № 3. С. 307–321. [*Akleyev A.V., Varfolomeyeva T.A.* The State of Hemopoiesis under Conditions of Long-Term Bone Marrow Exposure in Residents of the Techa Riverside Vil-

- lages // *Radiation Biology. Radioecology*. 2007. V. 47. № 3. P. 307–321. (In Russian)]
8. *Варфоломеева Т.А.* Закономерности восстановления кроветворной функции у лиц, подвергшихся хроническому радиационному воздействию: Дис. ... канд. биол. наук. Челябинск: ФГБУН УНПЦ РМ, 2006. С. 55. [*Varfolomeeva T.A.* Zakonomernosti vosstanovleniya krovetvornoj funkcii u lic, podverghshisya hronicheskomu radiacionnomu vozdeystviyu: Dis. ... kand. boil. nauk. Chelyabinsk: FGBUN UNPC RM, 2006. P. 55. (In Russian)]
 9. *Дегтева М.О., Толстых Е.И., Шагина Н.Б., и др.* Глава 3: Дозы облучения населения, проживавшего на реке Тече // Последствия радиоактивного загрязнения реки Теча / Под ред. проф. А.В. Аклеева. Челябинск, 2016. 400 с. [*Degteva M.O., Tolstoy E.I., Shagina N.B. et al.* Chapter 3 Doses to the population living on the Techa River // Consequences of radioactive contamination of the Techa River / Ed. Prof. A.V. Akleev. Chelyabinsk, 2016. P. 400. (In Russian)]
 10. Материалы Седьмой научной конференции по вопросам возрастной морфологии, физиологии и биохимии (Москва, апрель 1965 г.). М.: НИИ возрастной физиологии и физ. Воспитания. АПН РСФСР, 1965. 522 с. [*Materialy Sed'moj nauchnoj konferencii po voprosam vozrastnoj morfologii, fiziologii i biokhimii*. (Moskva, aprel' 1965 g.). М.: Nauch.-issled. In-t vozrastnoj fiziologii i fiz. Vospitaniya. Akad. Ped. Nauk RSFSR. 1965. 522 p. (In Russian)]
 11. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М., Практика, 1998. 459 с. [*Glanc S.* Medikobioologicheskaya statistika: Per. s angl. М.: Praktika, 1998. 459 s. (In Russian)]
 12. *Ингерлейб М.Б.* Медицинские анализы: диагностический справочник: Сер. Современная медицина. Полный справочник. М.: Эксмо, 2012. [*Ingerlejb M.B.* Medicinskie analizy: diagnosticheskij spravochnik: Ser. Sovremennaya medicina. Polnyj spravochnik. М.: Eksmo, 2012. (In Russian)]
 13. *Takamura T., Ueda S.* Hematologic finding in children exposed to A-bomb radiation in utero in Hiroshima // *Blood*. 1961. № 17. P. 728–737.
 14. *Igarashi T., Ito S., Uasegawa M., Mikata I.* Hematological observation of atomic bomb survivors living in Tokio about ten years after atomic bomb explosions in Hiroshima and Nagasaki // *Keio J. Medicine*. 1957. V. 6. № 3.
 15. *Захаров Ю.М., Фекличева И.В.* О влиянии эритропоэтина и Т-лимфоцитов на эритропоэз в культуре эритробластических островков костного мозга полицитемичных крыс // Вестн. Уральской мед. акад. науки. 2009. № 1. 81–84 с. [*Zakharov Y.M., Feklicheva I.V.* On influencing T-cells on erythropoiesis in culture of erythroblastic islands of polycythemic rets bone marrow // *J. Ural medical academic science*. 2009. № 1. P. 81–84. (In Russian)]
 16. *Захаров Ю.М., Мельников И.Ю., Тишевская Н.В. и др.* Исследование роли межклеточных взаимодействий в регуляции эритропоэза в эритробластических островках костного мозга // Вест. Уральской мед. акад. науки. 2015. № 4. С. 59–62. [*Zakharov Y.M., Melnikov I.Y., Tishevskaya N.V., Sheviakov S.A.* The role of cell-cell interactions investigation in regulation of erythropoiesis in bone marrow erythroblastic islands // *J. Ural medical academic science*. 2015. № 4. P. 59–62. (In Russian)]

Peripheral Blood Cell Composition in the In-Utero Exposed Techa River Residents

A. V. Vozilova^{a, #}, J. R. Akhmadullina^{a, b}, V. P. Pushkarev^a, I. V. Krivoschapova^a, and A. V. Akleyev^{a, b}

^a *Urals Research Center for Radiation Medicine of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, Chelyabinsk, Russia*

^b *Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia*

[#] *E-mail: vozilova@urcrm.ru*

The results of the study of the peripheral blood cell composition in the in-utero exposed Techa River residents (Chelyabinsk Oblast), whose exposure began in-utero and continued postnatally, are presented. The study was conducted long time after the onset of radiation exposure (1963–2017). Total in-utero and postnatal exposure doses to red bone marrow (RBM) varied within the range 1–1.905 mGy. The comparison group was composed of persons residing in the same administrative territories but these people were exposed only postnatally. The parameters of erythrocyte, thrombocyte, and leukocyte lineage were studied according to age periodization. Average-group values of peripheral blood parameters both in the groups of in-utero and postnatally exposed persons corresponded with normal values of physiological parameters. The differences of thrombocyte and erythrocyte lineage among exposed persons were mainly noted in the groups of middle-aged and old individuals under study. The most changeable happened to be the erythrocyte number, hemoglobin level and colour index of blood. The hemoglobin level was higher in the in-utero exposed men of all ages than that in the comparison group members. When assessing the leukocyte compartment of the peripheral blood in in-utero and postnatally exposed persons, various changes were detected in different cell lineages. Differences from the parameter values in the comparison group members were noted in all cell lineages in the studied men and women of old age. Neutrophil parameters were lower, whereas lymphocyte, monocyte, eosinophil, and basophil parameters were higher than those in the comparison group.

Keywords: in-utero exposed persons, hematopoiesis, bone marrow, leucocytes, lymphocytes, peripheral blood, the Techa River, neutrophils, erythrocytes, thrombocytes

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОДГОТОВКЕ И ПРОВЕДЕНИЮ ИЗУЧЕНИЯ ЭФФЕКТОВ ОБЛУЧЕНИЯ НА КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ НИЗШИХ ПРИМАТОВ

© 2020 г. И. В. Бондарь^{1,*}, Л. Н. Васильева¹, Л. В. Терещенко², И. Д. Шамсиев^{1,2}, В. Н. Анисимов², Г. В. Мицын³, А. В. Латанов²

¹ Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

³ Медико-технический комплекс Объединенного института ядерных исследований, Дубна, Россия

*E-mail: bondar@ihna.ru

Поступила в редакцию 17.05.2019 г.

После доработки 28.11.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Низшие приматы являются удобным объектом для моделирования ключевых составляющих операторской деятельности человека, поскольку они обладают всеми необходимыми поведенческими компонентами, свойственными человеку-оператору, выполняющему сложную работу по управлению внешними устройствами. Развитие рук обеспечивает обезьянам возможность манипулирования объектами внешнего мира. В ходе эволюции мозга низших приматов у них появились специализированные области, в которых обрабатывается информация о внешнем мире и осуществляется координация глаз–рука. При воздействии экстремальных факторов внешней среды (например, ионизирующей радиации) в первую очередь могут страдать когнитивные процессы, что однозначно будет осложнять работу человека-оператора. Оценка критических факторов, тяжести поражения и течения процесса восстановления утраченных функций возможна в контролируемых экспериментах на макаках. В данной работе описываются экспериментальные подходы, направленные на 1) подготовку животного к проведению экспериментов по оценке глазодвигательной активности, 2) обеспечение накопления контрольных данных по временным характеристикам и точности саккадических движений глаз и 3) проведение локального облучения мозга. Все принципиальные методические подходы были апробированы в реальных экспериментах на двух животных.

Ключевые слова: низшие приматы, когнитивные функции, локальное облучение ткани мозга, глазодвигательная активность, оценка параметров поведения

DOI: 10.31857/S0869803120040049

Сложная операторская деятельность человека предполагает распознавание разнообразных сенсорных сигналов, активацию памяти и осуществление сложных моторных программ. В такую деятельность вовлечены распределенные по всему мозгу нейронные сети, которые обеспечивают его значительные когнитивные ресурсы. Воздействие экстремальных условий среды (например, радиационное воздействие в ходе длительного нахождения в космическом пространстве) может в первую очередь сказываться на когнитивной сфере работы оператора. Удобным модельным объектом для оценки рисков радиационного воздействия являются низшие приматы, в экспериментах на которых можно проводить изучение когнитивных функций и их нарушений.

Развитие рук позволяет приматам активно взаимодействовать с непосредственным окружением.

Майкл Грациано [1] считает, что защита поверхности тела от повреждения представляет собой набор специальных функций, которые контролируются мозгом. В частности, для успешного избегания контакта с потенциально опасными предметами в окружающей среде необходим постоянный мониторинг ситуации во время локомоции. У приматов появляется возможность активно блокировать с помощью рук приближающиеся опасные объекты и защищать такие важные части тела, как лицо. Успешность защитных действий с помощью рук напрямую зависит от координации с направлением взора.

В ходе эволюции у низших приматов наблюдается значительное развитие теменной коры [2], что связано с изменениями рук и появлением сложной манипулятивной деятельности, предполагающей координирование глазодвигательной и

соматической моторной активности. Системы нейронных сетей, обеспечившие эту способность, являются предпосылками сетей, реализующих базисные компоненты операторской деятельности у человека, и поэтому могут использоваться в качестве модельных объектов для ее изучения.

В качестве поведенческих тестов на приматах, которые требуют анализа сенсорной информации, активации памяти и осуществления моторных реакций, могут быть использованы глазодвигательные задачи. Контроль за движениями глаз осуществляется на нескольких иерархических уровнях: ствол мозга, мозжечок и кора больших полушарий. Надежным показателем нормального функционирования системы программирования саккад может служить время реакции, которое складывается из времени обработки сенсорного сигнала и времени подготовки моторной команды [3, 4]. У тренированных обезьян латентности саккад в среднем составляют порядка 200 мс. Увеличение латентности будет свидетельствовать об изменении функционального состояния областей мозга, вовлеченных в процесс подготовки саккад.

Абсолютное большинство нейрофизиологических экспериментов с приматами проводят при неподвижном положении головы животного. Точные методы изучения активности мозга бодрствующих приматов и воздействия на него предполагают также доступ к поверхности головы и глазам. Традиционно проблема жесткой фиксации решалась с помощью имплантации фиксатора в череп животного и последующего прикрепления его к внешней установке [5, 6]; существуют также и более современные варианты жесткой фиксации головы [7]. Однако такие способы сопряжены с дополнительными рисками из-за операции, вызываемых ею воспалительных процессов и изнашивания фиксатора. Попытки создать менее инвазивные системы все еще предполагали оперативное вмешательство, а также или постоянное ношение животным, или достаточно жесткую и морфологически неадаптированную фиксацию. Использование 3D-печати и 3D-визуализации для увеличения степени анатомического соответствия, описанное в литературе, ограничивалось созданием реплик поверхности черепа или головы обезьян для последующего использования более старых методов – формовки [8] или подгонки импланта [7]. Увеличение доступности этих технологий позволило использовать результаты визуализации с использованием компьютерной томографии (КТ) для создания модели и печати фиксирующей установки на 3D-принтере, и наша работа представляет собой первое исследование с использованием этого метода.

Значительной проблемой долговременных космических полетов является комплексное радиационное воздействие, одна из составляющих частей которого – поражение тканей организма высокоэнергетическими тяжелыми частицами [9]. Следует отметить, что в отличие от ионизирующих электромагнитных волн (например, рентгеновского или γ -излучения) прохождение частиц, например, через ткани головного мозга может вызывать значительные изменения в функционировании нейронов, что будет приводить к критическим изменениям когнитивных функций человека-оператора. А.И. Григорьев и соавт. считают: “Принципиально важно установить, будут ли действительно возникать нарушения высших интегративных функций мозга, и если будут, то при каких конкретных дозах и видах тяжелых заряженных частиц” [10]. Моделирование базовых элементов операторской деятельности, включающих когнитивные компоненты, при воздействии факторов космического полета, в частности, радиации, возможно в экспериментах на приматах [11, 12].

Изучение эффектов тяжелых заряженных частиц на функции мозга возможно при использовании технологий, которые применяются в трехмерной конформной терапии с помощью пучка протонов [13]. Эта уникальная технология позволяет сформировать дозное распределение таким образом, что его форма будет максимально совпадать с конфигурацией мишени. В случае экспериментов на низших приматах становится возможным использование локального пучка протонов для воздействия на определенные структуры головного мозга, что позволит отделить эффекты поражения специализированных нейронных сетей от вызванных радиацией изменений во всем мозге.

В связи с вышесказанным для данной методической работы нами была поставлена цель разработать подходы для осуществления локализованного радиационного воздействия на мозг макака с целью оценки влияния протонов и других тяжелых заряженных частиц на когнитивные функции. Для достижения данной цели было необходимо отладить методику видеорегистрации глазных движений и оценки параметров саккад, а также разработать мероприятия по подготовке животного к локальному облучению пучками протонов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Обработка мероприятий для проведения локального облучения мозга

Процесс подготовки и проведения трехмерной конформной протонной лучевой терапии, разработанной и проводимой в Медико-техническом комплексе ЛЯП ОИЯИ, описан детально в пуб-

ликации А.В. Агапова и соавт. [13]. Позволим себе кратко остановиться на описании данной методики.

Развитие технологий в области медицинской диагностики сделало возможным трехмерное компьютерное планирование и проведение облучения строго локализованных мишеней, при котором максимум формируемого дозного распределения точно соответствует конфигурации цели. Важной особенностью данного подхода является резкий спад дозы радиации за границами мишени.

Во время подготовки к проведению облучения протонами проводятся следующие мероприятия:

- подготавливается индивидуальная надежная фиксация области, которая подвергается облучению;
- осуществляется визуализация (с помощью рентгеновского и магнитно-резонансного томографического исследования) области, на которую будет оказано воздействие, что необходимо для введения томографических срезов в программу планирования;
- проводится трехмерное компьютерное планирование облучения;
- изготавливаются индивидуальные устройства формирования пучка: фигурные коллиматоры и компенсирующие болюсы;
- проводится облучение с рентгеновской верификацией положения мишени относительно пучка.

Все эти мероприятия были проведены нами в экспериментах на обезьянах. В первую очередь нами была изготовлена конструкция для закрепления головы животного. Она состояла из двух частей: распечатанного на 3D-принтере подголовника, с помощью которого было возможно позиционирование в положении, близком к общепринятому стереотаксическому, а также индивидуальной маски из термопластика. Для ее создания животное анестезировали (Золетил, 1 мг/кг; Медитин, 2 мг/кг). Использование данного протокола анестезии обеспечивало глубокий наркоз в течение 2–3 ч. Голову животного укладывали на напечатанный анатомический подголовник, а ее соответствие стереотаксической системе координат контролировали лазерным уровнем (рис. 1). Разогретый в теплой воде (около 75°C) пластик помещали на морду животного и плотно прижимали к голове до застывания, добиваясь максимального анатомического соответствия маски. Во время последующего использования маску крепили к основанию конструкции с помощью пластиковых винтов. Полученная система фиксации обеспечивала стереотаксическое крепление головы обезьяны в вертикальном и горизонтальном положении.

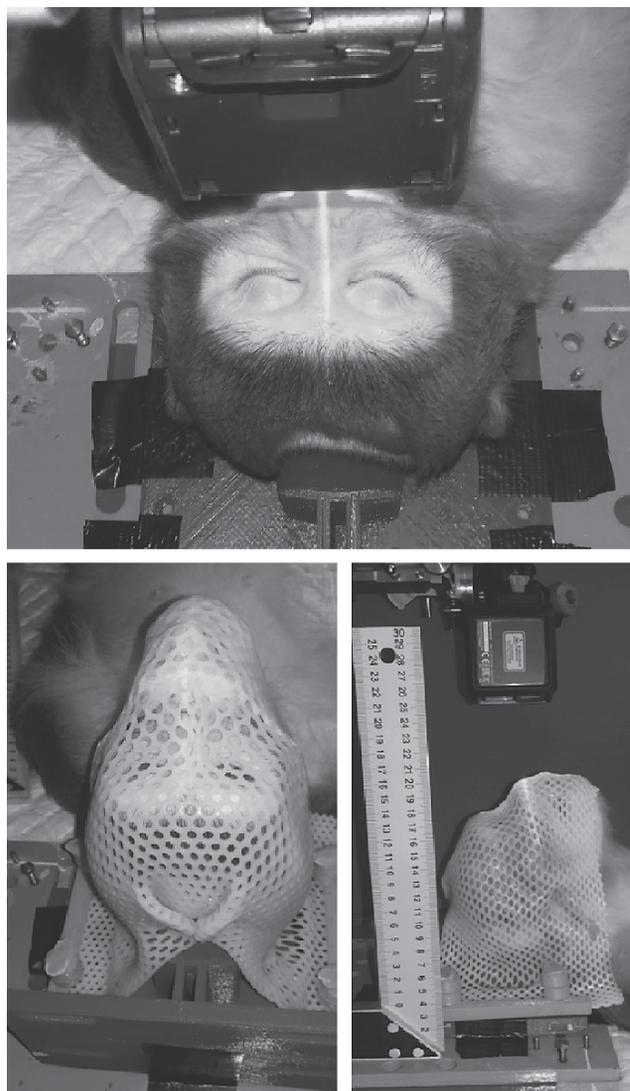


Рис. 1. Процедура подготовки фиксирующей маски на основе термопластика. Анестезированное животное располагали на спине под лазерным уровнем, который задавал референтные линии для близкого к стереотаксическому позиционированию головы. Разогретый в горячей воде пластик размещали на морде животного таким образом, чтобы обеспечить максимальное прилегание его к голове. В процессе затвердевания пластика неизменность положения головы контролировали с помощью лазерного уровня.

Fig. 1. The procedure for preparing a fixing mask made off thermoplastics. The anesthetized animal was placed on its back under the laser level, which set the reference lines to achieve close to stereotactic positioning of the head. The plastic heated in hot water was placed on the face of the animal in such a way as to ensure its maximum fit to the head. During plastic hardening, the constancy of the head position was monitored using a laser level.

Компьютерное томографическое исследование (КТ) проводили на спиральном рентгеновском томографе в ветеринарной клинике “Био-контроль” (<https://www.biocontrol.ru>). Для визуализации черепа и мозга использовали томограф



Рис. 2. Результаты компьютерной томографии. Стрелкой и кругом обозначена локализация теменной коры, которую предполагалось подвергнуть облучению пучком протонов.

Fig. 2. Computer tomography results. The arrow and circle indicate the localization of the parietal cortex, which was supposed to be irradiated with a proton beam.

PHILIPS Brilliance CT (PHILIPS, Нидерланды). Животное анестезировали (Золетил, 1 мг/кг; Медитин, 2 мг/кг), фиксировали голову с помощью устройства для крепления головы с маской из термопластика и располагали в аппарате в положении лежа. Контроль за состоянием животного проводили с помощью регистрации кардиограммы и плевизмограммы. Данные томографии (рис. 2) в цифровом виде вводили в трехмерную компьютерную систему планирования облучения. На рис. 2 показана область мозга, которую планировали подвергнуть воздействию пучком протонов. Для первых экспериментов по облучению было принято решение ограничить воздействие на теменную область, которая у макак вовлечена в формирование моторных программ координации движений рук и глаз.

Конструкция для ограничения движений головы животного во время глазодвигательной задачи

На первом этапе создания анатомически адаптированной системы фиксации было необходимо получить точную модель головы обезьяны. Для построения трехмерной модели головы были использованы результаты компьютерной томографии, проведенной с целью планирования воздействия пучком протонов на теменную область мозга. По результатам КТ с помощью специальной программы (Slicer v4.8.1) была получена трехмерная модель головы обезьяны, которую использовали для дальнейшей работы.

В качестве конструкции фиксации животного во время глазодвигательной задачи был выбран “шлем”, состоящий из ограничивающих движения головы половин. 3D-печать позволила сделать его эргономичным и соответствующим анатомической структуре головы (рис. 3). Моделирование и подготовку к печати проводили с помощью программы SketchUp. Две боковые части шлема закрепляются и перемещаются друг относительно друга с помощью пары алюминиевых направляющих над верхней поверхностью черепа и за затылком. Это минимизирует дискомфорт для животного, а также улучшает прочность и мобильность конструкции. Части шлема внутри выложены мягкими пластинами с целью уменьшения давления пластика на кожу. Шлем также был адаптирован для регистрации ЭЭГ: затылочная и теменная части шлема были удалены на уровне модели и заменены эластичными резиновыми жгутами, к которым можно крепить электроэнцефалографические электроды. После размещения на голове животного шлем фиксируется во внешней системе фиксации, которая установлена на приматологическом кресле.

Регистрация движений глаз животного с помощью видеоокулографического метода

В рамках исследования производили запись положения одного глаза обезьяны на видео (200 или 500 кадров/с) с помощью ИК-камеры Fast-Video-250 (НПО “Астек”, Россия) во время вы-

полнения зрительно-моторной задачи. Видеорегистрацию осуществляли в условиях ИК-подсветки глаза с использованием матрицы из 28 ИК-светодиодов (L-53SF6C, $\lambda_{\text{пик}} = 860 \text{ нм}$), расположенных радиально для равномерного освещения. Положение центра зрачка выделяли на каждом кадре с использованием оригинальной программы FastVideoLab, и для выделения глазодвигательных событий (фиксаций и саккад) был разработан оригинальный алгоритм [14]. Одновременно с помощью двух сигнальных светодиодов, размещенных в кадре видеокамеры, определяли время появления зрительных стимулов: фиксационной точки и периферического стимула для синхронизации с программой зрительной стимуляции. В экспериментах обезьяны совершали зрительно-вызванные саккады с использованием временной схемы с одношажным смещением стимула. Последовательность событий была следующей: предъявление центрального фиксационного стимула – предъявление периферического (фактически его смещение на периферию поля зрения) – изменение яркости периферического стимула – реакция животного нажатием на рычаг – получение подкрепления [15]. Фиксация на центральном стимуле достигалась возможным (в части проб) изменением его яркости, в ответ на которое животное также должно было отвечать нажатием на рычаг. Периферические стимулы предъявляли в трех угловых положениях справа и слева, в двух угловых положениях сверху и снизу от фиксационной точки и по одной в углах экрана. Их последовательность задавали в псевдослучайном порядке. В среднем в ходе одного эксперимента каждое положение периферической цели повторяли по 20 раз. Обработку видеоданных проводили в офлайн-режиме: определяли положение зрачка в каждом кадре и времена включения светодиодов; выбирали успешные попытки и для них сохраняли положения глаза. Период выделения экспериментальных данных составлял 200 мс до предъявления центральной фиксационной точки и 1500 мс после включения периферического стимула. Из этих данных для каждой саккады к периферическому стимулу рассчитывали ее латентность и амплитуду.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пилотный эксперимент по локальному облучению теменной коры макаки

При проведении облучения теменной коры с помощью пучка протонов животное фиксировали в специальном устройстве в положении сидя (рис. 4). Для верификации положения облучаемой мишени относительно пучка использовали рентгеновский излучатель, установленный на оси протонного пучка на расстоянии 1.8 м от терапев-

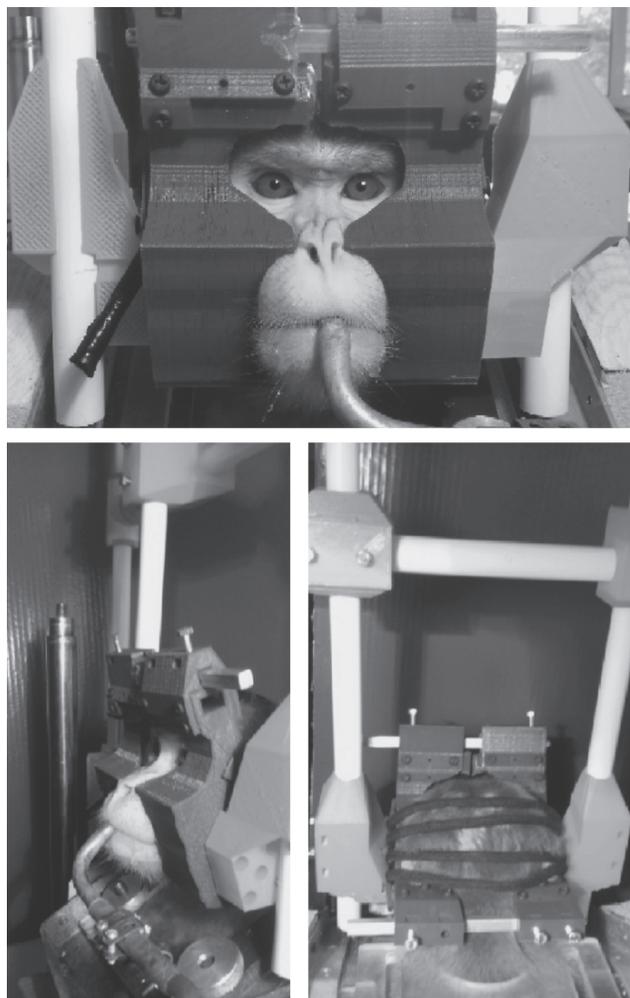


Рис. 3. Положение животного в маске для ограничения движений головы во время экспериментального тестирования функции глазодвигательной системы. Шлем состоит из двух половинок, который зажимают голову животного. Автоматическую подачу подкрепления – фруктового сока – осуществляли через поилку, закрепленную максимально близко ко рту животного. За счет отсутствия задней части шлема становится возможным потенциальное использование данного устройства для неинвазивной регистрации электроэнцефалографии.

Fig. 3. The position of the animal during experimental testing of the function of the oculomotor system. Special helmet is limiting head movements. The helmet consists of two halves, which clamp the head of the animal. The automatic supply of reinforcements – fruit juice – was carried out through a drinking tube fixed as close as possible to the animal's mouth. Due to the absence of the back of the helmet, it is potentially possible to use this device for non-invasive registration of electroencephalography.

тического кресла и цифровой рентгеновский детектор, устанавливаемый непосредственно за головой животного. Коррекцию положения животного относительно пучка протонов меняли дистанционно за счет перемещения кресла, на

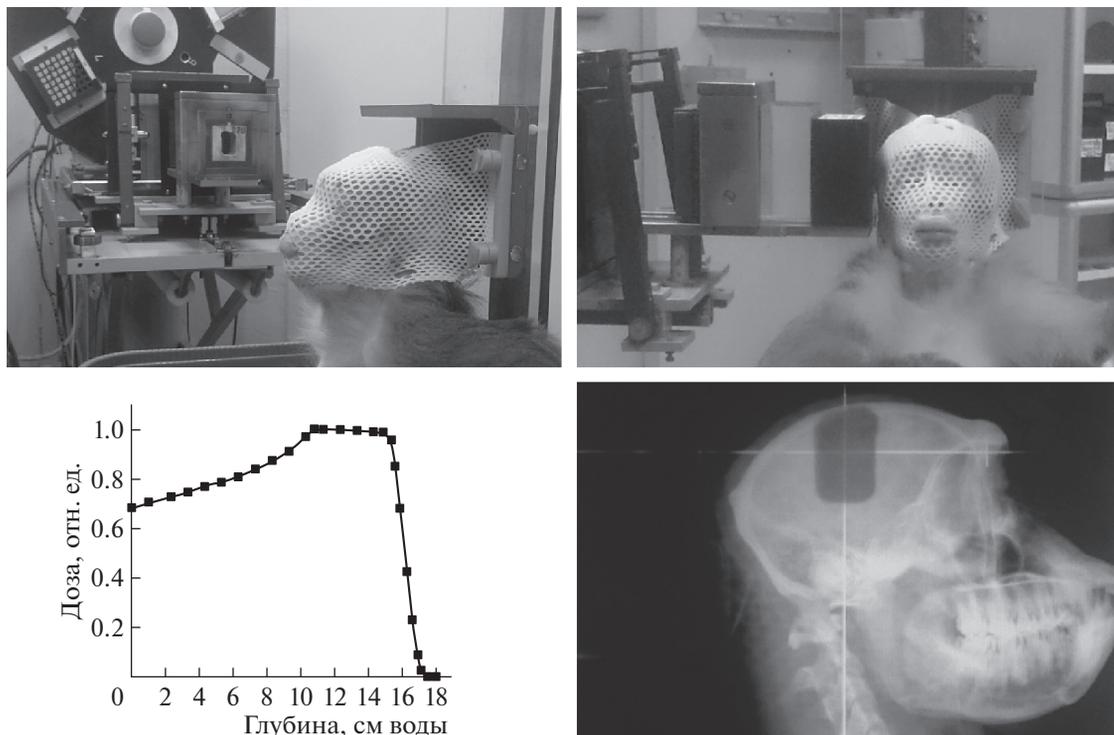


Рис. 4. Подготовка животного к облучению. Животное находилось в установке в сидячем положении. Голову анестезированной обезьяны надежно фиксировали с помощью индивидуальной маски из термопластика. Такое крепление головы позволяет максимально придвинуть болус и коллиматор, задающие форму профиля облучения. Точное позиционирование животного относительно центра пучка осуществляли с помощью рентгеновских снимков. Область облучения показана на рентгенографии с помощью затемнения.

Fig. 4. Preparing the animal for radiation. The animal was in a sitting position. The head of the anesthetized monkey was securely fixed using an individual thermoplastic mask. Such a head mount allows the bolus and collimator, defining the shape of the irradiation profile. The exact positioning of the animal relative to the center of the beam was carried out using x-rays. The irradiation area is shown on the x-ray picture as dimmed area.

котором и была закреплена фиксирующая голову конструкция с маской из термопластика (рис. 4).

Во время подготовительного этапа проводили планирование облучения на основе топометрической информации, полученной при компьютерной томографии. Трехмерный массив данных в цифровом виде вводили в специальную программу планирования. На каждом аксиальном срезе оператор очерчивал границы мишени облучения, которая в нашем случае представляла собой часть теменной области коры с координатами: AP = -5 и 5 мм (передняя и задняя границы соответственно); DV = 10 и 25 мм (нижняя и верхняя границы). Для определения границ использовали атлас мозга обезьяны [16]. Суммарная доза на мишень с двух направлений была выбрана равной 3 Гр.

Функция “beam’s-eye-view” (вид со стороны пучка), которая имеется в программе планирования, и симулированные из КТ срезов цифровые рентгенограммы для каждого направления облучения позволяли смоделировать поперечную форму пучка. Облучение проводили с двух встречных сагиттальных направлений. Во время процедуры

облучения пучок протонов формировали с помощью индивидуального коллиматора из сплава Вуда. Конформность дозного распределения протонного пучка по глубине и форме мишени придавали с помощью так называемых болусов — замедлителей сложной формы, которые учитывали гетерогенную структуру тканей, расположенных на пути пучка. В мастерских Медико-технического комплекса ОИЯИ для животного были изготовлены по два индивидуальных фигурных коллиматора и болуса, форма которых была рассчитана по программе планирования. На рис. 4 представлена апертура одного из коллиматоров.

Перед началом сеанса облучения в экспериментальное помещение выводили терапевтический протонный пучок и проводили его дозиметрию. Измеряли профиль пучка, его глубинно-дозное распределение, мощность дозы. Эти параметры контролировали непосредственно во время облучения животного. Использовался стандартный терапевтический пучок с энергией около 155 МэВ с максимальным поперечным размером 8 × 8 см с расширенным пиком Брэгга. Мощность

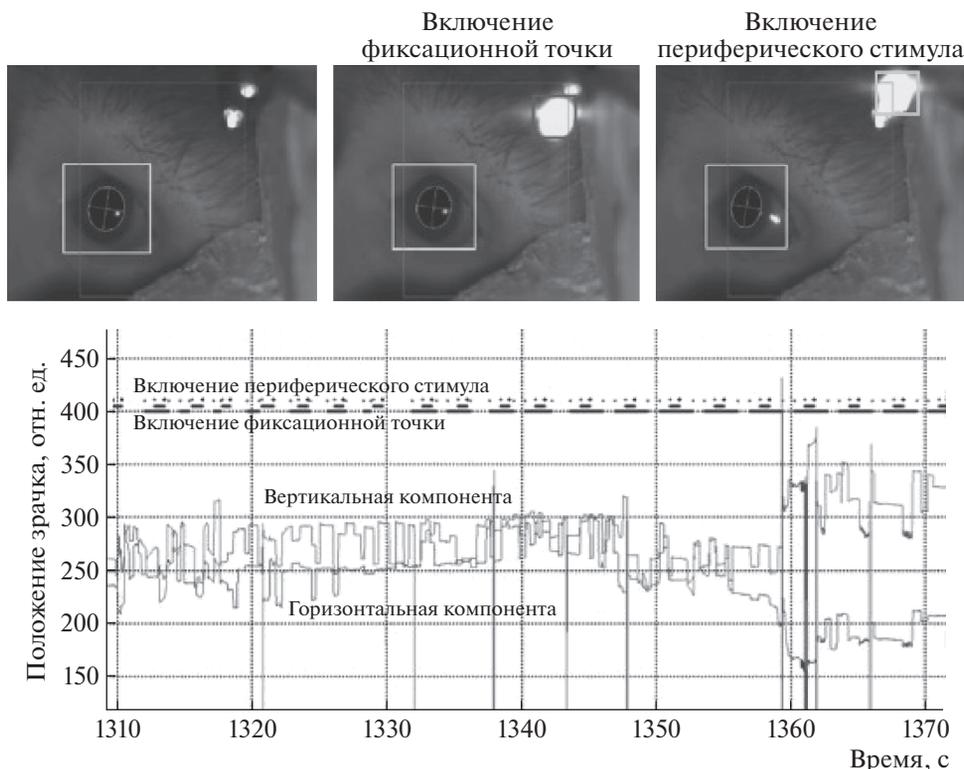


Рис. 5. Видеоокулографический метод регистрации движений глаз. На верхнем ряду кадров видеозахвата показано выделение зрачка, который очерчен эллипсом. Кроме того, показаны последовательные моменты включения светодиодов, которые соответствовали появлению в поле зрения животного центрального и периферического стимулов. В результате анализа видеосигнала были получены данные о положении зрачка (вертикальная и горизонтальная компонента), а также времена включения зрительных целей.

Fig. 5. Videooculographic method for recording eye movements. The upper row of video capture frames shows the pupil highlighted by an ellipse. In addition, successive flashes of LEDs are shown, which correspond to the appearance of central and peripheral stimuli in the field of view of the animal. After offline analysis of the video signal data were obtained on the position of the pupil (vertical and horizontal components), as well as the times of switching on the visual targets.

дозы составляла около 1 Гр/мин. Глубинно-дозное распределение пучка приведено на рис. 4.

Непосредственно перед облучением животного изготавливали верификационный рентгеновский снимок, который одновременно с противоположного направления экспонировали протонным пучком низкой интенсивности. В результате на снимке было отчетливо видно положение протонного пучка относительно анатомических структур черепа (рис. 4). Если это положение не совпадало с точностью 1 мм с тем, которое было рассчитано по программе планирования, производилась коррекция положения кресла относительно пучка. Сразу после этого проводили облучение протонным пучком.

Тестирование системы крепления головы в реальных экспериментах

Наша система крепления головы для КТ позволила получить стереотаксически точные снимки, которые затем были использованы для создания анатомически адаптированного шлема.

К концу периода адаптации у обезьяны не наблюдалось никаких механических повреждений, вызванных использованием шлема. После начала использования новой системы обезьяна продолжила выполнять задание и правильно отвечать на соответствующие стимулы.

В процессе офлайн-анализа в первую очередь выделяли положение зрачка для каждого кадра видеозаписи, которую производили во время одного эксперимента. Пример участка такой записи показан на рис. 5. Светлой серой линией отображено изменение горизонтальной координаты центра зрачка в относительных единицах (пиксели кадра), а темной – вертикальной. С помощью специального алгоритма анализа изображения определяли времена появления центрального и периферического стимула. Они показаны линиями точек. Для каждой успешной попытки (правильное движение рычага) выделяли часть записи совместно с временами включения центрального и периферического стимулов. Амплитуды саккад определяли относительно фонового

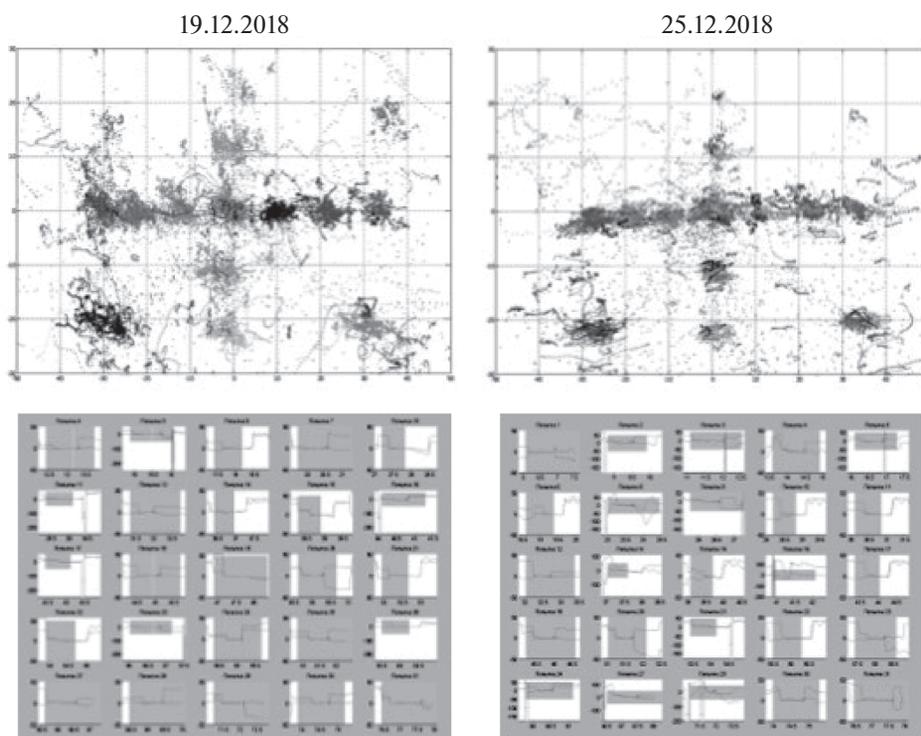


Рис. 6. Анализ движений глаз. Показаны вычисленные относительно центральной точки положения глаза в успешных попытках для двух дней регистрации. На нижних графиках демонстрируются исходные данные (развитие саккады во времени), которые были использованы также для определения латентных периодов глазодвигательных реакций.

Fig. 6. Analysis of eye movements. Shown are the eye position in successful attempts that were calculated relative to the center point. Data for two days of registration is compared. The lower graphs show initial data (saccade development over time), which were also used to calculate latent periods of oculomotor reactions.

уровня, который вычисляли по средним значениям положения зрачка, непосредственно предшествующим появлению периферического стимула. Латентность каждой саккады определяли с помощью программного обеспечения в среде Matlab относительно времени появления периферического стимула.

В выбранных успешных попытках были корректно выделены саккады и определены положения взора (рис. 6). По результатам обработки были воспроизведены движения глаз ко всем положениям периферических стимулов в поле зрения животного. Из этого можно сделать вывод, что предлагаемый способ неинвазивной фиксации головы дает надежные результаты в экспериментах с глазодвигательными задачами и при этом не травматичен для животного.

Как было сказано выше, мы рассчитывали латентности саккад, которые в среднем составили порядка 200 мс. Следует отметить различия между латентностями саккад, выполненных к разным периферическим стимулам. Латентности для саккад вверх оказались несколько выше, что соответствует ранее полученным результатам [3, 6]. И в данном случае с использованием нашего подхода к ограничению движений головы животного мы

смогли получить объективные экспериментальные данные, которые отражают процессы подготовки и выполнения моторных программ.

Из вышесказанного можно сделать вывод о том, что предлагаемая нами система обеспечивает стабильную регистрацию движений глаз, может быть использована для экспериментов на нескольких животных (к моменту написания статьи в ней работали двое животных), является простой в производстве. По результатам экспериментов с ее использованием были точно воспроизведены положения периферических точек, а также рассчитаны параметры саккадических движений, которые в целом соответствуют литературным данным. Надежность полученных результатов сравнима с результатами, полученными нами ранее с использованием самого точного электромагнитного метода регистрации движений глаз с жестким креплением головы животных [3, 5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения данной методической работы нами были успешно опробованы подходы для осуществления локального радиационного воздействия на мозг макак с целью оценки его

влияния на когнитивные функции. При подготовке облучения была отлажена процедура проведения компьютерной томографии, результаты которой были использованы как для разметки конфигурации протонного пучка, так и для создания специальной конструкции, ограничивающей свободу движений головы животного во время экспериментов по регистрации движений глаз. Во время пилотного эксперимента по облучению теменной коры был отработана методика разметки цели с помощью специального компьютерного обеспечения, а также полностью проведены все мероприятия по воздействию пучка протонов на мозг. Методика видеорегистрации движений глаз и оценки параметров саккад была проверена в многочисленных экспериментах как до проведения облучения, так и после него. Полученный опыт позволяет утверждать, что апробированные нами подходы могут быть использованы для проведения исследования на группе животных, что позволит набрать необходимый статистический материал для выявления эффектов ионизирующего излучения на зрительно-моторные и когнитивные функции.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 17-29-01027-офи_м.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Graziano M.S., Cooke D.F.* Parieto-frontal interactions, personal space, and defensive behavior // *Neuropsychologia*. 2006. V. 44. № 13. P. 2621–2635.
2. *Kaas J.H., Qi H.X., Stepniewska I.* The evolution of parietal cortex in primates // *Handb. Clin. Neurol.* 2018. V. 151. P. 31–52.
3. *Терещенко Л.В., Кузнецов Ю.Б., Латанов А.В., Шульговский В.В.* Методика хронической электромагнитной регистрации движений глаз и головы у обезьян // *Журн. высш. нервн. деят.* им. И.П. Павлова. 2000. Т. 50. № 5. С. 889–894. [*Tereshchenko L.V., Kuznecov Yu.B., Latanov A.V., Shul'govskij V.V.* Metodika hronicheskoy elektromagnitnoj registracii dvizhenij glaz i golovy u obez'yan // *Zhurn. vysshej nervnoj deyatel'nosti im I.P. Pavlova*. 2000. T. 50. № 5. S. 889–894. (In Russian)]
4. *Fisher B., Boch R.* Modifications of presaccadic activation of neurons in the extrastriate cortex during prolonged training of rhesus monkeys in a visuo-oculomotor task // *Neurosci. Lett.* 1982. V. 30. № 2. P. 127–131.
5. *Терещенко Л.В., Молчанов С.А., Колесникова О.В. и др.* Асимметрия амплитудно-временных свойств целенаправленных саккад у обезьян в зависимости от сложности пространственной схемы зрительной стимуляции // *Журн. высш. нервн. деят.* 2005. Т. 55. № 5. С. 639–646. [*Tereshchenko L.V., Molchanov S.A., Kolesnikova O.V. i dr.* Asimmetriya amplitudno-vremennyh svojstv celenapravlennyh sakkad u obez'yan v
6. *Evarts E.V.* Methods for recording activity of individual neurons in moving animals // *Methods in Medical Research* / Ed. R.F. Rushmer. Chicago, IL: Year Book Medical Publishers, 1968. P. 241–250.
7. *Lanz F., Lanz X., Scherly A. et al.* Refined methodology for implantation of a head fixation device and chronic recording chambers in non-human primates // *J. Neurosci. Meth.* 2013. V. 219. № 2. P. 262–270.
8. *Slater H., Milne A., Wilson B. et al.* Individually customisable non-invasive head immobilisation system for non-human primates with an option for voluntary engagement // *J. Neurosci. Meth.* 2016. V. 269. P. 46–60.
9. *Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А.* К оценке риска биологического действия галактических тяжелых ионов в условиях межпланетного полета // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2013. Т. 99. № 3. С. 273–280. [*Grigor'ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskij M.A.* K ocenke riska biologicheskogo dejstviya galakticheskikh tyazhelyh ionov v usloviyah mezhplanetnogo poleta // *Ross. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova*. 2013. T. 99. № 3. S. 273–280. (In Russian)]
10. *Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А.* К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах // *Вестн. РАН*. 2017. Т. 87. № 1. С. 65–69. [*Grigor'ev A.I., Krasavin E.A., Ostrovskij M.A.* K voprosu o radiacionnom bar'ere pri pilotiruemykh mezhplanetnyh polyotah // *Vestnik rossijskoj akademii nauk*. 2017. T. 87. № 1. S. 65–69. (In Russian)]
11. *Беляева А.Г., Штемберг А.С., Носовский А.М. и др.* Воздействие высокоэнергетических протонов и ионов углерода 12с на когнитивные функции обезьян и содержание моноаминов и их метаболитов в периферической крови // *Нейрохимия*. 2017. Т. 34. № 2. С. 168–176. [*Belyaeva A.G., Shtemberg A.S., Nosovskij A.M. i dr.* Vozdejstvie vysokoenergeticheskikh protonov i ionov ugleroda 12s na kognitivnye funkcii obez'yan i sodержanie monoaminov i ih metabolitov v perifericheskoy krovi // *Nejrohimiya*. 2017. T. 34. № 2. S. 168–176. (In Russian)]
12. *Латанов А.В., Терещенко Л.В., Островский М.А.* Влияние краниального облучения протонами высоких энергий на зрительно-моторное поведение обезьян // *Докл. Академии наук*. 2019. Т. 487. № 5. С. 588–591. [*Latanov A.V., Tereshchenko L.V., Ostrovskij M.A.* Influence of Cranial Ir-radiation with High-Energy Protons on the Visuomotor Behavior in Monkeys // *Dokl. Biol. Sci.* 2019. V. 487. P. 95–97. (In Russian) <https://doi.org/10.1134/S0012496619040069>]
13. *Агапов А.В., Гаевский В.Н., Гулидов И.А. и др.* Методика трехмерной конформной протонной лучевой терапии // *Письма в ЭЧАЯ*. 2005. Т. 2. № 6 (129). С. 80–86. [*Agapov A.V., Gaevskij V.N., Gulidov I.A. i dr.* Metodika trekhmernoj konformnoj protonnoj luchevoj terapii // *Pis'ma v ECHAYA*. 2005. T. 2. № 6 (129). S. 80–86. (In Russian)]
14. *Анисимов В.Н., Краснопёров А.В., Серженко Ф.Л., Терещенко Л.В.* Разработка технологии айтрекинга от регистрации видео до наложения треков на

- изображение // Айтрекинг в психологической науке и практике / Под ред. В.А. Барабаншикова. М., 2015. С. 24–33. [Anisimov V.N., Krasnopyorov A.V., Serzhenko F.L., Tereshchenko L.V. Razrabotka tekhnologii ajtrekinga ot registracii video do nalozheniya trekov na izobrazhenie // Ajtreking v psihologicheskoy nauke i praktike // Pod red. V.A. Barabanshchikova. M., 2015. S. 24–33. (In Russian)]
15. Бондарь И.В., Васильева Л.Н., Терещенко Л.В. и др. Обучение макак-резусов сложным когнитивным задачам // Журн. высшей нервн. деят. им. И.П. Павлова. 2018. Т. 68. № 4. С. 459–476. [Bondar' I.V., Vasil'eva L.N., Tereshchenko L.V. i dr. Obuchenie makak-rezусov slozhnym kognitivnym zadacham // Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I.P. Pavlova. 2018. T. 68. № 4. S. 459–476. (In Russian)]
16. Saleem K.S., Logothetis N.K. A Combined MRI and Histology Atlas of the Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates 2nd Ed. London: Academic Press, 2012. 402 p.

Experimental Approaches for Preparation and Conduction the Study of the Effects of Radiation to Cognitive Functions of Non-human Primates

I. V. Bondar^{a,#}, L. N. Vasilieva^a, L. V. Tereshchenko^b, I. D. Shamsiev^{a,b}, V. N. Anisimov^b, G. V. Mytsin^c, and A. V. Latanov^b

^a Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^b Biological Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^c Medical Technical Complex of the Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

[#]E-mail: bondar@ihna.ru

Non-human primates are a conventional object for modeling the key components of human operator activity, since they have all the necessary behavioral components characteristic of a human operator performing complex work on the management of external devices. Hand development provides monkeys with the ability to manipulate objects from the outside world. During the evolution of the brain of lower primates, they developed specialized areas in which information about the outside world was processed and eye-hand coordination was carried out. When exposed to extreme environmental factors (for example, ionizing radiation), cognitive processes may suffer in the first place, which will definitely complicate the work of a human operator. Evaluation of critical factors, the severity of the lesion and the course of the recovery process of lost functions is possible in controlled experiments on macaques. This paper describes experimental approaches aimed at (1) preparing an animal for conducting experiments to assess oculomotor activity, (2) ensuring the accumulation of control data on temporal characteristics and accuracy of saccadic eye movements and (3) conducting local irradiation of the brain. All fundamental methodological approaches were tested in real experiments on two animals.

Keywords: non-human primates, cognitive functions, local irradiation of brain tissue, oculomotor activity, assessment of behavior parameters

РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК В НЕЙРОНАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

© 2020 г. И. Б. Ушаков^{1,*}, В. П. Федоров²

¹ Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

² Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: iushakov@fmbcfmba.ru

Поступила в редакцию 17.06.2019 г.

После доработки 17.12.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

В экспериментах на крысах, подвергшихся общему воздействию γ -излучения в дозах от 0.1 до 1.0 Гр, с помощью гистохимических методик исследованы радиационно-индуцированные изменения ядерной ДНК в нейронах головного мозга. Установлено, что как у контрольных, так и облученных животных на протяжении всей жизни происходят волнообразные изменения содержания ядерной ДНК в нейронах с постепенным снижением показателей к окончанию срока наблюдения. При этом изменения ДНК в нейронах, как правило, связаны с изменениями размеров ядер. Регрессионный анализ показал, что однократное общее облучение в малых дозах оказывает на динамику ядерной ДНК нелинейное стохастическое влияние, характеризующееся отсутствием дозо-временной зависимости, и не вызывает значимых органических изменений содержания и топочимии продуктов гистохимических реакций в нейронах головного мозга по сравнению с возрастным контролем.

Ключевые слова: малые дозы радиации, головной мозг, нейрон, кариометрические показатели, ядерная ДНК

DOI: 10.31857/S0869803120040116

Важнейшей радиационной мишенью клеток являются нуклеиновые кислоты. Уже в первых обзорах проблемы [1, 2] показано, что под действием ионизирующего излучения нарушаются синтез ДНК, структура ДНК-матрицы, затем синтез РНК. Отмечено стимулирующее действие облучения в дозах до 1.0 Гр на активность ДНКаз и РНКаз головного мозга [1]. По этим показателям даже предпринимались попытки оценить зависимости “доза–эффект”, скорость восстановления и сравнительную радиостойчивость мозговых структур. Установлено снижение содержания ДНК и РНК как в спинном, так и в головном мозге в первые сутки после облучения кроликов в дозе 6 Гр. Также показано полное восстановление разрывов нитей ДНК нейронов мозжечка крыс в течение 38 ч после локального воздействия γ -излучения на область головы в дозе 50 Гр [2]. Сразу после облучения головы в дозах от 4 до 17 Гр в нейронах мозжечка наблюдалось снижение количества ДНК с коэффициентом седиментации ZOOS. В серии последующих исследований показана линейная зависимость между поглощенной дозой и числом разрывов нитей ДНК для нейронов, глиальных и эндотелиальных клеток головного мозга при облучении в дозах до 18 Гр. Однако большин-

ство этих повреждений были репарируемы уже в течение 30 мин после радиационного воздействия. Более выраженные ранние эффекты, проявляющиеся разрывами ДНК и снижением скорости ее синтеза, наблюдались после облучения развивающегося мозга. Так, подавление синтеза ДНК в мозжечке крысят зарегистрировано уже через 10 ч после облучения в дозе 1.5 Гр, а у 10-дневных животных лишь через 18 ч. Заслуживает внимания факт, что влияние облучения на синтез ДНК в мозжечке было более выражено, чем в остальных отделах мозга. Однако практически все исследователи считают, что для интерпретации вклада изменений ДНК в развитие радиоцеребральных эффектов данных пока недостаточно [2].

В настоящее время считается, что ответ клеток на различные воздействия, в том числе и облучение, определяется изменением экспрессии генов, модулирующих внутриклеточные программы функционирования [3]. Основными повреждениями генома клетки под действием радиации в малых дозах считаются одно- и двунитевые разрывы ДНК, модификация оснований (окислительное повреждение или отщепление), кластерные повреждения нитей ДНК, ее конформационные модификации, инверсии генов. Функциональные по-

следствия этих повреждений (изменения активности генов, индукция репаративных процессов или апоптоза, адаптивный ответ) отличаются от результатов действия радиации в больших дозах [4, 5]. В то же время радиобиологический подход, регламентирующий диапазон малых доз, рекомендуемый НКДАР, базируется в основном на экспериментальных исследованиях полноты репарации ДНК и на индукции опухолей у лабораторных животных [6–11]. Большинство исследований данного эффекта выполнено *in vitro*, в то время как на уровне целого организма он изучен слабо. Важность такого рода исследований обусловлена необходимостью оценки риска последствий радиационного воздействия и разработки более эффективных методов радиотерапии [11–13]. Однако исследования на людях не дали прямых доказательств, обусловленных облучением наследуемых патологий. Эксперименты свидетельствуют о неоднозначности прямого переноса радиобиологических закономерностей модельных опытов на эпидемиологические ситуации, что связано со сложностью интерпретаций результатов опытов на клеточных культурах для возможной ситуации *in vivo* [14–16]. К настоящему времени для облученных популяций человека не установлены наследуемые генетические патологии. Эпидемиологические исследования не способны продемонстрировать доказательства основных эффектов облучения родителей до зачатия как среди потомков, выживших после атомных бомбардировок в Японии, так и среди работников, подвергавшихся воздействию радиации [6–8].

Научная литература о радиационно-индуцированном изменении нуклеиновых кислот, в том числе и в нейронах головного мозга, постоянно пополняется [17–22]. Однако принципиально новых данных не получено, а морфологическое исследование распределения нуклеиновых кислот в нейронах головного мозга облученных животных практически не проводится [23, 24]. В связи с этим целью исследования являлось изучение динамики (на протяжении жизни) состояния ядерной ДНК в нейронах головного мозга крыс, подвергшихся общему воздействию γ -излучения в дозах от 0.1 до 1 Гр.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В основу эксперимента положены данные о лучевой нагрузке у военнослужащих-ликвидаторов аварии на ЧАЭС и состоянии их здоровья в ранние и отдаленные сроки пострадиационного периода [24]. Исследование с соблюдением правил биоэтики выполнено на 320 половозрелых беспородных крысах-самцах в возрасте 4 мес. к началу эксперимента (что соответствует 27–28 годам возраста ликвидаторов-вертолетчиков), подвергшихся общему однократному воздействию γ -

квантов ^{60}Co в дозах 0.1, 0.2, 0.5 и 1.0 Гр (энергия 1.2 МэВ; мощность дозы 0.5, 1.0, 2.5 и 6.6 Гр/ч). Участки головного мозга (лобная кора – поле FPa; теменная кора поле – PA^s; кора мозжечка – culmen) забирали в первые часы и сутки (время, соответствующее возможной первичной реакции на облучение), 6 мес. (возраст профессионально-долголетия летного состава, участвующего в ликвидации последствий Чернобыльской радиационной аварии – 40 лет), 12 мес. (предельный возраст пребывания на военной службе – 50 лет), 18 и 24 мес. (пожилой и старческий возраст) пострадиационного периода. Каждой группе соответствовал адекватный возрастной контроль. После стандартных гистологических процедур на парафиновых срезах, окрашенных по методу Ниссля, оценивали динамику морфометрических и тинкториальных показателей нейронов. Выявление ДНК проводили на криостатных и парафиновых срезах, окрашенных по методу S. Shea с соответствующим контролем ДНКазой. При этом детально выявляются цитоплазма и ядрышко нейронов благодаря содержанию большого количества рибонуклеопротеидов, а нуклеоплазма, содержащая ДНК, окрашивается в другой цвет. Как правило, структуры, содержащие РНК, окрашиваются в интенсивно сиреневый цвет, а структуры, содержащие ДНК, – в сине-зеленый, что позволяет легко их дифференцировать. При этом надо учитывать, что варианты окраски нуклеиновых кислот могут варьировать в зависимости от методик гистохимических процедур, но всегда они окрашиваются в различные цвета.

Кариометрические показатели ядер нейронов и содержание в них ДНК оценивали с помощью компьютерной программы Image J. 36 b Wayne Rasband National Institutes of Health, USA. Количество нейронов у каждого животного, необходимых для определения нейроморфологических показателей, определяемое методом аккумуляированных срезов, составляло от 300 до 400. При этом рассматриваемые показатели имеют распределение, близкое к нормальному (среднее арифметическое, геометрическое и гармоническое значения незначительно отличаются друг от друга, это же касается моды и медианы; минимальные и максимальные значения примерно равноудалены от среднего значения и стандартизированные коэффициенты асимметрии и эксцесса по абсолютной величине < 2). При незначительном коэффициенте вариации показателей в данном случае возможно использование параметрических методов обработки результатов. Описательную статистику с вычислением средних и доверительные интервалы осуществляли с помощью пакетов программ Statistica 6.1, MSExcel 2007 и MathCad 14 с последующим математическим моделированием нейроморфологических показателей. Алгоритм проведения эксперимента, обра-

ботки, исследования и статистического анализа материала достаточно подробно представлен нами ранее [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные нами ранее исследования животных, подвергшихся внешнему воздействию ионизирующего излучения в дозах до 1.0 Гр, не выявили значимых органических изменений в нейронах головного мозга на протяжении всей жизни. Выявленные изменения являются неспецифическими, как правило, обратимы и имеют стохастический характер, не зависящий от доз-временных параметров. В исследуемом диапазоне доз изменения статистически значимых различий не имеют. Радиационные воздействия в малых дозах вызывают, как правило, функциональные изменения в нейронах, нарушающие баланс между процессами возбуждения и торможения. Характер этих изменений показывает, что ионизирующее излучение в малых дозах может вызывать разнонаправленные эффекты, снижая одни нейроморфологические показатели и повышая другие, что свидетельствует об определенной неустойчивости структурно-функциональной организации нейронов. Эти изменения в большинстве случаев обратимы, но при увеличении дозы облучения или действия сопутствующих вредных и опасных факторов среды могут predispose к развитию расстройств функционирования нервной системы [23, 24].

Настоящее исследование показало, что через сутки после радиационного воздействия размер ядер грушевидных нейронов мозжечка имел тенденцию к снижению, а при дозе 1.0 Гр снижение было статистически значимым. Через 6 мес. во всех экспериментальных группах размер ядер был меньше возрастного контроля и оставался на этом уровне и через 12 мес. наблюдения, после чего имел тенденцию к нормализации. Исключение составила группа животных, облученных в дозе 0.1 Гр, где показатель нормализовался уже через 12 мес., через 18 мес. снижался и вновь повышался через 24 мес. пострадиационного периода (рис. 1).

Содержание ДНК в ядрах нейронов через сутки после облучения в дозе 1.0 Гр снижалось, а при других дозах оставалось на уровне возрастного контроля. Через 6 мес. количество ядерной ДНК при всех дозах радиационного воздействия соответствовало возрастному контролю. Через 12 мес. при дозах облучения 0.1 и 0.5 Гр рассматриваемый показатель снижался, а при дозах 0.2 и 1.0 Гр практически соответствовало контролю. Через 18 мес. содержание ДНК в ядрах нейронов при всех дозах облучения не имело значимых различий с возрастным контролем, а к концу пострадиационного периода снижалось (рис. 1).

Установив, что между параметрами воздействующих факторов – дозой облучения, време-

Содержание в ядрах ДНК в % к контролю

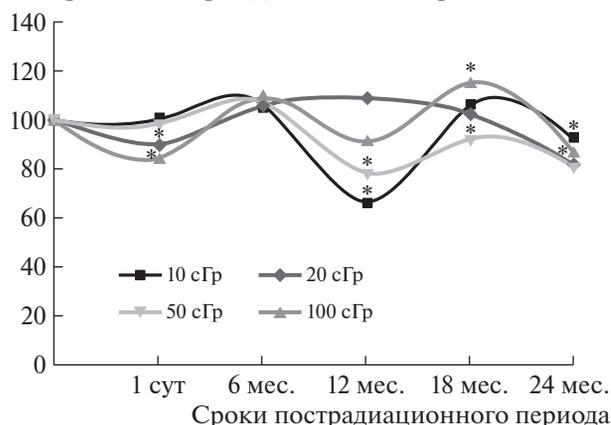


Рис. 1. График зависимости содержания ДНК в ядрах нейронов ганглионарного слоя коры мозжечка от дозы облучения и времени пострадиационного периода. * Различия с контролем статистически значимы ($p < 0.05$).

Fig. 1. Graph of content Dnkw the nuclei of neurons of ganglionic layer of cerebellar cortex from radiation dose and time post radiation period. * Differences in the statistical control are reliable ($p < 0.05$).

нем после воздействия и динамикой изучаемых показателей морфофункционального состояния нейронов существуют неодинаково направленные связи, был проведен сравнительный анализ зависимостей выявленных изменений от воздействия изучаемых факторов. Основной целью исследования являлось установление приоритета каждого из них для построения математической модели. Математическую модель динамики изучаемых нейроморфологических показателей в коре мозжечка в зависимости от дозы облучения и времени пострадиационного периода представляли в виде уравнения регрессии

$$\Pi = a_0 + a_1x + a_2y + a_3xy + a_4x^2 + a_5y^2 + a_6x^3 + a_7y^3,$$

где Π – исследуемый показатель, x – доза облучения; y – время пострадиационного периода; xy , x^2 , y^2 , x^3 , y^3 – взаимные влияния параметров x , y и нелинейное влияние каждого из этих параметров. При построении регрессионных моделей учитывались только параметры для коэффициентов с уравнением значимости $p < 0.05$. Алгоритм расчетов подробно приведен нами в работах [19, 23]. Показано, что размер ядер клеток Пуркинье при малых радиационных воздействиях зависит от дозы облучения и времени пострадиационного периода. При этом доза облучения оказывает большее влияние на динамику показателя, чем время, прошедшее после облучения. Уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\Pi = 0.7418 - 0.9541x + 0.4269y + 2.083x^2 - 1.6498y^2 - 1.2478x^3 + 1.119y^3.$$

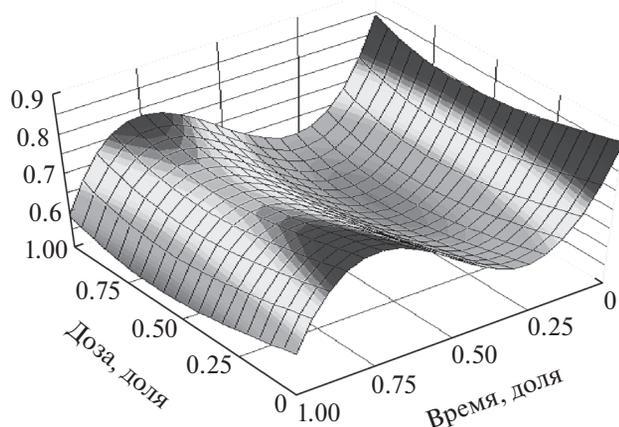


Рис. 2. График зависимости содержания ДНК в ядрах нейронов ганглионарного слоя коры мозжечка от дозы облучения и времени пострadiационного периода.

Fig. 2. Graph of the dependence of the DNA content in the nuclei of neurons of the ganglion layer of the cerebellar cortex on the radiation dose and the time of the irradiation period.

Коэффициент диагностической значимости модели $R^2 = 0.59$, но связь аргументов слабая ($r = 0.35$).

Содержание ядерной ДНК зависит как от дозы облучения, так и от времени пострadiационного периода. При этом время имеет большее влияние на динамику состояния ядерной ДНК, чем доза облучения, так как абсолютные значения коэффициентов при аргументе времени выше таковых при дозе облучения. Уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \Pi = & 0.8719 - 0.1789x - 1.9937y + \\ & + 4.9798y^2 + 0.1499x^3 - 3.24084y^3. \end{aligned}$$

Диагностическая значимость модели высокая ($R^2 = 0.74$), а связь аргументов средняя ($r = 0.55$). Визуальная оценка функции модели представлена на рис. 2.

Из графика следует, что показатель содержания ядерной ДНК имеет два экстремума (минимум и максимум), на образование которых влияет время пострadiационного периода, а доза облучения сопряжена с существованием одного минимума.

Кариометрические исследования показали, что через одни сутки после радиационного воздействия в теменной коре размер ядер нейронов нелинейно зависел от дозы облучения. При дозе облучения 0.1 Гр этот показатель увеличивался на 53.8%, при 0.2 Гр уменьшался на 27.8%, а при 1.0 Гр не изменялся вплоть до 12 мес. наблюдения. При дозе облучения 0.1 Гр размер ядер через 6 мес. был увеличен на 24.5%, а через 12 мес. на 50.1% по сравнению с контролем. В группе животных, облученных в дозе 0.2 Гр, рассматриваемый

показатель увеличивался на 14.6% через 6 мес. наблюдения, а в остальные сроки соответствовал возрастному контролю. К концу пострadiационного периода размеры ядер при дозах облучения 0.1 и 0.2 Гр соответствовали возрастному контролю, а при 1.0 Гр составляли от него 82.8% (рис. 3).

Содержание ядерной ДНК при облучении в дозе 0.1 Гр во все сроки наблюдения практически не изменялось. При 0.2 Гр через сутки рассматриваемый показатель повысился на 12.6%, а в последующие сроки наблюдения соответствовал возрастному контролю. Через сутки после облучения в дозе 1.0 Гр содержание ядерной ДНК не изменялось, через 6 и 12 мес. было повышено на 12.5 и 10% соответственно, а через 18 мес. соответствовало контрольному уровню (рис. 3).

Модель изменений кариометрических показателей и содержания ядерной ДНК в нейронах теменной коры (регрессионный анализ) представляли аналогичной для нейронов мозжечка. Уравнение регрессии, описывающее динамику кариометрических показателей нейронов теменной коры при однократном радиационном воздействии, выглядит следующим образом:

$$\begin{aligned} \Pi = & 0.5764 + 3.7560x - 0.9928y - \\ & - 23.3807x^2 + 2.3429y^2 + 19.6015x^3 - 1.453y^3. \end{aligned}$$

Коэффициент диагностической значимости модели $R^2 = 0.61$, связь между эффектом и исследуемыми аргументами умеренная — коэффициент корреляции $r = 0.37$. Из уравнения регрессии следует, что размер ядер нейронов нелинейно зависел от дозы облучения, а время после облучения оказывало на рассматриваемый показатель меньшее влияние. Для оценки содержания ядерной ДНК в нейронах теменной коры при однократном облучении математическая модель оказалась неадекватной (при ее построении коэффициенты регрессии были незначимыми, $p > 0.05$). На эти показатели оказывал влияние только один аргумент (x), что хорошо видно из соответствующего уравнения:

$$\Pi = 0.3882 + 2.6685x^2 - 2.5189x^3.$$

Содержание ядерной ДНК в нейронах зависит лишь от нелинейных составляющих дозы облучения. Коэффициент диагностической значимости модели $R^2 = 0.31$, а связь между эффектом и дозой облучения отсутствует ($r = 0.09$).

Согласно данным, представленным на рис. 4, в лобной коре размер ядер нейронов V слоя (большие пирамидные нейроны) сразу после облучения в дозе 0.5 Гр (мощность дозы облучения 0.5 Гр/ч) снижается по отношению к контролю на 19% ($p < 0.05$), но в последующие сроки наблюдения (5 ч и 1 сут) статистически значимо превышает данный показатель у контрольных животных.

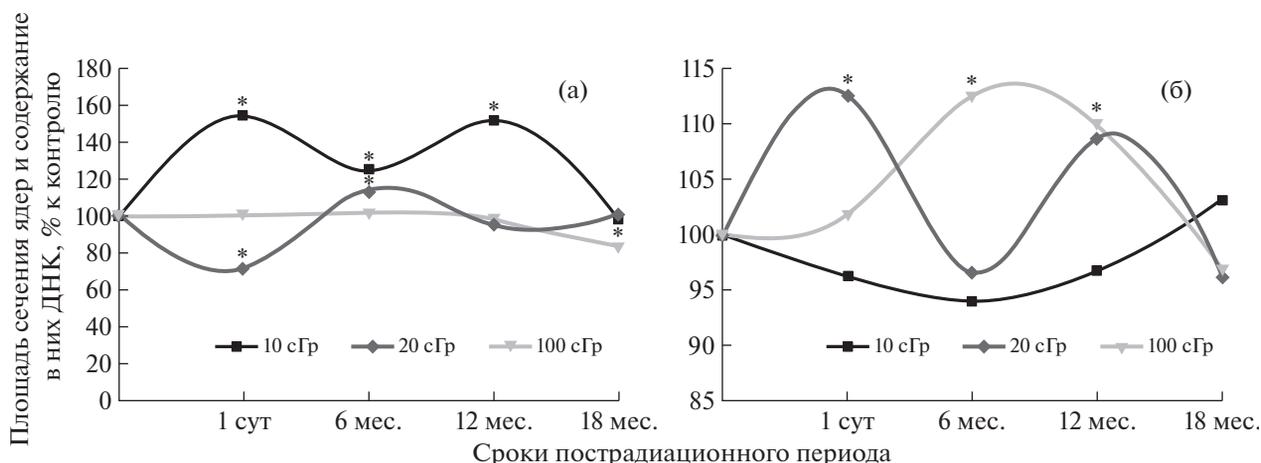


Рис. 3. График зависимости размера ядер (а) и содержания в ядрах ДНК (б) в нейронах теменной коры от дозы облучения и времени пострadiaционного периода. * Различия с контролем статистически достоверны ($p < 0.05$).

Fig. 3. Graph of the dependence of the size of nuclei (a) and the content in the nuclei of DNA (b) neurons of the parietal cortex on the dose and time of the postradiation period. * Differences with control were statistically significant ($p < 0.05$).

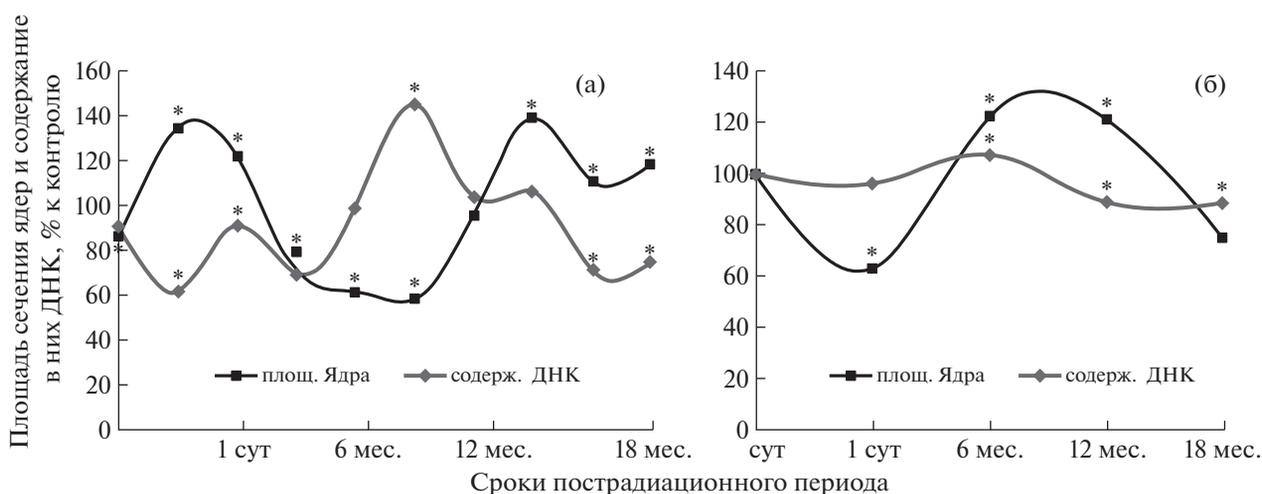


Рис. 4. График зависимости размера ядер (а) и содержания в них ДНК (б) в нейронах V слоя лобной коры от времени пострadiaционного периода при облучении (0.5 Гр) с мощностью дозы 0.5 Гр/ч (а) и 6.6 Гр/ч (б). * Различия с контролем статистически значимы ($p < 0.05$).

Fig. 4. Graph of the size of nuclei (a) and the content of DNA (b) neurons in the nuclei of the V layer of the frontal cortex from radiation at a dose of 0.5 Gy with a dose rate of 0.5 et 6.6 Gy/h and the time of the postradiation period. * Differences with control were statistically significant ($p < 0.05$).

Через 3 сут размер ядер значительно уменьшается и составляет 70.2% от уровня контроля ($p < 0.05$). После 14 сут наблюдения размер ядер нейронов увеличивается и через 30 сут соответствует контролю, а через 6, 12 и 18 мес. статистически значимо превышает его. Содержание ядерной ДНК в нейронах облученных животных до 3 сут статистически значимо снижается по сравнению с контролем. Через 7 сут содержания ядерной ДНК в нейронах сравниваемых групп не имеет различий, а через 14 сут показатель облученных животных превышает контроль на 43.8% ($p < 0.05$). Через 6 мес. содержание ДНК в ядрах нейронов ста-

тистически значимо снижается и через 12 и 18 мес. составляет от уровня контроля 71.5 и 74.3% соответственно (рис. 4).

При увеличении мощности дозы облучения до 6.6 Гр размер ядер нейронов в лобной коре через 1 сут после воздействия уменьшался и составлял 63.5% от уровня контроля, а содержание ядерной ДНК соответствовало контролю – 96.7%. Через 6 мес. размер ядер увеличился на 22.7%, а содержание ядерной ДНК – на 7.5%. Через 12 мес. размер ядер превышал возрастной контроль на 22.1%, через 18 мес. уменьшился до 74.4%, а со-

Таблица 1. Оценка зависимости размера ядер нейронов от контролируемых показателей
Table 1. Evaluation of the dependence of the size of neuronal nuclei on the effects of controlled factors

Показатель	Коэффициент оценки	Стандартная ошибка	T-статистика	Уровень значимости
Константа	0.2812	0.0206	13.601	$<1 \times 10^{-19}$
a_2	0.5707	0.1447	3.943	0.000141
a_4	-0.0811	0.0360	-2.249	0.026475
a_5	-0.5787	0.1490	-3.884	0.000176

держание ядерной ДНК снизилось до 89.1% от уровня контроля (рис. 4).

При радиационном воздействии в дозе 0.5 Гр (различная мощность дозы облучения) математическую модель зависимости динамики кариометрических показателей и содержания в ядрах нейронов ДНК от мощности дозы облучения и времени пострadiационного периода представляли уравнением регрессии:

$$П = a_0 + a_1z + a_2y + a_3zy + a_4z^2 + a_5y^2,$$

где П – исследуемый показатель; z – мощность дозы облучения; y – время пострadiационного периода; zy , z^2 , y^2 – взаимные влияния параметров z и нелинейное влияние каждого из этих параметров, a_0 , a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , a_5 – коэффициенты регрессии при z , y , zy и т.д. При построении регрессионных моделей динамики размера ядер нейронов и содержания в них ДНК получены параметры для коэффициентов с уровнем значимости, меньшим 0.05, представленные в табл. 1.

Анализ данных таблицы показывает, что изменение размера ядер нейронов зависит от всех рассматриваемых факторов, но большее влияние на показатель оказывает время, прошедшее после облучения.

Эффект влияния рассматриваемых факторов на размер ядер приемлемый: уровень значимости модели составляет менее 1×10^{-19} при коэффициенте диагностической значимости 0.38. Эти параметры и ряд других, характеризующих модель, показаны в табл. 2. Уравнение регрессии, описывающее зависимость размера ядер от рассматриваемых показателей, выглядит следующим образом:

$$П = 0.28121 + 0.57071y - 0.081049z^2 - 0.578777y^2.$$

Визуальная оценка динамики размера ядер нейронов лобной коры показана на графике (рис. 5,а). Из графика видно, что максимальные значения показателя соответствуют средним диапазонам значений прошедшего после облучения времени и начальному диапазону мощности дозы облучения. При этом время пострadiационного периода имеет большее влияние на динамику рассматриваемого показателя.

Как следует из табл. 3, показатель содержания ДНК в ядрах значимо зависит от всех рассматриваемых факторов, в том числе и от сочетанного влияния мощности дозы облучения и времени пострadiационного периода. Эффект влияния факторов на содержание ДНК в ядрах нейронов приемлемый: уровень значимости модели составляет менее 1×10^{-19} при коэффициенте диагностической значимости $R^2 = 0.701$. Параметры, характеризующие модель, представлены в табл. 4.

Уравнение регрессии, описывающее влияние изучаемых факторов на содержание ядерной ДНК нейронов лобной коры, выглядит следующим образом:

$$П = 0.4868 - 0.7257z + 0.551y - 0.474zy + 1.006z^2 + 0.602y^2.$$

Визуальная оценка зависимости содержания ядерной ДНК от мощности дозы облучения и времени пострadiационного периода представлена на графике (рис. 5,б). Из графика видно, что максимальному значению функции соответствуют максимальное значение мощности дозы облучения и минимальное значение времени после облучения, т.е. содержание ДНК в ядрах достигает своего максимума при высоких значениях мощности дозы облучения и начальных значениях времени пострadiационного периода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературы показал, что, несмотря на значительное количество работ по исследованию влияния ионизирующего излучения на состояние нуклеиновых кислот [4, 6, 12, 14, 17–22], эксперименты, прослеживающие изменения ДНК в ядрах нейронов головного мозга на всем пострadiационном периоде, достаточно редки [19, 23, 24]. Проведенные нами нейроморфологические и гистохимические исследования показали, что как у контрольных, так и облученных животных на протяжении всей последующей жизни в нейронах головного мозга происходят волнообразные изменения содержания ядерной ДНК с постепенным снижением рассматриваемых показателей к окончанию пострadiационного периода. При этом динамика содержания ДНК в ядрах нейронов на отдельных этапах пострadiационного пе-

Таблица 2. Оценка адекватности математической модели, описывающей влияние рассмотренных факторов на размер ядер

Table 2. Evaluation of the adequacy of the mathematical model of the influence of parameters on the dynamics of the size of the nuclei

Параметр	Сумма квадратов отклонений	Степени свободы	Средний квадрат	F-статистика	Уровень значимости
Модель	11.132	4.0	2.783	122.68	$< 1 \times 10^{-19}$
Остаток	2.495	110.0	0.022		
Модель с приведенной суммой	11.132	4.00	2.7831	107.89	$< 1 \times 10^{-19}$

Примечание. Коэффициент корреляции факторов $r = 0.144$. Коэффициент диагностической значимости модели $R^2 = 0.379$.

Таблица 3. Оценка зависимости содержания ДНК в ядрах нейронов от контролируемых показателей

Table 3. Assessment of the relationship of DNA content in the nuclei of neurons from the effects of controllable factors

Показатель	Коэффициент оценки	Стандартная ошибка	T-статистика	Уровень значимости
Константа	0.486	0.024	20.377	$< 1 \times 10^{-19}$
a_1	-0.725	0.341	-2.125	0.0358
a_2	-0.551	0.100	-5.504	$< 1 \times 10^{-19}$
a_3	-0.474	0.066	-7.084	$< 1 \times 10^{-19}$
a_4	1.006	0.324	3.098	0.0024
a_5	0.601	0.102	5.881	$< 1 \times 10^{-19}$

риода больше связана с изменениями кинематрических показателей, чем с изменением ее синтеза и внутриклеточного транспорта. Регрессионный анализ показал, что облучение в изученных дозах оказывает на динамику ядерной ДНК нелинейное стохастическое влияние, характеризующееся

отсутствием дозо-временной зависимости, и не вызывает значимых изменений топочимии продукта гистохимической реакции при выявлении ДНК в нейронах головного мозга. Однако при увеличении мощности дозы облучения изменения содержания ДНК в ядрах нейронов головно-

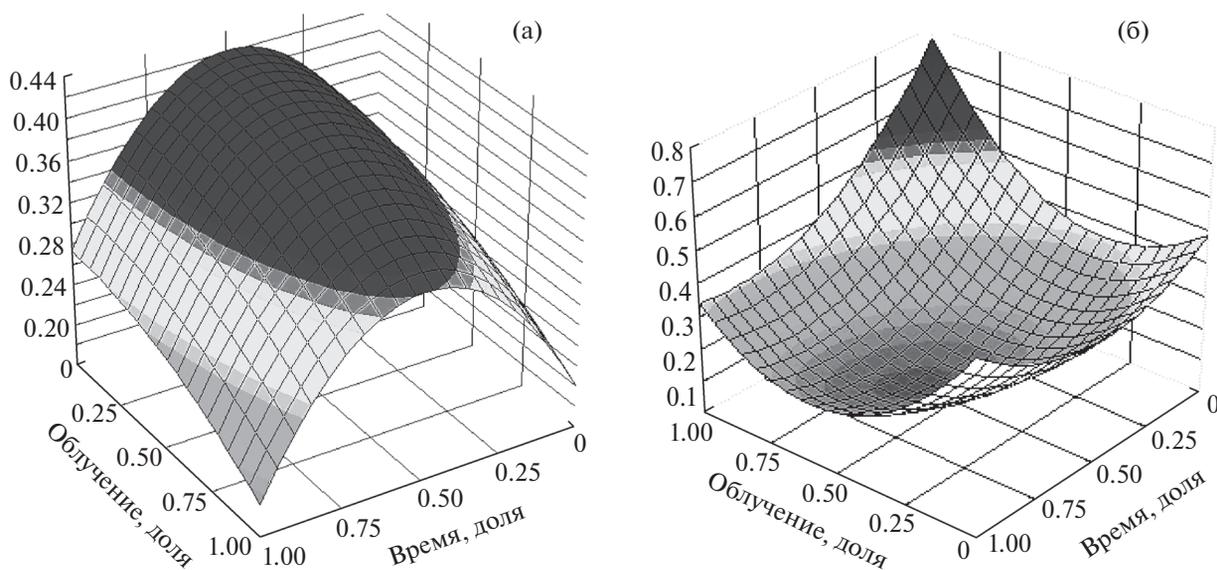


Рис. 5. График зависимости размера ядер (а) нейронов и содержания в них (б) ДНК от мощности дозы облучения и времени пострadiационного периода.

Fig. 5. Graph of the size of nuclei (a) of neurons and their (b) DNA content on the dose rate and time of the post-radiation period.

Таблица 4. Оценка адекватности математической модели, описывающей влияние рассматриваемых факторов на содержание ДНК в ядрах нейронов
Table 4. Assessment of the adequacy of the mathematical model of the influence of factors on the dynamics of DNA content in the nuclei of neurons

Параметр	Сумма квадратов отклонений	Степени свободы	Средний квадрат	F-статистика	Уровень значимости
Модель	22.692	6.00		365.75	$<1 \times 10^{-19}$
Остаток	1.116	108.00	0.0103		
Модель с приведенной суммой	22.692	6.00	3.7821	194.69	$<1 \times 10^{-19}$

Примечание. Коэффициент корреляции факторов $r = 0.491$. Коэффициент диагностической значимости модели $R^2 = 0.701$.

го мозга имеют более выраженный характер. В конце пострadiационного периода, когда наблюдается гибель как облученных, так и контрольных животных, содержание ДНК в нейронах головного мозга статистически значимо снижается во всех экспериментальных группах, но в большей степени у облученных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рева А.Д. Ионизирующие излучения и нейрохимия. М.: Атомиздат, 1974. 240 с. [Reva A.D. Ioniziruyushchie izlucheniya i nejrokhimiya. Moscow: Atomizdat, 1974. 240 p. (in Russian)]
2. Давыдов Б.И., Ушаков И.Б. Ионизирующие излучения и мозг: поведенческие и структурно-функциональные паттерны // Итоги науки и техники. Радиационная биология. М.: ВИНТИ, 1987. Т. 8. 336 с. [Davydov B.I., Ushakov I.B. Ioniziruyushchie izlucheniya i mozg: povedencheskie i strukturno-funktional'nye pattern // Itogi nauki i tekhniki. Radiatsionnaya biologiya. M.: VINITI, 1987. T. 8. 336 p. (in Russian)]
3. Шуленина Л.В., Михайлов В.Ф., Рева Н.Ф. Содержание микроРНК и мРНК генов в периферической крови больных раком предстательной железы при формировании осложнений органов малого таза после лучевой терапии // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016. С. 76–78 [Shuleniina L.V., Mikhailov V.F., Reva N.F. Soderzhanie mikroRNK i mRNK genov v perifericheskoy krvi bol'nykh rakom predstatel'noj zhelezy pri formirovaniy oslozhnenij organov malogo taza posle luchevoj terapii // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchений. Dubna, 2016. P. 76–78. (in Russian)].
4. Газиев А.И. Фрагменты ДНК из гибнувших клеток можно рассматривать как мобильные генетические элементы, индуцирующие мутагенез // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016. С. 13–14. [Gaziev A.I. Fragmenty DNK iz gibnuvshikh kletok možno rassmatrivat' kak mobil'nye geneticheskie elementy, indutsiruyushchie mutagenez // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchений. Dubna, 2016. P. 13–14. (in Russian)]
5. Жижина Г.П., Заварыкина Т.М., Фаткуллина Л.Д. Действие малых доз ионизирующей радиации и фенозана на структуру ДНК и мембран клеток мышей // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016. С. 20–23. [Zhizhina G.P., Zavarykina T.M., Fatkullina L.D. Dejstvie malyx doz ioniziruyushchej radiatsii i fenozana na strukturu DNK i membran kletok myshej // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchений. Dubna, 2016. P. 20–23. (in Russian)]
6. Бирюков А.П., Котеров А.Н. Роль радиобиологии при оценке радиационного риска // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2010. № 1. С. 25–30. [Biryukov A.P., Koterov A.N. Rol radiobiologii pri otsenke radiatsionnogo riska // Mediko-biologicheskiye problemy zhiznedeyatel'nosti. 2010. № 1. P. 25–30. (in Russian)]
7. Котеров А.Н. Малые дозы и малые мощности доз ионизирующей радиации: регламентация диапазонов, критерии их формирования и реалии XXI века // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2009. Т. 54. № 3. С. 5–26. [Koterov A.N. Malyye dozy i malyye moshchnosti doz ioniziruyushchej radiatsii: reglamentatsiya diapazonov, kriterii ikh formirovaniya i realii XXI veka // Med. radiologiya i radiats. bezopasnost'. 2009. T. 54. № 3. P. 5–26. (in Russian)]
8. United Nations. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex F. DNA repair and mutagenesis. New York: United Nations, 2000. P. 1–72.
9. United Nations. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Epidemiological studies of radiation and cancer. New York: United Nations, 2008. P. 17–322.
10. Jacob N.K., Cooley J.V., Yee T.N. et al. Identification of sensitive serum microRNA biomarkers for radiation biodosimetry // PLoS One. 2013. V. 8. № 2. 603 p.
11. Sahu A., Sighal U., Chinnaiyan A. Long non-coding RNAs in cancer: from function to translation // Trends Cancer. 2015. V. 1. P. 93–109.
12. Евдокимовский Э.В., Абдуллаев С.А., Митрошина И.Ю., Губина Н.Е. Облучение головного мозга влияет на число копий мтДНК и ее транскриптов в необлученных тканях мышей // Актуальные проблемы радиобиологии и астробиологии. Генетические и эпигенетические эффекты ионизирующих излучений. Дубна, 2016. С. 19–20. [Evdokimovskij E.V., Abdullaev S.A., Mitroshina I.Yu., Gubina N.E. Obluchenie golovnogo mozga vliyaet na chislo kopiy mtDNK i ee transkriptov v neobluchennykh tkanyah myshej // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izluchений. Dubna, 2016. P. 19–20. (in Russian)]

- golovnoogo mozga vliyaet na chislo kopij mtDNK i ee transkriptov v neobluchennykh tkanyakh myshej // Aktual'nye problemy radiobiologii i astrobiologii. Geneticheskie i epigeneticheskie efekty ioniziruyushchikh izlucheniij. Dubna, 2016. P. 19–20. (in Russian)]
13. United Nations. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex C. Non-targeted and delayed effects of exposure to ionizing radiation. New York: United Nations, 2009. P. 1–79.
 14. *Котеров А.Н.* Ограничения при распространении закономерностей для клеток *in vitro* на область радиационной медицины // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2009. Т. 54. № 5. С. 5–14. [*Kotero A.N.* Ogranicheniya pri rasprostraneni zakonomernostey dlya kletok *in vitro* na oblast radiatsionnoy meditsiny // Med. radiologiya i radiats. bezopasnost. 2009. T. 54. № 5. P. 5–14. (in Russian)]
 15. *Guidaa M.S., Abd El-Aalab A., Kafafyc Y. et al.* Thymoquinone Rescues T. Lymphocytes from Gamma Irradiation-Induced Apoptosis and Exhaustion by Modulating Pro-Inflammatory Cytokine Levels and PD-1, Bax, and Bcl-2 Signaling // Cell Physiol. Biochem. 2016. V. 38. P. 786–800.
 16. *Trott K.R., Rosemann M.* Molecular mechanisms of radiation carcinogenesis and the linear, nonthreshold dose response model of radiation risk estimation // The Effects of Low and Very Low Doses of Ionizing Radiation on Human Health / Ed. WONUC. Amsterdam–New-York: Elsevier Soences B.V., 2000. P. 65–77.
 17. *Абдуллаев С.А., Буланова Т.С., Тимошенко Г.Н., Газиев А.И.* Исследование количества копий и гетероплазмии митохондриальной ДНК в различных областях мозга крыс после облучения их голов протонами 150 МэВ // Современные вопросы радиационной генетики: Мат. Рос. конф. с междунар. участием. Дубна: ОИЯИ, 2019. С. 7–104. [*Abdullaev S.A., Bulanova T.S., Timoshenko G.N., Gaziev A.I.* Issledovanie kolichestva kopij i heteroplazmii mitohondrial'noj DNK v razlichnyh oblastyah mozga krysov posle oblucheniya ih golov protonami 150 MeV // Sovremennye voprosy radiacionnoj genetiki: Materialy Rossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Dubna: OIYAI, 2019. P. 7–104. (in Russian)]
 18. *Батмунх М., Баярчимэг Л., Бугай А.Н. и др.* Моделирование индукции и репарации повреждений ДНК в клетках гиппокампа при действии тяжелых заряженных частиц // Современные вопросы радиационной генетики: Мат. Рос. конф. с междунар. участием. Дубна: ОИЯИ, 2019. С. 20–21. [*Batmunkh M., Bayarchimeg L., Bugaj A.N. et al.* Modelirovanie indukcii i reparacii povrezhdenij DNK v kletkah gippokampa pri dejstvii tyazhelyh zaryazhennyh chastic // Sovremennye voprosy radiacionnoj genetiki: Materialy Rossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Dubna: OIYAI, 2019. P. 20–21. (in Russian)]
 19. *Ушаков И.Б., Федоров В.П.* Моделирование радиационно-индуцированных изменений ядерной ДНК нейронов головного мозга // Современные вопросы радиационной генетики: Мат. Рос. конф. с междунар. участием. Дубна: ОИЯИ, 2019. С. 102–104. [*Ushakov I.B., Fedorov V.P.* Modelirovanie radiacionno-inducirovannyh izmenenij yadernoj DNK neyronov golovnoogo mozga // Sovremennye voprosy radiacionnoj genetiki: Materialy Rossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. Dubna: OIYAI, 2019. P. 102–104. (in Russian)]
 20. *Sankaranarayanan K., Chakraborty R.* Ionizing radiation and genetic risks. XIII. Summary and synthesis of papers VI to XII and estimates of genetic risks in the year 2000 // Mutat. Res. 2000. V. 453. № 2. P. 183–197.
 21. *Schettino G.* Low dose binary behavior of bystander cell killing after microbeam irradiation of a single cell with focused Ck X ray // Radiat. Res. 2005. V. 163. № 3. P. 332–336.
 22. *Goodhead D.T.* Fifth Warren K. Singlaire keynote address: issues in quantifying the effects of low-level radiation // Health Phys. 2009. V. 97. № 5. P. 394–406.
 23. *Ушаков И.Б., Федоров В.П.* Малые радиационные воздействия и мозг. Воронеж: Науч. книга, 2015. 536 с. [*Ushakov I.B., Fedorov V.P.* Malyye radiatsionnyye vozdeystviya i mozg. Voronezh: Nauch. Kniga, 2015. 536 p. (in Russian)]
 24. *Федоров В.П., Ушаков И.Б., Федоров Н.В.* Церебральные эффекты у ликвидаторов Чернобыльской аварии. Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. 390 с. [*Fedorov V.P., Ushakov I.B., Fedorov N.V.* Tserebralnyye efekty u likvidatorov Chernobyl'skoy avarii. Saarbrücken: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. 390 p. (in Russian)]

Radiation-induced Changes of Nuclear DNA in Neurons of the Brain

I. B. Ushakov^{a, #} and V. P. Fyodorov^b

^a Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

^b Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, EMERCOM of Russia, Saint-Petersburg, Russia
#E-mail: iushakov@fmbcfmba.ru

In experiments on rats exposed to General γ -irradiation at doses from 0.1 to 1.0 Gy, radiation-induced changes in nuclear DNA in brain neurons were investigated using histochemical techniques. It is established that both control and irradiated animals throughout their lives undergo wave-like changes in the content of nuclear DNA in neurons with a gradual decrease in the indicators by the end of the observation period. In this case, changes in DNA in neurons are usually associated with changes in the size of the nuclei. Regression analysis showed that a single total irradiation in small doses has a nonlinear stochastic effect on the dynamics of nuclear DNA, has no dose-time dependence and does not cause significant organic changes in the content and topochemistry of the products of histochemical reactions in the neurons of the brain compared to age control.

Keywords: small doses of radiation, brain, neuron, karyometric parameters, nuclear DNA

РАДИАЦИОННАЯ БИОФИЗИКА

УДК 577.3:633.15:631.53:614.875:539.164

ИЗМЕНЕНИЕ КОНФОРМАЦИИ КАРОТИНОИДОВ СЕМЯН ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТА И α -ЧАСТИЦ

© 2020 г. О. В. Слатинская¹, Ч. Н. Раденович², В. В. Шутова³, Г. В. Максимов^{1,4,*}

¹ Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Maize Research Institute, Zemun Polje – Институт кукурузы “Земун Поле”, Белград, Сербия

³ Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, Саранск, Россия

⁴ Национальный исследовательский технологический университет “МИСиС”, Москва, Россия

*E-mail: gmaksimov@mail.ru

Поступила в редакцию 31.05.2018 г.

После доработки 30.10.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

С помощью спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) исследована роль каротиноидов при облучении (УФВ и α -частицами) семян инбредной линии (zrpl 225) и гибрида (zr 341) кукурузы (*Zea mays* L.). Установлено, что облучение семян в области основания зерна (воздействие α -частиц высоких энергий, но не УФВ) меняет функциональное состояние растения за счет изменения конформации молекулы каротиноидов семян при переходе из 15-*cis* в *all-trans* состояние, а не колебаний С=С и С–С-связей полиеновой цепи молекулы каротиноидов.

Ключевые слова: ультрафиолет зоны В, α -частицы высоких энергий, кукуруза (*Zea mays* L.), гибриды, зерно, комбинационное рассеяние

DOI: 10.31857/S0869803120040104

Одним из способов повышения посевных качеств семян и увеличения скорости прорастания является их предобработка радиацией (от 1 Гр до 10 кГр, мощность дозы 10–900 Гр/ч) или ультрафиолетом (УФ-излучение, в диапазоне 315–380 нм) [1, 2]. Предполагают, что в результате данной технологии в клетках семян синтезируются фенолы и образуются активные формы кислорода (АФК) [3, 4]. Очевидно, что уровень АФК регулируется некоторыми антиоксидантами семян и, в первую очередь, каротиноидами. В связи с этим выявление различий состояния каротиноидов семян при действии физических факторов (свет, температура, радиация и т.д.) важно не только для диагностики функционального состояния семян, но и для разработки технологии формирования новых гибридов. С помощью спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР) было проведено систематическое исследование, свидетельствующее о связи между содержанием и молекулярными свойствами каротиноидов в хлоропластах листа кукурузы при действии на растение радиации и УФ [5]. Показано, что метод КР можно эффективно использовать для исследования конформации молекул каротиноидов семян, оценивая вклад колебаний отдельных связей молекулы (колебаний С=С и С–С-связей полиеновой цепи молекулы; переход атомов молекулы из плоской

конфигурации в изогнутую (искривление молекулы вне плоскости полиеновой цепи); изменение *cis-trans* конформации молекулы) [6].

В данной работе исследовали изменения конформации молекулы каротиноидов семян кукурузы (*Zea mays* L.) чистой линии и гибрида с повышенной всхожестью после локального воздействия ультрафиолетом зоны В (далее – УФВ) и α -частицами высоких энергий (далее – α -частицы).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили высокоурожайный гибрид кукурузы с улучшенной всхожестью (*Zea mays* L.) zr341 и чистая линия zrpl225 (линия и гибрид являются собственностью Maize Research Institute, Zemun Polje – Института кукурузы “Земун Поле”, г. Белград, Сербия). Вес семян составлял 281 ± 6 мг и 382 ± 17 мг соответственно. Отметим, что гибрид zr341 обладает высокими показателями качества, урожайности и пригодности к возделыванию [7, 8].

В качестве источника УФВ-излучения использовали ультрафиолетовый облучатель ($\lambda_{\max} = 312$ нм), собранный на основе трех люминесцентных эритемных ламп ЛЭ-30 (мощность 5.2 Вт/м², вклад УФВ-излучения 47.69%) [8–10]. Семена кукурузы фиксировали в пластиковой чашке Петри

и подвергали воздействию УФВ в течение 30, 60 и 90 мин (дозы – 4.46, 8.93 и 13.39 кДж/м² соответственно). В экспериментах с облучением УФВ и α -частицами облучению подвергалось основание зерна кукурузы.

Облучение семян с помощью пучка α -частиц высоких энергий (30 МэВ/нукл) с высоким значением линейной передачи энергии (ЛПЭ) осуществлялось на 120-см циклотроне НИИЯФ МГУ (Р7). Величина ЛПЭ частиц на поверхности объекта после прохождения частиц через 50 мкм алюминиевую фольгу составляла около 26.2 МэВ/нуклон, потери в воздухе (7 см) – около 3 МэВ/нуклон, глубина пробега α -частиц в крахмале – около 1620 мкм (средняя толщина семян 5000–7000 мкм). Так как толщина семени значительно больше длины пробега, будем для упрощения считать, что величина ЛПЭ α -частиц в толщине семян постоянна. Оценка величины поглощенной дозы D в семенах при облучении семян массой M α -частицами с энергией E : D (Гр) = E (Дж)/ M (кг). В соответствии с данными калибровки один отсчет интегратора тока соответствует заряду $Q = 2 \times 10^{-10}$ К, а заряд дейтрона $q = 1.6 \times 10^{-19}$ К. Энергия α -частиц, оставленная в слое семян, составила $E = N \times E_0$, где N – число α -частиц, прошедших через кювету, а $E_0 = 26.2$ МэВ – энергия, оставленная в семенах одной α -частицей. Таким образом, $N = ?$, $E_0 = 1.25 \times 10^9$ дейтронов/отсчет интегратора, а $E = 1.25 \times 10^9 \times 26.2$ МэВ/дейтрон = 32.75×10^9 МэВ/отсчет интегратора, или 52.4 Дж/отсчет интегратора.

Масса слоя семян толщиной 1620 мкм, облучаемая пучком диаметром 3 см (диаметр “окна”), при плотности крахмала 1.5 г/см³ составила 5.72×10^{-3} кг. Тогда D для одного отсчета интегратора составит 9.16 Гр/отсчет интегратора.

Облучение семян проводили в специально изготовленной кольцеобразной кювете с внешним и внутренним диаметром из фигурных колец 60 и 20 мм соответственно. Кювета состояла из двух одинаковых фигурных колец толщиной по 15 мм, соединенных болтами, и уплотняющим тефлоновым кольцом между ними. В центральной части кюветы помещали семена практически вплотную друг к другу в один слой. Кювету помещали на расстоянии 7 см за “окном” ионопровода. Интенсивность пучка частиц поддерживалась постоянной: около 10 отсчетов/с. Расчет энергии α -частиц и поглощенной дозы проводили, считая, что семена полностью состоят из крахмала и заполняют кювету ровным слоем. Облучение семян в кювете было выполнено для 160, 320 и 1600 импульсов интегратора тока, зарегистрированных пересчетным прибором ПС-100. Эти величины импульсов интегратора переводили в поглощенную дозу D . Семена подверглись облучению в дозах 1.5, 3 и 15 кГр [10, 12].

В опыт случайным образом отбирали семена (30 шт.), которые после облучения промывали проточной водой и размещали на фильтровальной бумаге при бесконтактном смачивании водой (при 22°C) до прорастания корешков (длина не менее 5 мм). Далее проростки выращивали в грунте до фазы третьего настоящего листа в условиях 16-часового светового дня при поддержании постоянной температуры 25°C. В качестве контроля использовали необлученные семена, находившиеся в аналогичных условиях. Качество семян оценивали (ГОСТ 13056.6-75) по параметрам всхожести (количество одновременно проросших семян на первый день прорастания – “первичная лабораторная всхожесть семян” и “лабораторная всхожесть” – количество нормально проросших семян на 7-е сутки (ГОСТ 12038-84)) и энергии прорастания (количество семян, проросших и давших корешки, равные половине длины семени) на 3-й день.

Изменения в морфологии корневой системы определяли на 5-й день проращивания семян. Для этого случайным образом отбирали 10 облученных семян и продолжали их выращивать в чашке Петри при бесконтактном смачивании водой на фильтровальной бумаге. В качестве критериев изменения морфологии облученных семян относительно контроля были выбраны такие параметры, как длина главного корня, разветвленность корневой системы, наличие корневых волосков и длина стебля. Изменения в морфологии проростков кукурузы, высаженных в грунт, измеряли на 14-й день после облучения семян по изменению длины и ширины листовой пластинки третьего листа.

Спектры КР регистрировали с помощью КР-спектрометра ДФС 24 с лазером 473 нм (Ciel, Eurobase, Россия), системой регистрации МОРС 1/3648 (Троицк, РФ) на базе линейной ПЗС-матрицы TCD1304DG (Toshiba, Япония) с фильтром LPO2-473RS-50 (Shemrock, США) в течение 10 с; мощность лазера на образце – 3 мВт [4]. Семена кукурузы измельчали и очищали от кукурузного крахмала, гомогенат помещали в кварцевую кювету (толщина поглощающего слоя 10 мм), которую юстировали в держателе КР-спектрометра. Регистрация спектров КР семян проводилась в течение 2 ч после начала эксперимента (облучение семян).

Статистическую обработку данных проводили с применением пакета программ Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, США), а спектров КР – с помощью пакета Origin Pro 2017 (OriginLab Corporation, США). Число повторов опытных и контрольных групп (n) было не менее шести.

Таблица 1. Параметры всхожести семян кукурузы после облучения
Table 1. Parameters of germination of corn seeds after irradiation

Доза облучения		Генотип кукурузы	Первичная лабораторная всхожесть, %	Энергия прорастания, %	Лабораторная всхожесть, %
Контроль		zpp1225	30 ± 6	50 ± 5	100 ± 1
		zp341	50 ± 4	87 ± 3	100 ± 0.5
Неионизирующее излучение, кДж/м ²	4.46	zpp1225	80 ± 6	100 ± 0.5	100 ± 0.5
		zp341	80 ± 4	100 ± 0.5	100 ± 0.2
	8.93	zpp1225	40 ± 8	50 ± 6	60 ± 3*
		zp341	50 ± 3	80 ± 4*	100 ± 0.5
	13.39	zpp1225	30 ± 6	90 ± 3*	100 ± 0.2
		zp341	90 ± 2*	100 ± 0.2*	100 ± 0.2
Ионизирующее излучение, кГр	1.5	zpp1225	38 ± 6	75 ± 2	100 ± 3.6
		zp341	100 ± 0.2	100 ± 0.5	100 ± 2
	3	zpp1225	14 ± 3*	71 ± 4*	71 ± 15*
		zp341	100 ± 0.5	100 ± 2	96 ± 8
	15	zpp1225	0*	17 ± 6*	33 ± 10*
		zp341	43 ± 5*	57 ± 8*	57 ± 16*

* Статистически достоверные отличия от контроля, $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенного исследования установлено, что при дозе 15 кГр функциональные параметры семян (первичная лабораторная всхожесть, энергия прорастания и лабораторная всхожесть) достоверно снижаются при дозе 15 кГр для гибрида с улучшенной всхожестью zp341 и при дозе 3 кГр для чистой линии zpp1225. Динамика изменений зависит от генотипа (табл. 1). В первые дни после воздействия на семена УФВ обнаружено снижение скорости роста корешков и стебля (прирост составлял 0.5–1.0 мм), но в дальнейшем скорость роста увеличивалась и зависела от дозы: при 13.39 кДж/м² – до 3.0 ± 0.4 мм в день, при 8.93 кДж/м² – до 4.0 ± 0.5 мм в день и при 4.46 кДж/м² – до 7.0 ± 1.5 мм в день. На 5-й день после воздействия на семена α-частицами и УФВ, при дозах 1.5, 3 кГр и 4.46 кДж/м² корневая система семян имела разветвленную корневую систему из главного корня и придаточных корешков. Отметим, что у образца zp341 после облучения формируются корневые волоски, которые отсутствуют у zpp1225 и семян контрольной группы (табл. 2).

На 14-й день после воздействия на семена УФВ и α-частиц длина третьего настоящего листа растений, высаженных в грунт, имела максимальное значение после облучения в дозах 4.46 кДж/м² и 3 кГр (16.5 ± 1.5 см и 18.0 ± 2.3 см соответственно, в контроле – 12.0 ± 2.5 см). Отметим, что ширина листовой пластинки третьего настоящего листа в среднем на 5 мм уже контроля (табл. 2). При воз-

действии в дозе 15 кГр всхожесть снижается на 80–90%. Так, растения zpp1225 после облучения семя α-частицами в дозе 15 кГр имели слабую скорость роста (максимальная высота растения кукурузы – 5.0 ± 0.5 см, высота растения кукурузы zpp1225 контрольной группы 15.0 ± 2.5 см), либо не развивались после посадки семян в грунт.

Полученные результаты свидетельствуют о зависимости прорастания семян и изменения морфологии корневой системы (табл. 2) проростка от типа излучения: при облучении α-частицами наблюдается интенсивный рост боковых корней (при дозе менее 15 кГр), а при облучении семян УФВ увеличивается интенсивность роста корневой системы. Отметим, что при облучении семян УФВ в дозе 8.93 кДж/м² семена и растения кукурузы развивались хуже относительно контроля.

В связи с поставленной задачей исследования изменений конформации молекулы природного антиоксиданта – каротиноида при прорастании облученных семян нами были зарегистрированы КР-спектры семян и выявлены характерные полосы КР-спектра каротиноидов: ν_1 (960 см⁻¹), ν_2 (1006 см⁻¹), ν_3 (1156 см⁻¹), ν_4 (1190 см⁻¹), ν_5 (1520 см⁻¹) (рис. 1) [3, 5, 6]. Максимальные изменения спектра КР выявлены для соотношений интенсивностей полос I_{1520}/I_{1006} (характеризует вклад валентных колебаний –С=C–связей полиеновой цепи каротиноида), I_{1520}/I_{1160} (характеризует изменение вклада –С=C–связей по отношению к –С–С–связям полиеновой цепи), I_{1006}/I_{960} (характеризует расположение полиеновой цепи каротиноида

Таблица 2. Морфологические показатели проростков семян кукурузы и третьего листа растения кукурузы
Table 2. Morphology of corn seeds and the third leaf of corn plant

Доза облучения	Генотип	Морфология проростков семян ¹				Морфология третьего листа ²		
		длина главного корня, мм	разветвленность корневой системы	наличие корневых волосков	длина стебля, мм	длина листа, мм	ширина листа, мм	
Контроль	zpp1225	23 ± 5	+	–	5	120 ± 25	15 ± 3	
	zp341	31 ± 7	+	–	6	123 ± 22	17 ± 4	
Неионизирующее излучение, кДж/м ²	4.46	zpp1225	45 ± 9	+	–	8	160 ± 20*	12 ± 3*
		zp341	51 ± 11	+	+	20	165 ± 23*	13 ± 3*
	8.93	zpp1225	15 ± 4	–	–	4	96 ± 15*	11 ± 3*
		zp341	8 ± 3	–	–	2	100 ± 18	12 ± 4
	13.39	zpp1225	34 ± 8	+	–	7	166 ± 15	14 ± 3
		zp341	42 ± 12	+	+	15	154 ± 18	15 ± 2
Ионизирующее излучение, кГр	1.5	zpp1225	41 ± 8	+	–	5	151 ± 12	15 ± 3
		zp341	54 ± 12	+	+	18	156 ± 18	12 ± 3
	3	zpp1225	42 ± 9	+	–	5	176 ± 21*	14 ± 3
		zp341	55 ± 13	+	+	15	180 ± 23*	14 ± 3
	15	zpp1225	2 ± 1.5	–	–	–	30 ± 12*	7 ± 2*
		zp341	8 ± 2	–	–	5	60 ± 25*	8 ± 2*

Примечание. ¹ 5-й день после облучения; ² 14-й день после облучения; + и – обозначено наличие либо отсутствие указанного признака.

* Статистически достоверные отличия от контроля, $p < 0.05$.

относительно пиррольных колец). Наличие в спектрах КР пиков на 1190 и 1200 см⁻¹ указывает на состояние каротиноидов, характерное для 15-*cis* конформации. Мы руководствовались известным фактом – интенсивность полос спектра КР пропорциональна количеству каротиноидов в ис-

следуемом образце (при соблюдении одинаковых условий регистрации сигнала в разных точках гомогената семян) [3, 6] и считаем важным указать на наличие изменения количества молекул каротиноидов после облучения семян. Например, значение максимума и интенсивности образца zpp1225 в контроле при положении полосы при 1520 см⁻¹ составляет 1850 отн. ед. После воздействия в дозе в 15 кГр интенсивность полосы составляет 640 отн. ед., что свидетельствует о снижении количества молекул каротиноида, но не является количественной оценкой их содержания в образце.

После воздействия на семена УФВ КР-спектр каротиноидов меняется: наблюдаются рост интенсивности полосы 1190 см⁻¹ и снижение интенсивности полосы 1200 см⁻¹, что свидетельствует о переходе конформации молекулы (и/или состава каротиноидов) из 15-*cis* в *all-trans* состояние [6]. Данный факт согласуется с ростом величины соотношения интенсивностей полос I_{1156}/I_{1190} КР спектра семян после облучения (рис. 2). Отметим, что при УФ-воздействии на семена (от 4.46 до 13.39 кДж/м²) не происходит изменений отношения интенсивности полос 1520 и 1156 см⁻¹ (I_{1520}/I_{1156}) КР-спектра, что свидетельствует об от-

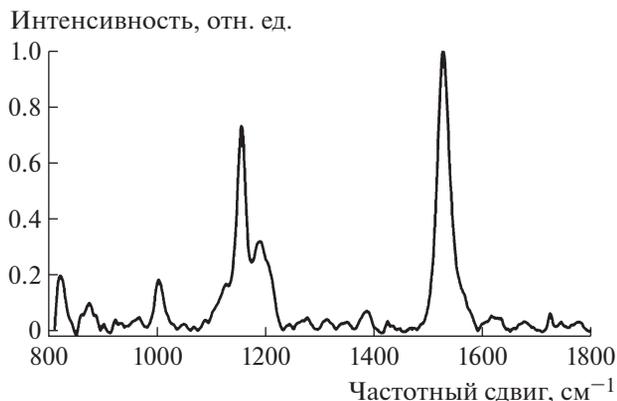


Рис. 1. Спектр комбинационного рассеяния каротиноидов семян кукурузы (нормировано на максимум).

Fig. 1. Raman spectrum of corn seed carotenoids (normalized by maximum).

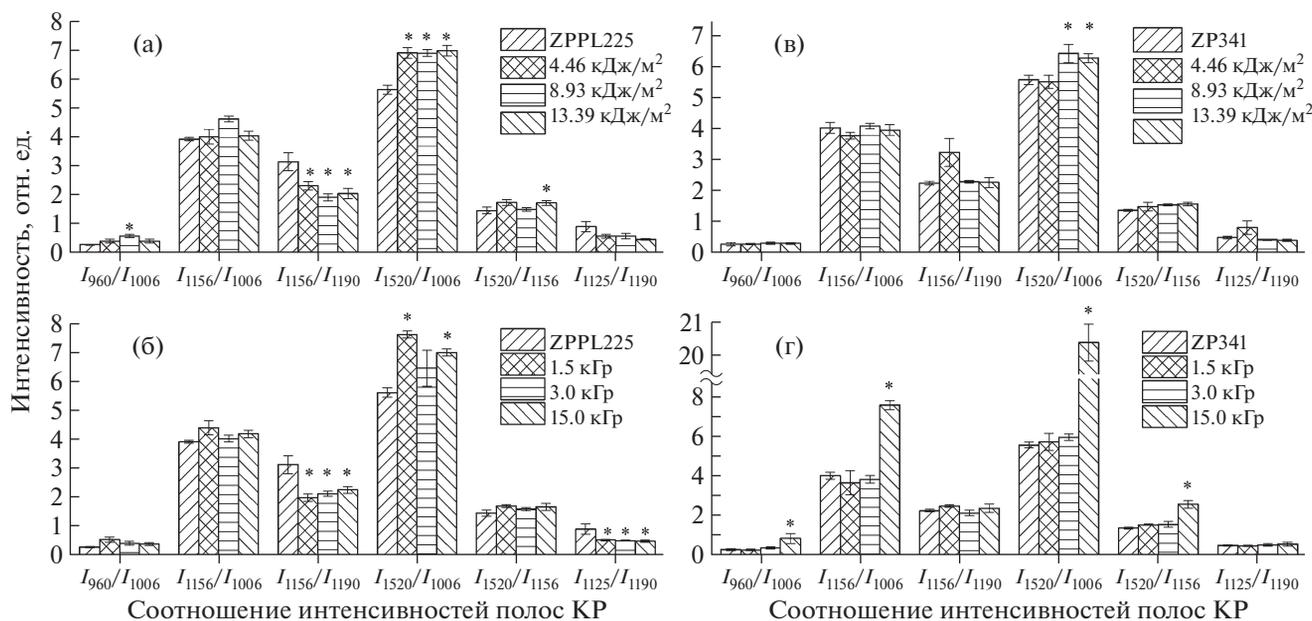


Рис. 2. Соотношение амплитуд полос КР-спектра каротиноидов при облучении семян кукурузы УФВ (а, в) и α -частицами (б, г). * Статистически достоверные отличия от контроля ($p < 0.05$).

Fig. 2. The change in the parameters of the Raman spectrum of carotenoids of maize leaves under UVB irradiation (a, c) and α -irradiation (b, d). * Significant changes relative to control ($p < 0.05$).

сутствии изменений конформации полиеновой цепи молекулы каротиноида.

Облучение семян α -частицами приводит к изменению конформации (или состава) молекулы каротиноида у семян инбредной линии *zprl225* — увеличению доли молекул в *15-cis* конформации, но у гибрида *zpr341* отсутствуют переход молекулы в *cis*-состояние и изменение поворота и длины полиеновой цепи. Установлено, что при облучении семян *zpr341* с дозой 15 кГр интенсивность полос КР-спектра снижается, но возрастает соотношение полос I_{960}/I_{1006} (рис. 2). Вероятно, изменение величины соотношений I_{1520}/I_{1006} и I_{1156}/I_{1006} спектра КР каротиноидов семян при облучении связано с трехкратным уменьшением вклада колебания метильных групп полиеновой цепи каротиноидов (полоса 1006 см^{-1} спектра КР, данные не представлены).

Важно, что соотношение I_{1125}/I_{1190} КР спектра каротиноидов характеризует валентные колебания молекул, связанных с хлорофиллом зародыша в семени [12]. Вероятно, ухудшение функционального состояния семян *zprl225* при облучении α -частицами обусловлено снижением содержания каротиноидов, связанных с хлорофиллом и переходом молекулы из *all-trans* состояния в *15-cis* состояние (соотношения I_{1156}/I_{1190} КР-каротиноидов семян возрастает в 2 раза).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования показано, что увеличение дозы локального облучения семян УФВ и α -частицами приводит не только к изменению параметров, характеризующих прорастание растения (первичная лабораторная всхожесть, энергия прорастания и лабораторная всхожесть (табл. 1)), но и к различным изменениям конформации молекул каротиноидов семян гибрида и инбредной линии кукурузы (рис. 2).

При локальном облучении семян *zpr341* (15 кГр, пучок α -частиц фокусировали в области семявхода) были выявлены изменения структуры молекулы каротиноидов, о чем свидетельствуют увеличение интенсивности полосы 1006 см^{-1} и рост величины соотношения I_{960}/I_{1006} . Важно, что после облучения α -частицами и УФВ в семенах снижается количество молекул каротиноидов, связанных с хлорофиллом, с чем, вероятно, и связаны изменения в развитии растения. При этом конформация молекулы каротиноида меняется по-разному: облучение α -частицами не оказывает значительное влияние на конформацию (соотношение I_{1156}/I_{1190}), а воздействие УФВ вызывает увеличение доли молекул каротиноида в *all-trans* конформации.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при локальном воздействии УФВ изменения конформации молекул каротиноидов семян могут быть обусловлены накоплением продуктов АФК [12]. Вероятно, семена гибрида, об-

ладающие повышенной всхожестью, обладают большей устойчивостью к действию ионизирующего излучения, чем семена инбредной линии.

ВЫВОДЫ

1. При локальном воздействии на основание семян УФВ (в диапазоне от 5 до 13.39 кДж/м²) и α -частицами (от 1.5 до 3 кГр) возрастают всхожесть и энергия прорастания семян. Семена гибрида с улучшенной всхожестью zp341 обладают большей стимуляцией к прорастанию при воздействии УФВ по сравнению с семенами чистой линии zpr1225.

2. Показано, что воздействие α -частиц вызывает изменение конформации молекулы каротиноидов семян за счет перехода из *15-cis* в *all-trans* состояние и внеплоскостного поворота полиеновой цепи молекулы каротиноидов, а воздействие УФВ — изменение длины полиеновой цепи молекулы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем глубокую благодарность канд. физ.-мат. наук Андрею Васильевичу Спасскому и д-ру физ.-мат. наук Виктору Михайловичу Лебедеву за оказанное содействие при выполнении данного исследования. Часть этой работы была поддержана фондом РФФ (грант № 19-79-30062) для Г.В. Максимова за отработку метода спектроскопии комбинационного рассеяния на биологических объектах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Корепанов Д.А., Романов В.Ю., Лощенко П.Ю., Богатырёв М.Д.* Влияние длинноволнового УФ облучения на повышение посевных качеств семян *Pinus silvestris* L. // Лесотехн. журн. 2014. Т. 1. № 13. С. 27–29. [*Korepanov D.A., Romanov V.Yu., Loschenov P.Yu., Bogatyrev M.V.* Vliyaniye dlinnovolnovogo UV oblucheniya na povysheniye posevnykh kachestv semyan // Lesotekhnicheskii zhurnal. 2014. V. 1. № 6. P. 27–29. (In Russian)]
2. *Мусина О.Н., Коновалов К.Н.* Радиационная обработка ионизирующим излучением продовольственного сырья и пищевых продуктов // Пищевая пром-сть. 2016. № 8. С. 46–49. [*Musina O.N., Kononov K.N.* Radiacionnaya obrabotka ioniziruyuschim izlucheniem prodovolstvennogo syrya i pischevykh productov // Pischevaya promyshlennost. 2016. № 8. P. 46–49. (In Russian)]
3. *Тютяев Е.В., Шутова В.В., Максимов Г.В. и др.* Состояние фотосинтетических пигментов в листьях инбредных линий и гибридов кукурузы // Физиология растений и генетика. 2015. Т. 47. № 2. С. 147–159. [*Tyutyayev E.V., Shutova V.V., Maksimov G.V. et al.* State of photosynthetic pigments in leaves of inbred lines and hybrids of maize // Fisiologia rasteniy i genetika. 2015. V. 47. № 2. P. 147–159 (In Russian)]
4. *Maksimov G.V., Tyutyayev E.V., Kolmykova T.S., Revin V.V.* Investigation of fluorescence intensity and distribution of wheat leaf on exposure to temperature // Moscow University Biol. Sci. Bull. 2014. V. 69. № 1. P. 6–9.
5. *Slatinskaya O.V., Protopopov F.F., Seifullina N.Kh. et al.* A study of the state of photosynthetic pigments of hybrid maize seeds exposed to ultraviolet and radiation // Biophysics. 2018. V. 63. № 4. P. 611–620.
6. *Кэри П.* Применение спектроскопии КР и РКР в биохимии: Пер. с англ. В. Локшин. М.: Мир, 1985. 272 с. [*Carey P.R.* Biochemical applications of Raman and resonance-Raman spectroscopies. New York, 1982. 272 p.]
7. *Раденович Ч.Н., Максимов Г.В., Тютяев Е.В.* Диагностика конформационных и функциональных свойств зерна элитных инбредных линий кукурузы с помощью инфракрасных спектров // Селекция и семеноводство. 2014. Т. 20. С. 13–33. [*Radenovich Ch.N., Maksimov G.V., Tyutyayev E.V. et al.* Diagnosing conformational and functional characteristics of prestigious maize inbred lines grain using infrared spectra // Selekcija i semenarstvo. 2014. V. 20. P. 13–33. (In Russian)]
8. *Раденович Ч., Филипович М., Бабич М., Анджелкович В. и др.* Селекционные и физико-химические характеристики у инбредных линий и высокопродуктивных гибридов кукурузы с эффективными фотосинтетическими функциями // Сельскохозяйств. биол. 2013. № 1. С. 78–86. [*Radenović Č., Filipović M., Babić M., Anđelković V., et al.* Breeding, physical and chemical features of maize inbred lines and hybrids with significant breeding traits and efficient photosynthetic functions // Agricultural Biol. 2013. № 1. P. 78–86. (In Russian)]
9. *Akhalaya M.Ya., Goncharenko E.N., Baizhumanov A.A.* Effect of ultraviolet B irradiation on immobilization stress-induced changes in the protective systems of C57Bl/6 mice // Bull. Experim. Biol. Med. 2006. V. 141. № 2. P. 219–222.
10. *Лебедев В.М., Максимов Г.В., Максимов Е.Г. и др.* Использование 120-м циклотрона для исследования одновременного воздействия ионизирующего излучения и гипомангнитных условий на простейшие биологические объекты // Изв. РАН. Сер. физ. 2014. Т. 78. № 7. С. 842–845. [*Lebedev V.M., Maksimov G.V., Maksimov E.G. et al.* Ispolzovanie 120-m ciclotrona dlya issledovaniya odnovernennogo vozdeystviya ioniziruyushogo izlucheniya i gipomagnitnykh polyey na prosteyschie biologicheskie obekty // Bull. Rus. Acad. Sci. The series is physical. 2014. V. 78. № 7. P. 842–845. (In Russian)]
11. *Дубров А.П.* Действие ультрафиолетовой радиации на растения. М.: АН СССР, 1963. 124 с. [*Dubrov A.P.* The effect of ultraviolet radiation on plants. M.: AN USSR, 1963. 124 p. (In Russian)]
12. *Klementiev K.E., Maksimov E.G., Gvozdev D.A. et al.* Radioprotective role of cyanobacterial phycobiosomes // Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics. 2019. V. 1860. № 2. P. 121–128.
13. *Hashimoto H., Koyama Y.* The 21A-g state of a carotenoid bound to spinach chloroplast as revealed by picosecond transient Raman spectroscopy // Biochim. Biophys. Acta. Bioenergetics. 1990. V. 1017. № 2. P. 181–186.

The Changes of the Seed Carotenoids in the Corn Hybrids during Ultraviolet Radiation and Radiation Actions

O. V. Slatinskaya^a, Ch. N. Radenivich^b, V. V. Shoutova^c, and G. V. Maksimov^{a,d,#}

^a Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^b Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade, Serbia

^c National Research Mordovia State University, Republic of Mordovia, Saransk, Russia

^d Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Technological University "MISiS", Moscow, Russia

#E-mail: gmaksimov@mail.ru

Using Raman spectroscopy the role of carotenoids in irradiation (UV and α -particles) of inbred line seeds (zpl 225) and maize hybrid (zp 341) (*Zea mays* L.) has been investigated. It has been found that irradiation of seeds in the grain base region (exposure to α -particles of high energies, but not UV) changes the functional state of the plant, by changing the conformation of the carotenoid molecule of the seeds upon transition from the 15-cis to the all-trans state, rather than fluctuations of the C = C and C–C bonds of the polyene chain of the carotenoid molecule.

Keywords: Ultraviolet radiation, alpha particles, carotenoid, *Zea mays* L., hybrids, corn, Raman spectroscopy

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 615:616-03:539.1.047

ПРЕПАРАТ Б-190 (ИНДРАЛИН) В СВЕТЕ ИСТОРИИ ФОРМИРОВАНИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ РАДИОПРОТЕКТОРОВ

© 2020 г. М. В. Васин^{1,2,*}

¹ Научно-исследовательский испытательный центр (авиационно-космической медицины и военной эргономики)
ЦНИИ ВВС МО РФ, Москва, Россия

² Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава РФ, Москва, Россия
*E-mail: mikhail-v-vasin@yandex.ru

Поступила в редакцию 18.09.2019 г.

После доработки 20.11.2019 г.

Принята к публикации 20.11.2019 г.

Представлена история открытия радиопротекторов из группы аминотиолов и биогенных аминов и формирования представления о механизме их действия. Проведен анализ достижений отечественных ученых, радиационных фармакологов и химиков. Отмечена роль Института авиационной и космической медицины, Института биофизики Минздрава и Московского химико-технологического института им. Д.И. Менделеева в синтезе и разработке радиопротектора экстренного действия препарата Б-190 (индралина). Представлен механизм фармакологического, противолучевого и радиомитигирующего действия индралина, его преимущества перед известными радиопротекторами. Обсуждается критическая роль тканевой гипоксии за счет повышения потребления кислорода на фоне циркуляторной гипоксии под действием радиопротектора $\alpha 1$ -адреномиметика индралина в реализации противолучевых его свойств на крупных животных (собаках и обезьянах). В основе радиомитигирующего действия индралина выделяется роль стимуляции 5Н2-серотониновых рецепторов.

Ключевые слова: препарат Б-190 (индралин), противолучевой эффект, циркуляторная гипоксия, тканевая гипоксия, радиомитигатор, радиопротектор, $\alpha 1$ -адренорецепторы, 5-Н2-серотониновые рецепторы

DOI: 10.31857/S0869803120040128

В настоящее время к противолучевым лекарственным средствам, применяемым как средства защиты от поражающего действия ионизирующего излучения в отечественной и мировой медицинской практике, относятся радиопротектор препарат Б-190 (индралин), амифостин (WR-2721), средства, препятствующие инкорпорации в организм радиоизотопов йода, цезия, стронция, плутония, урана и полония, соответственно стабильный йодид калия, ферроцин, пентацин, средства ранней терапии (радиомитигаторы) беталейкин и дезоксинат, средства биологической защиты при низкоинтенсивном излучении (радиомодуляторы) рибоксин и аминотетравит, средство патогенетической терапии острой лучевой болезни нейпомакс (филграстим) и средство профилактики и купирования первичной лучевой реакции противорвотный препарат латран (ондансетрон) [1–5]. Ранее применявшиеся противолучевые средства цистамин и мексамин, уступающие по ряду характеристик современным радиопротекторам, прежде всего, по переносимости и противолучевым свойствам, находят но-

вое медицинское применение. Цистамин изучается как средство лечения нейродегенеративных заболеваний из-за его свойств блокировать транслугтаминазу [6, 7]. Кроме того, он рассматривается как пищевая добавка в животноводстве для увеличения прибавки массы тела [8]. Мексамин клинически испытан как стимулятор кроветворения в практике химиотерапии онкологических больных [9].

Отечественный радиопротектор экстренного действия препарат Б-190 (индралин) является лекарственным средством для профилактического применения за короткий срок до возможного воздействия больших доз ионизирующего излучения, вызывающих развитие острой лучевой болезни и местных лучевых поражений, для защиты персонала при радиационных катастрофах. Препарат применяется персоналом внутрь при разжевывании трех таблеток в дозе 0.45 г перед началом работ в опасных зонах радиоактивного загрязнения. Продолжительность действия радиопротектора до 1 ч, при необходимости возможен повторный прием препарата через 1 ч [3, 10].

История открытия и современные представления о механизме действия противолучевых средств представлены в ряде обзоров последних лет [11–15]. В настоящем обзоре внимание сосредоточено на истории открытия и трактовке механизма противолучевого эффекта отечественного радиопротектора экстренного действия индралина в свете современных представлений о реализации действия противолучевых средств.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ РАДИОПРОТЕКТОРОВ И ФОРМИРОВАНИЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О МЕХАНИЗМЕ ИХ ДЕЙСТВИЯ

Современные знания о механизме противолучевого действия радиопротекторов складывались исторически как накопление гипотетических представлений по весьма важным научным фактам, имеющим отношение к действию данных соединений на различных уровнях реализации радиобиологического эффекта. Однако ни одна из гипотез радиозащитного действия фармакологических соединений не позволяет подойти, к сожалению, к единому теоретическому обобщению всей проблемы механизма действия радиопротекторов. Сложность данной проблемы связана с возможностью одновременной реализации нескольких механизмов противолучевого действия. Тем не менее с научно-практической точки зрения важно то, что уровень современных теоретических разработок позволяет достаточно корректно подойти к оценке роли отдельных возможных звеньев, последовательности этапов в реализации противолучевых свойств различных групп радиозащитных соединений.

Известие о наличии противолучевых свойств у биогенных аминов появилось в начале 50-х годов прошлого века практически одновременно с обнаружением тех же свойств у природных серосодержащих соединений (цистеин, глутатион) [16, 17] и открытием радиопротектора из ряда аминокислот цистамина [18, 19]. Джон Грей в 1952 г. в опытах на крысах впервые выявил высокий противолучевой эффект у серотонина, сопоставимый с действием радиопротектора цистамина [20]. Зенон Бак это подтвердил в опытах на мышах в 1954 г. [19]. 10 лет спустя П.Г. Жеребченко и соавт. впервые те же свойства выявили у производного серотонина радиопротектора мексамина [21, 22]. Знаменательно, что в те же 50-е годы был выявлен небольшой противолучевой эффект у фармакологических соединений, вызывающих при определенных дозах гипоксическое состояние организма: у цианида, *n*-аминопропиофенона, морфина, этилового спирта и нитрита натрия [3], а также у таких биогенных аминов, как гистамин и адреналин [19, 23].

История открытия противолучевых соединений была тесно связана с достижениями радиационной химии своего времени и явилась следствием обнаружения двух важных фактов: это радиобиологический феномен “кислородный эффект”, когда наличие в среде кислорода вызывает усиление радиационного поражения биообъектов [24, 25], а присутствие в среде низкомолекулярных серосодержащих соединений со свободной тиольной группой (цистеин, глутатион), наоборот, его снижает [26].

Прямые доказательства образования гидроксильного радикала при действии ионизирующего излучения на воду были получены J. Weiss в 1944 г. [27], а в 1947 г. D. Lea [28] дал первое объяснение механизма образования радикалов из ионов при их рекомбинации в процессе радиолиза. По гипотезе Z. Vascq и P. Alexander [29], серосодержащие противолучевые препараты могут вступать в конкурентные отношения с продуктами радиолиза воды, перехватывая их и таким образом предотвращая повреждающее действие перекисных соединений на макромолекулы клеток. Ими впервые было высказано предположение о возможности участия радиопротекторов в химических процессах восстановления радикалов макромолекул путем донорства водорода тиольной группы молекулы препарата [30].

Значение низкомолекулярных тиолов для реализации “кислородного эффекта” впервые было показано в опытах *in vitro* на ДНК и ферментах, а также на бактериофаге [31, 32]. Способность тиолов вызывать химическую репарацию радикалов типа R[•] путем донорства водорода из SH-группы могла обеспечивать участие серосодержащих соединений в конкурентном процессе между фиксацией потенциальных лучевых повреждений кислородом с образованием перекисей вида ROO[•] и их коррекции восстановительными эквивалентами клетки. Образование скрытых потенциальных повреждений макромолекул после облучения ранее было обосновано Л.Х. Эйдузом [33].

Однако взаимодействие аминокислот с молекулой ДНК может носить более специфический характер, чем простая адсорбция на макромолекуле. Впервые возможность образования химического комплекса между цистамином и ДНК с помощью диаминовой связи показал Jellum [34]. По его данным, данный комплекс обладал большей термостабильностью, чем незащищенные молекулы ДНК. Рассматривалась гипотеза [34, 35] о роли стабилизации непокрытых гистонами участков спиралей ДНК с помощью радиопротекторов через диаминовую связь в повышении ее устойчивости к пострadiационной деградации и проявлении таким путем противолучевой эффективности цистамина.

У адреналина и норадrenalина противолучевой эффект в первых исследованиях составил 10–40% [3]. В дальнейшем с учетом весьма кратковременного фармакологического эффекта катехоламинов при большой мощности дозы облучения и соответственно при сокращении времени воздействия радиации до нескольких минут у данных биогенных аминов была также выявлена высокая противолучевая эффективность [36–39].

Радиозащитное действие биогенных аминов с самого начала связывали с гипоксией из-за их высокой вазоактивности. В 1959 г. С. Van der Meer и соавт. зарегистрировали гипоксический эффект биогенных аминов в кроветворной ткани полярнографическим методом [36]. Выявлена тесная зависимость между проявлением противолучевых свойств серотонина, мексамина и других их производных от выраженности нарушения кровотока и развития гипоксии в кроветворных тканях [36, 40–45]. Ранее было установлено, что гипоксическая гипоксия, вызываемая снижением содержания кислорода во вдыхаемом воздухе более чем в 2 раза, уже оказывает радиозащитное действие [46, 47]. В работах Н. van den Brenk и соавт. [48, 49] впервые была показана возможность под действием повышенного давления кислорода устранять или существенно ослаблять противолучевой эффект адреналина, гистамина, серотонина и аминотиолов. Кроме того, обнаружено, что фармакологические антагонисты биогенных аминов, блокируя их фармакологическое действие на кровеносные сосуды, способны устранять противолучевые свойства биогенных аминов [50, 51].

В последующие годы изыскание новых радиопротекторов из различных классов химических соединений велось весьма интенсивно как у нас в стране, так и за рубежом. Первичному отбору, или скринингу радиозащитных средств за это время подверглись десятки тысяч соединений как природного, так и синтетического происхождения, принадлежащих к различным химическим классам. Со временем накопленный массив экспериментальных данных позволил систематизировать полученные сведения, выделить основные классы химических соединений и проследить зависимость между химической структурой и радиозащитными свойствами внутри отдельных классов серосодержащих соединений, индоллил- и арилалкиламинов.

Наряду с этим широко изучались механизмы реализации радиозащитного действия эффективных радиопротекторов на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. Противолучевые свойства радиопротекторов наиболее изучены и находят свое полное проявление при остром воздействии ионизирующего излучения в дозах, вызывающих развитие костномозгового синдрома

острой лучевой болезни. Прямые данные об эффективности радиопротекторов на кроветворной ткани были получены по изменению уровня хромосомных aberrаций в миелокариоцитах [52] и по тесту экзогенных КОЕс. [53, 54].

В дальнейшем прошли первые испытания наиболее активных радиопротекторов (цистамина, цистеамина, АЭТ, серотонина и мексамина) на крупных животных (собаках и обезьянах) [55–62]. Они показали, что эти соединения обладают противолучевыми свойствами на крупных животных, однако выявленная активность препаратов была более скромной по сравнению с результатами, наблюдаемыми на мелких лабораторных животных и, как правило, не превышала 50% для серосодержащих соединений и 20–30% при испытании серотонина и мексамина.

В 1970-е годы поиск новых эффективных радиопротекторов завершился открытием наиболее активных к настоящему времени противолучевых соединений, которые в опытах на крупных животных (собаки, обезьяны) обладали 100%-ным радиозащитным действием при облучении в дозах, близких к ЛД₁₀₀. Это относится, прежде всего, к препаратам амифостин (WR-2721) и индралин (препарат Б-190).

Препарат WR-2721 был разработан в Научно-исследовательском институте им. Уолтера Рида (Walter Reed Army Institute of Research, Washington, США) и представляет собой 3-аминопропил-2-аминоэтилтиофосфат (ethyol, amiphostin, гаммафос) [63–65]. Фармакологическая оценка его противолучевых свойств наиболее полно была дана J. Yuhas [66–69]. В настоящее время амифостин проходит клинические испытания как средство защиты здоровых тканей при радиохимиотерапии онкологических больных [70, 71].

Индралин был впервые синтезирован проф. Н.Н. Суворовым с возглавляемым им коллективом химиков Московского химико-технологического института им. Д.И. Менделеева (МХТИ им. Д.И. Менделеева). Его высокие противолучевые свойства, в том числе на крупных животных (собаках), впервые выявлены в Государственном научно-исследовательском испытательном институте авиационной и космической медицины МО СССР [38] и подвержены широкомасштабным исследованиям с участием Института биофизики Минздрава СССР [2].

Как непосредственный участник данных событий, могу отметить, что препарат индралин, помеченный первоначально мною как препарат П-9, был одним из более 300 вновь синтезированных проф. Н.Н. Суворовым и сотр. на кафедре органической химии МХТИ им. Д.И. Менделеева производных биогенных аминов, проходивших скрининг на радиозащитную активность в Институте авиационной и космической медицины

МО СССР (72). В коллективе отдела Института, возглавляемом проф. В.В. Антиповым, была благоприятная атмосфера для реализации любых творческих начинаний. Мною оценивалась связь между изменением химической структуры и фармакологической и противолучевой активностью данных соединений [43–45, 73–83]. Было установлено, что адреналин, норадреналин и серотонин при краткосрочном облучении (в течение нескольких минут) обладают выраженными противолучевыми свойствами, сопоставимыми с радиозащитным эффектом наиболее активных аминотиолов, но обладают значительно большей шириной терапевтического действия [3]. Все изученные химические модификации биогенных аминов в ряде случаев при сохранении высокой их активности не увеличивали, а как правило, снижали терапевтический индекс исходных соединений [45]. Тем не менее это позволяло существенно увеличивать продолжительность действия препарата до 1–2 ч [78], что имеет большое практическое значение.

Мое внимание привлек препарат П-9 из-за его способности вызывать адренергическую реакцию у животных, отмеченной в виде пилоэрекции, которая характерна для α 1-адреномиметиков. В дальнейшем Н.Н. Суворов предложил назвать его индралином. При первой возможности мной было проведено испытание данного препарата в опытах на собаках, причем на животных, выживших после облучения в смертельной дозе 4 Гр при экранировании области живота. Через 2 мес. после облучения они были подвергнуты вновь γ -облучению (^{60}Co) в дозе 4 Гр при профилактическом внутрибрюшинном введении индралина в дозах 20–40 мг/кг, близких к дозам, ранее применявшимся с мексамином в опытах на крупных животных. Результаты были неожиданными: все подопытные животные с индралином выжили при 100%-ной смертности животных из контрольной группы облучения. Эти результаты я доложил моему руководителю проф. В.В. Антипову и проф. Н.Н. Суворову, возглавлявшему проект по разработке новых потенциально эффективных радиопротекторов из ряда производных биогенных аминов. Николай Николаевич в тот же день связался с директором Института биофизики Минздрава СССР академиком Л.А. Ильиным, чтобы сообщить о данном открытии, о чем Леонид Андреевич вспоминает в своей книге “Мифы и реалии Чернобыля” [84].

В дальнейшем в опытах на 50 собаках был подтвержден 100%-ный противолучевой эффект индралина в сравнительных исследованиях с мексамином и цистамином, радиозащитное действие которых не превышало 30–60% по выживаемости животных после γ -облучения в абсолютно смертельной дозе 4 Гр [85]. Высокий радиозащитный эффект индралина в дальнейшем был подтвержден в опытах на обезьянах Макака-резус, под-

вергнутых воздействию γ -облучения от источника ^{60}Co в абсолютно смертельной дозе [86]. Первая серия исследований на обезьянах состоялась по инициативе проф. Н.Н. Суворова, который связался с проф. Б.А. Лапиным, директором Института экспериментальной патологии и терапии АМН СССР (г. Сухуми), с просьбой выделить для исследования обезьяны и содействовать проведению на них изучения противолучевых свойств индралина. При его согласии я выехал в командировку в г. Сухуми на 2 мес., где были проведены исследования индралина с сотрудниками лаборатории, возглавляемой проф. Л.Ф. Семеновым, который оказал большую помощь в работе с обезьянами.

Полученные результаты послужили основанием для дальнейших широкомасштабных исследований индралина при различных способах применения (внутривенный, внутримышечный, подкожный и пероральный пути введения) не только при γ -облучении, но и при γ -нейтронном и протонном (высоких энергий) облучении в совместных исследованиях Института авиационной и космической медицины МО СССР и Института биофизики Минздрава СССР при участии Института медико-биологических проблем (в те годы МЗ СССР). Разработанная лекарственная форма индралина для применения внутрь для человека в виде таблеток по 0.15 г получила название препарат Б-190 [2].

МЕХАНИЗМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ИНДРАЛИНА

Индралин в опытах на крысах, кошках, кроликах и собаках повышает артериальное давление [2, 86, 87]; α -адреноблокаторы тропafen и фентоламин полностью снимают гипертензивную реакцию индралина. Вазопрессорное действие препарата сохранялось при предварительном применении резерпина, т.е. препарат обладает прямым адренергическим эффектом. При повторном применении индралина выраженность гипертензивной реакции сохраняется. В отличие от адреналина, когда после его гипертензивной фазы действия может быть гипотензивная реакция, при применении индралина подобного эффекта не отмечается [87].

На функцию сердца препарат не оказывает существенного влияния. Отмечаемая при применении индралина брадикардия является рефлекторной реакцией на гипертензию под действием α 1-адреномиметика (рис. 1) [88]. На магистральных артериальных сосудах по данным ангиографии в опытах на собаках индралин вызывал небольшое сокращение ряда сосудов конечностей (в пределах 9–11%) и оказывал слабое влияние на диаметр брыжеечной и селезеночной артерий (до 8–9%) при отсутствии влияния на печеночную и почеч-

ную артерии, несопоставимое с выраженным сокращением (на 20–40%) крупных артериальных сосудов под действием производного серотонина мексамина в той же дозе 10 мг/кг (табл. 1) [89, 90]. Тем не менее отмечено резкое снижение скорости прохождения контрастной массы через сосуды конечностей и внутренних органов брюшной полости под действием индралина за счет резкого сокращения прекапилляров [89]. Как α -адреномиметик индралин вызывает подобно адреналину сокращение гладких мышц селезенки, резко сокращая в ней кровоток [89] (табл. 2), не влияя на гладкую мускулатуру бронхов [87]. Помимо всего прочего, индралин обладает серотонинергическим действием, сокращая мышцы рога матки крысы, которое устраняется блокатором D-серотониновых рецепторов LSD [87].

Фармакодинамика индралина предопределяется его фармакокинетикой, она во многом сходна с фармакодинамикой биогенных аминов, в частности, производного серотонина мексамина. После внутримышечного введения максимальное содержание препарата в крови и тканях устанавливается через 5–10 мин и поддерживается на данном уровне в течение 30 мин; в дальнейшем отмечается быстрое снижение концентрации препарата в крови, через 1 ч его содержание уменьшается в 2 раза. В кроветворных тканях (костный мозг, селезенка) на оптимальный срок противолучевого действия (15–20 мин) содержание препарата в 1.5–2.0 раза превышает его уровень в крови. Прохождение индралина через гематоэнцефалический барьер достаточно ограничено. Препарат практически полностью выводится из организма через почки, в основном в течение 6 ч. В течение 30 мин индралин выводится через почки в основном в неизменном виде, через 6 ч в моче 70–75% активности связано с метаболитами препарата [2].

Препарат Б-190 в дозе 0.45 г у человека вызывает повышение артериального давления, урежение частоты сердечных сокращений и изменение периферического кровотока (рис. 1) [2, 3]. С учетом фармакокинетики препарата при пероральном применении основные фармакологические эффекты имеют продолжительность до 60 мин. При приеме препарата Б-190 внутрь нет нарушения ритма сердца.

Результаты клинических исследований позволяют отнести препарат Б-190 к мощным прессорным средствам вазотонического механизма действия. Первичным действием препарата является α_{1B} -адреномиметический вазопрессорный эффект с ростом периферического сопротивления и ограничением регионального кровотока [2].

Индралин связан с прямым α_1 -адренергическим эффектом, реализующим действие на клетки через $G\alpha_q/11$ -протеин сцепленные рецепторы

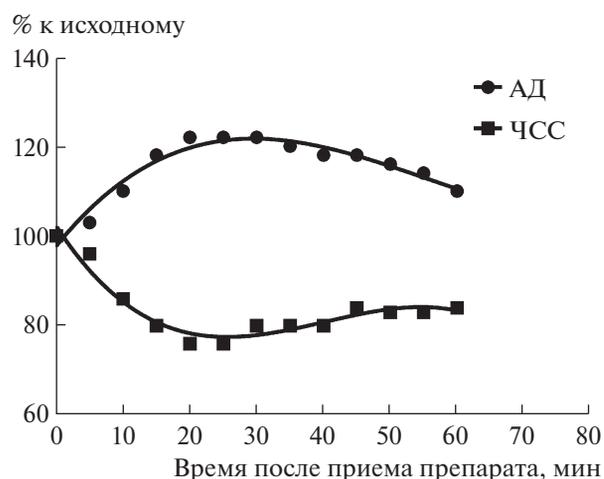


Рис. 1. Влияние препарата Б-190 (0.45 г) при пероральном применении натощак на диастолическое артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) у человека [2].

Fig. 1. Effect of Б-190 (0.45 g) in fasting oral administration on diastolic blood pressure (AD) and heart rate (HR) in humans [2].

[91, 92], через которые осуществляется стимуляция $1P_3$ -киназы, вызывающей фосфорилирование специфического мембранного фосфоинозитол-4,5-дифосфата до инозитол-1,4,5-трифосфата ($1P_3$) [93]. Образовавшийся $1P_3$ через фосфолипазу С вызывает высвобождение внутриклеточного Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума клетки с последующей активацией кальций-зависимой протеинкиназы С и реализацией $\alpha(V)_1$ -адренергического эффекта [94].

Сокращение гладких мышц сосудов под действием высвобождаемого в цитозоль Ca^{2+} при стимуляции $\alpha_1(V)$ -адренорецепторов ограничивается компенсаторным механизмом ограничения входа Ca^{2+} в клетку через открытие Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов под действием нитрооксида (NO) [95].

Вазоконстрикция под действием $\alpha_1(V)$ -адреномиметиков неизбежно связана с освобождением в сосудах NO, который противодействует чрезмерному их сокращению и тем самым позволяет поддерживать минимально необходимое кровоснабжение ткани. Этот механизм обратной связи заложен природой. Запуск активации эндотелиальной NO-синтазы в этих условиях осуществляется за счет поступления Ca^{2+} в эндотелий через его диффузию из гладких мышц сосудов [96]. При предварительном применении нитратов (монизола) фармакодинамика гипертензивной реакции на индралин сохраняется, но интенсивность реакции резко снижается [88].

Вазодилатация под действием NO может происходить по цГМФ-зависимому или цГМФ-неза-

Таблица 1. Влияние индралина и мексамина на диаметр артериальных сосудов собак через 5–7 мин после их внутримышечного введения в дозе 10 мг/кг (изменения в % к исходному уровню) [89, 90]

Table 1. Effect of indralin and mexamine on dog arterial vessel diameter 5–7 min after their intramuscular administration at a dose of 10 mg/kg (% to baseline) [89, 90]

Сосуды	Индралин	Мексамин
Бедренная артерия	–1.6	–18*
Краниальная бедренная артерия	–4.7	–28*
Окружная латеральная бедренная артерия	+1.7	–25*
Проксимальная артерия	–11.5	–40*
Средняя артерия	–8.6	–32*
Дистальная артерия	–2.7	–25*
Сафена	–15	–21*
Внутренняя подвздошная артерия	–1.0	–20*
Средняя крестцовая артерия	–1.7	–17*
Хвостовая непарная артерия	–13	–20*
Межреберные артерии	–2.0	–1.0
Краниальная брыжеечная артерия	–9	–30*
Селезеночная артерия	–7.7	–32*
Печеночная артерия	+0.1	–32*

Примечание. Собаки во время исследования находились под нембуталовым наркозом (30 мг/кг). В каждой группе по 10 животных.

* $p < 0.05$ по отношению к исходному уровню по критерию Ван дер Вардена.

Таблица 2. Влияние индралина и мексамина в дозе 10 мг/кг в/м на изменение кровотока в селезенке и костном мозге собак (% к группе биологического контроля) [89]

Table 2. Effect of indralin and mexamine at a dose of 10 mg/kg on blood flow change in spleen and bone marrow of dogs (% to biological control group) [89]

Группы	<i>n</i>	Селезенка	Костный мозг
Индралин	6	18.3*	57.8*
Мексамин	18	26.3*	49.1*

Примечание. Изменение кровотока оценивали косвенно по содержанию нейтрального красного в органах, вводимого в/в через 10 мин после применения радиопротекторов. *n* – число животных.

* $p < 0.05$ по отношению к группе биологического контроля по критерию Вилкоксона–Манна–Уитни.

висимому механизму. При реализации эффекта NO через цГМФ-зависимую протеинкиназу происходит фосфорилирование небольшого G-белка RhoA, что приводит к блокаде его активности. Известно, что RhoA через RhoA-киназу вовлекается в сенситизацию гладких мышц сосудов к

Ca²⁺ и усиливает вазоконстрикторный эффект α1-агонистов. Таким образом, эндотелиальная NO подавляет RhoA/RhoA-киназа-зависимое сокращение сосудов [97]. Релаксация сосудов под действием NO по цГМФ-независимому механизму связана с активацией K⁺-каналов [98].

Вазоконстрикторный эффект, реализуемый через α1-адренорецепторы, неизбежно связан с повышением потребления кислорода в ткани [99–101]. Во время гипоксии снижается вазоконстрикторный эффект норадреналина и фенилэфрина [102].

МЕХАНИЗМ ПРОТИВОЛУЧЕВОГО ДЕЙСТВИЯ ИНДРАЛИНА

Высокая степень противолучевой защиты при применении индралина была подтверждена на многих видах животных: мыши, крысы, сирийские хомячки, морские свинки, кролики, собаки и обезьяны [2, 85, 86]. Начало проявления специфического эффекта радиопротектора вызвано его взаимодействием с α₁-адренорецепторами клеток и отмечается с первых минут после его парентерального введения. Максимальный противолучевой эффект индралина отмечается через 5–10 мин после его парентерального или через 10–15 мин после перорального введения, т.е. в сроки его наибольшей концентрации в крови и тканях при различных путях его поступления, продолжается 1 ч, после чего начинает снижаться. Применение ингибитора моноаминоксидазы ипризада, затрудняющего метаболизм вещества, увеличивает время действия препарата в 2–3 раза [91]. Дозовая зависимость противолучевого эффекта индралина, как и для биогенных аминов, реализующих свой эффект через специфические рецепторы, удовлетворительно описывается логарифмической функцией.

Установлена тесная связь противолучевой эффективности биогенных аминов с их вазоконстрикторской активностью, которая приводит к региональному нарушению кровоснабжения, в том числе в радиочувствительных тканях. Радиозащитная активность биогенных аминов объясняется частичной нейтрализацией известного радиобиологического феномена “кислородного эффекта” вследствие развития острой гипоксии, прежде всего, в костном мозге и селезенке. При ослаблении гипоксического эффекта биогенных аминов в условиях облучения животных под повышенным давлением кислорода их радиозащитные свойства устранялись [48, 49].

Применение фармакологических антагонистов устраняло противолучевое действие биогенных аминов [50, 51]. По данным В.И. Кулинского, противолучевая эффективность адреналина и норадреналина реализуется через α1-адреноре-

цепторы [103]. Противолучевые свойства индралина также связаны с $\alpha 1$ -адренорецепторами [92]. Неселективные α -адренолитики тропafen и аминазин, селективный $\alpha 1$ -адреноблокатор празозин снижали или полностью устраняли противолучевое действие индралина (табл. 3) [91, 92]. Применение блокаторов β -адренорецепторов, серотонинергических и М-холинергических рецепторов не влияет на противолучевые свойства индралина. Резерпин и кокаин также не влияли на противолучевой эффект индралина, что свидетельствует о реализации его действия непосредственно через прямое воздействие на $\alpha 1$ -адренорецепторы [91]. Кроме того, отсутствие влияния нифедипина (блокатора Са-каналов) на эффект индралина косвенно указывает на чувствительность именно $\alpha 1\beta$ -адренорецепторов к радиопротектору [97]. Подавление противолучевых свойств индралина под действием блокатора фосфодиэстеразы теофиллина обусловлено противолучевым вазоконстрикторному эффекту радиопротектора NO-зависимой и NO-независимой вазодилатацией за счет экспрессии блокатором NOS белков, стимуляции NO/cGMP и AC/cAMP путей и открытия K^+ -каналов [93, 104].

Между проявлением противолучевых свойств индралина и его фармакологическим вазоконстрикторным эффектом, регистрируемым по гипертензивной реакции, снижением напряжения кислорода в подкожной клетчатке и костном мозге существует коррелятивная связь [2]. Циркуляторная гипоксия в радиочувствительных тканях при росте периферического сопротивления сосудов во время гипертензивной реакции на индралин вносит определенный вклад в механизм реализации противолучевых свойств радиопротектора.

Важно подчеркнуть, что индралин оказывает противолучевое действие при сверхсмертельных дозах облучения. Потенциальные возможности препарата Б-190 по радиозащитной эффективности на крупных животных достигают теоретически возможного предела по показателю ФУД, равного 2–2.5. (табл. 4) [2]. Такого результата пока по настоящее время никто не смог достигнуть в мире в исследованиях на крупных животных. Возникает наиболее важный вопрос, который требует своего решения: почему существует принципиальное различие в реализации эффекта индралина на крупных животных (собаках и обезьянах), сопровождающегося высокими недостижимыми для серотонина и его производных противолучевыми свойствами, связанными с гипоксическим действием радиопротекторов [2]. Для меня стало ясно, что равные с эффектами мексамина циркуляторные нарушения кровоснабжения радиочувствительных органов под действием индралина (табл. 2), ведущие к развитию в них гипоксии, не являются определяющими в реализации его действия [89]. Наблюдаемый уровень ги-

поксии в костном мозге и подкожной клетчатке собак (снижение pO_2 на 50%) после применения радиопротектора не может в полной мере обеспечить отмечаемый 90–100%-ный эффект препарата, что видно на примере мексамина, обладающего слабыми противолучевыми свойствами при тех гемодинамических сдвигах в кровоснабжении костного мозга [89]. Удаление селезенки у собак, где кровоток снижался под действием индралина в 5 раз, существенно не влияло на его противолучевой эффект (табл. 2 и 3) [89]. Поскольку противолучевой эффект индралина так или иначе связан с гипоксическим эффектом препарата, устраняемого в условиях гипероксии [89], нами было высказано предположение, что его действие объясняется во многом развитием тканевой гипоксии за счет активации тканевого дыхания через $\alpha 1$ -адренорецепторы [38, 89, 105, 106]. Подобную точку зрения ранее высказывал В.И. Кулинский в отношении реализации противолучевого действия норадrenalина [107].

Впервые стимуляцию дыхания митохондрий под действием Ca^{2+} выявил Chance [108]. Образовавшийся при стимуляции $\alpha 1(\beta)$ -адренорецептора инозитол-1,4,5-трифосфат (IP_3) вызывает через IP_3 -рецепторы высвобождение внутриклеточного Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума (ЭР) клетки в микродоминантах на специфических контактах ЭР с митохондриями. Высокие концентрации Ca^{2+} на контактах ЭР с митохондриями позволяют реализовать быстрое поглощение Ca^{2+} митохондриями через низкоаффинный митохондриальный унипортер с последующим подъемом концентрации Ca^{2+} в матриксе митохондрий. Рост содержания Ca^{2+} в митохондриях стимулирует их метаболизм и усиливает потребление кислорода тканями [109].

Существует принципиальное различие по механизму вазоконстрикторного эффекта между серотонином и норадrenalином. Для норадrenalина сокращение гладких мышц сосудистого русла требует повышенного потребления кислорода, в то время как для серотонина этого не требуется [92]. α -Адреномиметики способны повышать потребление кислорода в тканях (например, в мышцах, печени и почках) [99, 100, 110, 111]. Нами установлено, что индралин при снижении напряжения кислорода в костном мозге в условиях гипоксии ниже 10 мкмоль/л может увеличить повышение его потребления в 1.5 раза [112]. Характер влияния индралина на потребление кислорода клетками, возможно, связан с реализацией трофической функции адренергической системы, открытой Л.А. Орбели. Повышение потребления кислорода в костном мозге на фоне циркуляторной гипоксии под действием индралина при выраженной гетерогенности его кровоснабжения может в определенной популяции клеток создать

Таблица 3. Фармакологический анализ противолучевых свойств индралина [91, 92]
Table 3. Pharmacological analysis of radioprotective properties of indralin [91, 92]

Группа	Доза, мг/кг	Время введения до облучения, мин	n	Выживаемость, %
Белые беспородные мыши				
Контроль на облучение	—	—	57	5.3
Индралин	100	5	60	78.4
Тропафен + индралин	10 + 100	15 + 5	37	5.4*
Контроль на облучение	—	—	46	0
Индралин	100	5	50	74.0
Аминазин + индралин	1 + 100	10 + 5	20	90.0
	2 + 100	30 + 5	39	25.6*
	5 + 100	10 + 5	18	0*
Контроль на облучение	—	—	29	0
Индралин	100	5	38	65.8
Теофиллин + индралин	50 + 100	20 + 5	48	14.6*
Мыши (СВА×С57В1/6)F1				
Контроль на облучение	—	—	39	2.5
Индралин	100	5	29	79.3
Тропафен + индралин	10 + 100	25 + 5	20	25.0*
Аминазин + индралин	2 + 100	30 + 5	30	30.0*
Контроль на облучение	—	—	20	5.0
Индралин	100	5	20	60.0
Празозин + индралин	6 + 100	60 + 5	20	10.0*
Крысы белые беспородные				
Контроль на облучение	—	—	20	0
Индралин	100	5	29	69.0
Тропафен + индралин	10 + 100	15 + 5	30	30.0*
Индралин + тропafen	100 + 10	5 + после облучения	30	86.7
Собаки беспородные				
Контроль на облучение	—	—	11	0
Индралин	10	5	7	100.0
Тропафен + индралин	2 + 10	20 + 5	5	0*
Спленэктомия + индралин	10	5	7	71.4

* $p < 0.05$ по сравнению с группой “индралин”.

условия, близкие к аноксии с резким повышением их радиорезистентности, что в дальнейшем обеспечивает пострadiационную репопуляцию кроветворной ткани. Известно, что интенсификация потребления кислорода за счет расщепления окислительного фосфорилирования под действием 2,4-динитрофенола без проявления циркуляторной гипоксии способна обеспечить 100%-ную выживаемость мышей при смертельной дозе облучения [113, 114].

Здесь возникает вопрос, который обескуражил исследователей по испытанию мексамина в опы-

тах на собаках и обезьянах — почему данный радиопротектор, имея высокие противолучевые свойства на мелких лабораторных животных, обладает существенно меньшей эффективностью при защите крупных животных от действия радиации [114–116].

Проведенное нами сравнительное исследование по противолучевым свойствам гипоксической гипоксии в опытах на мышах, крысах и собаках позволило установить, что снижение эффективности гипоксии в данном ряду от мышей к собакам связано со снижением интенсивности

потребления кислорода при увеличении массы животного, связанного со снижением отношения площади поверхности животного как главного источника теплоотдачи организма в окружающую среду к его массе [117, 118]. Исходный уровень потребления кислорода животным и человеком предопределяет степень развития тканевой гипоксии при проявлении в организме гипоксической или циркуляторной гипоксии. Более низкий исходный уровень потребления кислорода, например, при гипотермии, предоставляет большие возможности для адаптивных процессов в клетке к воздействию острой гипоксии [119]. Этим объясняется снижение противолучевых свойств гипоксической гипоксии и мексамина на крупных животных и потенциально низкая их эффективность как средств защиты у человека [89, 116, 120]. α -Адреномиметики могут нарушить отмеченный выше адаптационный процесс, интенсифицируя тканевое дыхание в условиях гипоксии. По этой причине возможно достижение острой тканевой гипоксии под действием индралина в радиочувствительных тканях до радиобиологически значимых значений.

Существует четкая взаимосвязь между уровнем воздействия острой гипоксии и выраженностью стресс-адренергической реакции в виде активации тканевого дыхания, регистрируемой по одному из ферментов цикла Кребса СДГ. Выброс катехоламинов при стресс-реакции вносит определенный вклад в повышение радиорезистентности организма, в том числе при применении радиопротекторов [121]. Реакция со стороны СДГ лимфоцитов крови может служить индикатором переносимости острой гипоксии и в то же время обусловленной ею противолучевых свойств у радиопротекторов (рис. 2) [105, 118, 122, 123]. Обнаруженная реакция СДГ лимфоцитов крови у человека на прием индралина в рекомендуемой дозе предполагает вероятность проявления у него оптимального радиозащитного эффекта [105].

В процессе реоксигенации при завершении гипоксии происходит генерация активных форм кислорода, которые способствуют радиационному поражению и замедляют ранние пострадиационные репаративные процессы. Эти побочные последствия имеют место и при фармакологической гипоксии, индуцированной индралином. Сочетанное применение индралина до облучения и нитратов (монизола) после облучения, которые химически нейтрализуют активные формы кислорода с образованием нитропероксида, способствует стабилизации противолучевого действия радиопротектора [124, 125]. Подобный эффект наблюдали при сочетанном применении серотонина до облучения и нитропрусида после облучения [126].

Таблица 4. Противолучевая эффективность индралина в опытах на собаках при сверхсмертельных дозах γ -облучения [2]

Table 4. Radioprotective effectiveness of indralin in dog experiments at superlethal doses of γ -radiation [2]

Группа	Доза облучения, Гр	Доза, мг/кг	<i>n</i>	Выживаемость %
Контроль	4.0	—	10	0
Индралин	4.0	10	62	90.3
	6.0	10	10	60.0
	6.0	30	10	100.0
	7.0	30	10	100.0
	8.0	30	20	55.0

МЕХАНИЗМ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО (РАДИОМИТИГИРУЮЩЕГО) ДЕЙСТВИЯ ИНДРАЛИНА

Известно, что серотонин и его производные, а также аминотиолы (цистамин и АЭТ) способны снижать смертность животных от смертельных доз радиации при их применении в течение часа после облучения и усиливать пролиферацию стволовых кроветворных клеток в облученном костном мозге и селезенке [127–129]. В исследованиях, проведенных Г.А. Черновым, было впервые показано на примере индралина, что радио-

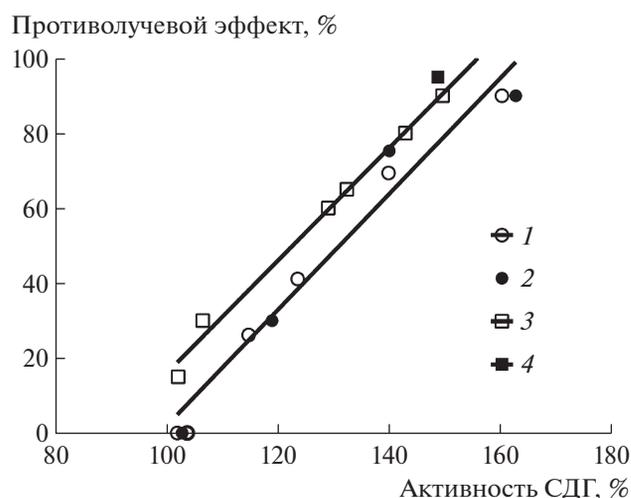


Рис. 2. Взаимосвязь между активацией СДГ лимфоцитов крови под действием радиопротекторов и проявлением их противолучевых свойств при различных дозах препаратов [99]: 1 — индралин (мыши). 2 — индралин (собаки). 3 — цистамин (мыши). 4 — мексамин (мыши).

Fig. 2. Relationship between activation of blood lymphocyte succinate dehydrogenase by radioprotectors and their radioprotective properties at different doses of preparations [99]: 1 — indralin (mice). 2 — indralin (dogs). 3 — cystamine (mice). 4 — mexamine (mice).

Таблица 5. Противолучевые свойства индралина при применении после облучения в условиях частичного экранирования области живота крыс [132]

Table 5. Radioprotective properties of indralin when applied after irradiation under conditions of partial shielding of rat abdomen [132]

Группа	Способ и срок введения	Доза, мг/кг	n	Выживаемость, %	СПЖ, сут
Контроль на облучение Индралин	—	—	34	2.9	8.5 ± 0.7
	внутрибрюшинно через 10 мин после облучения	100.0	10	10.0	5.7 ± 0.9
Экранирование живота (Э) Э + индралин	—	—	32	31.3*	11.9 ± 1.0**
	внутрибрюшинно через 10 мин после облучения	100.0	24	87.5*‡	9.3 ± 0.7

* $p < 0.05$ по отношению к контролю на облучение (по точному критерию Фишера); ** $p < 0.05$ по отношению к контролю на облучение (по U -критерию Манна–Уитни); ‡ $p < 0.05$ по отношению к группе “Э”. “индралин” (по точному критерию Фишера).

митигирующий эффект радиопротектора имеет место и в опытах на крупных животных (собаках) [2]. При применении индралина после облучения терапевтическое действие радиопротектора возросло до 50% при последующей антибиотикотерапии на модели острой лучевой болезни в опытах на собаках [130]. Подобным же действием в сходных условиях в опытах на собаках обладает беталейкин (человеческий рекомбинантный ИЛ-1) – средство экстренной терапии [131].

Г.А. Черновым было установлено в опытах на мышцах по тесту эндогенных колоний, что данный эффект индралина не устраняется α -адреноблокатором тропafenом [2]. Нами было подтверждено радиомитигирующий эффект индралина [132], в том числе при сверхсмертельных дозах радиации в условиях применения средств локальной защиты в области живота [133]. Данный эффект не изменялся под действием селективного $\alpha 1$ -адреноблокатора, но устранялся 5HT_{2A}-серотониновым блокатором [134]. Ранее установлено, что в опытах *in vitro* норадреналин обладает противолучевым действием только при применении его до облучения. В тех же условиях серотонин был активен как до, так и после облучения [135]. Пока нет прямых данных о связи терапевтического действия индралина с его возможной серотонинергической активностью на системе кровотока. Возможно также, что индралин опосредованно высвобождает серотонин из тканей, в том числе из костного мозга. По такому механизму реализуется радиомитигирующий эффект цистамина [136]. Терапевтический эффект индралина устраняется монизолом, являющимся источником нитроксида, при отсутствии влияния на его противолучевые свойства [124]. Причиной данного эффекта монизола может быть способность нитратов переводить серотонин в неактивную форму [136].

Известно, что серотонин стимулирует пролиферацию гемопоэтических стволовых клеток [137–141], в том числе через активацию мезенхимального окружения в нише костного мозга [141, 142]. Действие серотонина на гемопоэз в основ-

ном осуществляется через 5HT_{2A}-серотониновые рецепторы, принадлежащие к семейству G α_q -протеин сцепленных рецепторов [137, 143].

Норадреналин вызывает ускорение дифференциации гемопоэтических стволовых клеток, при этом блокируя их пролиферацию [131, 144]. $\alpha 1(B)$ -адреноагонисты, к которым относятся норадреналин и индралин, повышают в клетках активность экстраклеточной сигнальной киназы (ERK 1/2) и связанный с ней синтез белков и р38 киназу, которая блокирует синтез ДНК, что способствует дифференцировке клеток [145]. Стимуляция дифференциации гемопоэтических стволовых клеток под действием $\alpha 1$ -адреноагонистов подавляется сиртуинами, которые по механизму обратной связи активируются данными соединениями. Получены экспериментальные данные о стимуляции $\alpha 1$ -адреномиметиком фенилэфрином экспрессии сиртуина 1 при его подавлении под действием радиации в облученных слюнных железах [146]. Возможно, что механизм данного эффекта $\alpha 1$ -адреномиметиков связан с повышенной продукцией АФК, которые способны стимулировать экспрессию сиртуина 1 после облучения с активацией антиоксидантной системы через ядерный фактор Nrf2 и FOXO3 и ранних пострадиационных репаративных процессов в радиочувствительных тканях [147]. Растительные полифенолы (кверцетин), являющиеся стимуляторами сиртуинов, при сочетанном применении с индралином способствуют усилению его терапевтического противолучевого действия [148, 149].

Практический интерес представляют данные по противолучевой эффективности препарата Б-190 при неравномерном облучении. В условиях экранирования отдельных участков костного мозга животных возможно наблюдать усиление миграции его стволовых клеток, что способствует более быстрому пострадиационным репаративным процессам в кровяной системе [150]. При экранировании области живота существенно (на 50%) возрастают противолучевые свойства индралина как средства экстренной терапии при его применении в ближайший час после облучения (табл. 5) [134].

В целом можно заключить, что радиомитигирующие свойства индралина, сходные по выраженности с терапевтическим действием беталейкина, вносят определенный вклад в повышение радиорезистентности организма, но не сопоставимы с величиной его уникального радиозащитного эффекта, обнаруженного в экспериментах на крупных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Открытие З. Баком радиозащитного эффекта у цистамина и Дж. Греем тех же свойств у серотонина в начале 50-х годов прошлого века вызвало в мире всплеск исследований по поиску более активных соединений среди практически всех фармакологических к тому времени известных групп с последующей разработкой противолучевых лекарственных средств амифостина (WR-2721) в США и препарата Б-190 (индралина) в СССР с формированием теоретических представлений о механизме реализации действия радиопротекторов как средства по нейтрализации “кислородного эффекта” – универсального радиобиологического феномена, потенцирующего поражающее действие на живые организмы ионизирующего излучения в больших дозах.

Влияние препарата Б-190 (индралина) на сердечно-сосудистую систему и его высокая противолучевая эффективность связаны с прямым взаимодействием с α 1-адренорецепторами с последующим развитием гипертензивной реакции и циркуляторной гипоксии в радиочувствительных тканях на фоне фармакологической активации тканевого дыхания. Следствием этого является формирование в клетках биохимического шока по З. Баку или “восстановительного” стресса по современным представлениям.

Терапевтическое действие индралина как радиомитигатора реализуется в основном через 5Н2-серотониновые рецепторы, активация которых способствует усилению пролиферации и миграции стволовых клеток и клеток-предшественников радиочувствительных тканей с репопуляцией их клеточного состава в процессе пострadiационного восстановления. Препарат Б-190 по своим высоким противолучевым свойствам и широте терапевтического (радиозащитного) действия превосходит известные лекарственные противолучевые препараты.

P.S.

В моей жизни был ряд важных событий, критических рубежей, которые во многом предопределили всю мою судьбу на поприще науки. Первое – это то, что я смог заниматься научной работой практически сразу после окончания Первого Московского медицинского института благодаря

безграничной любви и помощи моей матушки. Второе, что судьба меня свела с моим научным руководителем, родоначальником отечественной радиационной фармакологии Павлом Петровичем Саксоновым. Третье, что я встретил в своей жизни большого ученого-химика и обаятельного человека Николая Николаевича Суворова. Он был для меня большим другом, с ним я плодотворно сотрудничал по скринингу вновь синтезируемых производных биогенных аминов, а в дальнейшем при изучении противолучевых свойств индралина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ильин Л.А., Ушаков И.Б., Васин М.В. Противолучевые средства в системе радиационной защиты персонала и населения при радиационных авариях // Мед. радиол. радиац. безопасность. 2012 Т. 57. № 3. С. 26–31. [Ilyin L.A., Ushakov I.B., Vasin M.V. Radioprotective agents in radiation protection system of personnel and population in case of radiation accidents // Med. Radiol. Radiation Safe. 2012. V. 57. № 3. P. 26–31. (In Russian)]
2. Ильин Л.А., Рудный Н.Н., Суворов Н.Н. и др. Индралин – радиопротектор экстренного действия. Противолучевые свойства, фармакология, механизм действия, клиника. М.: Минздрав РФ, 1994. 435 с. [Ilyin L.A., Rudny N.N., Suvorov N.N. et al. Indralin – radioprotector of emergency action. Radioprotective properties, pharmacology, mechanism of action, clinic. M.: Ministry of Health of the Russian Federation, 1994. 435 p. (In Russian)]
3. Васин М.В. Лекарственные противолучевые средства. М.: РМАПО, 2010. 180 с. [Vasin M.V. Medicinal radioprotective agents. Moscow: RMAPO, 2010. 180 p. (In Russian)]
4. Weiss J.F., Landauer M.R. History and development of radiation-protective agents // Int. J. Radiat. Biol. 2009. V. 85. № 7. P. 539–573.
5. Гребенюк А.Н., Легеца В.И. Противолучевые свойства интерлейкина-1. СПб.: Фолиант. 2012. 216 с. [Grebnyuk A.N., Legeza V.I. Radioprotective properties of interleukin-1. Sanct-Peterburg: Foliant, 2012. 216 p. (In Russian)]
6. Gibrat C., Cicchetti F. Potential of cystamine and cysteamine in the treatment of neurodegenerative diseases // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2011. V. 35. № 2. P. 380–389.
7. Kawabe K., Takano K., Moriyama M., Nakamura Y. Transglutaminases derived from astrocytes Accelerate amyloid β aggregation // Neurochem. Res. 2017. V. 42. № 8. P. 2384–2391.
8. Barnett M., Hegarty R. Cysteamine hydrochloride increases bodyweight and wool fibre length, improves feed conversion ratio and reduces methane yield in sheep // Animal Production Science. 2014. V. 54. № 9. P. 1288–1293.
9. Lissoni P., Malugani F., Bukovec R. et al. Reduction of cisplatin-induced anemia by the pineal indole 5-methoxytryptamine in metastatic lung cancer patients // Neuro Endocrinol. Lett. 2003. V. 24. № 1–2. P. 83–85.

10. *Vasin M.V.* Медицинские аспекты радиационных катастроф. М.: РМАПО, 2008. 76 с. [*Vasin M.V.* Medical aspects of radiation disasters. M.: RMAPO, 2008. 76 p.]
11. *Kamran M.Z., Ranjan A., Kaur N. et al.* Radioprotective agents: strategies and translational advances // *Med. Res. Rev.* 2016. V. 36. № 3. P. 461–493. <https://doi.org/10.1002/med.21386>
12. *Saaya F.M., Katsube T., Xie Y. et al.* Research and development of radioprotective agents: a mini-review // *Int. J. Radiol.* 2017. V. 4. № 2–3. P. 128–138.
13. *Smith T.A., Kirkpatrick D.R., Smith, S. et al.* Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation // *J. Transl. Med.* 2017. V. 15. P. 232. <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1338-x>
14. *Singh V.K., Seed T.M.* A review of radiation countermeasures focusing on injury-specific medicinals and regulatory approval status: part I. Radiation sub-syndromes, animal models and FDA-approved countermeasures // *Int. J. Radiat. Biol.* 2017. V. 93. № 9. P. 1–19. <https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1332438>
15. *Гудков С.В., Попова Н.Р., Брусков В.И.* История, тренды и перспективы // *Биофизика.* 2015. Т. 60. № 4. С. 801–811. [*Gudkov S.V., Popova N.R., Bruskov V.I.* History, trends and prospects // *Biophysics.* 2015. V. 60. № 4. P. 801–811. (In Russian)]
16. *Patt H.M., Tyree E.B., Straube R.L., Smith D.E.* Cysteine protection against X-irradiation // *Science.* 1949. V. 110. № 2852. P. 213–214.
17. *Chapman W.H., Cronkite E.P.* Further studies of beneficial effect of glutathione on X-irradiation mice // *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 1950. V. 75. № 2. P. 318–322.
18. *Bacq Z.M., Herve A., Lecomte J. et al.* Protection contre le rayonnement X par la beta-mercaptoethylamine // *Arch. Int. Physiol.* 1951. V. 59. № 4. P. 442–447.
19. *Bacq Z.M.* The amines and particularly cystamine as protectors against roentgen rays // *Acta Radiol.* 1954. V. 41. № 2. P. 47–55.
20. *Gray J.L., Tew J.T., Jensen H.* Protective effect of serotonin and paraaminopropiophenon against lethal doses of X-irradiation // *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 1952. V. 80. № 4. P. 604–607.
21. *Красных И.Г., Жеребченко П.Г., Мурашова В.С. и др.* Радиозащитное действие 5-метокситриптамина и других алкокситриптаминов // *Радиобиология.* 1962. Т. 2. Вып. 1. С. 156–160. [*Krasnykh I.G., Zherebchenko P.G., Murashova V.S. et al.* Radioprotective effect of 5-methoxytryptamine and other alkoxytryptamines // *Radiobiology.* 1962. V. 2. № 1. P. 156–160. (In Russian)]
22. *Жеребченко П.Г.* Противолучевые свойства индоллилалкиламинов. М.: Атомиздат, 1971. 200 с. [*Zherebchenko P.G.* Radioprotective properties of indolylalkylamines. M.: Atomizdat, 1971. 200 p. (In Russian)]
23. *Gray J.L., Moulden E.J., Tew J.T., Jensen H.* Protective effect of pitressin and of epinephrine against total body X-irradiation // *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 1952. V. 79. № 3. P. 384–387.
24. *Gray L.H., Conger A.D., Ebert M. et al.* The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy // *Brit. J. Radiol.* 1953. V. 26. P. 638–648.
25. *Alper T., Howard-Flanders P.* The role of oxygen in modifying the radiosensitivity of *E. coli* B // *Nature.* 1956. V. 178. № 4540. P. 978–979.
26. *Barron E., Dickman S., Muntz I., Singer T.R.* Studies on the mechanism of action of ionizing radiations // *J. Gen. Physiol.* 1949. V. 32. № 4. P. 537–552.
27. *Weiss J.* Radiochemistry of aqueous solutions // *Nature.* 1944. V. 153. P. 748–750.
28. *Lea D.E.* Action of Radiation on Living Cells. 2nd ed. Cambridge: University Press, 1956. (*Лу Д.Э.* Действие радиации на живые клетки: Пер. с англ. М.: Госатомиздат, 1963.)
29. *Bacq Z.M., Alexander P.* Fundamentals of radiobiology. 1st ed. Butterworth. London. 1955. 2nd ed. London: Pergamon Press, 1961 (*Бак З., Александер П.* Основы радиобиологии. М.: ИЛ, 1963. 500 с. (In Russian)]
30. *Alexander P., Charlesby A.* Physico-chemical methods of protection against ionizing radiations // *Radio-biol. Symp. Liege.* 1954. London: Butterworth, 1955. P. 49–59.
31. *Howard-Flanders P.* Effect of oxygen on the radiosensitivity of bacteriophage in the presence of sulphhydryl compounds // *Nature.* 1960. V. 186. № 4723. P. 485–487.
32. *Howard-Flanders P., Levin J., Theriot L.* Reactions of deoxyribonucleic acid radicals with sulphhydryl compounds in X-irradiated bacteriophage systems // *Radiat. Res.* 1963. V. 18. № 4. P. 593–606.
33. *Эйдус Л.Х., Корыстов Ю.Н.* Кислород в радиобиологии. М.: Энергоатомиздат, 1984. 177 с. [*Aidus L.H., Korystov Yu.N.* Oxygen in Radiobiology. M.: Energoatomizdat, 1984. 177 p. (In Russian)]
34. *Jellum E.* Interaction of cysteamine and cystamine derivatives with nucleic acids and nucleoproteins // *Int. J. Radiat. Biol.* 1965. V. 9. P. 185–200.
35. *Brown P.E.* Mechanism of action of aminothioli radioprotectors // *Nature.* 1967. V. 213. № 5074. P. 363–364.
36. *van der Meer C., van Bekkum D.W.* The mechanism of radiation protection by histamine and other biological amines // *Int. J. Radiat. Biol.* 1959. V. 1. № 1. P. 5–12.
37. *Овакимов В.Г., Айрапетян Г.М., Иванов В.Н. и др.* Защитный эффект биогенных аминов при радиационном кишечном синдроме // *Радиобиология.* 1970. Т. 10. Вып. 4. С. 551–555. [*Ovakimov V.G., Ayrapetyan G.M., Ivanov V.N. et al.* Protective effect of biogenic amines in radiation intestinal syndrome // *Radiobiology.* 1970. V. 10. № 4. P. 551–555. (In Russian)]
38. *Васин М.В.* Поиск и исследование новых эффективных средств фармакохимической защиты организма от поражающего действия ионизирующего излучения: Дис. ... д-ра мед. наук. М.: ГНИИИ АиКМ МО, 1977. 510 с. [*Vasin M.V.* Search and research of new effective means of pharmacochimical protection of the body against damaging effect of ionizing radiation: Diss. ... doc. sci. M.: Institute of aviation and space medicine of Ministry of Defence, 1977. 510 p. (In Russian)]
39. *Кулинский В.И.* Радиопротекторы рецепторного действия // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 1993. Т. 33. № 6. С. 831–847. [*Kulinskii V.I.* Receptor-action radioprotectors // *Radiat. Biol. Radiat. Ecol.* 1993. V. 33. № 6. P. 831–847. (In Russian)]
40. *Hasegawa A.T., Landahl H.D.* Studies on spleen oxygen tension and radioprotection in mice with hypoxia, sero-

- tonin and p-aminopropiophenone // *Radiat. Res.* 1967. V. 31. № 3. P. 389–399.
41. Ярмоненко С.П., Рампан Ю.И., Карочкин Б.Б. и др. Кинетика напряжения кислорода в критических органах под влиянием мексамина в сопоставлении с его радиозащитным эффектом // *Радиобиология.* 1970. Т. 10. № 5. С. 700–705. [Yarmonenko S.P., Rampan Yu.I., Karochkin B.B. et al. Kinetics of oxygen consumption in critical organs under the influence of mexamine in comparison with its radioprotective effect // *Radiobiology.* 1970. V. 10. № 5. P. 700–705. (In Russian)]
 42. Жеребченко П.Г., Суворов Н.Н. О связи между радиозащитным и сосудосуживающим действием индолалкиламинов // *Радиобиология.* 1963. Т. 3. № 4. С. 595–599. [Zhrebchenko P.G., Suvorov N.N. On the relationship between radioprotective and vasoconstrictive action of Indolylalkylamines // *Radiobiology.* 1963. V. 3. № 4. P. 595–599. (In Russian)]
 43. Абрамов М.М., Васин М.В. К характеристике связей противолучевых свойств серотонина и его ацил- и алкилпроизводных и их способности изменять местный кровоток в тканях организма // *Радиобиология.* 1978. Т. 18. № 2. С. 204–209. [Abramov M.M., Vasin M.V. To characteristic of radioprotective properties of serotonin and its acyl and alkyl derivatives and their ability to change local blood flow in body tissues // *Radiobiology.* 1978. V. 18. № 2. P. 204–209. (In Russian)]
 44. Васин М.В., Антипов В.В., Суворов Н.Н. и др. К характеристике роли гидроксильной группы серотонина в фармакологическом и противолучевом эффекте серотонина // *Радиобиология.* 1984. Т. 24. № 3. С. 411–414. [Vasin M.V., Antipov V.V., Suvorov N.N. et al. To characteristic of the role of hydroxyl group of serotonin in pharmacological and radioprotective effect of serotonin // *Radiobiology.* 1984. V. 24. № 3. P. 411–414. (In Russian)]
 45. Васин М.В., Суворов Н.Н., Абрамов М.М., Гордеев Е.Н. Изменение терапевтической широты действия по фармакологическому и противолучевому эффекту при О-алкилировании серотонина и 5(2-окситриптамина) // *Радиобиология.* 1987. Т. 27. № 5. С. 700–703. [Vasin M.V., Suvorov N.N., Abramov M.M., Gordeev E.N. Change of therapeutic window of action on pharmacological and radioprotective effect in O-alkylation of serotonin and 5 (2-oxyethoxytryptamine) // *Radiobiology.* 1987. V. 27. № 5. P. 700–703. (In Russian)]
 46. Dowdy A., Bennett L.R., Chastain S.M. Protective action of anoxia against total body roentgen irradiation of mammals // *Radiology.* 1950. V. 55. № 6. P. 879–885.
 47. Limperos G. Effects of varying oxygen tension on mortality of X-rayed mice // *J. Frankl. Inst.* 1950. V. 249. P. 513–514.
 48. van den Brenk H., Jamieson D. Studies of mechanisms of chemical radiation protection in vivo. II. Effect of pressure oxygen on radioprotection in vivo and its relation to “Oxygen poisoning” // *Int. J. Radiat. Biol.* 1962. V. 4. № 4. P. 379–402.
 49. van den Brenk H., Moore R. Effect of high oxygen pressure on the protective action of cystamine and 5-hydroxytryptamine in irradiated rats // *Nature.* 1959. V. 183. № 4674. P. 1530–1531.
 50. van den Brenk H., Haas M. Studies on the mechanisms of chemical radiation protection in vivo. I. 5-hydroxytryptamine in relation to effect of antimetabolites, antagonists and releasing agents // *Int. J. Radiat. Biol.* 1961. V. 3. № 1. P. 73–94.
 51. van der Meer C., Bekkum D. A study on the mechanism of radiation protection by 5-hydroxytryptamine and tryptamine // *Int. J. Radiat. Biol.* 1961. V. 4. P. 105–110.
 52. Devik F., Lothe F. The effect of cysteamine, cystamine and hypoxia on mortality and bone-marrow chromosome aberrations in mice after total body roentgen irradiation // *Acta Radiol.* 1955. V. 44. P. 243–248.
 53. Duplan J.F., Fuhrer J. Estimation de l'effet radioprotecteur de l'аминоэтилсотиуроний (AET) par le dénombrement des nodules spléniques // *Compt. Rend. Soc. Biol.* 1966. V. 160. № 6. P. 1142–1145.
 54. Feher I., Gidali J., Sztanyik L. Study of the radioprotective effect of 5-methoxytryptamine on hemopoietic stem cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 1968. V. 14. № 3. P. 257–263.
 55. Crouch B.G., Overman R.R. Chemical protection against X-irradiation death in primates: a preliminary report // *Science.* 1957. V. 125. P. 1092–1093.
 56. Jacobus D.P. Preprotection of the dog against ionizing radiation // *Fed. Proc.* 1959. V. 18. P. 74.
 57. Jacobus D.P., Daquisto M.D. Anti-radiation drug development // *Military Med.* 1961. V. 126. P. 698.
 58. Разоренова В.А. Защитное действие меркамина при экспериментальном остром лучевом поражении // Вопросы патогенеза, экспериментальной терапии и профилактики лучевой болезни. М.: Медгиз, 1960. С. 351–359. [Razorenova V.A. Protective action of mercamine in experimental acute radiation damage // The questions of pathogenesis, experimental therapy and prevention of radiation disease. M.: Medgiz, 1960. P. 351–359. (In Russian)]
 59. Разоренова В.А., Щербова Е.Н. О профилактическом применении цистеинамина и цистамина при острой лучевой болезни // *Мед. радиол.* 1961. Т. 6. № 3. С. 266–269. [Razorenova V.A., Scherbova E.N. On preventive use of cysteinamine and cystamine in acute radiation disease // *Med. Radiol.* 1961. V. 6. № 3. P. 266–269. (In Russian)]
 60. Benson R.E., Michaelson S.M., Downs W. Toxicological and radioprotection studies on S,beta-aminoethyl isothiuronium bromide (AET) // *Radiat. Res.* 1961. V. 15. № 5. P. 561–567.
 61. Мозжухин А.С., Рачинский Ф.Ю. Химическая профилактика радиационных поражений. М.: Атомиздат, 1964. 244 с. [Moszhukhin A.S., Rachinsky F.Yu. Chemical prevention of radiation injuries. Moscow: Atomizdat, 1964. 244 p. (In Russian)]
 62. Семенов Л.Ф. Профилактика острой лучевой болезни. Л.: Медицина, 1967. 215 с. [Semenov L.F. Prevention of acute radiation disease. Leningrad: Medicine, 1967. 215 p. (In Russian)]
 63. Akerfeldt S., Ronnback C., Nelson A. Radioprotective agents: results with S-(3-amino-2-hydroxypropyl)phosphorothioate, amidophosphorothioate and

- some related compounds // *Radiat. Res.* 1967. V. 31. № 4. P. 850–855
64. *Piper J., Stringfellow C., Elliot R., Johnston T.* S₂(omega-aminoalkylamino)-ethyl-dihydrogen phosphorothioates and related compounds as potential antiradiation agents // *J. Med. Chem.* 1969. V. 12. № 2. P. 236–243.
 65. *Piper J.R., Rose L.M., Johnson T.P. et al.* S-2-omega-Diaminoalkyl dihydrogen phosphorothioates as antiradiation agents // *J. Med. Chem.* 1979. V. 22. № 6. P. 613–639.
 66. *Yugas J.M., Storer J.B.* Chemoprotection against three modes of radiation death in the mice // *Int. J. Radiat. Biol.* 1969. V. 15. № 3. P. 233–237.
 67. *Yugas J.M.* Biological factors affecting the radioprotective efficiency of S₂-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid (WR-2721) LD50/30 doses // *Radiat. Res.* 1970. V. 44. № 3. P. 621–628.
 68. *Yugas J.M.* Biological factors affecting the radioprotective efficiency of S₂-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid (WR-2721) LD50/7 doses // *Radiat. Res.* 1971. V. 47. № 2. P. 226–229.
 69. *Yugas J.M., Proctor J.O., Smith L.H.* Some pharmacologic effects of WR-2721: their role in toxicity and radioprotection // *Radiat. Res.* 1973. V. 54. № 2. P. 222–233.
 70. *Gu J., Zhu S., Li X.* Effect of amifostine in head and neck cancer patients treated with radiotherapy: a systematic review and meta-analysis based on randomized controlled trials // *Plos One.* 2014. V. 9. № 5. e95968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095968>
 71. *Devine A., Marignol L.* Potential of amifostine for chemoradiotherapy and radiotherapy-associated toxicity reduction in advanced NSCLC: a meta-analysis // *Anticancer Res.* 2016. V. 36. № 1. P. 5–12.
 72. *Суворов Н.Н., Шашков В.С.* Химия и фармакология средств профилактики радиационных поражений. М.: Атомиздат, 1975. 224 с. [*Suvorov N.N., Shashkov V.S.* Chemistry and pharmacology of means of prevention of radiation lesions. M.: Atomizdat, 1975. 224 p. (In Russian)]
 73. *Горелова Н.В., Шашков В.С., Васин М.В. и др.* Радиозащитные свойства О-ацильных производных серотонина // *Радиобиология.* 1970. Т. 10. № 5. С. 758–762. [*Gorelova N.V., Shashkov V.S., Vasin M.V. et al.* Radioprotective properties of O-acyl derivatives of serotonin // *Radiobiology.* 1970. V. 10. № 5. P. 758–762. (In Russian)]
 74. *Васин М.В., Антипов В.В., Суворов Н.Н. и др.* Противолучевые свойства индолилалкиламиноэтанолов // *Радиобиология.* 1971. Т. 11. № 5. С. 779–781. [*Vasin M.V., Antipov V.V., Suvorov N.N. et al.* Radioprotective properties of indolylalkylaminoethanols // *Radiobiology.* 1971. V. 11. № 5. P. 779–781. (In Russian)]
 75. *Старостина З.Г., Суворов Н.Н., Васин М.В. и др.* Синтез 3-диалкиламино 3-дезоксиналогов 1-(индолил-3) глицерина // *Химико-фармацевтический журнал.* 1972. Т. 6. № 11. С. 14–18. [*Starostina Z.G., Suvorov N.N., Vasin M.V. et al.* Synthesis of 3-dialkylamino 3-deoxyanalogs 1-(indolyl-3) glycerol // *Chemico-Pharmaceutical J.* 1972. V. 6. № 11. P. 14–18. (In Russian)]
 76. *Суворов Н.Н., Гуляев В.А., Костюченко Н.Н. и др.* Производные индола: Синтез некоторых О(-окси-алкоксипропил)производных серотонина // *Химия гетероциклич. соед.* 1973. № 11. С. 1515–1518. [*Suvorov N.N., Gulyaev V.A., Kostyuchenko N.N. et al.* Indole derivatives: Synthesis of some O (-oxyalkoxypropyl) derivatives of serotonin // *Chemistry heterocyclic compound.* 1973. № 11. P. 1515–1518. (In Russian)]
 77. *Суворов Н.Н., Виноград Л.Х., Минаева В.С. и др.* Производные индола: Аминотиолы и аминотиосульфаты индольного ряда // *Химия гетероциклич. соед.* 1973. № 11. С. 1505–1511. [*Suvorov N.N., Vinograd L.Kh., Minaeva V.S. et al.* Indole derivatives: Aminothiols and aminothiosulfates of indole series // *Chemistry heterocyclic compound.* 1973. № 11. P. 1505–1511. (In Russian)]
 78. *Васин М.В., Антипов В.В., Суворов Н.Н. и др.* Противолучевые свойства дисеротониновых эфиров дикарбоновых кислот // *Радиобиология.* 1974. Т. 14. № 2. С. 242–246. [*Vasin M.V., Antipov V.V., Suvorov N.N. et al.* Radioprotective properties of diserotonin esters of dicarboxylic acids // *Radiobiology.* 1974. V. 14. № 2. P. 242–246. (In Russian)]
 79. *Васин М.В., Антипов В.В., Суворов Н.Н. и др.* Противолучевые свойства -окси и -меркаптотриптаминов и их производных // *Радиобиология.* 1974. Т. 14. № 4. С. 610–612. [*Vasin M.V., Antipov V.V., Suvorov N.N. et al.* Radioprotective properties of -oxy and -mercaptotryptamines and their derivatives // *Radiobiology.* 1974. V. 14. № 4. P. 610–612. (In Russian)]
 80. *Русинова В.Н., Суворов Н.Н., Смушкевич Ю.А. и др.* Производные индола; Индолил-3-фенилуксусная кислота // *Химия гетероциклич. соед.* 1974. № 2. С. 211–213. [*Rusinova V.N., Suvorov N.N., Smushkevich Yu.A. et al.* Indole derivatives; Indolyl-3-phenylacetic acid // *Chemistry heterocyclic compound.* 1974. № 2. P. 211–213. (In Russian)]
 81. *Суворов Н.Н., Гордеев Е.Н., Васин М.В.* Производные индола; Синтез и биологическая активность некоторых триптаминов // *Химия гетероциклич. соед.* 1974. № 11. С. 1496–1501. [*Suvorov N.N., Gordeev E.N., Vasin M.V.* Indole derivatives; Synthesis and biological activity of certain tryptamines // *Chemistry heterocyclic compound.* 1974. № 11. P. 1496–1501. (In Russian)]
 82. *Балабушевич А.Б., Ярославский Н.С., Суворов Н.Н. и др.* Синтез и радиозащитные свойства некоторых изотриптаминов // *Тр. МХТИ.* 1977. Вып. 94. С. 20–22. [*Balabushevich A.B., Yarosko N.S., Suvorov N.N. et al.* Synthesis and radioprotective properties of certain isotryptamines // *Works of Moscow Chemical technological institute.* 1977. Issue 94. P. 20–22. (In Russian)]
 83. *Суворов Н.Н., Виноград Л.Х., Лаврищева Л.Н. и др.* Серусодержащие производные индолилалкиламинов // *Тр. МХТИ.* 1977. Вып. 94. С. 9–19. [*Suvorov N.N., Vinograd L.H., Lavrisheva L.N. et al.* Sulfur-containing indolylalkylamine derivatives // *Works of Moscow Chemical technological institute.* 1977. Issue 94. P. 9–19. (In Russian)]
 84. *Ильин Л.А.* Мифы и реалии Чернобыля. М.: ALARA Limited, 1994. 448 с. [*Ilyin L.A.* Myths and realities of Chernobyl. M.: ALARA Limited, 1994. 448 p. (In Russian)]

85. Васин М.В., Чернов Г.А., Антипов В.В. Ширина радиозащитного действия индралина в сравнительных исследованиях на различных видах животных // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. № 6. С. 896–904. [Vasin M.V., Chernov G.A., Antipov V.V. The window of radioprotective action of indralin in comparative studies on different species of animals // Radiat. Biol. Radioekol. 1997. V. 37. № 6. P. 896–904. (In Russian)]
86. Vasin M.V., Semenov L.F., Suvorov N.N. et al. Protective effect and the therapeutic index of indralin in juvenile rhesus monkeys // J. Radiat. Res. 2014. V. 55. № 6. P. 1048–1055.
87. Сухинина Г.П. Фармакология 1-(индолил-3)-2-алкиламиноалканолов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.: ВНИХФИ им. С. Орджоникидзе, 1972. 19 с. [Sukhinina G.P. Pharmacology of 1-(indolyl-3)-2-alkylaminoalkanol: Avtoref. Dis. ... Master's med. sci. M.: Orzhonikidze All-Union Chemical Pharmaceutical Institute. 1972. 19 p. (In Russian)]
88. Васин М.В., Ганьшина Т.С., Мирзоян Р.С. и др. Митигирующий эффект нитратов (монизола) на фармакодинамические сдвиги в сердечно-сосудистой системе под действием радиопротектора индралина // Бюл. эксперим. биол. мед. 2018. Т. 165. № 3. С. 340–343. [Vasin M.V., Ganshina T.S., Mirzoyan R.S. et al. The mitigative effect of nitrates (monizol) on pharmacodynamic shifts in cardiovascular system by the action of the indralin // Bul. Experim. Biol. Med. 2018. V. 165. № 3. P. 340–343. (In Russian)]
89. Васин М.В., Антипов В.В., Чернов Г.А. и др. Роль вазоконстрикторного эффекта в реализации противолучевых свойств индралина в опытах на собаках // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. № 1. С. 46–55. [Vasin M.V., Antipov V.V., Chernov G.A. et al. The role of vasoconstrictor effect in the realization of radioprotective properties of indralin in dog experiments // Radiat. Biol. Radioekol. 1997. V. 37. № 1. P. 46–55. (In Russian)]
90. Васин М.В., Гаврилюк Д.Н. Влияние мексamina на тонус артерий у собак // Фармакол. токсикол. 1979. Т. 42. № 4. С. 376–378. [Vasin M.V., Gavrilyuk D.N. Effect of mexamine on artery tone in dogs // Pharmacol. Toxicol. 1979. V. 42. № 4. P. 376–378. (In Russian)]
91. Васин М.В., Чернов Г.А., Королева Л.В. и др. К механизму противолучевого действия индралина // Радиационная биология. Радиоэкология. 1996. Т. 36. № 1. С. 36–46. [Vasin M.V., Chernov G.A., Koroleva L.V. et al. To the mechanism of radioprotective action of indralin // Radiat. Biol. Radioekol. 1996. V. 36. № 1. P. 36–46. (In Russian)]
92. Васин М.В., Ушаков И.Б., Семенова Л.А., Ковтун В.Ю. К фармакологическому анализу противолучевого действия индралина // Радиационная биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 3. С. 307–309. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Semenova L.A., Kovtun V.Y. To pharmacological analysis of radioprotective action of indralin // Radiat. Biol. Radioekol. 2001. V. 41. № 3. P. 307–309. (In Russian)]
93. Chen Z.J., Minneman K.P. Recent progress in alpha1-adrenergic receptor research // Acta Pharmacol. Sin. 2005. V. 26. № 11. P. 1281–1287.
94. Hu Z.W., Shi X.Y., Lin R.Z., Hoffman B.B. Alpha1 adrenergic receptors activate phosphatidylinositol 3-kinase in human vascular smooth muscle cells. Role in mitogenesis // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. № 15. P. 8977–8982.
95. Rameh L.E., Rhee S.G., Spokes K. et al. Phosphoinositide 3-kinase regulates phospholipase Cgamma-mediated calcium signaling // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. № 37. P. 23750–23757.
96. Barrière E., Tazi K.A., Pessione F. et al. Role of small-conductance Ca²⁺-dependent K⁺ channels in in vitro nitric oxide-mediated aortic hyporeactivity to alpha-adrenergic vasoconstriction in rats with cirrhosis // J. Hepatol. 2001. V. 35. № 3. P. 350–357.
97. Tuttle J.L., Falcone J.C. Nitric oxide release during alpha1-adrenoceptor-mediated constriction of arterioles // Am. J. Physiol. 2001. V. 281. № 2. P. H873–H881.
98. Chitale K., Webb R.C. Nitric oxide induces dilation of rat aorta via inhibition of rho-kinase signaling // Hypertension. 2002. V. 39. № 2. Pt. 2. P. 438–442.
99. Sampson L.J., Plane F., Garland C.J. Involvement of cyclic GMP and potassium channels in relaxation evoked by the nitric oxide donor, diethylamine NONOate, in the rat small isolated mesenteric artery // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 2001. V. 364. № 3. P. 220–225.
100. Dora K.A., Richards S.M., Rattigan S. et al. Serotonin and norepinephrine vasoconstriction in rat hindlimb have different oxygen requirements // Am. J. Physiol. 1992. V. 262. № 3. Pt. 2. P. H698–H703.
101. Hall J.L., Ye J.M., Clark M.G., Colquhoun E.Q. Sympathetic stimulation elicits increased or decreased VO₂ in the perfused rat hindlimb via alpha 1-adrenoceptors // Am. J. Physiol. 1997. V. 272. № 2. Pt. 5. P. H2146–H2153.
102. Bartlett I.S., Marshall J.M. Analysis of the effects of graded levels of hypoxia on noradrenaline-evoked contraction in the rat iliac artery in vitro // Exp. Physiol. 2002. V. 87. № 2. P. 171–184.
103. Кулинский В.И., Климова А.Д., Яшунский В.Г., Алпатова Т.Г. Механизм противолучевого действия катехоламиновых рецепторных агонистов. Включение в радиозащитный эффект обоих подтипов альфа-адренорецепторов // Радиобиология. 1986. Т. 26. № 1. С. 11–16. [Kulinskii V.I., Klimova A.D., Yashunsky V.G., Alpatova T.G. Mechanism of radioprotective action of catecholamine receptor agonists. Incorporation of both subtypes of alpha adrenoceptors into the radioprotective effect // Radiobiology. 1986. V. 26. № 1. P. 11–16. (In Russian)]
104. Lo Y.C., Tsou H.H., Lin R.J. et al. Endothelium-dependent and -independent vasorelaxation by a theophylline derivative MCPT: roles of cyclic nucleotides, potassium channel opening and phosphodiesterase inhibition // Life Sci. 2005. V. 76. № 8. P. 931–944.
105. Васин М.В., Ушаков И.Б., Королева Л.В., Антипов В.В. Роль клеточной гипоксии в противолучевом эффекте радиопротекторов // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 2–3. С. 238–248. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Koroleva L.V., Antipov V.V. The role of cellular hypoxia in radioprotective effect of radioprotectors // Radiat. Biol. Radioekol. 1999. V. 39. № 2–3. P. 238–248. (In Russian)]

106. *Vasin M.V., Ushakov I.B.* Comparative efficacy and the window of radioprotection for adrenergic and serotonergic agents and aminothiols in experiments with small and large animals // *J. Radiat. Res.* 2015. V. 56. № 1. P. 1–10.
<https://doi.org/10.1093/jrr/gru087>
107. *Кулинский В.И., Золочевская Л.И.* Отсутствие корреляции между эффектами симпатомиметиков на кровотоки внутренних органов, напряжение кислорода и выживаемость облученных животных // *Радиобиология.* 1973. Т. 13. № 3. С. 373–376. *Kulinskii V.I., Zolochevskaya L.I.* There is no correlation between the effects of sympathomimetics on the blood flow of internal organs, oxygen consumption and survival of irradiated animals // *Radiobiology.* 1973. V. 13. № 3. P. 373–376. (In Russian)]
108. *Chance B.* The energy-linked reaction of calcium with mitochondria // *J. Biol. Chem.* 1965. V. 240. P. 2729–2748.
109. *Rizzuto R., Pinton P., Brini M. et al.* Mitochondria as biosensors of calcium microdomains // *Cell Calcium.* 1999. V. 26. № 5. P. 193–199.
110. *Breton L., Clot J.P., Bourianne J., Baudry M.* Adrenaline activates oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria through alpha 1-receptors // *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* 1987. V. 181. № 3. P. 242–248. (in French)
111. *Gesek F.A., Strandhoy J.W.* Alpha adrenoceptor agonist stimulation of oxygen consumption in rat proximal and distal nephrons // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1989. V. 249. № 2. P. 529–534.
112. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Коровкина Э.П., Ковтун В.Ю.* Модификация потребления кислорода клетками костного мозга *in vitro* под влиянием α 1-адреномиметика индралина // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2013. Т. 155. № 3. С. 337–339. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Korovkina E.P., Kovtun V.Yu.* Modification of oxygen consumption by bone marrow cells *in vitro* under the influence of α -adrenmimetic indralin // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013. V. 155. № 3. P. 337–339. (In Russian)]
113. *Praslicka M., Hill M., Novak L.* Protective action of 2,4-dinitrophenol against X-radiation injury. Radioprotective effect of 2,4-dinitrophenol // *Int. J. Radiat. Biol.* 1962. V. 4. P. 567–579.
114. *Vacek A., Rotkowska D.* On protective effect of 2,4-dinitrophenol // *Int. J. Radiat. Biol.* 1964. V. 8. № 3. P. 285–289.
115. *Красных И.Г., Жеребченко П.Г., Семенов Л.Ф. и др.* Профилактика радиационных поражений на обезьянах с помощью 5-иетокситриптамина // *Радиобиология.* 1963. Т. 3. № 1. С. 259–261. [*Krasnykh I.G., Zherebchenko P.G., Semenov L.F. et al.* Prevention of radiation injuries on monkeys with 5-ietoxytryptamine // *Radiobiology.* 1963. V. 3. № 1. P. 259–261. (In Russian)]
116. *Семенов Л.Ф., Лапин Б.А., Стрелков Р.Б. и др.* Сравнительное исследование противолучевой эффективности мексамина и газовой гипоксической смеси в опытах на обезьянах-резус // *Вестн. АМН СССР.* 1978. № 8. С. 83–88. [*Semenov L.F., Lapin B.A., Strelkov R.B. et al.* Comparative study of radioprotective effectiveness of mexamine and gas hypoxic mixture in experiments on rhesus monkeys // *Westr. Acad. Med. Sci. USSR.* 1978. № 8. P. 83–88. (In Russian)]
117. *Васин М.В.* Сравнительная характеристика модификации радиочувствительности мышей и крыс гипоксической гипоксией // *Радиобиология.* 1986. Т. 26. № 4. С. 563–565. [*Vasin M.V.* Comparative characteristic of modification of radiosensitivity of mice and rats by hypoxic hypoxia // *Radiobiology.* 1986. V. 26. № 4. P. 563–565. (In Russian)]
118. *Антипов В.В., Васин М.В., Гайдамакин А.Н.* Видовые особенности реагирования СДГ лимфоцитов у животных на острую гипоксическую гипоксию и ее связь с радиорезистентностью организма // *Косм. биол. авиакосм. мед.* 1989. Т. 23. № 2. С. 63–66. [*Antipov V.V., Vasin M.V., Gaidamakin A.N.* Species features of the response of lymphocyte SDG in animals to acute hypoxic hypoxia and its association with body radioresistance // *Kosm. Biol. Aviat. Space Med.* 1989. V. 23. № 2. P. 63–66. (In Russian)]
119. *Овакимов В.Г., Ярмоненко С.П.* Модификация противолучевого эффекта гипоксической гипоксии при искусственной гибернации организма // *Радиобиология.* 1975. Т. 15. № 1. С. 69–73. [*Ovakimov V.G., Yarmonenko S.P.* Modification of radioprotective effect of hypoxic hypoxia in artificial body hibernation // *Radiobiology.* 1975. V. 15. № 1. P. 69–73. (In Russian)]
120. *Войткевич Н.Д., Палыга Г.Ф.* Противолучевой эффект мексамина // *Мед. радиология.* 1974. Т. 19. № 1. С. 74–86. [*Voitkevich N.D., Palyga G.F.* Radioprotective effect of mexamine // *Med. Radiol.* 1974. V. 19. № 1. P. 74–86. (In Russian)]
121. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Антипов В.В.* Потенциальная роль реакции катехоламинов на острую гипоксию в модификации противолучевого действия радиопротекторов // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2015. Т. 159. № 5. С. 549–552. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Antipov V.V.* Potential role of catecholamines response to acute hypoxia in modification of radioprotective action of radioprotectors // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015. V. 159. № 5. P. 549–552. (In Russian)]
122. *Васин М.В., Ушаков И.Б.* Активация комплекса II дыхательной цепи во время острой гипоксии как индикатор ее переносимости // *Биофизика.* 2018. Т. 63. № 2. С. 329–333. [*Vasin M.V., Ushakov I.B.* Activation of complex II of the respiration chain during acute hypoxia as an indicator of its tolerance // *Biophys.* 2018. V. 63. № 2. P. 329–333. (In Russian)]
123. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Бухтияров И.В.* Стресс-реакция и состояние биохимического шока как взаимосвязанные и неизбежные компоненты при формировании повышенной радиорезистентности организма в условиях острой гипоксии // *Изв. РАН. Серия биол.* 2018. № 1. С. 83–92. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Bukhtiyarov I.V.* Stress reaction and biochemical shock state as interconnected and inevitable components in the formation of increased radioresistance of the bogy in conditions of acute hypoxia // *News of Russian Acad. Sci. Series Biol.* 2018. № 1. P. 83–92. (In Russian)]
<https://doi.org/10.7868/S0002332918010113>

124. *Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Yu. et al.* The targets for radioprotective and mitigatory action of radioprotector Indralin // *JRR*. 2014. V. 2. № 2. P. 3–9.
125. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др.* Противолучевые свойства индралина при сочетанном применении с монизолом при местных острых и поздних лучевых поражениях в условиях локального гамма-облучения кожи // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2015. Т. 159. № 6. С. 720–722. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Y. et al.* Radioprotective properties of indralin when combined with monizol in local acute and late radiation injuries under local gamma skin irradiation // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015. V. 159. № 6. P. 720–722. (In Russian)]
126. *Коноплянников А.Г., Коноплянникова О.А., Проскуриков С.Я.* Реакция “ишемия/реперфузия” для стволовых клеток двух “критических” систем клеточного обновления организма // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2005. Т. 45. № 5. С. 605–609. [*Konoplyannikov A.G., Konoplyannikova O.A., Proskurikov S.J.* The reaction “ischemia/reperfusion” for stem cells of two “critical” systems of cellular renewal of the organism // *Radiats. Biol. Radioekol.* 2005. V. 45. № 5. P. 605–609. (In Russian)]
127. *Rixon E.H., Baird K.M.* The therapeutic effect of serotonin on the survival of X-irradiated rats // *Radiat. Res.* 1968. V. 33. № 2. P. 395–402.
128. *Шашков В.С., Анашкин О.Д., Суворов Н.Н., Манаева И.А.* Эффективность серотонина, мексамина, АЭТ и цистамина при повторном введении после γ -облучения // *Радиобиология.* 1971. Т. 11. № 4. С. 621–623. [*Shashkov V.S., Anashkin O.D., Suvorov N.N., Manaeva I.A.* Efficiency of serotonin, mexamine, AET and cystamine at repeated administration after γ -irradiation // *Radiobiology.* 1971. V. 11. № 4. P. 621–623. (In Russian)]
129. *Смирнова И.Б., Донцова Г.В., Константинова М.М., Рахманина О.Н.* Радиомодифицирующий эффект серотонина на клетках гематопоэтической системы // *Радиобиология.* 1984. Т. 24. № 2. С. 236–240. [*Smirnova I.B., Dontsova G.V., Konstantinova M.M., Rakhmanina O.N.* Radiomodifying effect of serotonin on cells of hematopoietic system // *Radiobiology.* 1984. V. 24. № 2. P. 236–240. (In Russian).]
130. *Колесниченко И.С., Михайлов Л.С., Бояринов А.С., Гришин А.В.* Противолучевые схемы профилактики и лечения служебных собак // *Ветеринария.* 2005. № 12. С. 52–54. [*Kolesnichenko I.S., Mikhailov L.S., Boyarinov A.S., Grishin A.V.* Anti-radiation schemes of prevention and treatment of service dogs // *Veterinaria.* 2005. № 12. P. 52–54. (In Russian)]
131. *Рождественский Л.М., Коровкина Э.П., Дешевой Ю.Б.* Применение рекомбинантного человеческого интерлейкина-1бета (беталекина) для лечения острой лучевой болезни тяжелой степени у собак // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2008. Т. 48. № 2. С. 185–184. [*Rozhdestvenskii L.M., Korovkina E.P., Deshovoi Yu.B.* Use of recombinant human interleukin-1beta (betaleikin) for the treatment of severe acute radiation disease in dogs // *Radiats. Biol. Radioekol.* 2008. V. 48. № 2. P. 185–194. (In Russian)]
132. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др.* Характеристика противолучевых свойств радиопротектора Б-190 при его применении после облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2008. Т. 48. № 6. С. 730–733. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Y. et al.* Characteristics of radioprotective properties radioprotector Б-190 at its application after irradiation // *Radiats. Biol. Radioekol.* 2008. V. 48. № 6. P. 730–733. (In Russian)]
133. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др.* Противолучевые свойства радиопротектора экстренного действия индралина при его применении после облучения в условиях частичного экранирования живота крыс // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2008. Т. 48. № 2. С. 199–202. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Yu. et al.* Radioprotective properties of indralin emergency action radioprotector in its application after irradiation under conditions of partial shielding of rat abdomen // *Radiats. Biol. Radioekol.* 2008. V. 48. № 2. P. 199–202. (In Russian)]
134. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др.* Фармакологический анализ терапевтического действия радиопротекторов цистамина и индралина в качестве радиомитигаторов // *Бюл. эксперим. биол. мед.* 2016. Т. 168. № 10. С. 460–464. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Y. et al.* Pharmacological analysis of therapeutic effect of radioprotectors cystamine and indralin as radiomytigators // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. V. 168. № 10. P. 460–464. (In Russian)]
135. *Граевский Э.Я., Янушевская М.И., Буеверова Э.И. и др.* Изучение противолучевой активности и некоторых аспектов механизма действия биогенных аминов на клетках млекопитающих, культивируемых *in vitro* // *Радиобиология.* 1981. Т. 21. № 5. С. 683–687. [*Graevskii E.J., Janushevskii M.I., Bueverova E.I. et al.* Study of radioprotective activity and certain aspects of the mechanism of action of biogenic amines on mammalian cells cultured *in vitro* // *Radiobiology.* 1981. V. 21. № 5. P. 683–687. (In Russian)]
136. *Fossier P., Blanchard B., Ducrocq C. et al.* Nitric oxide transforms serotonin into an inactive form and this affects neuromodulation // *Neuroscience.* 1999. V. 93. № 2. P. 597–603.
137. *Нефедова В.В., Инжеваткин Е.В., Нефедов В.П.* Роль С2 рецепторов в реализации стимулирующего влияния серотонина на стволовые кровяные клетки костного мозга // *Бюл. эксперим. биол.* 2002. Т. 133. № 5. С. 484–486. [*Nefedova V.V., Inzhevatin E.V., Nefedov V.P.* Role of C2 receptors in realization of stimulating effect of serotonin on hematopoietic stem cells of bone marrow // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2002. V. 133. № 5. P. 484–486. (In Russian)]
138. *Yang M., Li K., Ng P.C. et al.* Promoting effects of serotonin on hematopoiesis: *ex vivo* expansion of cord blood CD34+ stem/progenitor cells, proliferation of bone marrow stromal cells, and antiapoptosis // *Stem Cells.* 2007. V. 25. № 7. P. 1800–1806.
139. *Spiegel A., Kalinkovich A., Shivtiel S. et al.* Stem cell regulation via dynamic interactions of the nervous and immune systems with the microenvironment // *Cell Stem Cell.* 2008. V. 3. P. 484–492.
140. *Fouquet G., Coman T., Hermine O., Côté F.* Serotonin, hematopoiesis and stem cells // *Pharmacol. Res.* 2019. V. 140. P. 67–74.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.005>

141. Скурихин Е.Г., Хмелевская Е.С., Першина О.В. и др. Влияние адrenomиметиков и серотонина на стромальные и кровяные полипотентные предшественники при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. мел. 2010. Т. 10. № 3. С. 128–131. [Skurikhin E.G., Khmelevskaya E.S., Pershina O.V. et al. Effects of adrenomimetics and serotonin on stromal and hematopoietic polypotent precursors in cytostatic myelosuppression // Bul. Exp. Biol. Med. 2010. V. 10. № 3. P. 128–131. (In Russian)]
142. Meuleman N., Tondreau T., Ahmad I. et al. Infusion of mesenchymal stromal cells can aid hematopoietic recovery following allogeneic hematopoietic stem cell myeloablative transplant: a pilot study // Stem Cells Dev. 2009. V. 18. P. 1247–1252.
143. Mo Y., Li S., Liang E. et al. The expression of functional dopamine and serotonin receptors on megakaryocytes // Blood. 2014. V. 124. № 21. P. 4205.
144. Cosentino M., Marino F., Maestroni G.J. Sympathoadrenergic modulation of hematopoiesis: a review of available evidence and of therapeutic perspectives // Front. Cell. Neurosci. 2015. V. 9. P. 302.
145. Waldrop B.A., Mastalerz D., Piascik M.T., Post G.R. α 1B- and α 1D-Adrenergic receptors exhibit different requirements for agonist and mitogen-activated protein kinase activation to regulate growth responses in rat 1 fibroblasts // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002. V. 300. № 1. P. 83–90.
146. Xiang B., Han L., Wang X. et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase upregulation by phenylephrine reduces radiation injury in submandibular gland // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2016. V. 96. № 3. P. 538–546. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2016.06.2442>
147. Li L., Bhatia R. Role of SIRT1 in the growth and regulation of normal hematopoietic and leukemia stem cells // Curr. Opin. Hematol. 2015. V. 22. № 4. P. 324–329. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000152>
148. Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др. Влияние сочетанного применения кверцетина и индралина на процессы пострadiационного восстановления // Радиационная биология. Радиационная экология. 2011. Т. 51. № 2. С. 247–251. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Yu. et al. Effect of combined application of quercetin and indralin on postradiation recovery // Radiats. biol. Radioekol. 2011. V. 51. № 2. P. 247–251. (In Russian)]
149. Li P., Liu Y., Burns N. SIRT1 is required for mitochondrial biogenesis reprogramming in hypoxic human pulmonary arteriolar smooth muscle cells // Int. J. Mol. Med. 2017. V. 39. № 5. P. 1127–1136.
150. Васин М.В. Потенциальная роль фактора неравномерности поглощения энергии ионизирующего излучения в организме в эффективности противолучевых препаратов // Мед. радиология. Радиационная безопасность. 2011. Т. 56. № 4. С. 60–70. [Vasin M.V. Potential role of the non-uniformity of absorption of ionizing radiation energy in the body in the effectiveness of radioprotective preparations // Med. radiol. Radiat. safe. 2011. V. 56. № 4. P. 60–70. (In Russian)]

B-190 (Indralin) in the Light of History of Formation of Ideas of the Mechanism of Action of Radioprotectors

M. V. Vasin^{a,b,#}

^a Scientific Research Test Center of Aerospace Medicine and Military Ergonomics of Ministry of Defence of Russian Federation, Moscow, Russia

^b Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Russian Ministry of Health Care, Moscow, Russia

[#] E-mail: mikhail-v-vasin@yandex.ru

History of discovery of radioprotectors from group of aminothiols and biogenic amines and formation of idea of mechanism of their action is presented. Achievements of domestic scientists, radiation pharmacologists and chemists have been revealed. The role of Institute of Aviation and Space Medicine of Ministry of Defence, Institute of Biophysics of Ministry of Health Care and Mendeleyev Moscow Chemical and Technological Institute in the synthesis and development of radioprotector of emergency action B-190 (indralin) was noted. The mechanism of pharmacological, radioprotective and radiomitigative action of indralin, its advantages over known radioprotectors is presented. Critical role of tissue hypoxia due to increase of oxygen consumption on background of circulatory hypoxia under action of radioprotector α 1-adrenomimetic indralin in realization of its radioprotective properties in large animals (dogs and monkeys) is discussed. The role of stimulation of 5H2-serotonergic receptors in radiomitigative action of indralin is identified.

Keywords: B-190 (indralin), radioprotective effect, circulator hypoxia, tissue hypoxia, radiomitigator, radioprotector, α 1-adrenoceptors, 5-H2-serotonergic receptor

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 616-03:615:599.323.4:57.084.1:661.97:539.1.047

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ Б-190 И АЦИЗОЛА У БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И МОНООКСИДА УГЛЕРОДА

© 2020 г. А. В. Завирский^{1,*}, В. А. Башарин¹, В. В. Зацепин¹, П. Г. Толкач¹

¹ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: zuyaver@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.2019 г.

После доработки 03.12.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Представлены данные экспериментального исследования о влиянии воздействия монооксида углерода и рентгеновского излучения на выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых мышей-самцов. Мышей подвергали воздействию облучения в диапазоне доз LD_{30–90/30}, затем подвергали статическому ингаляционному воздействию монооксида углерода. Внешнее однократное облучение проводили на рентгентерапевтической установке РУМ-17 при мощности дозы 0.32 Гр/мин. Дозы облучения составляли 6.5, 7.5 и 8.0 Гр. Статическую ингаляционную интоксикацию монооксидом углерода осуществляли при концентрациях токсиканта 2100 ppm (0.45 LC₅₀) и 3800 ppm (0.8 LC₅₀), время экспозиции – 30 мин. Установлено, что предварительное рентгеновское облучение в диапазоне доз LD_{30–90/30} повышает чувствительность белых мышей к последующему воздействию монооксида углерода. Комбинированное воздействие ионизирующего излучения и монооксида углерода приводило к снижению выживаемости и уменьшению средней продолжительности жизни погибших животных в сравнении с изолированным воздействием данных факторов. Исследована эффективность ацизола и радиопротектора Б-190 при комбинированном радиационно-химическом поражении. Применение радиопротектора с гипоксическим механизмом действия перед комбинированным поражением в результате воздействия рентгеновского излучения и монооксида углерода утяжеляет его течение по показателям 30-суточной выживаемости, гематологическим показателям. Совместное профилактическое применение ацизола и Б-190 перед комбинированным радиационно-химическим поражением повышало 30-суточную выживаемость белых мышей, улучшало гематологические показатели периферической крови.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, облучение, монооксид углерода, ацизол, Б-190, выживаемость, средняя продолжительность жизни

DOI: 10.31857/S0869803120040153

При ядерных и радиационных инцидентах количество изолированных лучевых поражений, по различным оценкам, будет составлять порядка 20–30% от общего количества санитарных потерь [1, 2]. Прогнозируется, что намного чаще (до 70%) в структуре санитарных потерь будут наблюдаться комбинированные радиационные поражения (КРП) с термическим, механическим и химическим поражающими факторами [3].

Ядерные и радиационные аварии могут сопровождаться возникновением очагов пожаров, в которых санитарные потери будут формироваться в том числе в результате токсического действия монооксида углерода (угарный газ, СО) [4]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что воздействие монооксида углерода на организм

перед облучением оказывает радиопротекторный эффект [5]. Вместе с тем недостаточно изучен вопрос о влиянии монооксида углерода на течение патологического процесса в результате острого внешнего облучения организма. Также известно, что хроническое рентгеновское облучение повышало чувствительность животных к воздействию монооксида углерода, однако течение и исход комбинированного радиационно-химического поражения в результате воздействия данных факторов на организм практически не изучены [5].

В системе медицинской противорадиационной защиты одним из мероприятий является профилактическое применение радиопротекторов как препаратов, кратковременно повышающих устойчивость организма к действию ионизиру-

щих излучений. В качестве профилактического антидота для предупреждения поражений монооксидом углерода применяется препарат ацизол, также возможно его применение в лечебных целях как дополняющего оксигенотерапию. Механизм действия ацизола состоит в его влиянии на взаимодействие субъединиц гемоглобина, он уменьшает относительное сродство гемоглобина к монооксиду углерода. Ацизол снижает взаимодействие субъединиц гемоглобина, что выражается в уменьшении константы Хилла, а клинически – в снятии эффекта Холдейна [6].

Таким образом, целью настоящего исследования была оценка эффективности профилактического применения Б-190 и ацизола при комбинированном воздействии рентгеновского излучения и монооксида углерода на белых мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 18–22 г, $n = 335$, разведения питомника РАН “Рапполово”. При проведении исследования выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных [7].

Рентгеновское облучение животных осуществляли на установке РУМ-17 (Мосрентген, СССР) при следующих условиях: напряжение 180 кВ, сила тока 10 мА, фильтр 0.5 мм Cu + 1.0 мм Al, кожно-фокусное расстояние 50 см, мощность дозы 0.374 Гр/мин, облучение одностороннее, направление облучения: спина–грудь. Дозиметрический контроль проводили с помощью индивидуального дозиметра “ИД-11” (Электрон, СССР) с оценкой показаний прибора на аппарате “ГО-32” (Электрон, СССР).

Монооксид углерода получали химическим путем в аппарате Киппа. Статическое ингаляционное воздействие СО на лабораторных животных осуществляли в герметичной камере объемом 0.1 м³ в течение 30 мин [8]. Концентрацию карбоксигемоглобина определяли спектрофотометрическим методом. [8]. Концентрацию монооксида углерода и кислорода контролировали с помощью газоанализатора ДАХ-М-03 (Аналит-Прибор, Россия).

В отдельной серии экспериментов методом пробит-анализа по Финни определяли среднелетальную концентрацию (LC₅₀) монооксида углерода по критерию суточной выживаемости.

Эксперимент проводили в два этапа. На первом этапе оценивали влияние монооксида углерода на выживаемость и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) мышей, облученных в диапазоне доз LD_{30–90/30}.

Для моделирования комбинированного радиационно-химического поражения облучение животных осуществляли в дозах 6.5; 7.5 и 8.0 Гр. Затем, непосредственно после облучения, животных подвергали ингаляционному воздействию монооксида углерода в течение 30 мин при концентрации 3800 ppm (0.8 LC₅₀). Контрольная группа подвергалась интоксикации при таких же условиях без облучения. Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут.

В ходе проведения первого этапа эксперимента мыши ($n = 200$) были разделены на следующие группы: 1 – интактные, 2 – контроль – интоксикация монооксидом углерода без облучения, 3–5 – облучение без интоксикации, 6–8 – облучение с последующей интоксикацией монооксидом углерода.

На втором этапе эксперимента оценивали влияние радиопротектора Б-190 и ацизола на выживаемость, СПЖ и гематологические (динамика лейкоцитов, нейтрофильных гранулоцитов и лимфоцитов) показатели облученных животных, подвергнутых воздействию монооксида углерода. Б-190 вводили внутривенно в виде 2.5% взвеси в 0.5%-ном геле картофельного крахмала в дозе 200 мг/кг за 15 мин до радиационного воздействия. По данным М.В. Васина (2006), данная доза (4 мг/особь) для белых беспородных мышечесамцов при внутривенном введении является близкой к эффективной при облучении в дозах СД_{95/30} [9]. Ацизол вводили непосредственно перед облучением внутривенно в дозе 30 мг/кг, что соответствует эффективной дозе для мышей [10]. Облучение животных осуществляли в дозе 6.5 Гр. Ингаляционное воздействие монооксидом углерода осуществляли в течение 30 мин при концентрации токсиканта 2100 ppm. Лабораторные животные ($n = 135$) были разделены на девять групп: 1 – интактные; 2 – интоксикация без облучения; 3 – облучение; 4 – облучение с радиопротектором Б-190; 5 – ацизол и облучение; 6 – облучение и интоксикация; 7 – ацизол, облучение и интоксикация; 8 – облучение с радиопротектором Б-190 и интоксикация; 9 – ацизол, Б-190, облучение и интоксикация.

Наблюдение за животными осуществляли в течение 30 сут. Забор крови проводили на 1-е, 3-е, 7-е, 10-е, 15-е и 27-е сутки после облучения. Кровь отбирали из ретроульбарного синуса микропипеткой в объеме 20 мкл. Подсчет лейкоцитов осуществляли в камере Горяева, для исследования лейкоцитарной формулы применяли способ быстрой окраски мазков крови красной Романовского по Н.Г. Алексееву. Абсолютное значение лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов выражали как число клеток, содержащихся в 1 л периферической крови.

Таблица 1. Влияние монооксида углерода на 30-суточную выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых беспородных мышей-самцов, облученных в дозах 6.5, 7.5, 8.0 Гр
Table 1. The effect of carbon monoxide on 30-day survival and average lifespan of white outbred male mice irradiated in doses of 6.5, 7.5, 8.0 Gy

Группа	Доза облучения, Гр					
	6.5		7.0		8.0	
	выживаемость, %	СПЖ, сут	выживаемость, %	СПЖ, сут	выживаемость, %	СПЖ, сут
Интактные	Гибели животных не отмечалось					
Интоксикация СО	Гибели животных не отмечалось					
Облучение	56 ± 18	12.5 ± 3.7	44 ± 18	11.3 ± 3.3	0	10.5 ± 1.2
Облучение + интоксикация СО	11 ± 11	8.6 ± 4.2	0*	6.5 ± 2*	0	3.5 ± 1.3*

* Различия значимы по сравнению с облученной контрольной группой, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica (10.0). Достоверность различий средних значений показателей выживаемости погибших животных оценивали с использованием точного метода Фишера. Для сравнения гематологических показателей нескольких независимых групп и определения значимости межгрупповых различий в исследуемых показателях использовали критерий Краскела–Уоллиса. Парное мно-

жественное сравнение проводили с использованием критерия Ньюмена–Кейлса. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интоксикация СО в концентрации 3800 ppm (0.8 LC₅₀) после воздействия рентгеновского излучения приводила к резкому снижению выживаемости лабораторных животных, причем 50–67% летальных исходов отмечали в ингаляционной камере. Данные о влиянии монооксида углерода при комбинированном радиационно-химическом воздействии на показатели 30-суточной выживаемости и СПЖ погибших животных представлены в табл. 1.

В контрольной группе (интоксикация монооксидом углерода без облучения) выживаемость составила 100%. Учитывая высокую летальность животных во время ингаляционного воздействия при использовании СО в концентрации 0.8 LC₅₀, представлялось невозможным адекватно оценить 30-суточную выживаемость и другие показатели.

В ходе второго этапа эксперимента животных подвергали воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm (0.45 LC₅₀) с целью снижения летальности в ингаляционной камере. Гибель мышей наблюдали в сроки, типичные для костномозгового синдрома острой лучевой болезни. Летальных исходов непосредственно при ингаляционном воздействии СО не было.

Показатели 30-суточной выживаемости и СПЖ животных отражены в табл. 2. Комбинированное воздействие СО и рентгеновского излучения приводило к гибели всех животных в группе. Применение Б-190 перед КРХП не приводило к увеличению выживаемости, в группе также отмечали гибель всех мышей. При совместном применении Б-190 и ацизола выживаемость была выше ($p < 0.05$) по сравнению с группой мышей с ком-

Таблица 2. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на 30-суточную выживаемость и среднюю продолжительность жизни белых беспородных мышей-самцов, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm

Table 2. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyazole on the 30-day survival rate and average lifespan of white outbred male mice subjected to X-ray radiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm

Группа	Выживаемость, %	СПЖ, сут
Интактные	100	—
Интоксикация СО	100	—
Облучение	20 ± 13	8.5 ± 0.85
Б-190 + облучение	50 ± 17	10 ± 0.31
Ацизол + облучение	18 ± 12	7 ± 0.41
Облучение + СО	0	8 ± 0.61
Б-190 + облучение + СО	0	6.5 ± 0.63
Ацизол + облучение + СО	17 ± 11	8 ± 0.43
Б-190 + ацизол + облучение + СО	45 ± 16*#	9 ± 0.81

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (точный критерий Фишера).

Таблица 3. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику лейкоцитов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, лейкоциты $\times 10^9/л$

Table 3. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyzoole on the dynamics of leukocytes in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, leukocytes $\times 10^9/l$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	8.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	8.8 ± 0.3	7.9 ± 0.2	8.9 ± 0.4	8.7 ± 0.3	9.0 ± 0.4
Облучение	8.9 ± 0.4	4.4 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.2 ± 0.1	1.5 ± 0.1*	3.3 ± 0.2	8.3 ± 0.4
Б-190+ облучение	8.7 ± 0.4	3.1 ± 0.2	4.4 ± 0.3	2.5 ± 0.2	2.0 ± 0.1	3.6 ± 0.2	9.4 ± 0.4
Ацизол + облучение	8.6 ± 0.3	3.3 ± 0.1	2.0 ± 0.07	1.5 ± 0.1	1.9 ± 0.1	3.0 ± 0.2	9.0 ± 0.1
Облучение + СО	8.4 ± 0.3	2.8 ± 0.1	1.5 ± 0.09	1.7 ± 0.1	1.2 ± 0.06		
Б190 + облучение + СО	7.9 ± 0.3	3.5 ± 0.3	3.8 ± 0.6	1.2 ± 0.1	0.8 ± 0.05		
Ацизол + облучение + СО	8.5 ± 0.3	2.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.07	1.7 ± 0.07*#	3.5 ± 0.2	7.0 ± 0.5
Б-190+ ацизол+ облучение + СО	8.3 ± 0.3	3.1 ± 0.3	2.1 ± 0.3	1.4 ± 0.06	1.7 ± 0.09*#	4.2 ± 0.2	7.8 ± 0.6

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Таблица 4. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику лимфоцитов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, лимфоциты $\times 10^9/л$

Table 4. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyzoole on the dynamics of lymphocytes in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, lymphocytes $\times 10^9/l$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	7.23 ± 0.3	7.13 ± 0.3	7.13 ± 0.3	7.43 ± 0.2	7.63 ± 0.2	7.53 ± 0.2	7.53 ± 0.3
Облучение	7.13 ± 0.3	1.33 ± 0.4	0.83 ± 0.01	0.73 ± 0.05	1.03 ± 0.1	1.33 ± 0.1	3.53 ± 0.2
Б-190+ облучение	7.23 ± 0.3	0.63 ± 0.1	3.3 ± 0.2	1.93 ± 0.1	1.43 ± 0.06	1.43 ± 0.1	2.33 ± 0.2
Ацизол + облучение	7.53 ± 0.2	0.73 ± 0.1	1.13 ± 0.1	1.63 ± 0.4	1.23 ± 0.1	1.33 ± 0.1	2.73 ± 0.1
Облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.7 ± 0.1	1.03 ± 0.1	1.53 ± 0.1	0.93 ± 0.2		
Б-190 + облучение + СО	7.23 ± 0.3	2.33 ± 0.7	2.73 ± 0.1*	1.23 ± 0.1	0.73 ± 0.2		
Ацизол + облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.03 ± 0.04*	1.53 ± 0.1	1.03 ± 0.04	1.53 ± 0.1*#	2.03 ± 0.9	2.43 ± 0.3
Б-190 + ацизол + облучение + СО	7.53 ± 0.3	1.53 ± 0.2	1.63 ± 0.2	1.13 ± 0.1*	1.23 ± 0.1*#	2.33 ± 0.2	3.13 ± 0.2

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190 + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

^ Различия значимы по сравнению с группой “Ацизол + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

бинированным радиационно-химическим воздействием как без лечения, так и на фоне применения Б-190. При применении только ацизола перед воздействием рентгеновского излучения и СО показатели выживаемости были сравнимы с облученным контролем.

В результате исследования гематологических показателей установлено, что изменение общего количества лейкоцитов у животных контрольных

групп было характерным для течения костномозгового синдрома острой лучевой болезни.

При исследовании динамики общего количества лейкоцитов значимые различия между группами были выявлены на 10-е сутки после воздействия (табл. 3). При интоксикации СО после облучения к 10-м суткам не наблюдали их устойчивого роста, количество лейкоцитов было на 20% меньше, чем у животных только облученной

Таблица 5. Влияние профилактического применения Б-190 и ацизола на динамику нейтрофилов в периферической крови белых беспородных мышей, подвергнутых рентгеновскому облучению в дозе 6.5 Гр и воздействию монооксида углерода в концентрации 2100 ppm, нейтрофилы $\times 10^9/\text{л}$

Table 5. The effect of the prophylactic use of B-190 and acyazole on the dynamics of neutrophils in the peripheral blood of white outbred mice subjected to X-ray irradiation at a dose of 6.5 Gy and exposure to carbon monoxide at a concentration of 2100 ppm, neutrophils $\times 10^9/\text{l}$

Группа	Исходное количество	Сроки после облучения, сут					
		1	3	7	10	15	27
Интактные	1.6 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.3	1.7 ± 0.2	1.9 ± 0.3	1.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2
Облучение	1.6 ± 0.3	2.2 ± 0.4*	0.7 ± 0.1	0.54 ± 0.1*	0.51 ± 0.07*	1.9 ± 0.1	4.8 ± 0.5
Б-190+ облучение	1.7 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.04	2.5 ± 0.2	6.9 ± 0.3
Ацизол + облучение	1.5 ± 0.2	2.7 ± 0.07	0.5 ± 0.02	0.2 ± 0.05	0.1 ± 0.03	1.7 ± 0.1	6.3 ± 0.2
Облучение + СО	1.9 ± 0.2	1.5 ± 0.4	0.5 ± 0.09	0.1 ± 0.01	0.3 ± 0.06		
Б190 + облучение + СО	1.6 ± 0.3	2.0 ± 0.7	0.8 ± 0.07	0.09 ± 0.01*	0.04 ± 0.001*		
Ацизол + облучение + СО	1.7 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.3 ± 0.02	0.2 ± 0.03*	0.3 ± 0.02	1.3 ± 0.06	5.2 ± 0.3
Б-190+ ацизол+ облучение + СО	1.9 ± 0.2	2.0 ± 0.2^	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.1**	0.5 ± 0.03**^	2.0 ± 1.7^	4.7 ± 0.4

* Различия значимы по сравнению с группой “Облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

Различия значимы по сравнению с группой “Б-190+облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

^ Различия значимы по сравнению с группой “Ацизол + облучение + СО”, $p < 0.05$ (критерий Ньюмена–Кейлса).

группы. Применение Б-190 на фоне комбинированного радиационно-химического воздействия не оказывало защитного эффекта. Количество лейкоцитов у мышей в группе “Б-190 + облучение + СО” на 10-е сут наблюдения было самым низким из всех групп животных и значимо ниже, чем у животных с монотерапией ацизолом и мышами, которым ацизол вводился вместе с Б-190.

Совместное применение Б-190 и ацизола характеризовалось статистически значимым увеличением общего количества лейкоцитов на 10-е сутки после воздействия относительно животных как с комбинированным поражением без фармакологической коррекции, так и по сравнению с монотерапией Б-190.

По критерию количества лимфоцитов также отмечалась защитная активность комбинации Б-190 + ацизол (табл. 4). Так, на 10-е сутки после комбинированного воздействия их уровень был выше ($p < 0.05$), чем у животных в группах “Облучение + СО” и “Б-190 + облучение + СО”. Использование только Б-190 приводило к уменьшению ($p < 0.05$) количества лимфоцитов относительно групп “Б-190 + ацизол + облучение + СО” и “Ацизол + облучение + СО”.

При исследовании динамики нейтрофильных гранулоцитов было выявлено более выраженное снижение их количества в группах “Облучение + СО” и “Б-190 + облучение + СО” (табл. 5). У животных группы “Облучение + СО” количество нейтрофилов было значимо ниже, чем у только облученных животных в течение всего периода наблюдения. Применение препарата Б-190 перед комбинированным радиационно-химиче-

ским поражением приводило к уменьшению количества нейтрофильных гранулоцитов относительно всех групп. На 7-е и 10-е сутки наблюдения количество нейтрофилов в группе “Б-190 + облучение + СО” было ниже ($p < 0.05$) по сравнению с животными с комбинированным радиационно-химическим поражением без фармакоррекции. При совместном применении Б-190 и ацизола отмечали статистически значимо больший уровень нейтрофилов на 7-е и 10-е сутки по сравнению с мышами группы “Б-190 + облучение + СО”.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии монооксида углерода на показатели выживаемости и СПЖ при его действии непосредственно после облучения в широком диапазоне доз. Одним из возможных механизмов повышения летальности лабораторных животных при воздействии рентгеновского излучения и монооксида углерода, по-видимому, может быть взаимное влияние процессов, происходящих в клетках и тканях непосредственно после облучения, и гипоксии, вызванной монооксидом углерода. Одним из первых процессов лучевого поражения является дефицит макроэргических соединений [11, 12]. Данные процессы могут происходить за счет угнетения процессов окислительного фосфорилирования, повышенного расходования АТФ на репарационные процессы лучевых повреждений, повышения активности АТФ-аз, что приводит к энергетическому дефи-

циту тканей [11, 12]. Последующая интоксикация монооксидом углерода, основным следствием которой является гипоксия за счет образования карбоксигемоглобина и блокады дыхательной цепи митохондрий, усиливает вышеописанные процессы и приводит к повышению смертности животных в первые сутки после облучения.

При меньших концентрациях, вызывающих интоксикацию средней степени тяжести, сроки гибели животных смещаются к более типичным для костномозгового синдрома острой лучевой болезни. Применительно к стадиям течения комбинированных радиационных поражений – в период преобладания лучевого компонента [13].

Основная причина гибели мышей в данном случае обусловлена проявлениями панцитопенического синдрома, связанного с угнетением костномозгового кроветворения. Более выраженное угнетение гранулоцитарного и лимфоцитарного ростков у животных, которых подвергали интоксикации после облучения, может быть связано с неполной репарацией ДНК, обусловленной энергодефицитом в первые часы после облучения, усиленным острой гипоксией в результате действия монооксида углерода. В связи с тем, что репарация ДНК – достаточно энергозатратный процесс, требующий АТФ не только как энергетический субстрат, но и донор фосфатного остатка для фосфорилирования протеинкиназ и гистона H2AX, в условиях гипоксии нарушаются практически все пути репарации ДНК. В дальнейшем это приводит к увеличению количества остаточных повреждений ДНК [14]. Кроме того, в условиях гипоксии происходит ингибирование рибонуклеотидредуктазы, приводящее к угнетению синтеза ДНК во время S-фазы митоза [15]. Данный процесс может затруднять репарацию ДНК по типу гомологичной рекомбинации [16]. Вместе с тем вклад гомологичной рекомбинации в восстановление ДНК при облучении в средних и больших дозах составляет порядка 20%, основной путь репарации двухнитевых разрывов в данных условиях – негомологичное соединение концов (НГСК) [16, 17]. Репарация по пути НГСК неизбежно ведет к образованию вставок и делеций. Кроме того, помимо ошибочно репарированных двухнитевых разрывов ДНК нельзя исключить влияние шивок ДНК–белок. Белки в данном случае ковалентно связаны с ДНК, являясь препятствием не только для репликации и транскрипции, но и нарушая связывание белков распознавания повреждений, участвующих в эксцизионной репарации нуклеотидов [18].

Это подтверждается более значительным снижением гранулоцитов и лимфоцитов у мышей, получавших радиопротектор перед комбинированным радиационно-химическим воздействием. Б-190 в данных условиях приводит к утяжеле-

нию повреждения костного мозга за счет компонента циркуляторной гипоксии в дополнение к гемической и увеличению потребления кислорода клетками костного мозга в гипоксических условиях [19]. Ацизол снижает степень гемической гипоксии в результате действия СО, уменьшая энергодефицит тканей и облегчая постлучевую репарацию ДНК [10, 20]. Совместное использование данных препаратов приводит к снижению тяжести КРХП в результате воздействия рентгеновского излучения и монооксида углерода.

При использовании только ацизола перед облучением и интоксикацией значимых различий в показателях выживаемости и СПЖ не отмечено, динамика изменения количества клеток крови практически не отличалась от только облученных животных. Отсутствие радиосенсибилизирующего эффекта ацизола при применении его до воздействия ионизирующего излучения может быть объяснено тем, что при обычном атмосферном давлении относительное напряжение кислорода в тканях близко к 100%, и усиление радиационного поражения возможно только в гипербарических условиях [21]. Ацизол не увеличивает оксигенацию радиочувствительных тканей при циркуляторной гипоксии и не нивелирует радиозащитный эффект Б-190, что подтверждается сравнимыми показателями выживаемости и СПЖ в группах “Б-190 + облучение” и “Б-190 + ацизол + облучение + СО”.

ВЫВОДЫ

1. В результате эксперимента установлено, что воздействие монооксида углерода непосредственно после рентгеновского облучения в дозах LD_{30-90/30} значительно снижает выживаемость и среднюю продолжительность жизни лабораторных животных.
2. Профилактическое применение Б-190 перед комбинированным радиационно-химическим поражением в результате действия рентгеновского излучения и монооксида углерода не оказывает защитного действия.
3. Профилактическое применение Б-190 и ацизола перед комбинированным воздействием рентгеновского излучения и монооксида углерода снижает тяжесть поражения (по показателям выживаемости, темпам восстановления лейкоцитов).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. DiCarlo A.L., Hatchett R.J., Kaminski J.M., Ledney G.D. Medical countermeasures for radiation combined injury: radiation with burn, blast, trauma and/or sepsis // Radiat. Res. 2008. V. 169. № 6. P. 712–721.
2. DiCarlo A.L., Maher C., Hick J.L., Hanfling D. Radiation injury after a nuclear detonation: medical consequences and the need for scarce resources allocation //

- Disaster medicine and public health preparedness. 2011. V. 5. № S1. P. 32–44.
3. *Pellmar T.C., Ledney G.D.* Combined injury: radiation in combination with trauma, infectious disease, or chemical exposures. Armed Forces Radiobiology Research Inst. Bethesda MD, 2005.
 4. *Гуськова А.К., Краснюк В.И., Галстян И.А., Надежина Н.М.* 30 лет аварии на Чернобыльской АЭС: опыт ликвидации медицинских последствий // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2016. Т. 61. № 3. С. 30–35. [*Gus'kova A.K., Krasnyuk V.I., Galstyan I.A., Nadezhina N.M.* 30 let avarii na Chernobyl'skoj AES: opyt likvidacii medicinskih posledstvij // Med. radiologiya i radiac. bezopasnost'. 2016. V. 61. № 3. P. 30–35. (In Russian)]
 5. *Кустов В.В., Тиунов Л.А., Васильев Г.А.* Комбинированное действие промышленных ядов. М.: Медицина, 1975. 256 с. [*Kustov V.V., Tiunov L.A., Vasil'ev G.A.* Kombinirovannoe dejstvie promyshlennyh yadov. M.: Medicina, 1975. 256 p. (In Russian)]
 6. *Шахмарданова С.А., Шахмарданов А.З.* Антигипоксическая активность металлокомплексов цинка, кобальта и железа и их влияние на поведение животных // Вестн. Воронежского гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2014. № 4. С. 144–148. [*Shahmardanova S.A., Shahmardanov A.Z.* Antigipoksicheskaya aktivnost' metallokompleksov cinka, kobal'ta i zheleza i ih vliyanie na povedenie zhyvotnyh // Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Himiya. Biologiya. Farmaciya. 2014. № 4. P. 144–148. (In Russian)]
 7. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях. СПб.: Rus-LASA “НП объединение специалистов по работе с лабораторными животными”, рабочая группа по переводом и изданию тематической литературы, 2012. 48 с. [Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. (In Russian)]
 8. *Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д.* Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств // Метод. рек. ФМБА России МР.21.33-2017. М., 2017. [*Karkishchenko N.N., Karkishchenko V.N., SHustov E.B., Kapnadze G.D.* Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti lekarstvennyh sredstv // Metod. Rek. FMBA Rossii MR.21.33-2017. M., 2017. (In Russian)]
 9. *Васин М.В.* Средства профилактики и лечения лучевых поражений. М.: ВЦМК “Защита”, 2006. 340 с. [*Vasin M.V.* Sredstva profilaktiki i lecheniya luchevykh porazhenij. M.: VCMK “Zashchita”, 2006. 340 p. (In Russian)]
 10. *Стратиенко Е.Н., Катунина Н.П., Петухова Н.Ф., Ромащенко С.В.* Изучение антигипоксической активности новых соединений производных винилимидазола // Кубанский науч. мед. вестн. 2009. № 8. С. 79–80. [*Stratienko E.N., Katunina N.P., Petuhova N.F., Romashchenko S.V.* Izuchenie antigipoksicheskoy aktivnosti novykh soedinenij proizvodnyh vinilimidazola // Kubanskiy nauchnyj medicinskiy vestnik. 2009. № 8. P. 79–80. (In Russian)]
 11. Радиационная медицина: Руководство для врачей-исследователей, организаторов здравоохранения и специалистов по радиационной безопасности. В 4 т. Т. 1. Теоретические основы радиационной медицины / Под общ. ред. Л.А. Ильина. М.: Изд. АТ, ГНЦ Институт биофизики, 2004. С. 206. [Radiacionnaya medicina: Rukovodstvo dlya vrachej-issledovatelej, organizatorov zdravooxraneniya i specialistov po radiacionnoj bezopasnosti. V 4 t. T. 1. Teoreticheskie osnovy radiacionnoj mediciny / Pod obshch. red. L.A. Il'ina. M.: Izd.AT, GNC Institut biofiziki, 2004. P. 206. (In Russian)]
 12. *Романцев Е.Ф., Блохина В.Д., Жуланова З.И., Кошеченко Н.Н.* Молекулярные механизмы лучевой болезни. М.: Медицина, 1984. 132 с. [*Romancev E.F., Blohina V.D., Zhulanova Z.I., Koshcheenko N.N.* Molekulyarnye mekhanizmy лучевой bolezni. M.: Medicina, 1984. 132 p. (In Russian)]
 13. *Легеца В.И., Гребенюк А.Н., Бояринцев В.В.* Комбинированные радиационные поражения и их компоненты. СПб.: ООО “Изд-во Фолиант”, 2015. 216 с. [*Legeza V.I., Grebenyuk A.N., Boyarincev V.V.* Kombinirovannye radiacionnye porazheniya i ih komponenty. SPb.: ООО “Izdatel'stvo Foliant”, 2015. 216 p. (In Russian)]
 14. *Bristow R.G., Hill R.P.* Hypoxia, DNA repair and genetic instability // Nat. Rev. Cancer. 2008. V. 8. № 3. P. 180–192.
 15. *Goto T., Homma H., Kaida A., Miura M.* WEE1 inhibition enhances sensitivity to hypoxia/reoxygenation in HeLa cells // J. Radiat. Res. 2019. V. 60. № 5. P. 714–718.
 16. *Грехова А.К., Пустовалова М.В., Еремин П.С., Озеров И.В.* Оценка вклада гомологической рекомбинации в репарацию двунитевых разрывов ДНК в фибробластах человека после воздействия рентгеновского излучения в малой и средних дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 6. С. 589–596. [*Grekhova A.K., Pustovalova M.V., Eremin P.S., Ozerov I.V.* Ocenka vklada gomologicheskoy rekombinacii v reparaciyu dvunitevykh razryvov DNK v fibroblastah cheloveka posle vozdeystviya rentgenovskogo izlucheniya v maloj i srednih dozah // Radiac. biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 6. S. 589–596. (In Russian)]
 17. *Ceccaldi R., Rondinelli B., D'Andrea A.D.* Repair pathway choices and consequences at the double-strand break // Trends Cell Biol. 2016. V. 26. № 1. P. 52–64.
 18. *Nakano T.* Radiation-induced DNA–protein cross-links: Mechanisms and biological significance // Free Radic. Biol. Med. 2017. V. 107. P. 136–145.
 19. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Коровкина Э.П., Ковтун В.Ю.* Модификация потребления кислорода клетками костного мозга *in vitro* под влиянием $\alpha 1$ -адреномиметика индралина // Бюл. эксперим. биол. мед. 2013. Т. 155. № 3. С. 337–339. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Korovkina E.P., Kovtun V.Yu.* Modifikaciya potrebleniya kisloroda kletkami kostnogo mozga *in vitro* pod vliyaniem $\alpha 1$ -adrenomimetika indralina // Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny. 2013. V. 155. № 3. P. 337–339. (In Russian)]
 20. *Бабаниязов Х.Х., Ильяшенко К.К., Леженина Н.Ф., Башинов В.А.* Средство для лечения отравлений и их осложнений: Патент на изобретения. 2008.

- № 2331417. [Babaniyazov H.H., P'yashenko K.K., Lezhenina N.F., Barinov V.A. Sredstvo dlya lecheniya otravlenij i ih oslozhenij // Patent na izobreteniya. 2008. № 2331417. (In Russian)]
21. Васин М.В., Ушаков И.Б., Королева Л.В., Антипов В.В. Потенцирующий эффект нормобарической гипероксии на противоположные свойства индралина, регистрируемые в кроветворной ткани // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 6. С. 619–623. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Koroleva L.V., Antipov V.V. Potenciuyushchij effekt normobaricheskoy giperoksii na protivopozhnyye svoystva indralina, registriruemye v krovetrovnoy tkani // Radiac. biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 6. P. 619–623. (In Russian)]

Estimation of Efficiency of Preventive Use of B-190 and Acysol in White Outbred Mice under the Combined Exposure of X-Ray Radiation and Carbon Monoxide

A. V. Zavirsky^{a,#}, V. A. Basharin^a, V. V. Zatsepin^a, and P. G. Tolkach^a

^a S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russia

[#] E-mail: zyvaver@mail.ru

The article presents data from an experimental study on the effect of carbon monoxide and X-ray radiation on the survival and average lifespan of white male mice. The mice were irradiated in a dose range of LD_{30–90/30}, then subjected to static inhalation exposure to carbon monoxide. External single exposure was performed on an RUM-17 X-ray unit at a dose rate of 0.32 Gy/min. The radiation doses were 6.5, 7.5 and 8.0 Gy. Static inhalation intoxication with carbon monoxide was carried out at toxicant concentrations of 2100 ppm (0.45 LC₅₀) and 3800 ppm (0.8 LC₅₀), exposure time was 30 min. It was established that preliminary X-ray irradiation in the dose range LD_{30–90/30} increases the sensitivity of white mice to subsequent exposure to carbon monoxide. The combined effect of ionizing radiation and carbon monoxide led to a decrease in survival and a decrease in the average lifespan of animals in comparison with the isolated effect of these factors. The effectiveness of acyzole and radioprotector B-190 in combined radiation-chemical injury was studied. The use of a radioprotector with a hypoxic mechanism of action before a combined lesion as a result of exposure to X-ray radiation and carbon monoxide aggravates its course, in terms of 30-day survival, hematological parameters. The combined prophylactic use of acyzole and B-190 before combined radiation-chemical injury increased the 30-day survival rate of white mice, and improved the hematological parameters of peripheral blood.

Keywords: X-ray radiation, radiation, carbon monoxide, acyzol, B-190, survival, average lifespan

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 616-03:615:599.323.4:57.084.1: 539.1.047

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ β -ЭСТРАДИОЛА, ИНДОМЕТОФЕНА И ПРЕПАРАТА ВР-С2

© 2020 г. В. Н. Быков^{1,3}, И. С. Драчёв², А. В. Панченко^{3,*}, Е. И. Федорос^{3,4}, С. Е. Пигарев⁴

¹ Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия

⁴ ООО “Меабко”, Копенгаген, Дания

*E-mail: ando.pan@gmail.com

Поступила в редакцию 16.08.2018 г.

После доработки 14.05.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

В опытах на мышах проведена оценка защитного действия β -эстрадиола, индометоефена, препарата ВР-С2 при остром общем воздействии γ -излучения в различных поглощенных дозах. Изучали 30-суточную выживаемость, динамику массы тела, состояние кроветворения облученных животных. Установлено, что изученные вещества защищают животных от лучевой гибели в диапазоне доз 4–7 Гр (мощность дозы 1,1 Гр/мин). Значение величин фактора изменения дозы составили: для β -эстрадиола – 1,19, для индометоефена – 1,22 и для ВР-С2 – 1,22. Выявленный защитный эффект может быть связан с восстановлением костномозгового и внекостномозгового кроветворения, а для ВР-С2 – еще и с антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: ионизирующие излучения, острая лучевая болезнь, радиопротекторы, защитное действие, β -эстрадиол, индометоефен, препарат ВР-С2

DOI: 10.31857/S0869803120040050

В настоящее время эффекты противолучевых средств, проявляющих защитное действие при применении до воздействия ионизирующих излучений и в ранний постлучевой период, связывают с ускорением пострадиационной репарации нелетальных повреждений пораженных клеток (прежде всего, гемопоэтических), обусловленной активацией провоспалительных сигнальных путей и усилением секреции ростовых факторов [1, 2]. Такими свойствами обладают вакцины, полисахариды, антиоксиданты, гормоны и другие препараты [3, 4]. Однако сравнительной оценке их противолучевой активности не уделяется достаточного внимания.

В настоящей работе проведено сравнительное изучение защитного действия β -эстрадиола, индометоефена и препарата ВР-С2 при остром лучевом воздействии. β -эстрадиол относится к группе женских половых гормонов, препараты на основе которых обладают выраженным противолучевым действием при введении до и после облучения [5–7]. Индометоефен – синтетический нестероидный антиэстроген из группы тамоксифена, разработанный в ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, об-

ладающий радиомитигирующим действием [8, 9]. Как для β -эстрадиола, так и для индометоефена была доказана противолучевая активность при однократном введении [8, 10]. Препарат ВР-С2 принадлежит к металлсодержащим комплексам и представляет собой полифенольное полимерное производное лигнина с молибдатом аммония [11], его противолучевое действие при многократном введении было показано в ряде работ [12, 13]. Препарат обладает антиоксидантными свойствами, а его полифенольный компонент демонстрирует слабую аффинность к эстрогеновым рецепторам клетки [14].

Интерес представляет эффективность указанных средств при многократном введении до и после острого облучения, поскольку продолжительность лечения может определять не только исход острого радиационного поражения, но и снижать риск развития отсроченных эффектов острого радиационного воздействия (лучевые дерматиты, фиброз легких, пневмонит и др.) [15].

Цель настоящего исследования состояла в сравнительной оценке противолучевой активности β -эстрадиола, индометоефена и ВР-С2 при

Таблица 1. Влияние β -эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 на выживаемость мышей после острого облучения (срок наблюдения 30 сут)**Table 1.** The effect of β -estradiol, indometophen and ВР-С2 on the survival of mice after acute radiation exposure (30 days observation period)

Доза облучения, Гр	Группа	Число выживших/общее число животных в группе	Вероятность ошибки различий с группой контроля по 2-стороннему критерию Фишера
3	Контроль	12/12	–
	β -эстрадиол	12/12	>0.9999
	Индометопфен	12/12	>0.9999
	ВР-С2	12/12	>0.9999
4	Контроль	18/24	–
	β -эстрадиол	22/24	0.2448
	Индометопфен	24/24	0.0219
	ВР-С2	23/24	0.0971
5	Контроль	13/24	–
	β -эстрадиол	20/24	0.0599
	Индометопфен	22/24	0.0078
	ВР-С2	21/24	0.0243
6	Контроль	6/24	–
	β -эстрадиол	14/24	0.0392
	Индометопфен	12/24	0.1351
	ВР-С2	16/24	0.0084
7	Контроль	0/24	–
	β -эстрадиол	2/24	0.4894
	Индометопфен	0/24	>0.9999
	ВР-С2	2/24	0.4894

многократном введении и изучении их влияния на гемопозитическую систему облученных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Экспериментальные исследования выполнены на беспородных мышках-самцах (питомник лабораторных животных “Рапполово”). Перед началом экспериментов животные проходили двухнедельный карантин. Исследования проведены согласно существующим правилам работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенции по их защите. В работе применяли радиобиологические и гематологические методы исследования, а также приемы оценки объективного состояния.

Животных подвергали общему, относительно равномерному воздействию γ -излучения в различных дозах на установке ИГУР-1, снаряженной радионуклидом ^{137}Cs (мощность дозы 1,1 Гр/мин).

Определение 30-суточной выживаемости выполнено на 432 животных, разделенных на 20 групп (15 – опытных и 5 – контрольных, табл. 1), которых облучали в дозах 3, 4, 5, 6 и 7 Гр. В течение 30 сут после радиационного воздействия еже-

дневно учитывали количество павших и оставшихся в живых животных. Рассчитывали 30-суточную выживаемость, $\text{ЛД}_{50/30}$, $\text{ЛД}_{16/30}$ и $\text{ЛД}_{84/30}$ методом пробит-анализа по Финни, определяли величину фактора изменения дозы (ФИД).

Оценку влияния изучаемых соединений на гемопозз проводили на 48 мышках, облученных в дозе $\text{ЛД}_{50/30}$. На 9-е сутки после облучения определяли общую клеточность костного мозга в бедренной кости и подсчитывали количество эндогенных колониеобразующих единиц (КОЕс) в селезенке.

β -эстрадиол (“Sigma”, США) вводили внутримышечно в дозе 40 мг/кг за 5 сут, 1 сут, сразу после облучения и через 1 сут после облучения в виде суспензии с Твин-80. Индометопфен (ЦХЛС – ВНИХФИ, Россия) вводили перорально в дозе 30 мг/кг за 5 сут и 1 сут до облучения. ВР-С2 (ООО “Нобель”, Россия) вводили перорально в дозе 60 мг/кг 10-кратно с интервалом 48 ч (пять введений до облучения и пять введений после облучения). Выбранные дозы препаратов тестиروвали ранее при однократном введении животным, подвергнутым острому лучевому воздействию [7, 8, 10].

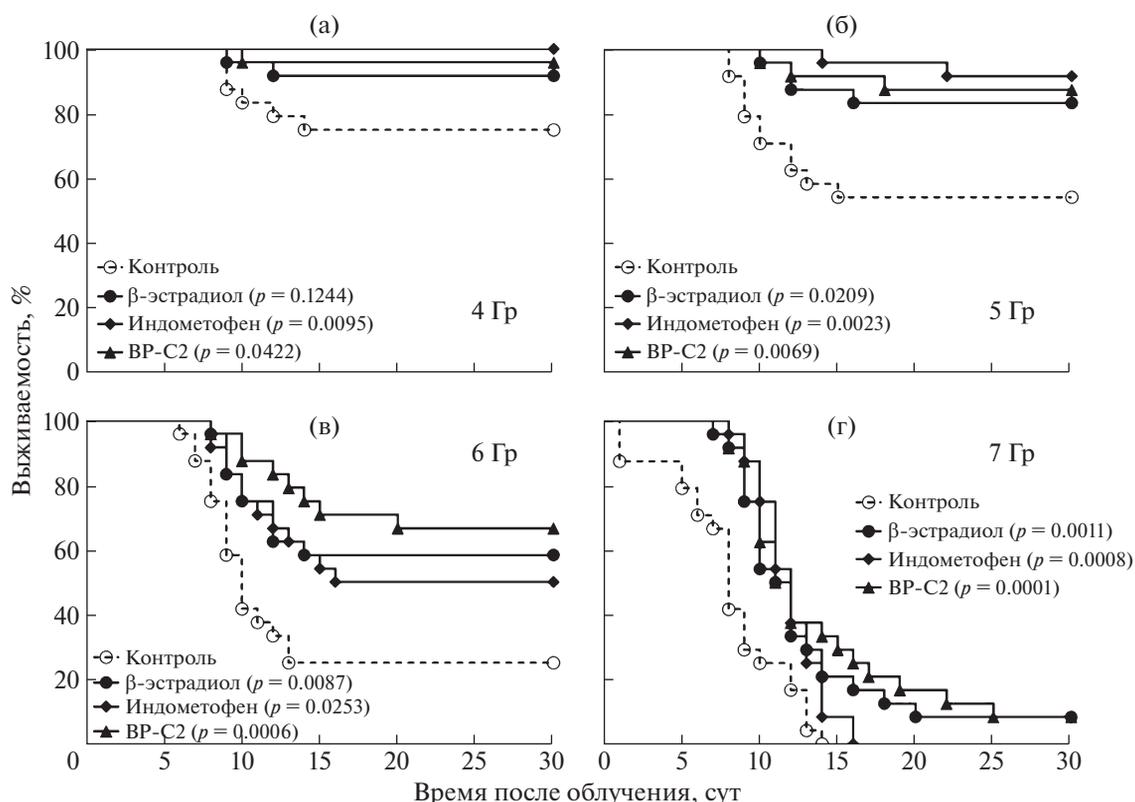


Рис. 1. Изменение графиков функции выживания мышей после острого облучения в дозах 4 Гр (а), 5 Гр (б), 6 Гр (в) и 7 Гр (г) под влиянием β-эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 (срок наблюдения 30 сут, $n = 24$). В скобках указана статистическая значимость различий с группой Контроль по Лог-ранг тесту.

Fig. 1. The survival graphs of mice after total body irradiation at dose of 4 Gy (a), 5 Gy (b), 6 Gy (c) and 7 Gy (d) and exposure to β-estradiol, indometophen and BP-C2 (30 days observation period, $n = 24$ in each group). In parentheses are given values of the statistical significance for the differences with the control group by the log-rank test.

Для исследования относительной антиоксидантной емкости ВР-С2 применяли железо-восстанавливающий тест [16]. Антиоксидантную емкость рассчитывали как отношение количества окрашенного комплекса Fe^{2+} с 2,2-дипиридиллом в пробе с добавлением ВР-С2 к его содержанию в пробе со стандартными веществами: аскорбиновой кислотой и дигидрокверцетином.

Полученные данные подвергали статистической обработке. Для графического отображения функций выживаемости применяли кривые Каплана–Майера, сравнение проводили по Лог-ранг тесту, а для низшей дозы – по тесту Кокса–Мантла. Для анализа различий 30-суточной выживаемости между группами применяли точный двухсторонний критерий Фишера. В остальных случаях для сравнения различий с группой контроля применяли критерий Манна–Уитни. Вероятность $p < 0.05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительную оценку радиозащитной эффективности веществ проводили по критерию 30-суточной выживаемости (табл. 1) и на основании анализа кривых дожития (рис. 1).

Количество животных, выживших через 30 сут после острого облучения в дозе 5 Гр, было статистически значимо выше после введения всех исследуемых соединений по сравнению с контролем. Для ВР-С2 и для β-эстрадиола показатель 30-суточной выживаемости был достоверно выше, чем в контроле и после острого облучения животных в дозе 6 Гр (табл. 1). Кривые дожития (рис. 1) статистически значимо отличались от контрольной группы после облучения животных в дозе 4 Гр для индометопфена и ВР-С2, в дозе 5 Гр – для β-эстрадиола и индометопфена, а после облучения в дозах 6 и 7 Гр – для всех групп животных, получавших противолучевые препараты.

Расчетное значение $LD_{50/30}$ (табл. 2) для мышей контрольной группы составило $4,91 \pm 0,18$ Гр, расчетные значения $LD_{50/30}$ при введении β-эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 – $5,82 \pm 0,19$ Гр,

Таблица 2. Величины ФИД и ЛД_{50/30}, ЛД_{16/30} и ЛД_{84/30} у мышей после острого облучения при введении β-эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 (срок наблюдения 30 сут)

Table 2. The values of DRF (dose reduction factor) and LD_{50/30}, LD_{16/30} and LD_{84/30} in mice after acute total body irradiation with the administration of β-estradiol, indometophen and ВР-С2 (30 days observation period)

Группа	ЛД _{50/30}	Стандартная ошибка ЛД _{50/30}	Нижняя граница ЛД _{50/30}	Верхняя граница ЛД _{50/30}	ЛД _{16/30}	ЛД _{84/30}
Контроль	4.91	0.18	4.56	5.25	3.93	6.14
β-эстрадиол (40 мг/кг ×4)	5.82	0.19	5.48	6.21	4.78	7.10
		ФИД = 1.19			ФИД = 1.22	ФИД = 1.16
Индометопфен (30 мг/кг ×2)	5.99	0.26	5.68	6.73	5.27	6.82
		ФИД = 1.22			ФИД = 1.34	ФИД = 1.11
ВР-С2 (60 мг/кг ×10)	6.00	0.17	5.68	6.36	5.07	7.10
		ФИД = 1.22			ФИД = 1.29	ФИД = 1.16

Таблица 3. Влияние β-эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 на динамику массы тела мышей, облученных в различных дозах (среднее значение ± стандартное отклонение, n = 12)

Table 3. The effect of β-estradiol, indometophen and ВР-С2 on the dynamics of body weight of mice after acute total body irradiation at various doses (mean ± standard deviation, n = 12 in each group)

Доза облучения, Гр	Группа	Масса животных (г) на срок наблюдения (сут)				
		до облучения	2	4	6	8
4	Контроль	20.9 ± 1.04	20.2 ± 1.04	19.7 ± 1.39	19.3 ± 1.39	18.3 ± 2.08
	β-эстрадиол	21.5 ± 1.04	19.5 ± 1.39	19.5 ± 1.39	19.5 ± 1.04	18.1 ± 2.08
	Индометопфен	21.4 ± 0.69	20.0 ± 1.39	18.9 ± 0.69	19.7 ± 1.04	19.1 ± 2.08
	ВР-С2	20.6 ± 1.04	20.1 ± 1.39	20.0 ± 1.04	19.6 ± 1.04	18.4 ± 2.08
5	Контроль	21.0 ± 1.04	19.5 ± 2.42	18.0 ± 1.04	16.8 ± 0.69	16.8 ± 1.73
	β-эстрадиол	20.9 ± 1.04	19.9 ± 2.42	18.7 ± 1.04	17.6 ± 0.69	17.4 ± 1.39
	Индометопфен	20.9 ± 0.69	21.3 ± 1.39	19.0 ± 1.04	17.9 ± 1.04	17.8 ± 1.39
	ВР-С2	20.9 ± 1.04	19.8 ± 1.73	19.2 ± 0.69	17.8 ± 0.69	17.2 ± 1.39
6	Контроль	21.1 ± 0.69	18.0 ± 1.04	16.0 ± 1.04	15.0 ± 0.69	13.8 ± 1.73
	β-эстрадиол	21.1 ± 0.69	17.7 ± 1.04	15.9 ± 1.04	15.7 ± 0.69	15.0 ± 1.73
	Индометопфен	21.2 ± 1.04	18.3 ± 0.69	17.4 ± 1.04	15.2 ± 1.04	15.1 ± 1.39*
	ВР-С2	21.0 ± 1.04	18.1 ± 0.69	16.7 ± 1.39	15.3 ± 1.04	14.4 ± 1.04
7	Контроль	20.4 ± 0.69	17.3 ± 1.04	14.1 ± 1.73	12.7 ± 1.04	11.8 ± 2.08
	β-эстрадиол	21.0 ± 0.69	17.2 ± 1.39	14.3 ± 1.73	12.7 ± 0.69	12.2 ± 1.73
	Индометопфен	20.9 ± 1.04	17.4 ± 1.04	14.2 ± 1.73	13.5 ± 1.04	11.5 ± 2.08
	ВР-С2	20.7 ± 1.04	17.7 ± 1.39	14.6 ± 1.73	13.1 ± 0.69	12.4 ± 2.42

* p < 0.05 по сравнению с контрольной группой.

5,99 ± 0,26 Гр и 6,00 ± 0,17 Гр соответственно. Показатель ФИД составил для β-эстрадиола – 1,19, для индометопфена – 1,22, для ВР-С2 – 1,22.

Масса тела мышей в раннем постлучевом периоде существенно снижалась в зависимости от дозы облучения и практически не зависела от применяемого противолучевого средства (табл. 3). Показатель средней массы тела был больше при сравнении с группой контроля у всех животных, которым проводили противолучевую терапию исследуемыми соединениями, хотя статистиче-

ски значимые различия наблюдали только в единичных случаях.

При изучении влияния препаратов на гемопоэз у облученных мышей выявлен ряд особенностей (табл. 4). На 9-е сутки после облучения контрольных животных в дозе 6 Гр количество миелокариоцитов костного мозга снижалось в 7,4 раза и составляло 3,3 × 10⁶/бедро. У облученных мышей, которым вводили изучаемые вещества, количество миелокариоцитов костного мозга

уменьшалось в меньшей степени – в 4,6, 5,4 и 5,7 раза для β -эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 соответственно. Следует отметить, что количество миелокариоцитов у мышей, которым вводили β -эстрадиол, было выше, чем после применения ВР-С2 и индометопфена.

В группе контроля среднее количество эндогенных КОЕс на 9-е сутки после облучения животных в дозе 6 Гр составило $5,0 \pm 3,46$ единиц. После введения изучаемых препаратов этот показатель увеличился в 1,8–2,2 раза. Индометопфен и β -эстрадиол способствовали росту эндогенных колоний на селезенке в большей степени, чем ВР-С2.

При изучении антиоксидантной активности ВР-С2 было показано, что относительная антиокислительная емкость ВР-С2 сравнима с аскорбиновой кислотой и дигидрохверцетином при эквивалентных концентрациях растворов и составляет 0,99 и 0,91 соответственно, но уступает им при пересчете на массовую концентрацию. Так, 1 г ВР-С2 по антиоксидантной активности в использованном тесте был эквивалентен 124 мг аскорбиновой кислоты или 199 мг дигидрохверцетина.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что профилактическое введение эстрогенов и их синтетических аналогов повышает радиорезистентность организма на срок 1–3 нед, причем ФИД препаратов у мышей может достигать 1,15–1,3 [5, 18]. Введение индометопфена в дозах 15 и 30 мг/кг через 30 мин – 3 сут после воздействия γ -излучения в дозах ЛД_{90/30} и ЛД_{60/30} способствовало увеличению выживаемости мышей на 40–60% [8]. Считается, что механизм радиозащитного действия эстрогенов связан с перестройкой гемопоэза и более полным восстановлением системы кроветворения после воздействия радиации [8, 9, 18].

Вопрос о влиянии полифенольных соединений на гемопоэз в облученном организме изучен в меньшей степени. В качестве одного из возможных механизмов защитного действия называется антирадикальная активность [19]. Введение металлокомплексов способствует репарации повреждений, вызванных ионизирующими излучениями, и активирует синтез ДНК и РНК, в том числе в гемопоэтических клетках [20–22].

Проведенные исследования показали, что величина ФИД для всех изученных веществ близка к 1,2. При облучении в дозе 6 Гр выявлено более выраженное влияние ВР-С2 на показатели 30-суточной выживаемости, что проявилось в статистически значимом увеличении количества выживших животных и смещением кривой дожития вправо по сравнению с группой контроля и другими экспериментальными группами.

Таблица 4. Влияние β -эстрадиола, индометопфена и ВР-С2 на показатели кроветворения у мышей на 9-е сутки после воздействия γ -излучения в дозе 6 Гр (среднее значение \pm стандартное отклонение, $n = 12$ в каждой группе)

Table 4. The effect of β -estradiol, indometophen and ВР-С2 on hematopoiesis in mice by the ninth day after exposure to γ -radiation at a dose of 6 Gy (mean \pm standard deviation, $n = 12$ in each group)

Группа	Количество миелокариоцитов, $\times 10^6$ /бедро	Количество КОЕс, абс. ед./селезенку
Контроль	3.3 ± 0.8	5.0 ± 3.46
β -эстрадиол	$5.3 \pm 0.7^*$	$11.0 \pm 6.93^*$
Индометопфен	$4.5 \pm 0.6^*$	$10.0 \pm 6.93^*$
ВР-С2	$4.3 \pm 0.6^*$	9.0 ± 6.93

Среднее количество миелокариоцитов у необлученных животных составляет $24.3 \pm 0.3 \times 10^6$ /бедро.

* $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

Влияние препаратов на кроветворение различается. β -эстрадиол и индометопфен в большей степени способствовали увеличению количества миелокариоцитов в костном мозге, а также статистически значимо усиливали эндогенное колониобразование на селезенке.

Установлено, что ВР-С2 обладает антиоксидантными свойствами. По результатам определения относительной антиоксидантной емкости его активность несколько уступает аскорбиновой кислоте и дигидрохверцетину. Выявленный защитный эффект ВР-С2 может быть связан также с его антиоксидантной активностью.

В целом необходимо дальнейшее изучение препаратов для выявления новых механизмов их противолучевого действия.

ВЫВОДЫ

1. ФИД составляет для β -эстрадиола – 1,19, для индометопфена – 1,22 и для ВР-С2 – 1,22.

2. При облучении в дозе 5 Гр все изученные препараты способствовали статистически значимому увеличению выживаемости по сравнению с группой контроля, при облучении в дозе 6 Гр статистически значимое увеличение выживаемости по сравнению с группой контроля отмечали только после введения индометопфена и ВР-С2.

3. Относительная антиоксидантная емкость ВР-С2 выражена в меньшей степени, чем у аскорбиновой кислоты и дигидрохверцетина.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования препарата ВР-С2 выполнены за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-00142).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Васин М.В.* Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 5. С. 459–467. [*Vasin M.V.* Klassifikatsiya protivoluchevykh sredstv kak otrazhenie sovremennogo sostoyaniya i perspektivy razvitiya radiatsionnoi farmakologii // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2013. V. 53. № 5. P. 459–467. (In Russian)]
2. *Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Назаров В.Б., Власенко Т.Н.* Современные возможности медикаментозной профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Воен.-мед. журн. 2011. Т. 332. № 2. С. 13–17. [*Grebenyuk A.N., Zatsepin V.V., Nazarov V.B., Vlasenko T.N.* Sovremennye vozmozhnosti medikamentoznoi profilaktiki i rannei terapii radiatsionnykh porazhenii // Voенno-meditsinskii zhurnal. 2011. V. 332. № 2. P. 13–17. (In Russian)]
3. *Гребенюк А.Н., Леgezа В.И., Тарумов Р.А.* Радиомитигаторы: перспективы использования в системе медицинской противорадиационной защиты // Воен.-мед. журнал. 2014. Т. 335. № 6. С. 39–43. [*Grebenyuk A.N., Legezа V.I., Tarumov R.A.* Radiomitigatory: perspektivy ispol'zovaniya v sisteme meditsinskoi protivoradiatsionnoi zashchity // Voенno-meditsinskii zhurnal. 2014. V. 335. № 6. P. 39–43. (In Russian)]
4. *Singha V.K., Romaine P.L.P., Newman V.L., Seed T.M.* Medical countermeasures for unwanted CBRN exposures: part II radiological and nuclear threats with review of recent countermeasure patents // Expert. Opin. Therap. Patents. 2016. V. 26. № 12. P. 1399–1408.
5. *Шапиро Н.И., Нуждин Н.И., Кузин А.М.* Действие эстрогенных веществ на лучевую реакцию мышей. М.: Изд-во АН СССР, 1955. С. 16–32. [*Shapiro N.I., Nuzhdin N.I., Kuzin A.M.* Deistvie ehstrogennykh veshchestv na luchevuyu reaktsiyu myshel. M.: Izdatel'stvo AN SSSR, 1955. P. 16–32. (In Russian)]
6. *Сусликов В.Н.* О защитном действии диэтилстильбэстрола // Радиобиология. 1963. Т. 3. № 6. С. 880–890. [*Suslikov V.N.* O zashchitnom deistvii diehtilstil'behstrola // Radiobiologiya. 1963. V. 3. № 6. P. 880–890. (In Russian)]
7. *Быков В.Н., Гребенюк А.Н., Мясников В.А., Чепур С.В.* Влияние профилактического применения β-эстрадиола на выживаемость и костномозговое кроветворение облученных мышей // Воен.-мед. журн. 2017. Т. 338. № 11. С. 26–33. [*Bykov V.N., Grebenyuk A.N., Myasnikov V.A., Chepur S.V.* Vliyaniye profilakticheskogo primeneniya β-ehstradiola na vyzhivaemost' i kostnomozgovoye krovetvoreniye obluchennykh myshei // Voенno-meditsinskii zhurnal. 2017. V. 338. № 11. P. 26–33. (In Russian)]
8. *Шлякова Т.Г., Михайлов П.П.* Индометофен как средство лечения острой лучевой болезни // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49. № 4. С. 438–443. [*Shlyakova T.G., Mikhailov P.P.* Indometofen kak sredstvo lecheniya ostroi luchevoi bolezni // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2009. V. 49. № 4. P. 438–443. (In Russian)]
9. *Лебедев В.Г., Мороз Б.Б., Воронникова Т.В., Дешевой Ю.Б.* Изучение механизмов радиозащитного действия индометофена на кроветворные клетки-предшественники в длительных культурах костного мозга мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 5. С. 528–533 [*Lebedev V.G., Moroz B.B., Vorotnikova T.V., Deshevoi Yu.B.* Izuchenie mekhanizmov radiozashchitnogo deistviya indometofena na krovetvornnye kletki-predshestvenniki v dlitel'nykh kulturakh kostnogo mozga myshei // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 1999. V. 39. № 5. P. 528–533. (In Russian)]
10. *Мясников В.А., Тарумов Р.А.* Изучение эффективности в-эстрадиола, индометафена и генистеина в качестве радиопротекторов при остром облучении // Вестн. новых мед. технологий. 2012. Т. 19. № 2. С. 244–246. [*Myasnikov V.A., Tarumov R.A.* Izuchenie ehffektivnosti v-ehstradiola, indo-metafena i genisteina v kachestve radioprotektorov pri ostrom obluchenii // Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii. 2012. V. 19. № 2. P. 244–246. (In Russian)]
11. *Shipov V.P., Pigarev E.S., Fedoros E.I.* Benzene polycarboxylic acid compounds and their use as drug: Patent WO2013143549 (A1), 03 October, 2013.
12. *Bykov V.N., Drachev I.S., Kraev S.Y. et al.* Radioprotective and radiomitigative effects of BP-C2, a novel lignin-derived polyphenolic composition with ammonium molybdate, in two mouse strains exposed to total body irradiation // Int. J. Radiat. Biol. 2018. V. 94. № 2. P. 114–123.
13. *Панченко А.В., Федорос Е.И., Пигарев С.Е. и др.* Экспериментальное изучение радиозащитной эффективности комплекса полифенольного полимерного производного лигнина с молибдатом аммония – препарата ВР-С2 // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 5. С. 505–511. [*Panchenko A.V., Fedoros E.I., Pigarev S.E. i dr.* Ehksperimental'noe izuchenie radiozashchitnoy ehffektivnosti kompleksa polifenol'nogo polimernogo proizvodnogo lignina s molibdatom ammoniya – preparata ВР-С2 // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2017. T. 57. № 5. P. 505–511. (In Russian)]
14. *Fedoros E.I., Orlov A.A., Zhrebker A. et al.* Novel water-soluble lignin derivative BP-Cx-1: identification of components and screening of potential targets in silico and in vitro // Oncotarget. 2018. V. 9. № 26. P. 18578–18593.
15. *Jackson I.L., Zodda A., Gurung G. et al.* BIO 300, a nanosuspension of genistein, mitigates pneumonitis/fibrosis following high-dose radiation exposure in the C57L/J murine model // Br. J. Pharmacol. 2017. V. 174. № 24. P. 4738–4750.
16. *Анисимович И.П., Дейнека В.И., Дейнека Л.А. и др.* Параметры антиоксидантной активности соединений: относительная антиоксидантная активность чая // Науч. вед. БелГУ. Сер. Естественные науки. 2010. Т. 9. № 11. С. 104–110. [*Anisimovich I.P., Deineka V.I., Deineka L.A. i dr.* Parametry antioksidantnoi aktivnosti soedinenii: otnositel'naya antioksidantnaya aktivnost' chaya // Nauch. ved. BelGU. Ser. Estestvennyye nauki. 2010. T. 9. № 11. S. 104–110. (In Russian)]

- dantnaya aktivnost' chaya // Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennyye nauki. 2010. V. 9. № 11. P. 104–110. (In Russian)]
17. Шапиро Н.И., Нуждин Н.И., Кузин А.М. Действие эстрогенных веществ на лучевую реакцию мышей. М.: Изд-во АН СССР, 1955. С. 16–32. [Shapiro N.I., Nuzhdin N.I., Kuzin A.M. Deistvie ehstrogennykh veshchestv na luchevuyu reaktsiyu mysheI. M.: Izdatel'stvo AN SSSR, 1955. P. 16–32. (In Russian)]
 18. Гребенюк А.Н., Мясников В.А., Зацепин В.В. и др. Сравнительное изучение эффективности гепарина, интерлейкина-1 β , β -эстрадиола и индометопфена в качестве радиопротекторов при остром облучении // Вестн. Рос. Воен.-мед. акад. 2011. Т. 4. № 36. С. 101–104. [Grebennyuk A.N., Myasnikov V.A., Zatsepin V.V. i dr. Sravnitel'noe izuchenie ehffektivnosti geparina, interleikina-1 β , β -estradiola i indometofena v kachestve radioprotektorov pri ostrom obluchenii // Vestnik Rossiiskoi voenno-meditsinskoi akademii. 2011. V. 4. № 36. P. 101–104. (In Russian)]
 19. Kuntić V.S., Stanković M.B., Vujić Z.B. et al. Radioprotectors – the evergreen topic // Chem. Biodivers. 2013. № 10. P. 1791–1803.
 20. Garofalo M.C., Ward A.A., Farese A.M. et al. A pilot study in rhesus macaques to assess the treatment efficacy of a small molecular weight catalytic metalloporphyrin antioxidant (AEOL 10150) in mitigating radiation induced lung damage // Health Phys. 2014. V. 106. № 1. P. 73–83.
 21. Kirkin A., Dzhandzhugazya K., Fang J. et al. A novel anticancer agent, benzene-poly-carboxylic acids complex with cis-diammineplatinum (II) dichloride, activates multiple immunologic mechanisms of an antitumor response // J. Clin. Oncol. 2013. № 31. P. 12024.
 22. Sevgi K., Tepe B., Sarikurkcü C. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids // Food Chem. Toxicol. 2015. № 77. P. 12–21.

Experimental Estimation of the Anti-radiation Efficiency of β -Estradiol, Indometophene and Composition BP-C2

V. N. Bykov^a, I. S. Drachev^b, A. V. Panchenko^{c,#}, E. I. Fedoros^{c,d}, and S. E. Pigarev^d

^a Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudnyi, Russia

^b State Scientific Research Testing Institute (for Military Medicine), St. Petersburg, Russia

^c N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Saint-Petersburg, Russia

^d MEABCO A/S, Copenhagen, Denmark

#E-mail: ando.pan@gmail.com

In experiments on mice, the protective effect of β -estradiol, indometophene, BP-C2 composition in acute radiation exposure was evaluated. We studied 30-day survival, body weight dynamics and condition of hematopoiesis of the irradiated animals. It was established that the studied substances protect the animals from irradiation induced death in the dose range of 4–7 Gy (dose rate 1.1 Gy/min). The values of the dose modification factor were: for the β -estradiol – 1.19; for the indometophene – 1.22; for the BP-C2 – 1.22. The revealed protective effect may be associated with the restoration of bone marrow and with extramedullary hematopoiesis, and for the BP-C2 – also with antioxidant activity.

Keywords: ionizing radiation, acute radiation syndrome, radioprotectors, protective action, β -estradiol, indometophene, composition BP-C2

НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 577.1:57.088: 614.875

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ УФ-МОДИФИКАЦИИ ФИЦИНА, СВОБОДНОГО И ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА МАТРИЦЕ ХИТОЗАНА

© 2020 г. С. М. Панкова¹, М. Г. Холявка^{1,*}, М. С. Кондратьев³, Ю. М. Вышкворкина²,
А. Н. Лукин¹, В. Г. Артюхов¹

¹ Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

² Московский физико-технический институт, Москва, Россия

³ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

*E-mail: holyavka@rambler.ru

Поступила в редакцию 27.05.2019 г.

После доработки 30.11.2019 г.

Принята к публикации 12.02.2020 г.

Установлено, что при действии УФ-излучения в дозах 151–1510 Дж/м² активность свободного фицина (КФ 3.4.22.3) и диаметр его молекул оставались на постоянном (первоначальном) уровне. При использовании доз 3020, 4530, 6040 Дж/м² зарегистрированы снижение каталитической способности фермента и увеличение диаметра его глобулы, что, вероятно, связано с разворачиванием молекулы энзима. После адсорбции фицина на матрице среднемолекулярного (200 кДа) и высокомолекулярного (350 кДа) хитозанов каталитическая способность ферментного препарата не снижалась во всем диапазоне используемых нами доз УФ-излучения. Можно предположить, что матрица хитозана выступает в качестве фотопротектора для иммобилизованного на ней фицина, так как изменения в ИК-спектрах адсорбированной на ней цистеиновой протеазы практически не затрагивают полосы, обусловленные белковым компонентом системы: амид I, амид II, амид III.

Ключевые слова: УФ-облучение, адсорбционная иммобилизация, фицин, хитозан, ИК-спектроскопия

DOI: 10.31857/S0869803120040074

Изучение механизмов действия УФ-излучения на белки-ферменты — одна из важнейших фундаментальных проблем молекулярной фотобиологии. Трансформация энергии света в различных фотобиологических процессах включает последовательные стадии: поглощение света и образование электронно-возбужденных состояний хромофора, фотофизическую реализацию энергии возбуждения, проявление фотохимических реакций с образованием первичных фотопродуктов и развитие вызванных ими фотобиологических ответов. За счет энергии электронного возбуждения молекула хромофора (в белках ими являются ароматические аминокислоты: триптофан, тирозин, фенилаланин, а также цистин) изменяет состояние своего ближайшего микроокружения в биоструктурах, и это дает начало структурно-функциональным перестройкам, что может отражаться на свойствах биологических молекул, в частности, ферментов. Ведущие направления современной фотобиологии связаны с изучением первичных механизмов регуляторных, деструктивных и фотопротекторных процессов, вызываемых УФ-излучением в биосистемах [1–5].

Исследование структуры протеолитических ферментов способствует пониманию процессов жизнедеятельности на молекулярном уровне и приобретает практическую значимость при создании медицинских препаратов пролонгированного действия на основе иммобилизованных энзимов. Лекарственные средства, обладающие протеолитической активностью, в том числе фицин, широко применяются в клинической практике для лечения повреждений кожных покровов, воспалительных заболеваний, гельминтозов [6, 7].

Фицин (КФ 3.4.22.3) — протеолитический фермент, выделенный из латекса фиговых деревьев (*Ficus species*) [8, 9]. Он принадлежит к семейству папаинов, в активном центре находится триада аминокислот Cys, His и Asp. Данный фермент содержит одну полипептидную цепь массой ~25 кДа, которая свернута с образованием глобулярного белка и включает два домена [10–13]. Для молекулы фицина оптимум pH составляет 6.7, оптимальная температура — от 45 до 55°C [10–16]. Энзим обладает антимикробной активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий [17, 18].

Современные методы модификации ферментов (стабилизация субстратом или другими соединениями, ковалентная модификация, например, гликозилирование, конструирование энзимов с заданными свойствами с помощью сайт-направленного мутагенеза) позволяют увеличивать стабильность энзимов к действию различных химических реагентов, физических факторов, регулировать каталитические свойства молекул. Однако именно иммобилизация фермента на нерастворимом носителе, кроме перечисленных выше преимуществ, предоставляет ученым возможность многократного использования биокатализатора, упрощает процедуру его отделения от реагентов и продуктов реакции, повышает вероятность однозначного прогнозирования поведения энзима и кинетики реакции в промышленных ферментерах.

Иммобилизация – это процесс фиксации белка-фермента на полимерном носителе с помощью физических взаимодействий и/или химических связей. В научной литературе большое внимание уделяется вопросам изучения путей связывания молекул энзимов с различными носителями, повышающих их устойчивость к высоким температурам, экстремальным значениям pH, ингибиторам, при этом воздействие УФ-излучения на каталитическую активность и физико-химические свойства иммобилизованных ферментов изучено недостаточно [19–21]. В этой связи целью нашей работы стало выявление особенностей и закономерностей воздействия УФ-излучения на процессы фотомодуляции свободного и иммобилизованного на матрице хитозана фицина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования был выбран фицин фирмы “Sigma-Aldrich”, субстратом для гидролиза служил бычий сывороточный альбумин (БСА) фирмы “Sigma-Aldrich”, носителями для иммобилизации – два вида хитозана, синтезированных ЗАО “Биопрогресс”: хитозан пищевой кислоторастворимый среднемолекулярный ($M_r = 200$ кДа, степень деацетилирования (СД) 82%, хитозан кислоторастворимый высокомолекулярный ($M_r = 350$ кДа, СД = 94.85%).

Иммобилизацию фицина на матрице хитозанов осуществляли адсорбционным методом [22, 23]. Определение количества белка в препаратах и каталитической активности фермента проводили модифицированным методом Лоури [24].

Процесс УФ-облучения происходил при непрерывном перемешивании соответственно раствора и суспензии в объеме 4 мл (толщина слоя в середине кюветы – 7 мм) магнитной мешалкой в круглодонной термостатируемой кювете ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) с помощью ртутно-кварцевой лампы типа ДРТ-400 че-

рез светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240–390 нм в течение 1, 3, 5, 10, 20, 30 или 40 мин. Доза облучения составила соответственно 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м².

Регистрацию ИК-спектров анализируемых образцов осуществляли в Центре коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета с помощью ИК-Фурье спектрометра Bruker Vertex-70 (Германия). Спектры снимали с неориентированных порошковых образцов.

Визуализацию аминокислотных остатков – хромофоров для УФ-света – осуществляли в программе Maestro.

Подготовка структуры фермента для докинга выполнялась по стандартной для Autodock Vina схеме, описанной авторами пакета на сайте: из входного файла PDB были удалены координаты атомов (и сами атомы) молекулы растворителя, буфера и лигандов. Перед проведением численных расчетов была выполнена расстановка зарядов на поверхности белков с помощью MGLTools. Центр молекулы и параметры бокса («ячейки») мы задавали вручную, добиваясь того, чтобы молекула протеазы полностью была внутри расчетной области пространства.

Модель структуры хитозана была нарисована в молекулярном конструкторе HyperChem, последовательно оптимизирована сначала в силовом поле AMBER, а потом квантово-химически в PM3. Лиганд в расчетах докинга имел максимальную конформационную свободу: допускалось вращение функциональных групп вокруг всех одинарных связей. Расстановка зарядов на молекуле хитозана и ее протонирование/депротонирование осуществлялись автоматически в пакете MGLTools 1.5.6.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости различий 5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При УФ-облучении раствора фицина в дозах от 151 до 1510 Дж/м² наблюдалась тенденция к снижению его активности. Начиная с 3020 Дж/м² и при повышении дозы до 4530 и 6040 Дж/м², зарегистрировано статистически значимое уменьшение каталитической способности свободного фицина на 11, 12 и 17% соответственно.

После иммобилизации фицина на матрице среднемолекулярного хитозана при УФ-облучении в дозе 151 Дж/м² наблюдалась тенденция к снижению активности препарата, однако при дальнейшем облучении в диапазоне доз 453–6040 Дж/м² фермент сохранял свою каталитическую способность на относительно постоянном уровне. После иммо-

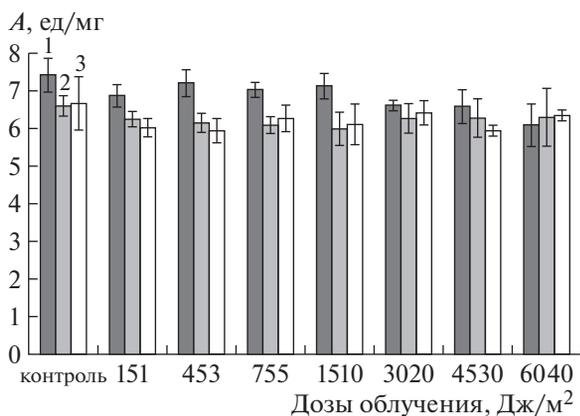


Рис. 1. Влияние УФ-света на удельную каталитическую активность (A , ед./мг) свободного и иммобилизованного на матрице хитозана фицина: 1 – свободный фицин, 2 – фермент, иммобилизованный на среднемоллекулярном хитозане, 3 – фермент, иммобилизованный на высокомолекулярном хитозане.

Fig. 1. Effect of UV light on the specific catalytic activity (A , U/mg) of free and immobilized on the chitosan matrix ficin: 1 – free ficin, 2 – enzyme immobilized on medium molecular weight chitosan, 3 – enzyme immobilized on high molecular weight chitosan.

билизации фицина на матрице высокомолекулярного хитозана при УФ-облучении фермент сохранял свою активность на первоначальном (до облучения) уровне, снижение каталитической способности энзима не зарегистрировано во всем диапазоне исследуемых нами доз (рис. 1). При УФ-облучении свободного фицина изменение размера глобулы выявлено при использовании дозы 3020 Дж/м², возможно, это связано с разворачиванием молекулы фермента (рис. 2).

Для более детального анализа полученных результатов была осуществлена визуализация хромофоров УФ-света для молекул фицина (PDB ID: 4YYW), по отношению к активному центру фермента (рис. 3). В активном центре фицина находится His 162, в непосредственной близости к нему располагаются сразу два хромофора – Tyr 177 и Trp 178.

На рис. 4 отражены связи и взаимодействия между молекулами фицина (PDB ID: 4YYW) и матрицей хитозана, возникающие в ходе иммобилизации фермента. У фицина в процессах адсорбции на носителе из хромофоров задействован Trp 184, что, вероятно, способствует сохранению его каталитической активности при облучении УФ-светом.

В целях более полного анализа наблюдаемых эффектов были зарегистрированы ИК-спектры фицина, иммобилизованного на матрице среднемолекулярного и высокомолекулярного хитозанов, до и после облучения образцов УФ-светом в дозах 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м².

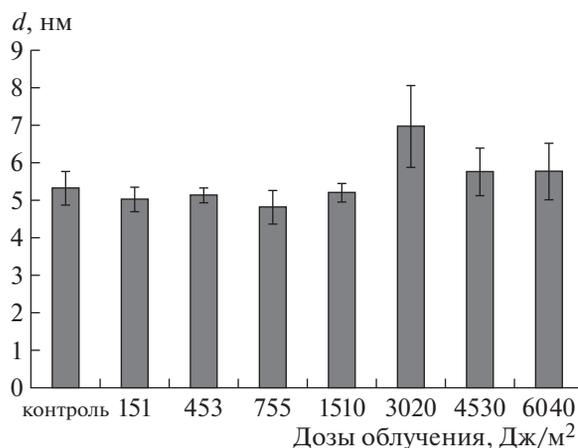


Рис. 2. Влияние УФ-света на диаметр молекул фицина.

Fig. 2. The effect of UV light on the diameter of ficin molecules.

На ИК-спектрах фицина, иммобилизованного на матрице высокомолекулярного хитозана, наблюдается сдвиг максимума в области 1062–1080 см⁻¹ при увеличении дозы облучения, что, вероятно, связано с участием гидроксильных групп в первичных фотобиологических реакциях. Зарегистрированы колебания C–O–N групп, на что указывает наличие пика в области 1149–1150 см⁻¹. В полосе 1413–1417 см⁻¹ наблюдается смещение максимума в сторону уменьшения значений волновых чисел, следовательно, в системе могут проходить реакции с участием ароматического кольца. Наблюдаются симметричные деформационные колебания NH₃⁺-группы и N–H связи – полосы в ИК-спектре 1587– и 1528–1534 см⁻¹ соответственно. Полосы 2875–2883 и 3356–3363 см⁻¹ свидетельствуют о наличии карбонильных групп и валентной =NH–C связи в препаратах иммобилизованной цистеиновой протеазы (рис. 5).

При иммобилизации на среднемолекулярном хитозане в ИК-спектре белкового препарата присутствуют пики ~1084, 1151 см⁻¹, что соответствует валентному колебанию C–O(N) групп. В полосе 1380–1391 см⁻¹, которая ответственна за деформационное колебание C–H связи, зарегистрировано смещение пика в сторону увеличения значений волновых чисел. Изменение интенсивности полосы 1499–1515 см⁻¹ указывает на характеристическое колебание с участием ароматического кольца (рис. 6).

Как видно из рис. 5, 6, изменения в ИК-спектрах иммобилизованной цистеиновой протеазы практически не затрагивают полосы, обусловленные белковым компонентом системы: амид I, амид II, амид III, поэтому можно констатировать,

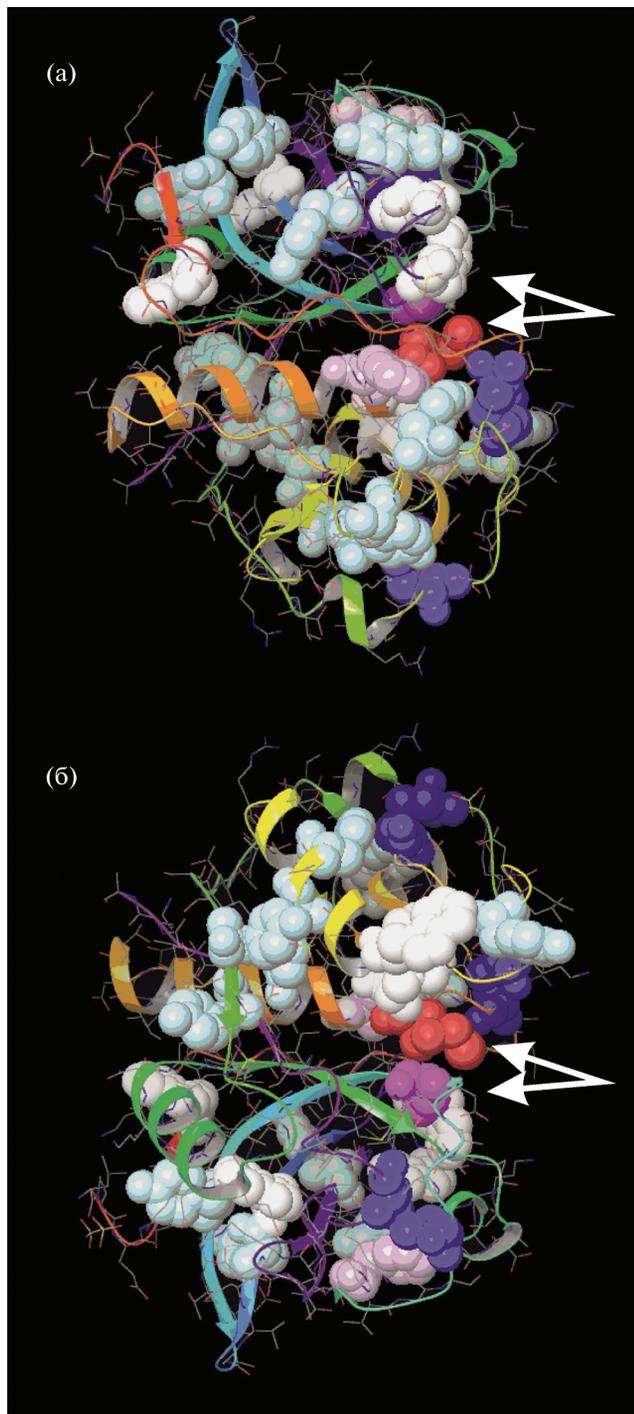


Рис. 3. Хромофоры для УФ-света в молекуле фицина (PDB ID: 4YYW): атомы аминокислотных остатков, входящих в их состав, обозначены шарами, активный центр фермента указан стрелкой. б – повернутая на 180° вокруг горизонтальной оси форма а.

Fig. 3. Chromophores for UV light in ficin molecule (PDB ID: 4YYW): atoms of amino acid residues in their composition are indicated by balls, the active center of the enzyme is indicated by the arrow. b – shape a rotated 180 degrees around the horizontal axis.

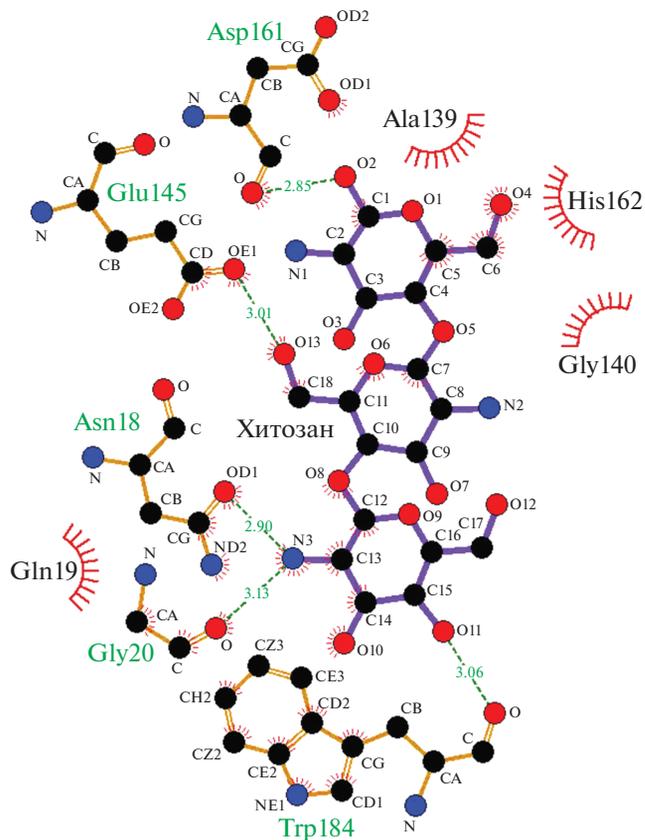


Рис. 4. Связи и взаимодействия между молекулой фицина (PDB ID: 4YYW) и матрицей хитозана (пунктирными линиями обозначены водородные связи).

Fig. 4. Bonds and interactions between ficin molecule (PDB ID: 4YYW) and chitosan matrix (hydrogen bonds are indicated by dashed lines).

что матрица хитозана выступает в качестве фотопротектора для адсорбированного на ней фицина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наши экспериментальные данные показывают, что при УФ-облучении свободного фицина в дозе 3020 Дж/м² и выше происходит снижение активности ферментного препарата и увеличение размеров белковой глобулы. При иммобилизации фицина на матрице среднемoleкулярного и высокомолекулярного хитозанов после облучения во всем диапазоне используемых нами доз (151–6040 Дж/м²) энзим сохранял свою каталитическую способность на относительно постоянном уровне по сравнению с контрольным образцом. Таким образом, ферментативная активность молекул свободного фицина при воздействии УФ-света подвержена изменению в большей степени, чем в иммобилизованном состоянии, так как образование проанализированных нами связей и взаимодействий между молекулами фермента и

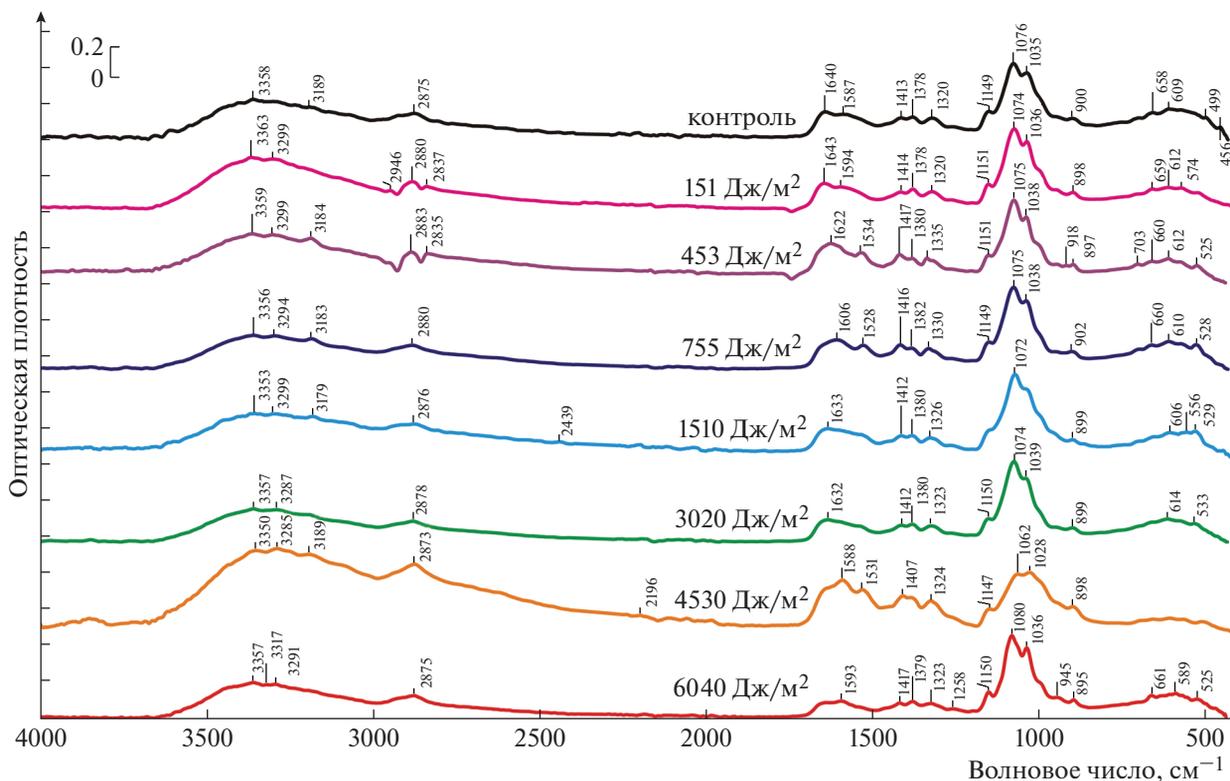


Рис. 5. ИК-спектры фицина, иммобилизованного на матрице высокомолекулярного хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м².

Fig. 5. IR spectra of ficin immobilized on a high-molecular chitosan matrix before and after UV irradiation in the dose range 151–6040 J/m².

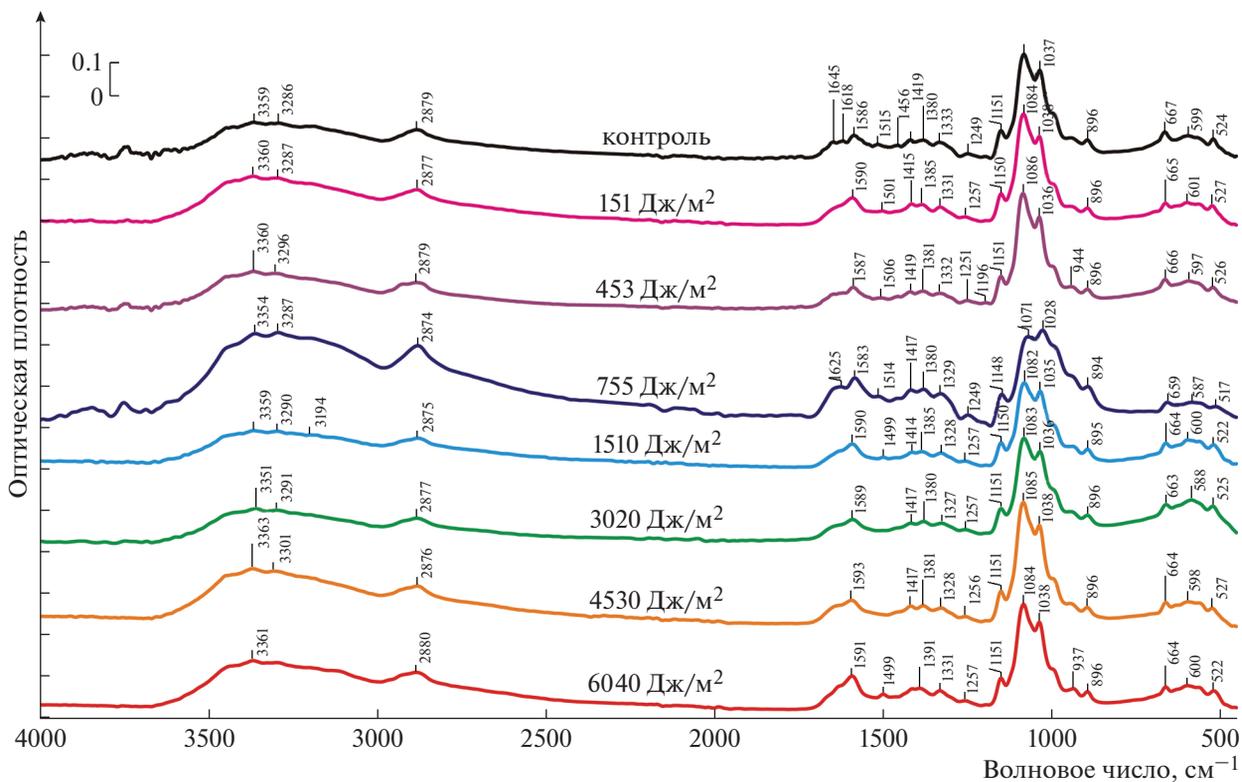


Рис. 6. ИК-спектры фицина, иммобилизованного на матрице среднемoleкулярного хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м².

Fig. 6. IR spectra of ficin immobilized on a matrix of medium molecular chitosan, before and after UV irradiation in the dose range of 151–6040 J/m².

матрицей хитозана оказывает значительное влияние на устойчивость иммобилизованного препарата к УФ-излучению.

Приведенные в статье материалы могут быть использованы при комплексном применении протеолитических ферментов (в частности фицина), хитозана и его производных и УФ-излучения при терапии повреждений кожных покровов различной этиологии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Экспериментальные исследования были проведены с использованием научно-технической базы ЦКПНО ВГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Рошчупкин Д.И., Артюхов В.Г.* Основы фотобиофизики. Воронеж: ВГУ, 1997. 116 с. [*Roshchupkin D.I., Artyuhov V.G.* Osnovy fotobiofiziki: ucheb. posobie. Voronezh: VGU; 1997. 116 p. (In Russian)]
2. *Ahmad S.* Ultraviolet light in human health, diseases and environment // *Adv. Experim. Med. Bio.* 2017. V. 996. P. 365. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5>
3. *Артюхов В.Г., Ковалева Т.А., Наквасина М.А. и др.* Биофизика. М.: Академический Проект, 2009. 294 с. [*Artyuhov V.G., Kovaleva T.A., Nakvasina M.A. et al.* Biofizika. M.: Akademicheskij Proekt, 2009. 294 p. (In Russian)]
4. *Фрайкин Г.Я.* Актуальные направления фотобиологических исследований // Альманах мировой науки. 2018. № 3 (23). С. 36–39. [*Frajkin G.Ya.* Aktual'nye napravleniya fotobiologicheskikh issledovanij // Al'manah mirovoj nauki. 2018. № 3 (23). P. 36–39. (In Russian)]
5. *Алипов Н.В.* О клинической эффективности дальнейшей длинноволновой УФ-терапии // Саратовский науч.-мед. жур. 2015. Т. 11. № 3. С. 431–434. [*Alipov N.V.* O klinicheskoy effektivnosti dal'nej dlinnovolnovoj UF-terapii // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2015. V. 11. № 3. P. 431–434. (In Russian)]
6. *Мосолов В.В.* Протеолитические ферменты. М.: Наука, 1971. 404 с. [*Mosolov V.V.* Proteoliticheskie fermenty. M.: Nauka, 1971. 404 p. (In Russian)]
7. *Пенджиев А.М., Абдуллаев А.* Лекарственные особенности дынного дерева // Мед. науки. 2017. № 1. С. 21–35. [*Pendzhiev A.M., Abdullaev A.* Lekarstvennyye osobennosti dynnogo dereva // Med. Nauki. 2017. № 1. P. 21–35. (In Russian)]
8. *Devaraj K.B., Kumar P.R., Prakash V.* Purification, characterization, and solvent-induced thermal stabilization of ficin from *Ficus carica* // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56 P. 11417–11423. <https://doi.org/10.1021/jf802205a>
9. *Devaraj K.B., Kumar P.R., Prakash V.* Characterization of acid-induced molten globule like state of ficin // *Int. J. Biol. Macromol.* 2009. V. 45. P. 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.05.008>
10. *Feijoo-Siota L., Villa T.G.* Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications // *J. Food Bioproc. Technol.* 2011. V. 4. P. 1066–1088. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0431-4>
11. *Homaei A., Stevanato R., Etemadipour R., Hemmati R.* Purification, catalytic, kinetic and thermodynamic characteristics of a novel ficin from *Ficus johannis* // *J. Biocatalys. Agricult. Biotechno.* 2017. V. 10. P. 360–366. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.04.008>
12. *González-Rábade N., Badillo-Corona J.A., Aranda-Barradas J.S., Oliver-Salvador M.C.* Production of plant proteases in vivo and in vitro – A review // *J. Biotechno. Adv.* 2011. V. 29. P. 983–996. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.017>
13. *Zare H., Moosavi-Movahedi A.A., Salami M. et al.* Purification and autolysis of the ficin isoforms from fig (*Ficus carica* cv. *Sabz*) latex // *J. Phytochem.* 2013. V. 87. P. 16–22. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.12.006>
14. *Haesaerts S., Buitrago J.A.R., Loris R. et al.* Crystallization and preliminary X-ray analysis of four cysteine proteases from *Ficus carica* latex // *J. Acta Cryst.* 2015. V. 71. P. 459–465. <https://doi.org/10.1107/S2053230X15005014>
15. *Baeyens-Volant D., Matagne A., Mahyaoui R.E. et al.* A novel form of ficin from *Ficus carica* latex: purification and characterization // *J. Phytochem.* 2015. V. 117. P. 154–167. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.05.019>
16. *Raskovica B., Lazica J., Polovic N.* Characterization of general proteolytic, milk clotting and antifungal activity of *Ficus carica* latex during fruit ripening // *J. Sci. Food Agriculture.* 2016. V. 96. P. 576–582. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7126>
17. *Zarea H., Moosavi-Movahedi A.A., Salami M. et al.* Autolysis control and structural changes of purified ficin from Iranian fig latex with synthetic inhibitors // *Int. J. Biol. Macromolec.* 2016. V. 84. P. 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.009>
18. *Baidamshina D.R., Trizna E.Y., Holyavka M.G. et al.* Targeting microbial biofilms using Ficin, a nonspecific plant protease roof // *Scientif. Rep.* 2017. V. 7. P. 46068. <https://doi.org/10.1038/srep46068>
19. *Абелян В.А.* Получение и применение иммобилизованных ферментов и клеток микроорганизмов. Ереван: Изд-во АН Арм. ССР, 1988. 390 с. [*Abelyan V.A.* Poluchenie i primeneniye immobilizovannykh fermentov i kletok mikroorganizmov. Erevan: Izdatel'stvo AN Arm. SSR, 1988. 390 p. (In Russian)]
20. *Березин И.В.* Биотехнология: учеб. пособие для вузов. В 8 кн. / Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова. Кн. 7: Иммобилизованные ферменты. М.: Высш. шк., 1987. 159 с. [*Berezin I.V.* Biotekhnologiya: ucheb. posobie dlya vuzov. V 8 kn. / Pod red. N.S. Egorova, V.D. Samuilova. Kn. 7: Immobilizovannyye fermenty. M.: Vyssh. Shk, 1987. 159 p. (In Russian)]
21. *Егорова Т.А., Клунова С.М., Живухина Е.А.* Основы биотехнологии. М.: Изд. центр “Академия”, 2003. 208 с. [*Egorova T.A., Klunova S.M., Zhivuhina E.A.* Osnovy biotekhnologii. Moskva: Izdat. centr “Akademiya”, 2003. 208 p. (In Russian)]

22. *Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.* Физико-химические и кинетические свойства гетерогенного биокатализатора на основе трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана // *Биофарм. журн.* 2015. № 2. С. 13–16. [*Loginova O.O., Holyavka M.G., Artyuhov V.G.* Fiziko-himicheskie i kineticheskie svojstva geterogennogo biokatalizatora na osnove tripsina, immobilizovannogo na matrice hitozana // *Biofarmaceuticheskij zhurnal.* 2015. № 2. P. 13–16. (In Russian)]
23. *Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г., Беленова А.С.* Разработка методики получения гетерогенного биокатализатора на основе трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана // *Фунд. исслед.* 2013. № 11 (3). С. 484–487. [*Loginova O.O., Holyavka M.G., Artyuhov V.G., Belenova A.S.* Razrabotka metodiki polucheniya geterogennogo biokatalizatora na osnove tripsina, immobilizovannogo na matrice hitozana // *Fundamental'nye issledovaniya.* 2013. № 11 (3). P. 484–487. (In Russian)]
24. *Логинова О.О., Холявка М.Г., Артюхов В.Г., Беленова А.С.* Подбор методики количественного определения трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана, и его каталитической активности // *Вестн. ВГУ. Серия: "Химия. Биология. Фармация"*. 2013. № 2. С. 116–119. [*Loginova O.O., Holyavka M.G., Artyuhov V.G., Belenova A.S.* Podbor metodiki kolichestvennogo opredeleniya tripsina, immobilizovannogo na matrice hitozana, i ego kataliticheskoy aktivnosti // *Vestnik VGU. Seriya: "Himiya. Biologiya. Farmaciya"*. 2013. № 2. P. 116–119. (In Russian)]

Investigation of UV Modification Processes for Free and Immobilized on the Chitosan Matrix Ficin

C. M. Pankova^a, M. G. Holyavka^{a, #}, M. S. Kondratyev^c, Yu. M. Vyshkvorkina^b,
A. N. Lukin^a, and V. G. Artyukhov^a

^a Voronezh State University, Voronezh, Russia

^b Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

^c Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

[#]E-mail: holyavka@rambler.ru

It was established that under the action of UV irradiation at doses of 151–1510 J/m², the activity of free ficin (EC 3.4.22.3) and the diameter of its molecules remained at a constant (initial) level. When using doses of 3020, 4530, 6040 J/m², a decrease in the catalytic ability of the enzyme and an increase in the diameter of its globule were registered, which is probably due to the unfolding of the enzyme molecule. After adsorption of ficin on the matrix of medium molecular weight (200 kDa) and high molecular weight (350 kDa) chitosans, the catalytic ability of the enzyme preparation did not decrease in the whole range of UV doses used by us. It can be assumed that the chitosan matrix acts as a photoprotector for ficin immobilized on it, since the changes in the IR spectra of the cysteine protease adsorbed on it practically do not affect the bands caused by the protein component of the system: amide I, amide II, amide III.

Keywords: UV irradiation, adsorption immobilization, ficin, chitosan, IR spectroscopy

УДК 539.163:574.5:597

ОЦЕНКА НАКОПЛЕНИЯ ^{137}Cs РЫБОЙ ПРЕСНОВОДНОГО ВОДОЕМА: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЩЕКИНСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ© 2020 г. Н. В. Кузьменкова^{1,2,*}, Л. Е. Ефимова³, М. М. Иванов^{3,4}, А. К. Рожкова^{1,2}, Т. Вада⁵, К. Нанба⁵, В. Н. Голосов^{3,4,6}¹ МГУ им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, Москва, Россия² Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, Москва, Россия³ МГУ им. М.В. Ломоносова, Географический факультет, Москва, Россия⁴ Институт географии РАН, Москва, Россия⁵ Университет Фукусимы, Институт радиоактивности окружающей среды, Фукусима, Япония⁶ Казанский Федеральный университет, Казань, Россия

*E-mail: kuzmenkova213@gmail.com

Поступила в редакцию 11.01.2019 г.

После доработки 08.07.2019 г.

Принята к публикации 18.09.2019 г.

Исследовано содержание ^{137}Cs в рыбе Щекинского водохранилища (Тульская область), водосбор которого располагается в пределах Плавского цезиевого пятна – территории с высокими уровнями радиоактивного загрязнения после аварии на ЧАЭС. Результаты показали, что уровень удельной активности ^{137}Cs в мышцах рыб составляет 1–2 Бк/кг, что гораздо ниже существующих предельно допустимых значений (130 Бк/кг). Были определены физико-химические свойства и удельная активность ^{137}Cs в воде водохранилища. Условия в водоеме являются комфортными для проживания и размножения рыбы. Причиной низкого содержания ^{137}Cs в воде и рыбе, обитающей в Щекинском водохранилище, помимо полураспада ^{137}Cs за прошедшие с момента аварии более 30 лет, явилось накопление на дне водохранилища относительно более чистых речных наносов. Это привело к захоронению наиболее загрязненного сразу после аварии на ЧАЭС слоя донных отложений.

Ключевые слова: ^{137}Cs , пресноводные водоемы, авария на ЧАЭС, радиоактивное загрязнение, рыба, нормы радиационной безопасности

DOI: 10.31857/S0869803120030054

Искусственные радионуклиды поступают в окружающую среду в результате ядерных взрывов, в том числе проводимых в мирных целях, а также техногенных аварий, которые иногда происходят на объектах по переработке отработанного ядерного топлива и АЭС. В частности, последствия аварии на Чернобыльской АЭС затронули около 3 млн га сельскохозяйственных угодий Европейской части России [1]. Современная система безопасности на АЭС хорошо развита, однако, как показала авария, произошедшая на АЭС “Фукусима-1” 11 марта 2011 г., предусмотреть все возможные причины аварийных ситуаций очень сложно, и всегда существует риск их возникновения. По масштабам авария на АЭС “Фукусима-1” уступает аварии на ЧАЭС, тем не менее, в ее результате пострадали обширные территории Японии: радиоцезий выпал на подстилающую поверхность в северо-западном направлении от АЭС, сформировав след шириной порядка 20 км

и длиной 50–70 км с плотностью радиоактивного загрязнения почв на 2011 г. 600–6000 кБк/м² [2–4].

Радиоактивный изотоп ^{137}Cs после выпадения из атмосферы прочно фиксируется на частицах почвы и продолжает поступать в водоемы совместно с наносами при формировании поверхностного стока и смыва с их водосборов. На склонах водосборов основным механизмом переноса ^{137}Cs и других радионуклидов, зафиксированных на почвенных частицах, является латеральный перенос. В водоемах и водотоках происходит более сложный процесс перераспределения радионуклидов. Известно, что радионуклиды при определенных условиях могут переходить из растворенной формы в нерастворимую и обратно [5].

Гидробионты являются составляющей пищевой цепочки и активно участвуют в процессах миграции радионуклидов в водоемах и водотоках. Радиоактивный ^{137}Cs – продукт деления в ядерных реакциях, включен в естественную среду

обитания всех живых организмов с момента его появления в окружающей среде. Изменения концентраций цезия в водных объектах во многом определяются обменными адсорбционными и химическими взаимодействиями с поверхностью взвесей и донных отложений. При определенных ситуациях частицы взвесей, переотложившиеся на дне водоема, могут стать источником вторичного радиоактивного загрязнения воды в результате процессов десорбции, вызванных изменением внешних условий среды. Часто именно биота может оказывать существенное влияние на перераспределение радионуклидов в окружающей среде. Биотические взаимодействия могут, например, путем изменения щелочно-кислотных условий способствовать получению растворимых лигандов или новых биоминеральных фаз [6]. Известно, что пресноводная рыба поддерживает более высокое осмотическое давление, и, следовательно, более высокие концентрации одновалентных (Na^+ , K^+) и двухвалентных ионов (Ca^{2+} , Mg^{2+}) [7]. Вероятно, поэтому в пресноводных гидробионтах определен более длительный биологический период полувыведения радиоцезия, чем в морских [8]. Морские гидробионты более активно выделяют Cs^+ (биохимический аналог K^+) через хлоридные клетки жабр во время осморегуляции [9, 10]. Эти физиологические характеристики в сочетании с рециркуляцией радиоцезия определили долгосрочное загрязнение пресноводной рыбы после аварии на Чернобыльской АЭС [11]. Это особенно важно для особей, живущих в непроточных водоемах [12]. Это определяет необходимость изучения для конкретной местности и среды обитания особенностей снижения удельной активности радиоцезия в пресноводных видах рыб. Исследования важны для прогнозирования долгосрочных тенденций радиоактивного загрязнения, а также для выявления факторов, влияющих на загрязнение пресноводных рыб. Подобная информация будет полезна для возобновления пресноводного рыболовства и предотвратит дезинформацию местного населения в будущем [13]. Радиоактивное загрязнение обширных территорий острова Хонсю, включая многочисленные водоемы, после аварии на АЭС “Фукусима-1” существенно повысило интерес к оценке негативных последствий накопления ^{137}Cs в водоемах [14].

В этой связи большой интерес представляют исследования содержания радионуклидов в рыбе, обитающей в радиоактивно загрязненных водоемах, подвергшихся влиянию аварии на Чернобыльской АЭС и расположенных на удалении от Чернобыля, где уровни начального загрязнения были сопоставимы с уровнями радиоактивности на острове Хонсю в Японии. К таким объектам относится Щекинское водохранилище, ко-

торое до настоящего времени не изучалось в части оценки радиоактивного загрязнения. Комплексная оценка радиоактивности объектов природной среды водоема позволит оптимизировать финансовые затраты при осуществлении реабилитационных мероприятий. Поэтому исследование процессов перераспределения радионуклидов между компонентами водных экосистем и состояния гидробионтов в условиях радиационного воздействия представляется крайне актуальным.

Целью исследований является определение удельной активности ^{137}Cs в основных видах рыб, обитающих в Щекинском водохранилище, которое является крупнейшим водоемом в пределах “Плавского цезиевого пятна”, и факторов, определяющих выявленное содержание ^{137}Cs в рыбе.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Щекинское водохранилище и его водосбор находятся в Тульской области к юго-западу от областного центра и попадают в зону воздействия “Плавского радиоактивного пятна”, образовавшегося в результате Чернобыльской катастрофы 1986 г. (рис. 1). Водохранилище было создано на реке Упе в 1948 г. как водоем-охладитель Щекинской ГРЭС.

Уровень загрязнения почв на части водосбора водохранилища на момент выпадения радионуклидов в начале мая 1986 г. превышал 185 кБк/м^2 [1]. Большая часть площади водосбора занята пахотными землями, доля которых с 1986 г. сократилась примерно на 10% и к настоящему времени составляет 61% от общей площади водосбора водохранилища. Именно смыв почвенных частиц и зафиксированного на них ^{137}Cs с пашни является основным источником поступления материала и собственно ^{137}Cs с водосбора в постчернобыльский период. Смыв происходит в период выпадения стокоформирующих ливней в теплое время года, а также в период весеннего снеготаяния. Следует отметить, что в связи с потеплением климата в последние три десятилетия коэффициент поверхностного стока воды со склонов в период снеготаяния в лесостепной зоне сократился с 0.5 в 1960–1970-е годы до 0.1 после начала 1990-х и менее 0.05 в 2000-е годы [15].

Это привело к существенному снижению склонового смыва на пашне и сокращению поступления наносов в водохранилище. Размывы берегов русел рек являются вторым по значимости источником наносов, поступающих в водохранилище. Однако за период с 1986 г., согласно данным стационарных гидрологических наблюдений Росгидромета в районе г. Тула, было только девять половодий с высокими уровнями воды, когда на отдельных участках русла могли проис-

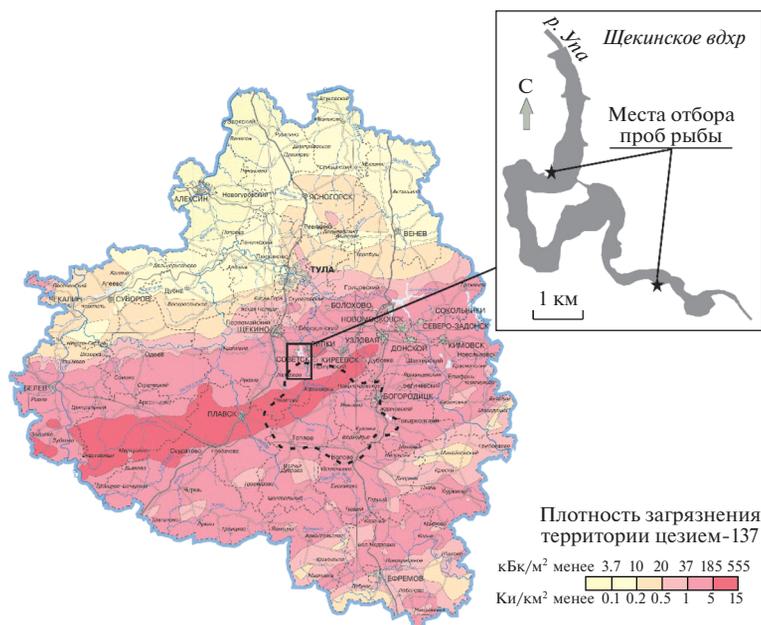


Рис. 1. Расположение Шекинского водохранилища, “Плавского радиоактивного пятна” [1] и места отбора образцов рыбы. Пунктирной линией отмечена граница бассейна водохранилища.

Fig. 1. The Shekino reservoir location, the Plavsky radioactive spot location [1] and the place of fish sampling. The dashed line marks the reservoir basin boundary.

ходить размывы берегов. Берега Шекинского водохранилища, как было установлено при полевом обследовании, на большем протяжении не размываются.

Большая часть наносов, сформировавшихся на водосборе р. Упы и переносимых ¹³⁷Cs, поступает в постоянные водотоки, а затем ниже по течению перехватываются водохранилищем. Исследований удельной активности ¹³⁷Cs в основных видах рыб Шекинского водохранилища до настоящего времени не проводилось.

Морфометрические характеристики и особенности химического состава стока с водосбора в совокупности определяют специфику обменных процессов с участием основных химических компонентов и степень миграционной активности радионуклидов в водоеме замедленного водообмена. Шекинское водохранилище по классификации Богословского [16] можно отнести к транзитно-аккумулятивному водоему, в которых велика зависимость гидрологического режима от площади водосбора, заметно превышающей площадь самого водохранилища. Гидрохимический режим Шекинского водохранилища зависит также от внутриводоемных процессов и поступления воды с водосборов.

Водохранилище имеет площадь 6 км² и вытягивается вверх от плотины по затопленной долине р. Упы, создавая выше водохранилища зону подпора. Глубины водохранилища небольшие и

составляют от 0.5 до 7 м. Участки максимальных глубин, согласно результатам батиметрической съемки водохранилища, выполненной в 2014 г., соответствуют расположению затопленного русла р. Упы.

Результаты исследования мощности донных осадков и послонного содержания в них радионуклидов, выполненного в различных частях акватории водохранилища, показывают, что в пределах мелководных частей водохранилища, которые соответствуют затопленной пойме р. Упы, по существу не происходит накопление донных отложений. Более того, на исследованных участках содержание ¹³⁷Cs в пойменных почвах существенно ниже, чем на склонах, окружающих водохранилище. Можно предположить, что в связи с малой глубиной на данных участках в холодные зимы промерзала вся толща воды. В результате верхние горизонты донного грунта примерзали ко льду и вместе со льдом при его таянии относились на участки больших глубин. На участках больших глубин, которые соответствуют положению русла и примыкающих к нему участков низкой поймы, за период с 1986 г. отложились наносы, мощностью до 3 м, содержание ¹³⁷Cs в поверхностном слое которых колеблется от 112 до 438 Бк/кг, в зависимости от точки пробоотбора. Пик содержания ¹³⁷Cs располагается на глубине 74–78 см – 4500 Бк/кг и соответствует поверхности дна водоема в месте отбора в 1986 г. Таким образом, наиболее загрязненные ¹³⁷Cs горизонты донных отложений

погребены под слоем менее загрязненных отложений, накопившихся в водоеме с 1986 г. до февраля 2018 г. Тем не менее содержание ^{137}Cs в поверхностном слое отложений до сих пор превышает фоновые значения [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Гидролого-гидрохимические съемки водохранилища выполнены в меженные периоды (январь и июль 2018 г.). Для съемок были заранее намечены вертикали, которые равномерно покрывают всю площадь водохранилища. Часть станций были приурочены к затопленному руслу р. Упы, поскольку в этих местах достигается максимальная глубина, и, как следствие, динамические процессы, происходящие в водохранилище, проявляются здесь в большей степени. Несколько станций располагались на пойменных участках водоема. В ходе выполнения съемок были измерены температура, электропроводность и рН воды, определена концентрация растворенного кислорода. Температуру и электропроводность воды измеряли с помощью многопараметрового зонда YSI 85–100 (YSI Inc., США). Результаты определения электропроводности приведены к 18°C . Содержание растворенного кислорода определено оксиметром PRO ODO (YSI Inc., США).

Отобранные пробы воды анализировались в гидрохимической лаборатории Красновидовской учебно-научной станции МГУ. Содержание главных ионов определено методами жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза, используемыми в гидрохимии пресных вод [18]. Содержание ортофосфатов и валового фосфора в фильтрованных через мембранный фильтр диаметром пор 0.45 мкм и нефилтрованных пробах определяли методом Морфи–Райли в соответствии с [19, 20]. Содержание минерального кремния определяли фотометрическим методом в виде желтой кремнемолибденовой гетерополикислоты [21]. Показатели содержания в воде органических веществ (перманганатная окисляемость (ПО), химическое потребление кислорода (ХПК) были определены объемным методом по Кубелю (ПО) и с бихроматом калия.

Вылов рыбы проводили в июле на двух участках. Один располагался у левого берега в районе выхода вод из сбросного канала, используемых ГРЭС для охлаждения, а второй на реке Упа, до впадения в водохранилище (рис. 1). В результате полевых работ на Щекинском водохранилище было отобрано 17 образцов рыбы (один толстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix*), 12 карасей (*Carassius carassius*), четыре плотвы (*R. rutilus rutilus*)). Информация о выловленной рыбе, включая возраст рыбы, длину, вес, пол и точное название рыбы представлена в табл. 1. После вылова рыбу отмывали, чтобы снизить вероятность прилипания

частиц донных осадков, содержащих цезий. Для правильного определения содержания ^{137}Cs , потенциально-опасного для человека, рыбу потрошили и изучали только ту ее часть, которую возможно употреблять в пищу [22, 23]. В некоторых случаях внутренние части и мышцы анализировали отдельно [24]. Из нескольких рыб была отделена икра, толстолобик был разделен на органы (жабры, голова, печень, хвостовая часть). Рыбу после отлова измельчали, паковали в плотные пластиковые контейнеры и взвешивали. Взвешивание, определение пола и возраста рыбы осуществлялись в полевых условиях. После этого все образцы были заморожены и измерены на гамма-спектрометре с полупроводниковым детектором Canberra GR 3818 (Canberra Industries Inc., США). Обработку данных осуществляли в программе Gennie 2000. Удельная активность ^{137}Cs определена на сырую массу, в карасе и плотве только для мышц. Эффективность регистрации составила от 2.5 до 4.5% в зависимости от массы измеряемого образца.

Из водохранилища были отобраны две пробы воды объемом 20 л, в которых определено содержание ^{137}Cs . Исследование проводилось с помощью сорбента АНФЕЖ (ионообменный материал из гексацианоферрата (II) железа-калия ($\text{Fe}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$) на целлюлозном носителе). Предел обнаружения определяемой активности – 0.001 Бк/л, эффективность сорбента 94–98%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Поверхностные воды водохранилища имеют среднюю минерализацию, относятся к гидрокарбонатному классу, группе кальция и магния. В меженные периоды минерализация вод максимальна (400–500 мг/л), что связано с большой долей грунтовых вод в питании водоема. Распределение физико-химических параметров воды по длине и глубине водохранилища обусловлено сезонными различиями термических, гидродинамических условий и изменениями химического состава воды р. Упа. Воды водохранилища слабощелочные (рН – 7.6–8.5). Наибольших значений величина рН достигает в поверхностных слоях водоема летом и обусловлена процессами фотосинтеза. Летом поверхностные горизонты водохранилища пересыщены кислородом, в придонных слоях минимальное содержание растворенного кислорода на самой глубокой из вертикалей (5.5 м) составило 2.2 мг/л (24% нас.). Физико-химическим параметром водной среды, необходимым для комфортности жизни рыб, можно считать содержание органических веществ. Суммарная величина ХПК летом изменялась в диапазоне 8–25 мгО/л, что ниже установленной величины

Таблица 1. Удельная активность ^{137}Cs и характеристики исследованных образцов рыбы, выловленных в Щекинском водохранилище
Table 1. Specific activity of ^{137}Cs and fish characteristics from Schekino reservoir

Название вида	Пол	Длина, см	Масса, г	A, Бк/кг	Погрешность, %
<i>Carassius carassius</i>	самка	26.0	325.6	<МДА	—
<i>Carassius carassius</i>	самка	23.5	226.7	0.45	1.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	25.0	326.0	1.26	2.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	24.8	287.5	1.33	3.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	24.5	243.6	2.46	4.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	20.8	315.8	0.37	5.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	22.5	215.8	3.61	6.0
<i>Carassius carassius</i>	самец	23.6	231.1	2.57	7.0
<i>Carassius carassius</i>	самка	22.4	216.8	<МДА	—
<i>Carassius carassius</i>	самка	19.0	111.2	1.27	9.0
<i>Carassius carassius</i>	самец	21.0	147.4	2.83	10
<i>Carassius carassius</i>	самка	23.4	265.8	1.41	11
<i>Carassius carassius</i> (икра)*	самка	—	15.4	1.91	5.0
<i>R. rutilus rutilus</i>	самец	18.5	68.2	1.61	12
<i>R. rutilus rutilus</i>	самец	18.0	61.3	0.23	13
<i>R. rutilus rutilus</i>	н.о.**	16.2	38.2	<МДА	14
<i>R. rutilus rutilus</i>	н.о.	14.7	35.5	2.02	15
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (мышцы с хвостовой части)	самец	59.0	56.1	1.6	17
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (мышцы с центральной части тела)	самец	59.0	51.8	<МДА	18
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (мышцы головная часть)	самец	59.0	52.2	0.7	19
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (печень и кишечник)	самец	59.0	46.8	1.4	20
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i> (жабры)	самец	59.0	53.2	0.1	21

*Результаты по икре представлены средним из четырех образцов.

**н.о. — не определен.

ПДК (30 мгО/л). Более 50% составляла взвешенная форма органического вещества. Содержание калия мало (0.5–1.2 мг/л). Все приведенные выше гидрохимические параметры в целом можно назвать комфортными для проживания и репродуктивной способности рыб Щекинского водохранилища. Кроме того, такие виды как плотва и карп спокойно переносят снижение концентрации кислорода до значений менее 5 мг/л, а карась может жить при дефиците кислорода (2–0.5 мг/л) [25].

В результате исследования рыбы была определена удельная активность ^{137}Cs в образцах рыбы (табл. 1, 2). Согласно санитарным правилам и нормативам СанПиН 2.3.2.1078-01 о содержании радионуклидов в рыбе и рыбной продукции пре-

дельно допустимые удельные активности для рыбы составляют 130 Бк/кг — ^{137}Cs [26]. Удельная активность ^{137}Cs в воде составляет в среднем 0.068 Бк/л.

ОБСУЖДЕНИЕ

Особое влияние на накопление радионуклидов рыбами оказывает гидрологический режим водного объекта. Важным фактором дезактивации донных осадков, а соответственно и среды питания рыбы являются уровни радиоактивного загрязнения, интенсивность и объемы поступающих наносов. Установлено, что при поступлении “чистых” наносов сильно загрязненные донные осадки достаточно быстро оказываются погреш-

Таблица 2. Средние значения для всех исследованных параметров образцов рыбы, выловленных в Щекинском водохранилище и K_k

Table 2. The average values for all the studied parameters of fish samples caught in the Shchekinsky reservoir and K_k

Название вида	Длина, см	Масса, г	A , Бк/кг	K_k
<i>Carassius carassius</i>	23.0 ± 0.58	242 ± 19.4	1.75 ± 0.33	25.8
<i>R. rutilus rutilus</i>	16.8 ± 0.87	50.8 ± 8.19	1.28 ± 0.54	18.9
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	—	—	0.59 ± 0.34	13.9

бенными и перестают быть источником загрязнения гидробионтов. Несмотря на достаточно высокий уровень радиоактивности поверхностного слоя донных осадков Щекинского водохранилища (112–438 Бк/кг), наиболее загрязненный горизонт 4500 Бк/кг за время, прошедшее с момента аварии 1986 г., оказался глубоко погребенным (более 50 см) [17].

При определении периода полувыведения ^{137}Cs из пресноводных рыб в озерах на основе исследований, проведенных на ряде озер, загрязненных после аварии на Чернобыльской АЭС [27], было выявлено, что время и характер водообмена являются важными факторами. Щекинское водохранилище относится к числу водоемов с регулярным водообменом, так как в нем, благодаря регулярным сбросам, поддерживается относительно устойчивый уровень воды. Аналогичные выводы были получены в результате проведения исследований на озерах в районе Фукусимы с медленным характером водообмена, по сравнению с озерами с быстрым водообменом [13]. Сравнительно быстрый водообмен, характерный для Щекинского водохранилища, положительно влияет на его самоочищение от ^{137}Cs . Если проводить сравнение подобного рода объектов на территориях, подвергшихся Чернобыльскому воздействию и аварии на атомной электростанции АЭС “Фукусима-1”, следует отметить, что на острове Хонсю процессы переотложения и захоронения загрязненных горизонтов донных осадков проходят быстрее благодаря поступлению значительных объемов наносов при прохождении мощных паводков в сезон тайфунов, характерных для субтропического климата [4]. Однако при этом следует учитывать и размеры водохранилища. Также на наиболее загрязненных территориях, расположенных к северо-западу от АЭС “Фукусима-1”, с 2011 г. активно проводились рекультивационные мероприятия, которые в настоящее время завершены в пределах сельскохозяйственных земель и селитебных территорий и продолжают на залесенных территориях. Это способствовало снижению уровня загрязнения поступа-

ющих в водоем наносов. Наконец, высокие дождевые паводки способствуют активным русловым переформированиям, что также снижает содержание радионуклидов в наносах [4].

Распределение радионуклидов между биотической и абиотической составляющей пресноводных экосистем принято характеризовать с помощью коэффициента концентрирования (K_k) — отношение удельной активности радионуклида в объекте к удельной активности в воде [28, 29]. Некоторые исследователи отмечают [30], что такой подход имеет ряд недостатков, однако в настоящее время он представляется наиболее приемлемым вариантом по сравнению с другими методами количественной оценки доступности радионуклидов для различных организмов экосистемы. Кроме того, его отличает относительная простота использования для оценки экологических рисков [31, 32]. Для Щекинского водохранилища K_k составил от 14 до 26 (мин. 5.3 — макс. 52), (табл. 2). Такой коэффициент накопления считается достаточно низким и указывает на невысокую разницу удельной активности ^{137}Cs в воде и рыбе водоема.

Количество калия в воде Щекинского водохранилища составляет 0.5–1.2 мг/л, что также оказало влияние на содержание ^{137}Cs в рыбе, поскольку известно, что коэффициент концентрирования (K_k) ^{137}Cs в рыбе напрямую связан с концентрацией калия в воде водоема [33]. Важно отметить, что подобные исследования проводятся на Щекинском водохранилище впервые, и полученные данные вносят заметный вклад в оценку и прогнозирование последствий радиационных аварий для пресноводных экосистем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют сделать вывод, что современное содержание ^{137}Cs в особях рыбы Щекинского водохранилища оценивается как удовлетворительное. Это связано с тем, что несмотря на местонахождение водоема в пределах территории с высокими уровнями Чернобыльских выпадений, время, прошедшее с момента аварии (33 года), и латеральный перенос относительно менее загрязненных радионуклидами наносов привели к захорониванию наиболее загрязненного горизонта донных осадков, являющегося основным источником поступления радиоактивных веществ в воду и, как следствие, в рыбу. Следовательно, одним из важнейших факторов самоочищения водоемов от радиоактивного загрязнения является скорость поступления наносов с водосбора и их переотложения в водоеме. Результаты определения удельной активности ^{137}Cs в рыбе Щекинского водохранилища свидетельству-

ют о низком уровне его содержания. Рыбу исследованного водоема можно употреблять в пищу.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование было выполнено в рамках реализации совместного проекта РФФИ и Японского общества продвижения науки (JSPS) № ЯФа 18-55-50002 и в рамках госзадания НИЛ эрозии почв и русловых процессов географического ф-та МГУ, номер АААА-А16-116032810084-0 (гидролого-геохимические исследования). Авторы выражают благодарность руководству Шекинской ГРЭС за содействие, оказанное при проведении исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас радиоактивного загрязнения Европейской части России, Белоруссии и Украины / Под ред. Ю.А. Израэля. М.: Росгидромет, Роскартография, 1998. 142 с. [Atlas radioaktivnogo zagryazneniya Evropejskoj chasti Rossii, Belorussii i Ukrainy / Pod red. Yu.A. Izraelya. M.: Rosgidromet, Roskartografiya, 1998. 142 s. (In Russian)]
2. Kirchner G., Bossewa P., De Cort M. Radioactivity from Fukushima Dai-ichi in air over Europe; part 2: what can it tell us about the accident? // J. Environ. Radioact. 2012. V. 114. P. 35–40.
3. Tazoe H., Hosoda M., Sorimachi A. et al. Radioactive pollution from Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant in the terrestrial environment // Radiat. Prot. Dosim. 2012. V. 152. № 1–3. P. 198–203.
4. Konoplev A., Golosov V., Laptev G. et al. Behavior of accidentally released radiocesium in soil–water environment: Looking at Fukushima from a Chernobyl perspective // Environ. Radioact. 2016. V. 151. P. 568–578.
5. Newsome L., Morris K., Lloyd J. The biogeochemistry and bioremediation of uranium and other priority radionuclides // Chem. Geology. 2014. V. 363. P. 164–184.
6. Hickman Jr. C.P., Trump B.F. The kidney // Fish Physiology / Eds W.S. Hoar, D.J. Randall. V. I. New York: Academic Press, 1969. P. 91–239.
7. Ugedal O., Jonsson B. Effects of temperature and body size on radiocaesium retention in brown trout, *Salmo trutta* // Freshwater Biol. 1992. V. 28. P. 165–171.
8. Zhao X., Wang W-X., Yu K. et al. Biomagnification of radiocesium in a marine piscivorous fish // Marine Ecol. Progress Ser. 2001. V. 222. P. 227–237.
9. Furukawa F., Watanabe S., Kaneko T. Excretion of cesium and rubidium via the branchial potassium-transporting pathway in Mozambique tilapia // Fish. Sci. 2012. V. 78. P. 597–602.
10. Comans R.N., Middelburg J., Zonderhula J. et al. Mobilization of radiocaesium in pore water of lake sediments // Nature 1989. V. 339. P. 367–369.
11. Bulgakov A.A., Konoplev A.V., Smith J.T., et al. Modelling the long-term dynamics of radiocaesium in closed lakes // J. Environ. Radioact. 2002. V. 61. P. 41–53.
12. Wada T., Fujita T., Nemoto Y. et al. Effects of the nuclear disaster on marine products in Fukushima: an update after five years // J. Environ. Radioact. 2016. V. 164. P. 312–324.
13. Wada T., Nemoto Y., Shimamura S. et al. Effects of the nuclear disaster on marine products in Fukushima // J. Environ. Radioact. 2013. V. 124. P. 246–254.
14. Konoplev A., Wakiyama Y., Wada T. et al. Radiocesium in ponds in the Near Zone of Fukushima Dai-ichi NPP // Water Resources. 2018. V. 45. № 4. P. 589–597.
15. Barabanov A., Dolgov S., Koronkevich N. et al. Surface runoff and snowmelt infiltration into the soil on plowlands in the forest-steppe and steppe zones of East European Plain // Eur. Soil Sci. 2018. V. 51. № 1. P. 66–72.
16. Богословский Б.Б. Озероведение. М.: МГУ, 1960. 333 с. [Bogoslovskij B.B. Ozerovedenie. M.: MGU, 1960. 333 s. (In Russian)]
17. Иванов М.М., Гуринов А.Л., Иванова Н.Н. и др. Динамика накопления ¹³⁷Cs в донных осадках Шекинского водохранилища в постчернобыльский период // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 6. С. 651–663. [Ivanov M.M., Gurinov A.L., Ivanova N.N. i dr. Dinamika nakopleniya ¹³⁷Cs v donnyh osadkah Shchekinskogo vodохранилища v postchernobyl'skij period // Radiaci. biologiya. Radioekologiya. 2019. T. 59. № 6. S. 651–663. (In Russian)]
18. ПНД Ф 14.1:2:4.132-98. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации анионов: нитрита, нитрата, хлорида, фторида, сульфата и фосфата в пробах природной, питьевой и сточной воды методом ионной хроматографии. [PND F 14.1:2:4.132-98. Kolichestvennyj himicheskij analiz vod. Metodika vypolneniya izmerenij massovoj koncentracii anionov: nitrita, nitrata, hlorida, ftorida, sul'fata i fosfata v probah prirodnoj, pit'evoj i stochnoj vody metodom ionnoj hromatografii (In Russian)]
19. РД 52.10.738-2010. Массовая концентрация фосфатов в морских водах. Методика измерений фотометрическим методом. [RD 52.10.738-2010. Massovaya koncentraciya fosfatov v morskikh vodah. Metodika izmerenij fotometricheskim metodom (In Russian)]
20. РД 52.10.739-2010. Массовая концентрация общего фосфора в морских водах. Методика измерений фотометрическим методом после окисления персульфатом калия. [RD 52.10.739-2010. Massovaya koncentraciya obshchego fosfora v morskikh vodah. Metodika izmerenij fotometricheskim metodom posle okisleniya persul'fatom kaliya (In Russian)]
21. ПНД Ф 14.1:2:4.215-06. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации кремнекислоты (в пересчете на кремний) в питьевых, поверхностных и сточных водах фотометрическим методом в виде желтой кремнемолибденовой гетерополикислоты. [PND F 14.1:2:4.215-06. Kolichestvennyj himicheskij analiz vod. Metodika izmerenij massovoj koncentracii kremnekisloty (v pereschete na kremnij) v pit'evykh, poverhnostnykh i stochnykh vodah fotometricheskim metodom v vide zhelttoj kremnemolibdenovoj geteropolikisloty (In Russian)]
22. Аналитические, кинетические и расчетные методы в гидрохимической практике / Под ред. П.А. Лозо-

- вика, Н.А. Ефременко. СПб.: Нестор-История, 2017. 272 с. [Analiticheskie, kineticheskie i raschetnye metody v gidrohimicheskoy praktike / Pod red. P.A. Lozovika, N.A. Efremenko. Spb.: Nestor-Istoriya, 2017. 272 s. (In Russian)]
23. *Brittain J.* Radiocesium in brown trout from a subalpine lake ecosystem after the Chernobyl reactor accident // *J. Environ. Radioact.* 1991. V. 14. P. 181–191.
 24. *Saxen R., Heinavaara S., Rask M. et al.* Transfer of ^{137}Cs into fish in small forest lakes // *J. Environ. Radioact.* 2010. V. 101. P. 647–653.
 25. *Zalewska T., Suplinska M.* Fish pollution with antropogenic ^{137}Cs in the southern Baltic Sea // *Chemosphere.* 2013. V. 90. P. 1760–1766.
 26. СанПиН 2.3.2.1078-01 о содержании радионуклидов в рыбе и рыбной продукции [SanPiN 2.3.2.1078-01 o sodержanii radionuklidov v rybe i rybnoj produkcii (In Russian)]
 27. *Särkkä J., Jämsä Al, Luukko A.* Chernobyl-derived radio-caesium in fish as dependent on water quality and lake morphometry // *J. Fish. Biol.* 1995. V. 46. P. 227–240.
 28. *Yankovich T., Beresford N., Fesenko S. et al.* Establishing a database of radionuclide transfer parameters for freshwater wildlife // *J. Environ. Radioact.* 2013. V. 126. P. 299–313.
 29. *Howard B., Baresford N., Copplestone D. et al.* The IAEA handbook on radionuclide transfer to wildlife // *J. Environ. Radioact.* 2013. 121. P. 55–74.
 30. *Wood M., Beresford N., Howard B. et al.* Evaluating summarized radionuclide concentration ratio datasets for wildlife // *J. Environ. Radioact.* 2013. 126. P. 314–325.
 31. IAEA. Quantification of radionuclide transfer in terrestrial and fresh-water environments for radioecological assessments. IAEA-TECDOC-1616. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2009.
 32. IAEA. Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments. IAEA Technical report series. TRS No 472. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010.
 33. *Konovalenko L., Bradshaw C., Andersson E. et al.* Evaluation of factors influencing accumulation of stable Sr and Cs in lake and coastal fish // *J. Environ. Radioact.* 2016. V. 160. P. 64–79.

assessment of ^{137}Cs Accumulation in Freshwater Fish: Investigation Results in the Shchekino Reservoir

N. V. Kuzmenkova^{a,b,#}, L. E. Efimova^c, M. M. Ivanov^{c,d}, A. K. Rozhkova^{a,b}, T. Wada^e, K. Nanba^e, and V. N. Golosov^{c,d,f}

^a Lomonosov Moscow State University, Chemistry Faculty, Moscow, Russia

^b Vernadsky Institute of Geochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^c Lomonosov Moscow State University, Geography Faculty, Moscow, Russia

^d Geography Institute, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

^e Fucushima University, Institute of Environmental Radioactivity, Fucushima, Yapan

^f Kazan University, Kazan, Russia

[#] E-mail: kuzmenkova213@gmail.com

The radionuclides content in the Shchekino reservoir (Tula region) fish was investigated. Reservoir catchment located within the Plavsky radioactive spot, the territory with high radioactivity level because of the Chernobyl accident. The results showed that the level of specific activity in the muscles of fish is 1–2 Bq/kg, which is much lower than the existing limits values (130 Bq/kg). The water physicochemical properties and specific activity of ^{137}Cs of the reservoir were determined. Reservoirs conditions are comfortable for fish living and productivity. The reason for the content decrease in water and fish living in the Shchekino reservoir, in addition to the ^{137}Cs half-life over the past 30 years after the accident, was the relatively clean river sediments accumulation at the bottom of the reservoir. This led to the most contaminated sediment layer burial after the accident time.

Keywords: ^{137}Cs , freshwater reservoirs, Chernobyl accident, radioactive pollution, fish, radiation safety standards

УДК 539.163:574.4:631.4

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ И ^{137}Cs В ПРОФИЛЯХ ПОЧВ ЛЕСНЫХ, АГРО- И УРБОЭКОСИСТЕМ МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ

© 2020 г. Д. Н. Липатов^{1,*}, Д. В. Манахов¹, С. В. Мамихин¹, Г. И. Агапкина¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Факультет почвоведения, Москва, Россия

*E-mail: dlip@soil.msu.ru

Поступила в редакцию 11.07.2019 г.

После доработки 20.08.2019 г.

Принята к публикации 18.09.2019 г.

Определены типы распределения ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K и ^{137}Cs в профилях природных и техногенно-нарушенных дерново-подзолистых, дерново-подзолисто-глеевых, агродерново-подзолистых почв и стратоземов, изученных в Солнечногорском и Раменском районах Московской области. Выявлена сопряженность профильных распределений естественных радионуклидов. Установлено, что плотность загрязнения ^{137}Cs на исследованных территориях составляет 0.8–3.0 кБк/м² и соответствует уровням, обусловленным глобальными выпадениями. Зафиксированные уровни удельной активности ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в почвенных горизонтах зависят в наибольшей степени от районов залегания, различающихся по составу почвообразующих и подстилающих пород, тогда как влияние типов почв и экосистем не выражено.

Ключевые слова: естественные радионуклиды, ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K , ^{137}Cs , радиационный мониторинг, дерново-подзолистые почвы, стратоземы

DOI: 10.31857/S0869803120040062

Радиационная обстановка в экосистемах в значительной степени определяется γ -излучением естественных радионуклидов (ЕРН), рассеянных в горных породах, почвах и других природных средах. γ -Излучение от естественных радионуклидов, содержащихся в почве, формируют представители семейств ^{238}U и ^{232}Th , а также ^{40}K [1, 2]. Региональные уровни удельных активностей ЕРН в почвах определяются концентрацией этих элементов в почвообразующих породах. Вместе с тем важной задачей является определение диапазонов варьирования удельных активностей ЕРН в отдельных почвенных профилях с различным составом почвообразующих и подстилающих пород.

Современные параметры радиационно-экологической обстановки окружающей среды в Москве и Московской области изменяются в пределах многолетних колебаний их фоновых уровней [3]. Плотность загрязнения ^{137}Cs на территории Московской области в постчернобыльский период не превышала 3.7 кБк/м² (0.1 Ки/км²) [4], и региональное распределение этого техногенного радионуклида сформировано преимущественно глобальными выпадениями. Оценка уровней удельной активности ЕРН и ^{137}Cs в почвах различных

экосистем — необходимая составная часть регионального радиационного мониторинга.

В профилях почв лесных таежных ландшафтов распределение ЕРН связано с процессами подзолообразования и элювиально-иллювиальной дифференциации [5, 6]. Вертикальное распределение ^{137}Cs в почвах лесных экосистем на территориях чернобыльских выпадений характеризуется долгосрочной аккумуляцией этого техногенного радионуклида в верхних органогенных горизонтах и резким уменьшением его удельной активности глубже слоя 10–20 см [7, 8]. Актуальной задачей является анализ профильных распределений ЕРН и ^{137}Cs в почвах лесных экосистем на фоновых территориях, включающих Московскую область.

В профилях агропочв распределение ЕРН, унаследованное от доагрогенных аналогов, может изменяться вследствие различной миграционной подвижности радионуклидов [9, 10]. К увеличению радиоактивного загрязнения верхних слоев агропочв может приводить долгосрочное применение фосфорных удобрений и мелиорантов, для которых характерны высокие уровни удельной активности радионуклидов ряда ^{238}U – ^{226}Ra [11, 12]. Распределение ^{137}Cs в профилях агропочв на

территориях чернобыльских выпадений проявляет равномерный характер в пределах пахотного горизонта, что объясняется его ежегодным перемешиванием в ходе сельскохозяйственных работ, а в подпахотной толще удельная активность этого радионуклида резко снижается [13, 14]. Распределение ЕРН и ^{137}Cs в верхних слоях агропочв значительно изменяется под влиянием эрозионных процессов, при этом радионуклиды могут рассматриваться в качестве трассеров этих явлений [15, 16]. Изучение профильных распределений ЕРН и ^{137}Cs в почвах агроэкосистем на фоновых территориях, включающих Московскую область, необходимо для оптимизации параметров радиационного контроля сельскохозяйственных угодий.

В профилях урбопочв распределение ЕРН и ^{137}Cs связано с влиянием не только природных, но и техногенных факторов [17–19]. В урбоэкосистемах некоторые техногенные компоненты (стройматериалы, дорожные покрытия, промышленные отходы) могут характеризоваться значениями удельных активностей ЕРН, превышающими в несколько раз фоновые уровни, установленные для почв природных ландшафтов [20, 21]. В ряде исследований для почв городских и промышленных территорий отмечены особенности распределения радионуклидов, связанные с техногенной миграцией радионуклидов, включением в верхние горизонты строительных отходов и насыпных песчаных слоев [22–24]. Анализ распределений ЕРН и ^{137}Cs в профилях урбопочв важен для контроля радиационной безопасности городской среды, а также позволяет применять радионуклиды в качестве трассеров при реконструкции этапов землепользования в урбоэкосистемах.

Цель данной работы – описание особенностей распределения ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K и ^{137}Cs в профилях почв лесных, агро- и урбоэкосистем, исследованных на территории Московской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводились в 2012–2016 гг. в Солнечногорском и Раменском районах Московской области. В Солнечногорском районе изучались лесные биогеоценозы и агроценозы на территории Учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ им. М.В. Ломоносова “Чашниково” вблизи одноименной деревни. В качестве объектов исследования выступили почвенные разрезы: № 1–3 – в различных лесных биогеоценозах, № 4–6 – в агроценозах с 10–20-летним периодом залежного использования (табл. 1). В Раменском районе исследования проведены в техногенно-нарушенных биогеоценозах и урбоэкосистемах вблизи деревни Полушкино. В качестве объектов выступили почвенные разрезы: № 7–9 – в раз-

личных техногенно-нарушенных лесных биогеоценозах, № 10–12 – в урбоэкосистемах придорожной зоны и дачных участков (табл. 1). Описание морфологического строения профилей с выделением горизонтов и таксономическим названием почв проводилось на основе Классификации почв России [25].

Пробоотбор в почвенных разрезах выполняли по генетическим горизонтам, а в пределах горизонтов – по 10–20-сантиметровым слоям. В лабораторных условиях пробы высушивали, помещали в измерительные сосуды и герметизировали, после установления радиоактивного равновесия ^{226}Ra – ^{222}Rn в них измеряли удельную активность ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K и ^{137}Cs на сцинтилляционном гамма-спектрометре с детектором NaI(Tl) 63×63 “Мультирад” (ООО “НТЦ Амплитуда”, Россия).

При статистической обработке данных по каждому профилю проводили проверку нормального закона распределения с помощью критерия Уилка–Шапиро. Для выявления взаимосвязей рассчитывали коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена. Для оценки влияния глубины пробоотбора, типов почв и экосистем, а также их региональной приуроченности на варьирование ЕРН и ^{137}Cs проводили четырехфакторный дисперсионный анализ без учета влияния взаимодействия факторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в профиле дерново-подзолистой почвы на покровном суглинке, подстилаемом мореной, имеет достаточно равномерный характер (рис. 1,а). Отмечаются слабовыраженный минимум удельных активностей ЕРН в горизонте EL и их отчетливое увеличение в горизонте Bc1 по сравнению с нижележащим горизонтом D.

Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в дерново-подзолистой почве на покровном суглинке, подстилаемом флювиогляциальными отложениями, неоднородно в различных частях профиля (рис. 1,б). В пределах верхней толщи, включающей горизонты AY, AEL и EL, распределение ^{226}Ra имеет равномерный характер с уровнем удельной активности 26–28 Бк/кг. Распределение ^{232}Th и ^{40}K характеризуется увеличением удельной активности в горизонте EL. В средней части профиля в горизонте BEL отмечается резкое почти двукратное уменьшение удельных активностей всех ЕРН. В глубоких слоях почвы они продолжают уменьшаться, но плавно, доходя в горизонте D до минимальных значений: ^{226}Ra – 8 Бк/кг, ^{232}Th – 7 Бк/кг, ^{40}K – 257 Бк/кг.

Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в дерново-подзолисто-глеевой конкреционной почве относит-

Таблица 1. Характеристика экосистем и почв на исследованных территориях
Table 1. Characteristics of ecosystems and soils in the studied areas

Район исследования	Номер почвенного разреза	Координаты	Фитоценоз, местоположение участка	Название почвы, морфологическое строение профиля, горизонты (см)
Солнечногорский район, vicinity деревни Чашниково	1	56.04347° с.ш. 37.17250° в.д.	Ельник с подростом дуба и подростом из рябины	Дерново-подзолистая легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом мореной AY(0-12)-AEL(12-25)-EL(25-36)-BEL(36-50)-BT1(50-70)-BCt(70-100)-D(100-120)
	2	56.04434° с.ш. 37.16928° в.д.	Дубово-еловый лес	Дерново-подзолистая легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом флювиогляциальными отложениями O(0-1)-AY(1-12)-AEL(12-45)-EL(45-60)-BEL(60-84)-BF(84-110)-D(110-130)
	3	56.02639° с.ш., 37.19930° в.д.	Елово-березовый лес	Дерново-подзолисто-глеевая конкреционная легкосуглинистая почва на покровном суглинке O(0-1)-AY(1-10)-AEL(10-22)-ELnn(22-36)-BEL(36-46)-BTg(46-60)-G(60-100)
	4	56.03912° с.ш., 37.16787° в.д.	Разнотравно-злаковый луг в агроценозе на 10-летней залежи	Агродерново-подзолистая легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом мореной P(0-30)-BEL(30-40)-BTy(40-80)-D(80-100)
	5	56.03990° с.ш., 37.16818° в.д.	Разнотравно-злаковый луг в агроценозе на 10-летней залежи	Агродерново-подзолистая легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом мореной P(0-30)-BEL(30-43)-BTy(43-65)-BT(65-90)-BCg(90-105)
	6	56.04172° с.ш., 37.16918° в.д.	Разнотравно-злаковый луг в агроценозе на 20-летней залежи	Агродерново-подзолистая легкосуглинистая на покровном суглинке, подстилаемом мореной P(0-30)-BEL(30-43)-BT(43-68)-BC(68-106)-C(106-120)
Раменский район, vicinity деревни Полушкино	7	55.69069° с.ш. 38.05964° в.д.	Злаково-разнотравный луг после корчевки леса	Дерново-подзолистая турбированная легкосуглинистая на покровном суглинке AYtr(0-10)-BEL(10-20)-BT(20-60)-C(60-90)
	8	55.69256° с.ш. 38.05133° в.д.	Березово-дубовый лес рядом с автодорогой	Дерново-подзолистая глееватая турбированная легкосуглинистая на покровном суглинке AYtr(0-10)-BELtr(10-20)-BT(20-40)-BTg(40-70)-Cg(70-100)
	9	55.70025° с.ш. 38.04717° в.д.	Дубово-березовый лес рядом с автодорогой	Дерново-подзолистая легкосуглинистая на погребенной дерново-подзолисто-глеевой AY(0-17)-AEL(17-25)-BEL(25-35)-BT(35-45)-[ELg](45-60)-[BELg](60-80)-[BTg](80-100)
	10	55.70511° с.ш. 38.0525° в.д.	Участок без растений в придорожной зоне	Стратозем серогумусовый урбостратифицированный легкосуглинистый AYur(0-10)-RY1ur(10-50)-RY2ur(50-70)-BD(70-90)
	11	55.69931° с.ш. 38.04464° в.д.	Рудеральный луг в придорожной зоне	Стратозем серогумусовый урбостратифицированный легкосуглинистый на погребенной дерново-подзолистой почве AYur(0-10)-RY1ur(10-30)-RY2ur(30-50)-BEL(50-70)-BT(70-90)
	12	55.70100° с.ш. 38.04758° в.д.	Злаково-разнотравный луг на дачном участке	Агростратозем серогумусовый урбостратифицированный среднесуглинистый на погребенной дерново-подзолистой почве Pur(0-10)-RYur(10-30)-BEL(30-50)-BT(50-70)-BD(70-90)

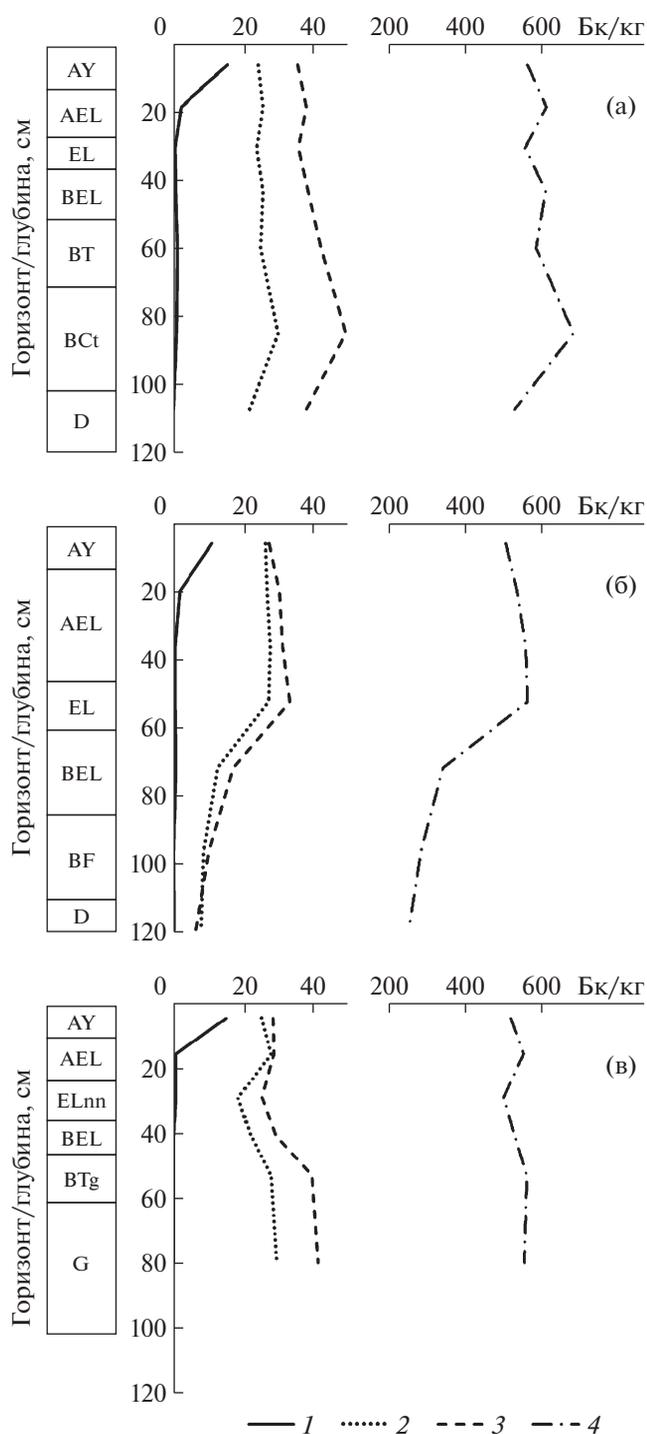


Рис. 1. Профильное распределение удельной активности ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) в дерново-подзолистых почвах: разр. 1 (а), разр. 2 (б) и дерново-подзолисто-глеевой почве разр. 3 (в) в лесных экосистемах.

Fig. 1. Profile distribution of specific activity ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) in sod-podzolic soils: profile 1 (a), profile 2 (b) and sod-podzolic-gley soil: profile 3 (c) in forest ecosystems.

ся к элювиально-иллювиальному типу (рис. 1,в). В подзолисто-элювиальном горизонте ELnn зафиксированы наименьшие значения удельных активностей ЕРН. В вышележащем горизонте AEL удельная активность ЕРН немного выше, но их аккумуляция в горизонте АУ не отмечена. В иллювиально-глеевом горизонте BTg наблюдается резкое увеличение удельных активностей, в нижележащем глеевом горизонте G продолжается их плавное увеличение.

Распределение ^{137}Cs в исследованных дерново-подзолисто-глеевой и дерново-подзолистых почвах характеризуется регрессивно-аккумулятивным типом (рис. 1). Значения удельной активности ^{137}Cs уменьшаются в пределах верхних горизонтов АУ и АЕЛ – от 10–16 до 1–2 Бк/кг, а в более глубоких слоях – ниже 1 Бк/кг. Плотность загрязнения ^{137}Cs для этих почв составляла 2.2–3.0 кБк/м².

Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в агродерново-подзолистых почвах характеризуется широким диапазоном варьирования (рис. 2). В агроэкосистеме на 10-летнем залежном участке в пределах старопашотного горизонта Р (0–30 см) отмечено два типа профильных кривых. В одном из них наблюдается достаточно равномерное распределение ЕРН в этом горизонте с постепенным уменьшением удельных активностей на его нижней границе (рис. 2,а). В подпахотной толще этого профиля отмечено резкое увеличение удельных активностей ЕРН. В нижней части этой почвы, включающей горизонты ВТу и D, наблюдается постепенное уменьшение удельных активностей ЕРН.

В распределении ЕРН по второму профилю агродерново-подзолистой почвы зафиксирован локальный минимум в слое 15–20 см старопашотного горизонта (рис. 2,б). В средней части этого профиля отмечено постепенное увеличение удельных активностей ЕРН, и максимум наблюдается в горизонте ВТу. В нижних горизонтах ВТ и ВСg наблюдается снижение удельных активностей ЕРН, соответствующее переходу к почвообразующей породе.

Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в агродерново-подзолистой почве на 20-летней залежи имеет неоднородный характер только в верхней части профиля (рис. 2,в). В пределах старопашотного горизонта зафиксированы два локальных минимума удельных активностей ЕРН: в слоях 5–10 и 20–25 см. Для распределения ^{232}Th наиболее четко выражен максимум удельной активности в верхней части подпахотного горизонта BEL. В средней и нижней частях этого профиля распределение ^{40}K достаточно равномерное, а значения удельных активностей ^{226}Ra и ^{232}Th постепенно уменьшаются при переходе к горизонтам почвообразующей породы ВС и С.

Профильное распределение ^{137}Cs в исследованных агродерново-подзолистых почвах имеет

достаточно равномерный характер в пределах старопашотного горизонта, характеризуюсь значениями около 5 Бк/кг (рис. 2). В нижней части этого горизонта при переходе к подпахотной толще удельная активность ^{137}Cs резко уменьшается до значений <1 Бк/кг и не превышает этот уровень в более глубоких слоях почвы. Плотность загрязнения ^{137}Cs для агродерново-подзолистых почв составляла 1.9–2.4 кБк/м².

Распределение ЕРН в исследованных техногенно-нарушенных дерново-подзолистых почвах можно отнести к элювиальному типу, но с различными особенностями, связанными со строением профилей (рис. 3). На участке после корчевки леса в дерново-подзолистой турбированной почве минимальные значения удельных активностей отмечены в верхнем горизонте АУtr (рис. 3,а). В средней части этого профиля распределение ЕРН достаточно равномерное. При переходе к горизонту С, представленному почвообразующей породой, отмечается почти двукратное увеличение удельной активности ^{226}Ra и ^{232}Th , тогда как этот показатель для ^{40}K снижается.

В профиле дерново-подзолистой глееватой турбированной почвы наряду с минимальными значениями в поверхностном горизонте АУtr отмечено снижение удельных активностей ^{226}Ra и ^{232}Th в горизонтах ВТ и ВТg (рис. 3,б). В горизонте ВЕLtr наблюдается локальное увеличение удельных активностей ЕРН. В нижней части профиля при переходе к горизонту С, представленного оглеенной почвообразующей породой, отмечается резкое увеличение удельных активностей: ^{226}Ra – в 2 раза и ^{232}Th – в 1.5 раза. Распределение ^{40}K в средней и нижней частях этого профиля – равномерное.

В дерново-подзолистой на погребенной дерново-подзолисто-глеевой почве отмечается аналогичное уменьшение удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в верхнем горизонте АУtr (рис. 3,в). Еще один локальный минимум удельных активностей зафиксирован в средней части этого профиля: для ^{226}Ra и ^{40}K – в горизонте ВЕL, для ^{232}Th – в горизонте ВТ. В нижней части профиля при переходе к горизонтам [ЕLg], [ВЕLg] погребенной дерново-подзолисто-глеевой почвы отмечается увеличение удельных активностей ЕРН в 2–3 раза.

Распределение ^{137}Cs в профилях техногенно-нарушенных дерново-подзолистых почв имеет равномерно-аккумулятивный характер в пределах верхней 20-сантиметровой толщи (рис. 3). При этом в верхних горизонтах различных профилей значения удельных активностей варьируют от 3.5 до 15.0 Бк/кг. В средних и нижних слоях большинства профилей значения удельной активности ^{137}Cs не превышают 1 Бк/кг (рис. 3,а, 3,б). Однако в дерново-подзолистой на погребенной

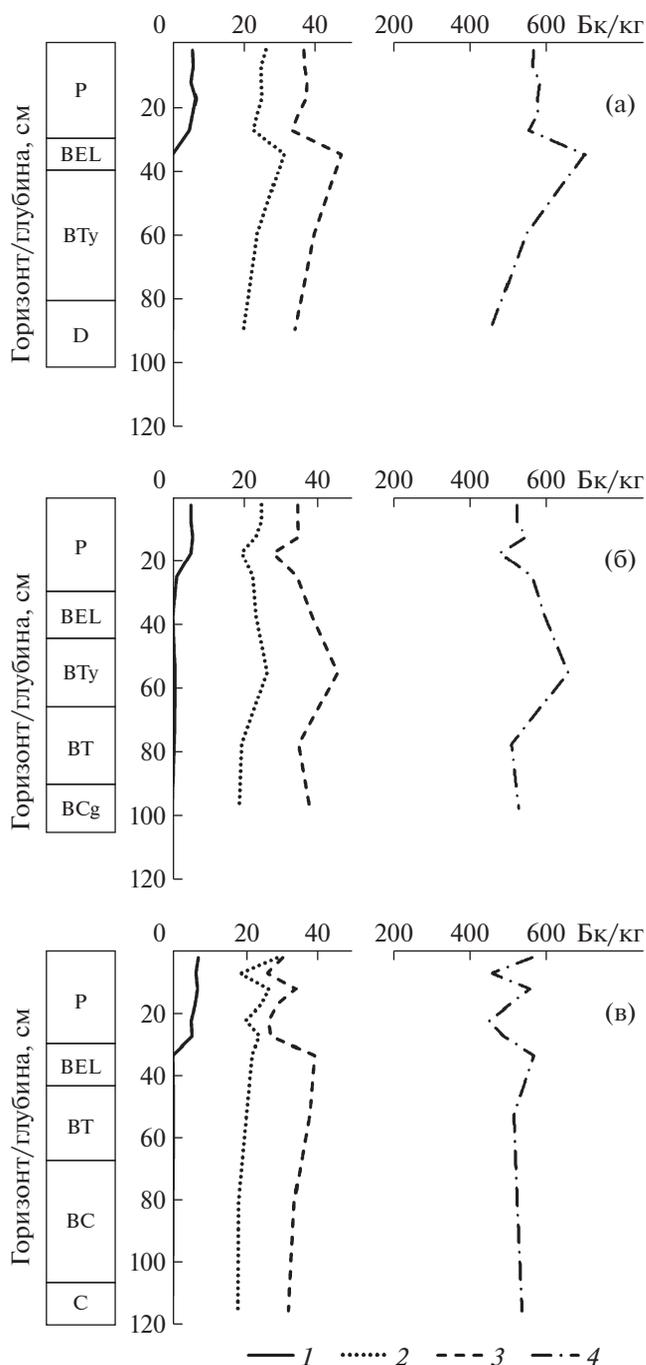


Рис. 2. Профильное распределение удельной активности ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) в агродерново-подзолистых почвах: разр. 4 (а), разр. 5 (б), разр. 6 (в) в сельскохозяйственных залежных экосистемах.

Fig. 2. Profile distribution of specific activity ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) and ^{40}K (4) in agro-podzolic soils: profile 4 (a), profile 5 (b), profile 6 (c) in agricultural fallow ecosystems.

дерново-подзолисто-глеевой почве отмечены значения удельной активности ^{137}Cs , равные 1.1–1.5 Бк/кг и приуроченные к верхней границе по-

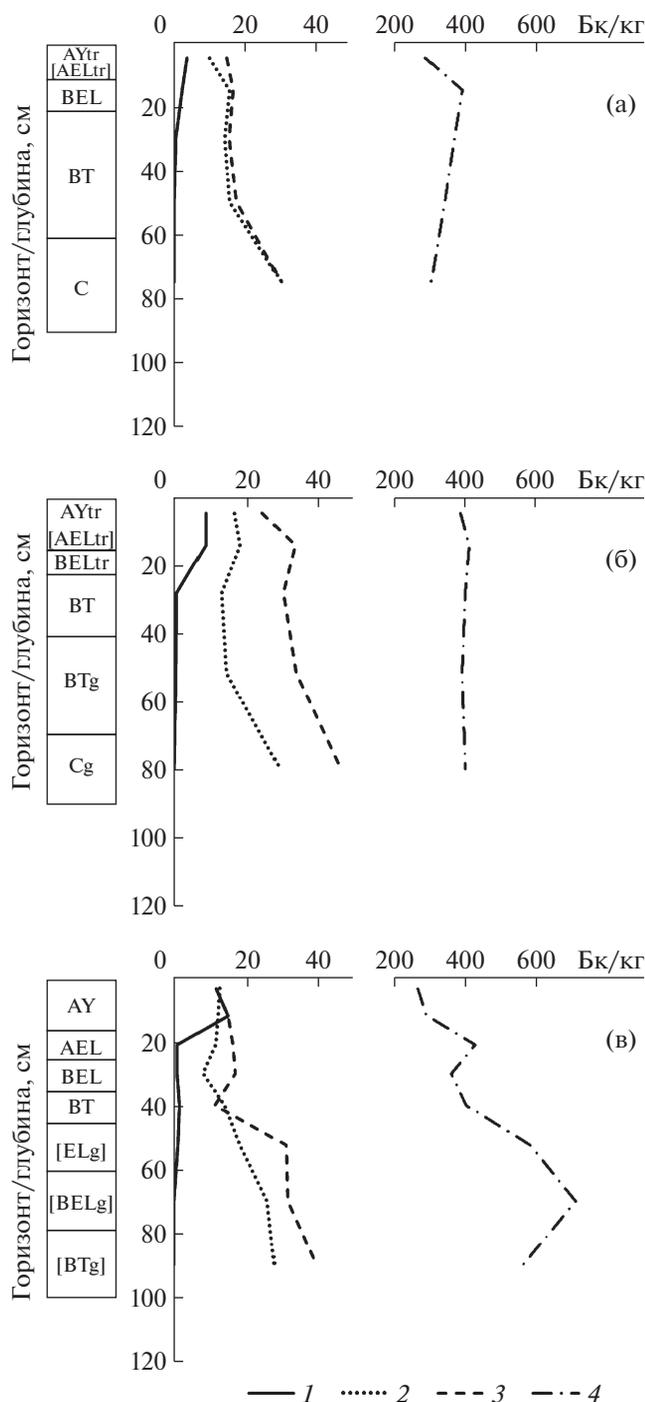


Рис. 3. Профильное распределение удельной активности ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) в дерново-подзолистых почвах: разр. 7 (а), разр. 8 (б), разр. 9 (в) в техногенно-нарушенных лесных экосистемах.

Fig. 3. Profile distribution of specific activity ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) in sod-podzolic soils: profile 7 (a), profile 8 (b) profile 9 (c) in technogenic-disturbed forest ecosystems.

гребенных горизонтов. Плотность загрязнения ^{137}Cs для техногенно-нарушенных дерново-подзолистых почв составляла 0.8–3.0 кБк/м².

Распределение ЕРН в стратоземах и агростратоземе относится к элювиальному типу, но в ряде случаев в верхних горизонтах отмечено увеличение их удельных активностей (рис. 4). Так, в профиле стратозема серогумусового урбостратифицированного отчетливая аккумуляция ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K зафиксирована в верхнем горизонте АУ_г (рис. 4,а). В средней части этого профиля в насыпных стратифицированных горизонтах RY1_г и RY2_г наблюдаются стабильно низкие значения удельных активностей ЕРН. В нижней части профиля при переходе к подстилающей породе в горизонте ВD удельные активности ЕРН резко увеличиваются: ^{226}Ra – в 1.5 раза, ^{232}Th – в 2.5 раза, ^{40}K – в 2 раза.

Распределение ЕРН в профиле стратозема урбостратифицированного на погребенной дерново-подзолистой почве относится к регрессивно-элювиальному типу (рис. 4,б). Минимальные значения удельных активностей ^{232}Th и ^{40}K наблюдаются в поверхностном горизонте АУ_г, а ^{226}Ra – в верхнем стратифицированном горизонте RY1_г. В средней части профиля стратозема удельные активности ЕРН постепенно увеличиваются и резко возрастают при переходе к погребенным нижним горизонтам BEL и BT дерново-подзолистой почвы.

Распределение ^{226}Ra и ^{40}K в профиле агростратозема урбостратифицированного на погребенной дерново-подзолистой почве относится к регрессивно-элювиальному типу (рис. 4,в). В распределении ^{232}Th отмечена слабовыраженная аккумуляция в верхнем агрогумусовом горизонте R_г. Удельные активности ЕРН постепенно увеличиваются в глубь этого профиля, достигая наибольших значений в переходном к подстилающей породе горизонте ВD.

Профильное распределение ^{137}Cs в стратоземах отличается от других исследованных почв. Для этих техногенных почв зафиксировано увеличение удельной активности ^{137}Cs в средних слоях профиля, тогда как в поверхностном горизонте этот показатель существенно ниже (рис. 4,а, 4,б). В горизонтах RY1_г и RY2_г на глубине 10–50 см удельная активность ^{137}Cs составила 2–4 Бк/кг, а в поверхностном слое АУ_г – 0–1 Бк/кг. В нижних горизонтах, залегающих глубже 60 см, этот радионуклид не обнаружен. В агростратоземе распределение ^{137}Cs имеет регрессивно-аккумулятивный тип (рис. 4в), сходный с таковым в исследованных дерново-подзолистых почвах. Плотность загрязнения ^{137}Cs для стратоземов составила 1.3–1.5 кБк/м², для агростратозема – 1.8 кБк/м².

Варьирование удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K удовлетворяло нормальному закону

распределения, проверка проводилась для отдельных почвенных профилей с помощью критерия Уилка–Шапиро ($p = 0.05$). Варьирование ^{137}Cs не подчинялось нормальному закону. Анализ сопряженности удельных активностей ЕРН по каждому профилю проведен с помощью коэффициента корреляции Пирсона, так как они удовлетворяли нормальному закону распределения, а для ^{137}Cs — на основе коэффициента корреляции Спирмена вследствие отличия его распределения от нормального закона.

Результаты корреляционного анализа показывают статистически значимые ($p = 0.05$) положительные коэффициенты корреляции между ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K во всех профилях дерново-подзолистых почв, стратоземов и агростратоземе (табл. 2). В отдельных профилях агродерново-подзолистых почв не отмечена сопряженность между ^{226}Ra и ^{232}Th , а в турбированных дерново-подзолистой и дерново-подзолистой глееватой почвах не зафиксирована статистически значимая ($p = 0.05$) взаимосвязь ^{40}K с ^{226}Ra и ^{232}Th .

В большинстве исследованных профилей не выявлено статистически значимых ($p = 0.05$) коэффициентов корреляции ^{137}Cs с ЕРН. Вместе с тем в нескольких профилях отмечены значимые отрицательные коэффициенты корреляции ^{137}Cs с ЕРН (табл. 2), указывающие на противоположный характер кривых их профильного распределения. В агродерново-подзолистой почве на 20-летней залежи зафиксирован значимый положительный коэффициент корреляции между ^{137}Cs и ^{226}Ra , отражающий возможность сходного распределения этих радионуклидов в условиях постагрогенной трансформации.

С помощью дисперсионного анализа определялись факторы, влияющие на варьирование удельных активностей радионуклидов во всех исследованных почвенных профилях (табл. 3). Для ^{137}Cs дисперсионный анализ проводили после нормализации данных с помощью логарифмического преобразования исходных значений. Результаты дисперсионного анализа показывают, что глубина пробоотбора статистически значимо ($p = 0.05$) влияет на полученные значения удельных активностей ^{232}Th и ^{137}Cs в исследованных почвах. Значения удельной активности ^{232}Th увеличиваются в глубь профилей, составив для верхних горизонтов в среднем 25 Бк/кг, а для нижних на глубине 100 см — 33 Бк/кг. Средняя удельная активность ^{137}Cs в верхних горизонтах исследованных почв равна 6 Бк/кг, в средней части профилей снижается до 1 Бк/кг, в нижней части радионуклид не обнаруживается.

Результаты дисперсионного анализа показывают, что такие факторы, как тип почвы и экосистемы (лесные, агро-, урбо-) не оказывают статисти-

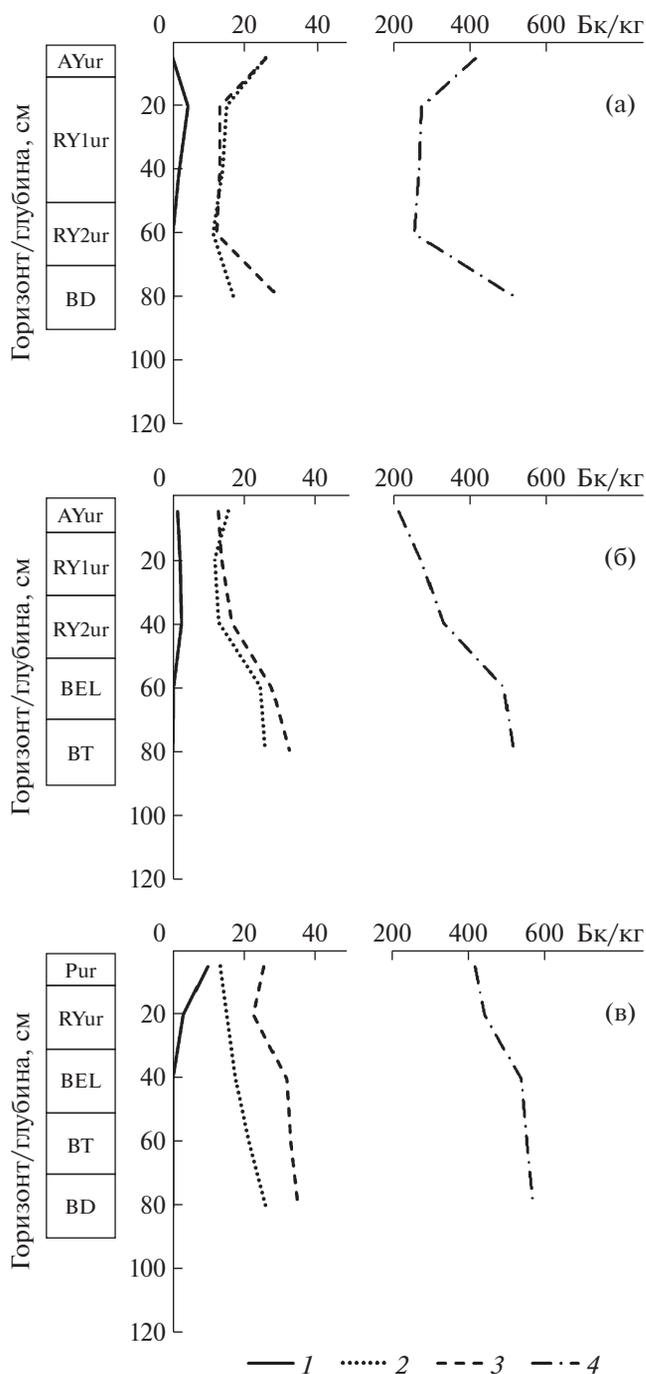


Рис. 4. Профильное распределение удельной активности ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) и ^{40}K (4) в стратоземах: разр. 10 (а), разр. 11 (б), и агростратоземе разр. 12 (в) в урбоэкосистемах.

Fig. 4. Profile distribution of specific activity ^{137}Cs (1), ^{226}Ra (2), ^{232}Th (3) and ^{40}K (4) in stratozems: profile 10 (a), profile 11 (b) and agricultural stratozem: profile 12 (c) in urban ecosystems.

стически значимого ($p = 0.05$) влияния на полученные значения удельных активностей ЕРН и ^{137}Cs (табл. 3). Наиболее важным фактором, опре-

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между удельными активностями ²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K и ¹³⁷Cs в исследованных почвенных профилях
Table 2. The correlation coefficients between the specific activities of ²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K and ¹³⁷Cs in the studied soil profiles

Номер почвенного разреза	Коэффициенты корреляции между удельными активностями радионуклидов					
	коэффициенты корреляции Пирсона между ЕРН			коэффициенты корреляции Спирмена между ЕРН и ¹³⁷ Cs		
	²²⁶ Ra	²²⁶ Ra	²³² Th	²²⁶ Ra	²³² Th	⁴⁰ K
	²³² Th	⁴⁰ K	⁴⁰ K	¹³⁷ Cs	¹³⁷ Cs	¹³⁷ Cs
1	+0.81**	+0.98**	+0.81**	+0.46	-0.03	+0.46
2	+0.97**	+0.98**	+0.98**	+0.38	+0.38	+0.38
3	+0.75*	+0.91**	+0.79*	-0.15	-0.74*	-0.58
4	+0.87**	+0.95**	+0.82**	+0.32	-0.25	+0.28
5	+0.52	+0.65*	+0.89**	+0.46	-0.50	-0.21
6	+0.10	+0.44	+0.73*	+0.72**	-0.41	-0.10
7	+0.98**	+0.30	+0.10	-0.60	-0.87*	-0.05
8	+0.84*	+0.41	+0.50	-0.20	-0.90**	-0.30
9	+0.88**	+0.82**	+0.84**	-0.42	-0.80**	-0.77**
10	+0.71*	+0.68*	+0.98**	-0.22	-0.22	-0.22
11	+0.95**	+0.89**	+0.98**	-0.90**	-0.60	-0.60
12	+0.87**	+0.89**	+0.95**	-0.90**	-0.78*	-0.90**

Уровень значимости рассчитанных коэффициентов корреляции: * $p < 0.10$, ** $p < 0.05$.

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа для оценки влияния различных факторов на варьирование ²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K и ¹³⁷Cs в исследованных почвенных профилях
Table 3. Results of variance analysis to assess the influence of different factors on the variation of ²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K and ¹³⁷Cs in the studied soil profiles

Фактор варьирования	²²⁶ Ra		²³² Th		⁴⁰ K		ln(¹³⁷ Cs)	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Глубина пробоотбора	1.98	0.15	4.91	0.01**	1.54	0.23	47.61	0.00**
Тип почвы	0.42	0.65	0.01	0.99	2.29	0.11	1.13	0.33
Тип экосистемы	0.47	0.50	0.19	0.67	0.10	0.76	0.48	0.49
Район	18.67	0.00**	27.26	0.00**	40.33	0.00**	1.14	0.29

Уровень значимости рассчитанных значений F-критерия Фишера: ** $p < 0.05$.

деляющим уровни удельных активностей ЕРН в изученных почвах, выступил район исследования, обуславливающий различия в составе почвообразующих и подстилающих пород. В Солнечногорском районе (вблизи деревни Чашниково) преобладают покровные суглинки, подстилаемые моренными валунными суглинками с линзами флювиогляциальных отложений, а в Раменском районе (вблизи деревни Полушкино) – покровные суглинки, подстилаемые моренными глинами и тяжелыми суглинками с линзами флювиогляциальных отложений [26]. Средние значения удельных активностей ²²⁶Ra, ²³²Th, ⁴⁰K для почв в Солнечногор-

ском районе выше, чем в Раменском районе (табл. 4). При этом наблюдается широкий размах варьирования значений удельных активностей ЕРН в почвах обоих исследованных районов. В работе А.Н. Переволоцкого и Т.В. Переволоцкой отмеченные в верхних горизонтах лесных почв коэффициенты вариации удельных активностей ²²⁶Ra и ²³²Th составляли 20–30%, тогда как для ⁴⁰K они снижены до 9–17% [27]. Следует отметить, что в нашей работе не выявлено влияние района на полученные значения удельной активности ¹³⁷Cs в исследованных почвах.

Таблица 4. Средние значения и размах варьирования удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в почвах (0–100 см) на исследованных территориях Московской области

Table 4. Mean values and range of variation of specific activities ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K in soils (0–100 cm) in the studied areas of the Moscow region

Значения	Солнечногорский район, вблизи деревни Чашниково	Раменский район, вблизи деревни Полушкино
	^{226}Ra , Бк/кг	
Среднее	23	18
Минимум – Максимум	8–32	8–30
	^{232}Th , Бк/кг	
Среднее	34	24
Минимум – Максимум	7–49	11–46
	^{40}K , Бк/кг	
Среднее	540	401
Минимум – Максимум	257–697	216–716

ОБСУЖДЕНИЕ

Равномерное распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в дерново-подзолистой почве (рис. 1,а) обусловлено, по-видимому, слабой выраженностью элювиально-иллювиальных процессов. Локальный минимум в горизонте ЕL сформирован элювиальными процессами, при этом некоторая доля подвижных соединений ЕРН перенесена в нижележащие горизонты ВТ1 и ВСt. Увеличение удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в горизонте ВСt и их уменьшение в нижележащем горизонте D связаны с профилем изменением гранулометрического и минералогического состава почвообразующей породы и подстилающих моренных суглинков.

Распределение ЕРН в дерново-подзолистой почве на покровном суглинке, подстилаемом флювиогляциальными отложениями, характеризуется резким уменьшением удельных активностей в нижней части профиля (рис. 1,б). Такой значительный градиент можно объяснить переходом к песчаной флювиогляциальной подстилающей породе, ее минералогический состав отличается от покровных и моренных суглинков.

Распределение ЕРН в дерново-подзолисто-глеевой конкреционной почве сформировано элювиально-иллювиальными процессами с выносом подвижных форм ^{226}Ra и ^{232}Th из подзолисто-элювиального горизонта и их аккумуляцией в иллювиально-глеевом и глеевом горизонтах (рис. 1,в). В целом для исследованных дерново-подзолисто-глеевой и дерново-подзолистых почв наибольшие значения удельных активностей ЕРН выявлены в горизонтах ВТg, G, ВСt, имеющих средне- и тяжелосуглинистый гранулометрический состав, а наименьшие – в горизонте D,

сформированном песчаной флювиогляциальной подстилающей породой.

Выявленные особенности профилейного распределения ЕРН в старопашотном горизонте агродерново-подзолистых почв обусловлены, по-видимому, процессами постагрогенной трансформации в условиях 10–20-летней залежи. Можно предполагать, что локальные минимумы удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K , зафиксированные в различных слоях старопашотного горизонта (рис. 2), сформировались вследствие элювиальных процессов в постагрогенный период. Для почв, описанных на 10-летней залежи, элювиальный вынос подвижных форм ЕРН приурочен к нижней части старопашотного горизонта. На участке 20-летней залежи этот процесс охватывает также слой 5–10 см старопашотного горизонта (рис. 2,в). При этом накопление ЕРН может происходить в подпашотном горизонте ВЕL, а также в нижележащем горизонте ВТу агродерново-подзолистых почв.

Регрессивно-аккумулятивный тип распределения ^{137}Cs в дерново-подзолисто-глеевой и дерново-подзолистых почвах в лесных экосистемах (рис. 1) обусловлен необменной сорбцией радионуклида глинистыми минералами в верхнем горизонте АУ. Медленное заглубление ^{137}Cs в горизонт АЕL происходит в ходе диффузии и биотурбационных процессов. Равномерный тип распределения ^{137}Cs , зафиксированный в пределах старопашотного горизонта агродерново-подзолистых почв (рис. 2), сформирован в результате его многократного перемешивания при проведении вспашек в период сельскохозяйственного использования. Следует отметить, что не происходит выраженной вертикальной миграции ^{137}Cs в пределах старопашотного горизонта за 10–20-летний срок

залежного состояния. Значения плотности загрязнения ^{137}Cs , равные 1.9–3.0 кБк/м², зафиксированные для исследованных почв Солнечногорского района, соответствуют уровням, обусловленным глобальными выпадениями (<3.7 кБк/м²).

Элювиальный тип распределения ЕРН в дерново-подзолистых турбированных и глееватых почвах в нарушенных лесных экосистемах сформирован природными и техногенными факторами. Вследствие угнетения древесного покрова, отсутствия лесной подстилки, турбирования верхних горизонтов, привноса дорожной пыли и бытовых отходов усиливаются элювиальные процессы в поверхностном горизонте АУ(АУtr), при этом иллювиальное накопление ^{226}Ra и ^{232}Th в средней части профиля не выражено (рис. 3). Резкое увеличение удельных активностей ^{226}Ra и ^{232}Th , выявленное в глубоких слоях профилей, связано с переходом к горизонту С – почвообразующей породе, минералогический состав которой отличается от вышележащих почвенных горизонтов.

Распределение ЕРН в верхней толще стратоземов связано с техногенным строением горизонтов, а в более глубоких слоях унаследовано от погребенных природных почв и обусловлено педо- и литогенными факторами. Аккумуляция ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в горизонте АУг стратоземов связана с его техногенным характером. Урбостратифицированные горизонты RY1ug, RY2ug имели супесчаный гранулометрический состав и низкие значения удельных активностей ЕРН (рис. 4, а, 4, б). Верхние урбаногенные и стратифицированные горизонты, как правило, формируются из глубоких слоев почвы, перемещенных на поверхность при проведении земляных работ, или из завезенных плодородных и насыпных грунтов. Поэтому они могут резко отличаться по своим свойствам от генетических горизонтов почв.

В агростратоземе более высокие значения удельной активности ^{232}Th приурочены к среднесуглинистому агрогумусовому горизонту Рг (рис. 4, в). Увеличение удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в глубоких слоях стратоземов и агростратозема обусловлено переходом к погребенным горизонтам ВЕL, ВТ и ВD дерново-подзолистых почв.

Равномерно-аккумулятивный тип распределения ^{137}Cs в верхних горизонтах техногенно-нарушенных дерново-подзолистых турбированных и глееватых почв (рис. 3) обусловлен более интенсивным заглуплением радионуклида по сравнению с ненарушенными почвами. Техногенные турбационные процессы и перемещение поверхностных почвенных слоев приводят к перераспределению и выносу ^{137}Cs из этих горизонтов. Низкие значения удельной активности ^{137}Cs характерны для поверхностных горизонтов почв,

которые подвергались значительному техногенному турбированию, перемещению или сформированы при участии насыпных слоев. Варьирование удельной активности ^{137}Cs в средних слоях профилей стратоземов (рис. 4, а, 4, б) связано с различным возрастом их техногенных горизонтов. Стратифицированные горизонты RY1ug и RY2ug, а также погребенные почвенные горизонты, которые ранее располагались на поверхности почвы, могут содержать пул ^{137}Cs , поступавший в составе глобальных радиоактивных выпадений в предшествующие периоды, начиная с 1950-х годов. При этом поверхностные горизонты стратоземов, сформированные в последние десятилетия, загрязнены этим радионуклидом в гораздо меньшей степени. Различные горизонты в профилях стратоземов и других техногенных почв могут маркироваться на основе значений удельной активности ^{137}Cs с целью определения возраста их техногенной трансформации при реконструкции урбоэкосистем. Зафиксированные для исследованных почв Раменского района значения плотности загрязнения ^{137}Cs , равные 0.8–3.0 кБк/м², соответствуют уровням, обусловленным глобальными выпадениями (<3.7 кБк/м²). В стратоземах и некоторых турбированных почвах характерно снижение плотности загрязнения ^{137}Cs вследствие техногенного перемещения почвенных слоев и рассеивания радионуклида.

Выявленная в большинстве исследованных почв, статистически значимая положительная корреляция удельных активностей ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K указывает на сопряженность их профильных распределений (табл. 2). Такая педогенная взаимосвязь распределений ЕРН может ослабевать в распаханых и турбированных профилях вследствие смешивания различных горизонтов почвы.

Статистически значимое влияние глубины пробоотбора на полученные значения удельной активности ^{232}Th обусловлено значительной дифференцированностью профилей вследствие различного минералогического состава верхних горизонтов, почвообразующих и подстилающих пород. Аэротехногенное поступление ^{137}Cs на поверхность почвы формирует резкие градиенты распределения при переходе от верхних горизонтов к нижележащей толще, определяя значимое влияние глубины пробоотбора на полученные значения удельной активности этого радионуклида.

Результаты дисперсионного анализа показывают, что важнейшим фактором, определяющим уровни ЕРН в исследованных почвах, является район залегания, обуславливающий различия в составе почвообразующих и подстилающих пород, тогда как влияние их типовой принадлежности и экосистемной приуроченности не выраже-

но (табл. 3). Известно, что удельные активности ЕРН в почвах мира варьируют в широких диапазонах, а в качестве среднемировых приняты следующие значения: ^{226}Ra — 30 Бк/кг, ^{232}Th — 35 Бк/кг, ^{40}K — 400 Бк/кг [2]. Средние удельные активности ^{226}Ra , отмеченные на исследованных территориях Солнечногорского и Раменского районов Московской области (табл. 4), были ниже среднемирового значения. Средняя удельная активность ^{232}Th для почв в Солнечногорском районе близка к среднемировому значению, тогда как в Раменском районе значительно ниже этого уровня. Средняя удельная активность ^{40}K для почв в Раменском районе практически совпадает со среднемировым значением, а в Солнечногорском районе — в 1.35 раза выше. В мониторинговых исследованиях почв и грунтов Москвы и Московской области отмечались сходные с нашими результатами и еще более низкие уровни удельных активностей ЕРН: ^{226}Ra — 15–19 Бк/кг, ^{232}Th — 18–21 Бк/кг, ^{40}K — 345–377 Бк/кг [3], что позволяет считать их региональной особенностью. Широкий размах варьирования удельных активностей ЕРН, выявленный в пределах отдельных почвенных профилей и территорий, необходимо учитывать при планировании пробоотбора в радиационных исследованиях.

ВЫВОДЫ

1. Распределение ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K в профилях дерново-подзолистых и дерново-подзолисто-глеяных почв в лесных экосистемах унаследовано от почвообразующей и подстилающей породы, а также связано с различной выраженностью элювиально-иллювиальных процессов. Увеличение удельных активностей ЕРН в нижней части профилей характерно для дерново-подзолистых почв на покровных суглинках, подстилаемых моренными суглинками, а уменьшение — для подстилаемых песчаными флювиогляциальными отложениями.

2. В верхней толще агродерново-подзолистых и техногенно-нарушенных турбированных дерново-подзолистых почв распределение ЕРН проявляет элювиальный характер.

3. Распределение ^{137}Cs в естественных дерново-подзолистых и дерново-подзолисто-глеяных почвах относится к регрессивно-аккумулятивному типу, в техногенно-нарушенных турбированных — к равномерно-аккумулятивному типу, в агродерново-подзолистых почвах проявляет равномерный характер в пределах пахотного горизонта. Плотность загрязнения ^{137}Cs на исследованных территориях Солнечногорского и Раменского районов Московской области составляет 0.8–3.0 кБк/м², что соответствует уровням, обусловленным глобальными выпадениями.

4. Распределение ЕРН в верхних горизонтах стратоземов связано с техногенным строением этих почв, а в более глубоких слоях обусловлено педо- и литогенными факторами. Увеличение удельной активности ^{137}Cs на глубине 10–50 см в профилях стратоземов свидетельствует о том, что эти горизонты располагались на поверхности почвы в предшествующие периоды глобальных радиоактивных выпадений.

5. Статистически значимые положительные коэффициенты корреляции между удельными активностями ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K , выявленные в дерново-подзолистых почвах, стратоземах и агростратоземе, указывают на сопряженность профильных распределений этих ЕРН. Корреляционные связи ^{137}Cs с ЕРН не зафиксированы в большинстве почвенных профилей.

6. Значения удельных активностей ЕРН в исследованных почвенных горизонтах зависят в наибольшей степени от района залегания, обуславливающего различия по составу почвообразующих и подстилающих пород, тогда как влияние типов почв и экосистем не выражено. Полученные уровни ^{232}Th и ^{137}Cs статистически значимо связаны с глубиной пробоотбора в исследованных профилях почв.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-04-00584 А).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Титаева Н.А.* Ядерная геохимия. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 2000. 336 с. [*Titaeva N.A.* Yadernaya geokhimiya (Nuclear Geochemistry). M.: MGU, 2000. 336 p. (in Russian)]
2. Sources and effects of ionizing radiation. V. 1: Sources. United Nations scientific committee on the effects of atomic radiation (UNSCEAR). New York, USA: United Nations Publication, 2000. 654 p.
3. Радиационная обстановка на территории России и сопредельных государств в 2017 году: Ежегодник. Обнинск: ФГБУ “НПО “Тайфун”. Росгидромет. 2018. 360 с. [*Radiacionnaya obstanovka na territorii Rossii i sopredel'nyh gosudarstv v 2017: Ezhegodnik.* (Radiation situation in Russia and neighboring countries in 2017. Yearbook). Obninsk: FGBU “NPO “Tajfun”. Rosgidromet, 2018. 360 p. (in Russian)]
4. Атлас радиоактивного загрязнения Европейской части России, Белоруссии и Украины / Под ред. Ю.А. Израэля. М.: Федеральная служба геодезии и картографии России, 1998. 143 с. [*Atlas radioaktivnogo zagryazneniya Evropejskoj chasti Rossii, Belorusii i Ukrainy* (Atlas of radioactive contamination of the European part of Russia, Belarus and Ukraine) / Ed. Yu. A. Izrael. M.: Federal'naya sluzhba geodezii i kartografii Rossii, 1998. 143 p. (in Russian)]

5. *Van den Bygaart A.J., Protz R.* Gamma radioactivity in podzolic soils of Northern Ontario, Canada // *J. Environ. Radioact.* 1998. V. 42. P. 51–64.
6. *Безносиков В.А., Лодыгин Е.Д., Шуктомова И.И.* Искусственные и естественные радионуклиды в почвах южно- и среднетаежных подзон Республики Коми // *Почвоведение.* 2017. № 7. С. 824–829. [*Beznosikov V.A., Lodygin E.D., Shuktomova I.I.* Artificial and natural radionuclides in soils of the southern and middle taiga zones of Komi Republic // *Eurasian Soil Science.* 2017. V. 50. № 7. P. 814–819.]
7. *Shcheglov A.I., Tsvetnova O.B., Klyashtorin A.L.* Biogeochemical Migration of Technogenic Radionuclides in Forest Ecosystems. M.: Nauka, 2001. 235 p.
8. *Переволоцкий А.Н., Переволоцкая Т.В.* Прогнозирование вертикального распределения ^{137}Cs и ^{90}Sr в лесных почвах Республики Беларусь // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2012. Т. 52. № 6. С. 625–635. [*Perevolotsky A.N., Perevolotskaya T.V.* The forecasting of vertical distribution of ^{137}Cs and ^{90}Sr in the forest soils of the Republic of Belarus // *Radiats. biologiya. Radioecologiya.* 2012. V. 52. № 6. P. 625–635. (in Russian)]
9. *Рачкова Н.Г., Шуктомова И.И.* Изменение подвижности соединений урана, радия и тория в пахотном слое подзолистой почвы // *Почвоведение.* 2009. № 2. С. 211–217. [*Rachkova N.G., Shuktomova I.I.* Changes in the mobility of uranium, radium, and thorium compounds in the plow layer of podzolic soil // *Eurasian Soil Science.* 2009. V. 42. № 2. P. 194–200]
10. *Nenadović S., Nenadović M., Kljajević L. et al.* Vertical distribution of natural radionuclides in soil: Assessment of external exposure of population in cultivated and undisturbed areas // *Sci. Total Environ.* 2012. V. 429. P. 309–316.
11. *Abril J.-M., García-Tenorio R., Enamorado S.M. et al.* The cumulative effect of three decades of phosphogypsum amendments in reclaimed marsh soils from SW Spain: ^{226}Ra , ^{238}U and Cd contents in soils and tomato fruit // *Sci. Total Environ.* 2008. V. 403. P. 80–88.
12. *Boukhenfouf W., Boucenna A.* The radioactivity measurements in soils and fertilizers using gamma spectrometry technique // *J. Environ. Radioact.* 2011. V. 102. P. 336–339.
13. *Агеец В.Ю.* Система радиологических контрмер в агрофере Беларуси. Гомель: РНИУП “Институт радиологии”, 2001. 250 с. [*Ageec V.Yu.* Sistema radioekologicheskikh kontrmer v agrosfere Belarusi (The system of radioecological countermeasures in the agricultural sphere of Belarus). Gomel: RNIUP “Institut radiologii”, 2001. 250 p. (in Belarus)]
14. *Липатов Д.Н., Шеглов А.И., Цветнова О.Б.* Содержание и распределение ^{137}Cs в почвах лесных и агроэкосистем Тульской области // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2007. Т. 47. № 5. С. 616–624. [*Lipatov D.N., Shcheglov A.I., Tsvetnova O.B.* The concentration and distribution of ^{137}Cs in soils of forest and agricultural ecosystems of Tula Region // *Radiats. biologiya. Radioecologiya.* 2007. V. 47. № 5. P. 616–624. (in Russian)]
15. *Mabit L., Chhem-Kieth S., Toloza A. et al.* Radioisotopic and physicochemical background indicators to assess soil degradation affecting olive orchards in southern Spain // *Agricult. Ecosyst. Environ.* 2012. V. 199. P. 70–80.
16. *Golosov V.N., Walling D.E., Konoplev A.V. et al.* Application of bomb- and Chernobyl-derived radiocaesium for reconstructing changes in erosion rates and sediment fluxes from croplands in areas of European Russia with different levels of Chernobyl fallout // *J. Environ. Radioact.* 2018. V. 186. P. 78–89.
17. *Belivermis M.* Vertical distribution of ^{137}Cs , ^{40}K , ^{232}Th and ^{226}Ra in soil samples from Istanbul and its environs, Turkey // *Radiat. Prot. Dosim.* 2012. V. 151. P. 511–521.
18. *Milenkovic B., Stajic J.M., Gulan Lj. et al.* Radioactivity levels and heavy metals in the urban soil of Central Serbia // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015. V. 22. P. 16732–16741.
19. *Vukašinić I., Todorović D., Životić Lj. et al.* An analysis of naturally occurring radionuclides and ^{137}Cs in the soils of urban areas using gamma-ray spectrometry // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2018. V. 15. P. 1049–1060.
20. *Сухоносенко Д.С.* Исследование радиационных параметров ландшафтных районов Волгоградской области и их изменения в урбанизированных и промышленных комплексах: Автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Волгоград: Астрахан. гос. ун-т, 2008. 29 с. [*Suhonosenko D.S.* Issledovanie radiacionnyh parametrov landshaftnyh rajonov Volgogradskoj oblasti i ih izmeneniya v urbanizirovannyh i promyshlennyh kompleksah (Study of radiation parameters of landscape areas of the Volgograd region and their changes in urban and industrial complexes): Abstract. Dis. ... kand. geogr. sciences. Volgograd: Astrakhan state University, 2008. 29 p. (in Russian)]
21. *Росликова В.И., Матвеев Т.И.* Радионуклиды в урбанизированных почвах города Хабаровска // *Вестн. СВНЦ ДВО РАН.* 2014. № 3. С. 46–51. [*Roslikova V.I., Matveenko T.I.* Radionuklidy v urbanizirovannyh pochvah goroda Habarovska (Radionuclides in the urban soils of the city of Khabarovsk) // *Vestnik SVNC DVO RAN.* 2014. № 3. P. 46–51. (in Russian)]
22. Пути миграции искусственных радионуклидов в окружающей среде: Пер. с англ. / Под ред. Ф. Уорнера, Р. Харрисона. М.: Мир, 1999. 512 с. [*Biogeochemical pathways of artificial radionuclides* / Ed. F. Warner, R. Harrison. M.: Mir, 1999. 512 p.]
23. *Селезнев А.А.* Поверхностная локальная миграция ^{137}Cs в условиях экосистемы города // *Вопр. радиационной безопасности.* 2009. № 3. С. 70–76. [*Seleznev A.A.* Poverhnostnaya lokal'naya migraciya ^{137}Cs v usloviyah ekosistemy goroda (Surface local migration of ^{137}Cs in the conditions of the ecosystem city) // *Radiat. safety issues.* 2009. № 3. P. 70–76. (in Russian)]
24. *Kriauciunas V.V., Iglovsky S.A., Kuznetsova I.A., Shakhova E.V., Bazhenov A.V., Mironenko K.A.* Spatial distribution of natural and anthropogenic radionuclides in the soils of Naryan-Mar // *Arctic Environ. Res.* 2018. V. 18. № 3. P. 82–89.
25. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с. [*Classification and diagnosis of soils in Russia.* Smolensk: Oikumena, 2004. 342 p. (in Russian)]
26. Почвенная карта Московской области 1985 г. / Сост. ПКО “Картография” в 1988 г.; отв. ред. Саталкин А.И. — 1:300000. [Soil map of Moscow region

- 1985 / РКО “Cartography” in 1988; Resp. ed. Sattalkin A.I. – 1:300000 (In Russian)]
27. *Переволоцкий А.Н., Переволоцкая Т.В.* О содержании ^{40}K , ^{226}Ra и ^{232}Th в лесных почвах Республики Беларусь // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. № 2. С. 193–200. [*Perevolotsky A.N., Perevolotskaya T.V.* About the contents of ^{40}K , ^{226}Ra and ^{232}Th in forest soils of the Republic of Belarus // Radiats. biologiya. radioecologiya. 2014 V. 54. № 2. P. 193–200. (in Russian)]

Distribution of Natural Radionuclides and ^{137}Cs in Soil Profiles of Forest, Agricultural and Urban Ecosystems of the Moscow Region

D. N. Lipatov^{a,*}, D. V. Manakhov^a, S. V. Mamikhin^a, and G. I. Agapkina^a

^a *Lomonosov Moscow State University, Soil Science Faculty, Moscow, Russia*

^{*} *E-mail: dlip@soil.msu.ru*

Types of distribution of ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K and ^{137}Cs has been defined in the profiles of natural and technogenic-disturbed soddy podzolic, soddy podzolic gley, agricultural soddy podzolic soils and stratozems in Solnechnogorsk and Ramenskoye districts of Moscow region. Conjugacy of profile distributions of natural radionuclides has been revealed. It has been found that the deposition of ^{137}Cs is 0.8–3.0 kBq/m² in the studied areas and corresponds to the levels caused by global fallout. The observed levels of specific activity of ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K in soil horizons depend to the greatest extent on the areas of occurrence that differ in composition of soil-forming and underlying rocks, while the influence of soil types and ecosystems is not expressed.

Keywords: natural radionuclides, ^{226}Ra , ^{232}Th , ^{40}K , ^{137}Cs , radiation monitoring, soddy podzolic soils, stratozems

XLVIII МЕЖДУНАРОДНЫЕ РАДИОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ЧТЕНИЯ, ПОСВЯЩЕННЫЕ ДЕЙСТВИТЕЛЬНОМУ ЧЛЕНУ ВАСХНИЛ В.М. КЛЕЧКОВСКОМУ

DOI: 10.31857/S0869803120040098

28 ноября 2019 г. в ФГБНУ ВНИИРАЭ состоялись очередные XLVIII Международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому.

Организационным комитетом было принято решение XLVIII Международные радиоэкологические чтения посвятить памяти первого директора института, видного ученого в области сельскохозяйственной радиологии, радиоэкологии и кормопроизводства, академика Российской академии наук Корнеева Николая Андреевича. Тема Чтений “Радиоэкология луговых экосистем” непосредственно связана с его научными исследованиями.

Перед началом Чтений состоялось открытие мемориальной доски академику РАН Н.А. Корнееву.

В работе Чтений приняли участие более 100 ученых и специалистов из различных научных организаций России и стран СНГ: Калужский научно-исследовательский и проектно-технологический институт; МГУ им. М.В. Ломоносова; НИИ Радиационной гигиены им. П.В. Рамзаева, Санкт-Петербург; “НПО “Тайфун”; Брянский государственный аграрный университет; Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, г. Владимир; ИАТЭ НИЯУ МИФИ. К началу конференции был опубликован сборник докладов “XLVIII Международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому” (Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2019. 64 с.: ил.).

В докладе “Н.А. Корнеев – первый директор Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии – биография как отражение эпохи” *Д.Н. Козьмина* (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия) кратко изложила биографию Николая Андреевича, отметила его участие в Великой Отечественной войне, где он получил тяжелое ранение при обороне Севастополя. Поворотным моментом в профессиональной деятельности стало его назначение в 1960 г. начальником Опытной научно-исследовательской станции (ОНИС), созданной в 1958 г. для ликвидации последствий крупнейшей в атомной промышленности аварии на химкомбинате “Маяк”. Научное руководство программой работ осуществлял академик ВАСХНИЛ В.М. Клечковский – выдающийся ученый с исключительно широкими научными интересами, основатель Биофизической лаборатории МСХА им. К.А. Тимирязева, первого радиоэкологического учреждения СССР. С этого времени начался период тесной работы Корнеева с Клечковским. В районе Восточно-Уральского радиоактивного следа развернулись обширные радиоэкологические исследования, направленные на смягчение аварии в сфере сельскохозяйственного

производства. В крупномасштабных экспериментах в естественных условиях были получены основополагающие характеристики поведения техногенных радионуклидов в почве, растительности, организме сельскохозяйственных животных, велись работы по реабилитации загрязненной территории с целью снижения содержания радиоактивных веществ в сельскохозяйственной продукции. Эти исследования и разработанные на их основе мероприятия позволили организовать на радиоактивно загрязненных территориях производство продукции, соответствующей радиологическим стандартам. Мировая практика не знала примеров реабилитации техногенно загрязненных территорий в таких масштабах. Деятельность Опытной научно-исследовательской станции ПО “Маяк” как ведущего радиоэкологического учреждения была предметом постоянного внимания руководства Минсредмаша СССР, а планы ее исследований регулярно обсуждались на Научно-техническом совете министерства с участием видных ученых-атомщиков страны. В период работы Н.А. Корнеева заместителем директора ВНИИ кормов им. Вильямса (1969–1973 гг.) под его руководством продолжались исследования по кормопроизводству с использованием достижений радиобиологии и применением метода радионуклидных индикаторов. Удалось обобщить уральский опыт организации производства кормов и ведения животноводства на территории, загрязненной стронцием-90, и издать коллективный труд, посвященный светлой памяти В.М. Клечковского. В 1973 г. Николай Андреевич Корнеев был назначен директором Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии (ныне Всероссийский НИИ радиологии и агроэкологии), строительство которого было начато в Обнинске, и возглавлял его более 15 лет. Корнеев внес значительный вклад в его организацию, строительство и становление – можно сказать, создал его с нуля. Под его руководством ВНИИСХР стал национальным центром по сельскохозяйственной радиологии. Особые перспективы связывались и с использованием ионизирующих излучений в сельском хозяйстве. Научный и практический опыт Н.А. Корнеева был востребован после аварии на ЧАЭС в 1986 г., признанной одной из крупнейших техногенных катастроф современности. Возглавляя комиссию научных экспертов по сельскохозяйственной радиологии Госагропрома СССР, он непосредственно руководил радиоэкологическими исследованиями, выезжая в районы бедствия. Под руководством Н.А. Корнеева была разработана система ведения агропромышленного производства в загрязненных зонах, внедренная на значительных площадях, что способствовало снижению ущерба, нанесенного

сельскому хозяйству, реабилитации сельхозугодий и возвращению их в сельскохозяйственный оборот. Особая заслуга принадлежит Н.А. Корнееву в создании музея Первой атомной электростанции: с такой просьбой 85-летний ветеран ВОВ, Заслуженный деятель науки обратился к Президенту России Д. Медведеву и был принят им. В настоящее время экспозиция музея является источником наибольшего количества информации об истории развития атомной отрасли в России.

Н.И. Санжарова (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия) представила доклад “Радиоэкология луговых экосистем: теоретические и прикладные аспекты”. В докладе была отмечена роль Н.А. Корнеева в развитии радиоэкологии луговых систем: начиная от первых экспериментов (1956–1960 гг.) с применением метода меченых атомов в луговодстве до решения острых проблем кормопроизводства и ведения животноводства на радиоактивно загрязненных территориях. На территории Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС), где за счет продукции животноводства, в первую очередь молока, в рацион населения поступало от 50 до 90% ^{90}Sr , под руководством Н.А. Корнеева проводились широкомасштабные научные исследования по изучению перехода ^{90}Sr и ^{137}Cs в травостой естественных лугов и лугов после коренного улучшения, отрабатывались рекомендации по снижению перехода радионуклидов в продукцию, разработанные приемы внедрялись в производство. Авария на Чернобыльской АЭС подтвердила, что луговые экосистемы являются критическими природными системами, вносящими существенный вклад в дозу облучения населения как в первый период, так и в течение длительного периода после аварии. Специфика луговых экосистем диктует необходимость самостоятельного их рассмотрения и оценки факторов, влияющих на поведение в них радионуклидов. Далее автор рассматривает пути поступления и закономерности поведения радионуклидов в луговых экосистемах. Результаты серии уникальных экспериментов по аэральному загрязнению травостоя естественных лугов и посевов многолетних трав после выпадения продуктов ядерного деления (ПЯД), проведенных на базе ОНИС и ВНИИСХР,

показали, что при загрязнении смесью ПЯД ведущим фактором радиационной опасности является загрязнение молока после поедания животными загрязненных кормов. После аварии на Чернобыльской АЭС представилась возможность проверить полученные параметры аэрального загрязнения луговых экосистем в условиях реальных выпадений. Итоги проведенных исследований позволили разработать радиоэкологическую классификацию лугов, а также систему защитных мероприятий, максимально снижающих переход радионуклидов в корма и его дальнейшую миграцию в рацион животных и накопление в продукции животноводства.

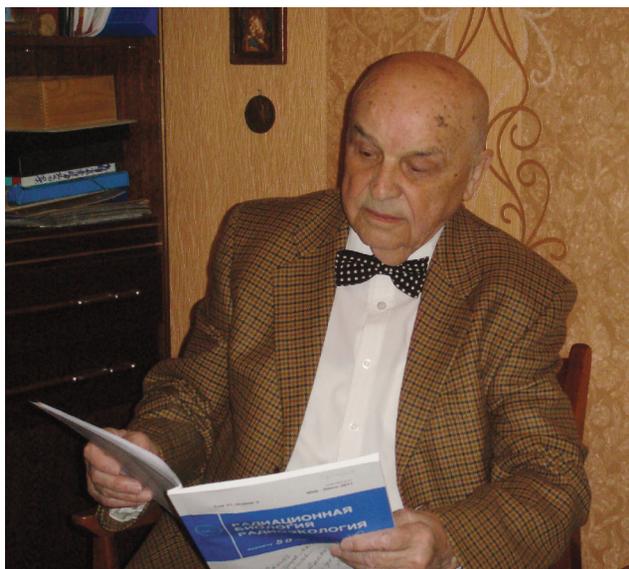
Участники конференции *Г.В. Козьмин* (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия), *В.А. Бударков* (ФИЦ вирусологии и микробиологии, г. Покров), *М.М. Гайдун* (ГНЦ РФ ФЭИ им. А.И. Лейпунского, г. Обнинск) поделились воспоминаниями об академике Н.А. Корнееве, совместных работах, встречах и памятных событиях, связанных с ним. *Д.Н. Курбаков* в своем выступлении от имени Совета молодых ученых ВНИИРАЭ отметил роль Н.А. Корнеева и его рассказов о радиоэкологических исследованиях в зонах радиационных аварий в становлении молодых ученых-радиоэкологов.

К радиоэкологическим чтениям приурочен V Международный конкурс научных работ в области радиоэкологии им. В.М. Клечковского, целями которого являются повышение творческой активности ученых, развитие научной деятельности молодых ученых и специалистов, координация исследований и пропаганды достижений в странах СНГ. Конкурс был организован по согласованию и при поддержке Российской академии наук и Минобрнауки России, поддержан Ядерным обществом России, Международным союзом радиоэкологии и посвящен академику ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому.

После подведения итогов конкурса были заслушаны краткие выступления лауреатов.

С.И. Санжарова, О.Э. Пронина
ФГБНУ “Всероссийский
научно-исследовательский институт
радиологии и агроэкологии”, Обнинск

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МАРАФОН ЮРИЯ ГРИГОРЬЕВИЧА ГРИГОРЬЕВА



14 августа 2020 г. исполняется 95 лет со дня рождения и 79 лет служебной и трудовой деятельности уникального ученого, старейшины отечественной радиобиологии – профессора, доктора медицинских наук Григорьева Юрия Григорьевича. Это один из крупнейших исследователей в области радиобиологии ионизирующих и неионизирующих излучений, космической радиобиологии, радиационной гигиены и физиологии, главный научный сотрудник Государственного научного центра РФ – Федерального медицинского биофизического центра им. А.И. Бурназяна ФМБА России.

Творческий путь Ю.Г. Григорьева в науке навсегда связан с развитием радиобиологии и медицинской радиологии в СССР. Он был инициатором, организатором и участником многих широкомасштабных, уникальных по замыслу экспериментов и научно-практических исследований, результаты которых использованы в системе здравоохранения, Федерального медико-биологического агентства, Министерства обороны, в космической деятельности, а также многими ведомствами при ликвидации последствий аварии на ЧАЭС.

Юрий Григорьевич всегда обладал и обладает необычайной жизненной энергией. Очевидно поэтому семнадцатилетним юношей в 1942 г. он добровольно вступает в ряды защитников Родины – становится курсантом Киевского военно-медицинского училища и после его окончания в

1943 г. отправляется на фронт. В составе частей действующей армии он участвует в освобождении Минска и всей Белорусской республики. В 1944 г., пройдя по конкурсу, зачисляется слушателем в Военно-медицинскую академию им. С.М. Кирова.

По окончании академии в 1949 г. Юрий Григорьевич был направлен в Институт биофизики АМН СССР и активно включился в медико-биологические исследования, связанные с реализацией Государственной программы по созданию атомного оружия. В 1953–1954 гг. Ю.Г. Григорьев работал в Центральном физико-техническом институте Минобороны СССР, решая военно-прикладные задачи по проблемам защиты от ионизирующей радиации.

Анализируя беспрецедентный радиобиологический марафон Юрия Григорьевича, убеждаешься в том, что ученый удивительным образом всегда оказывался в авангарде самых актуальных исследований, принимая непосредственное участие в пионерских исследованиях, значение которых в полной мере раскроется не всегда сразу, а порой лишь через много лет. Яркий пример – радиационная нейрофизиология, исконно российская область радиобиологии, начиная с пионерских работ И.Р. Тарханова (1896).

Уже в 1954 г. Юрий Григорьевич впервые опубликовал материалы о первичных функциональных изменениях в коре больших полушарий головного мозга человека при лучевом воздействии,

выполненные под руководством выдающегося электрофизиолога профессора М.Н. Ливанова. К приоритетным исследованиям, конечно, относятся и результаты, полученные Ю.Г. Григорьевым в работах под руководством профессора М.П. Домшлага. Связаны они с клиническим использованием радиоактивного фосфора и кобальта. Эти работы обобщены в первой в мире монографии молодого исследователя о реакциях центральной нервной системы человека на проникающее излучение (1958). Вслед за ней в 1963 г. опубликована известная монография Ю.Г. Григорьева “Лучевые поражения и компенсация нарушенных функций”, посвященная физиологическим реакциям организма при воздействии ионизирующего излучения в малых и больших дозах, а также характеру развития различных систем органов при молниеносной форме лучевой болезни, дана подробная характеристика реакциям организма “под лучом”. Эти работы опередили мировой “бестселлер” 1960-х годов по нейрорадиобиологии – книгу Д. Кимельдорфа и Э. Ханта “Действие ионизирующей радиации на функции нервной системы” (1965, русский перевод 1969). Более того, в конце 1970-х–начале 1980-х годов интерес к этим ранним работам Юрия Григорьевича вспыхнул с новой силой в связи с созданием в США нейтронного оружия.

В начале 1960-х годов Юрий Григорьевич вместе с коллегами из Государственного научно-исследовательского испытательного института авиационной и космической медицины Минобороны СССР и родного ему Института биофизики МЗ СССР становится основоположником нового крупного научного направления – космической радиобиологии. Родина рвалась в космос, и в 1964 г. Юрий Григорьевич принял участие в организации и становлении Института медико-биологических проблем МЗ СССР (создан в 1963 г.) и возглавил в нем исследования по космической радиобиологии и разработке средств защиты космонавтов от радиации, создал впоследствии (1975 г.) Службу радиационной безопасности пилотируемых космических полетов. По итогам этой многолетней работы в 1979 г. ему была присуждена Государственная премия СССР.

Ключевые фундаментальные проблемы космической радиобиологии решались под руководством Юрия Григорьевича в серии исследований по оценке биологического действия космических излучений – тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ) и протонов – на искусственных спутниках Земли и на ускорителях в Объединенном институте ядерных исследований (ОИЯИ) в Дубне. Исследователями был получен большой массив данных и определены коэффициенты относительной биологической эффективности (ОБЭ) для протонов в многочисленных экспериментах на синхротро-

не в ОИЯИ. Все эти материалы были опубликованы в нескольких монографиях и сборниках.

На искусственных спутниках Земли “Космос-110”, “Космос-368”, “Космос-782”, “Космос-690”, “Зонд-5, 6 и 8”, космической станции “Салют” проводили эксперименты по оценке формирования радиационного поражения биообъектов тяжелыми ионами. Так, в уникальном до сих пор эксперименте на искусственном спутнике Земли “Космос-690” в 1974 г., проведенном по инициативе и под руководством Ю.Г. Григорьева, на борту находились животные (крысы) и гамма-облучатель (дозы в полете 2.2 и 8 Гр на 10-е сутки полета). Посадка космического аппарата с облученными животными осуществлялась на 21-е сутки. Были получены данные, позволившие впервые в реальном космическом полете определить коэффициенты модификации радиочувствительности различных тканей и органов в условиях невесомости. Они оказались невелики: близки к 1.0 и не превышали 1.2. Эти данные подробно отражены в монографии Ю.Г. Григорьева “Космическая радиобиология” (1982). В экспериментах на искусственных спутниках Земли принимали участие большие коллективы научных учреждений страны, а также специалисты Болгарии, Венгрии, Польши, Франции и других стран. Общую координацию радиобиологических работ осуществлял опять-таки профессор Ю.Г. Григорьев.

На Международном конгрессе в Японии в 1968 г. Ю.Г. Григорьев был избран председателем Рабочей группы 5 COSPAR. Она объединяла ученых многих стран мира, работающих в области медико-биологических исследований в космосе, а также координировала научные работы в области космической биологии и медицины, рассматривала итоги наземных и полетных экспериментов, способствовала перспективным исследованиям. Это требовало от председателя Рабочей группы большого творческого напряжения. Естественно, что возглавляя это международное научное объединение в течение 8 лет, Юрий Григорьевич имел возможность установить тесные творческие контакты со многими учеными мира.

В 70-х годах прошлого века в космической биологии и медицине была выдвинута интересная продуктивная идея о том, умеренная гипоксия в кабине космического корабля может повысить радиорезистентность организма космонавта. Возникла необходимость подтвердить эту гипотезу в условиях длительного пребывания экспериментальных животных в условиях длительной гипоксии. Под руководством Ю.Г. Григорьева были проведены исследования по модификации радиобиологических эффектов в условиях длительного постоянного воздействия умеренной высокогорной гипоксии. Эксперименты проводились на двух высокогорных базах: в Киргизии

на перевале Туя-Ашу на высоте 3200 м и в Казахстане на Тянь-Шаньской высокогорной научной станции на высоте 3340 м. Там разместили источники гамма-лучей. Крыс и собак облучали в широком дозовом диапазоне на различные сроки адаптации к высокогорью. Контрольных животных параллельно облучали на Московской базе ИМБП “Планерная”, а также в г. Фрунзе в Киргизском медицинском институте и в Онкологическом центре г. Алма-Аты. Установлено, что гипоксическая адаптация способствует мобилизации защитных сил организма и повышению его радиорезистентности. Коэффициент увеличения радиорезистентности по реакции критических систем увеличивается до 3. Уверен, что ценность и практическую реализуемость этих работ еще предстоит оценить и использовать в будущем.

Под руководством Ю.Г. Григорьева и при его непосредственном участии был проведен уникальный многолетний эксперимент с целью оценки радиационной опасности экипажа при полете к Марсу. Он прочно вошел в историю радиобиологии под названием “Хронический эксперимент”. Осуществлялось ежедневное круглосуточное равномерное гамма-облучение 246 собак в течение 3 и 6 лет с одновременным моделированием воздействия излучения от солнечных вспышек. Годовые дозы – 25, 75 и 150 сГр. Проводили глубокое комплексное обследование всех животных в течение всех периодов облучения и в последующие 10 лет после хронического облучения вплоть до естественной гибели животных. Для проведения этого беспрецедентного эксперимента потребовалось целых 20 лет!

На основе “Хронического эксперимента” впервые при строгом дозиметрическом контроле был установлен безопасный для здоровья человека уровень пожизненного внешнего гамма-облучения. Эти результаты оказались крайне значимыми не только для общей и космической радиобиологии, но и для оценки радиационной безопасности населения, пострадавшего от аварии на ЧАЭС. Книга Ю.Г. Григорьева и соавторов “Соматические эффекты хронического гамма-облучения” (1986) быстро стала научным бестселлером.

Юрий Григорьевич является соавтором крупного фундаментального обобщения – советско-американского многотомного труда по космической биологии и медицине (1975), куда вошли результаты многочисленных исследований по космической радиобиологии. Под его научным руководством разрабатывались концепция “обобщенной дозы” и нормы радиационной безопасности космонавтов при кратковременных и длительных космических полетах как для орбитальных станций, так и для межпланетных космических кораблей. Эти материалы были обобщены в двух капитальных моно-

графиях: Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г. “Межпланетные и орбитальные космические полеты. Радиационный риск для космонавтов. Радиобиологическое обоснование” (2009) и Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А., Давыдов Б.И., Шафиркин А.В. “Космическая радиобиология за 55 лет” (2013).

В 1977 г. произошел новый резкий поворот в творческой судьбе Юрия Григорьевича – возвращение в Институт биофизики Минздрава СССР, где он возглавил широкий комплекс исследований по биологическому действию неионизирующих излучений. Актуальность этой части электромагнитного спектра становилась все более очевидной. В Институте биофизики на базе отдела неионизирующих излучений им был сформирован большой научный коллектив и создана современная экспериментальная база для проведения исследований биологического действия и работ по нормированию электромагнитных и акустических полей, в том числе инфразвука. Это дало возможность в короткие сроки получить большой массив новых данных и оценить характер реакции организма на действие электромагнитных полей радиочастотного диапазона нетепловых уровней, роль модуляции в развитии биологического эффекта, определить критические системы организма при воздействии этих видов излучений. Юрий Григорьевич принял руководящее участие в разработке первых в СССР Государственных нормативов электромагнитных полей радиочастот (1984), являющихся основой нормирования ЭМП и по сию пору.

Грянул апрель 1986-го года... Ионизирующая радиация масштабной аварией в Чернобыле вновь грозно напомнила миру и мировой науке о своем вечном значении для человека. Юрию Григорьевичу пришлось с неизменной юношеской энергией окунуться в “самое пекло” радиационной тематики в наиболее сложный и опасный период ликвидации последствий аварии.

В апреле–июне 1986 г. он принимал активное участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, являясь ответственным за госпитализацию больных острой лучевой болезнью (26 апреля–14 мая 1986 г.), и затем членом Правительственной Комиссии в Чернобыле (15 мая–14 июня 1986 г.). Следует вспомнить смелость Юрия Григорьевича, который уже в 1987 г. опубликовал одну из первых статей на чернобыльскую тему в журнале “Радиобиология” и затем едва ли не первую памятку населению по радиационной безопасности (Издательство “Энергоатомиздат”). Сейчас, конечно, эту смелость могут в полной мере оценить лишь те, кто в то сложное время работал в Чернобыле и понимал важность и необходимость достоверной открытой научной публикации.

В “послечернобыльское” время профессор Ю.Г. Григорьев вновь полностью погрузился в неионизирующую радиобиологию. Актуальность данной области радиобиологии стремительно набирала обороты. Достаточно сказать, что стандарты России от стандартов ICNIRP отличались на целых два порядка – 10 и 1000 мкВт/см² соответственно. Научно-консультативный Комитет международной программы “ЭМП и здоровье” ВОЗ в 2005 г. по предложению Ю.Г. Григорьева принял решение подтвердить ранее полученные результаты в СССР по биоэффектам хронического воздействия ЭМП РЧ малой интенсивности в целях определения научной базы для их нормирования.

Весь цикл экспериментов, включая обработку полученного материала, анализ результатов и формулирование заключения, был проведен при участии научного наблюдательного комитета, представляющего ученых Германии, Италии и США. Результаты эксперимента подтвердили ранее полученные в СССР данные об индукции аутоиммунного ответа (образование антител к тканям мозга) при хроническом воздействии ЭМП РЧ низкой интенсивности (30 дней воздействия по 7 ч в сутки с плотностью потока энергии 500 мкВт/см²). Эти и многие другие результаты еще раз подтвердили правомерность использования базы экспериментальных данных о нетепловых механизмах биологического действия ЭМП РЧ низкого уровня интенсивности для обоснования стандартов для ЭМП РЧ в СССР (1984).

Начиная с 90-х годов прошлого века особое значение приобрели экспериментально-аналитические и эпидемиологические работы по оценке опасности для населения электромагнитных полей мобильной связи, научным руководителем которых является Юрий Григорьевич. На протяжении более 25 лет он активно и последовательно выступает с предупреждением о возможности развития отдаленных последствий облучения у пользователей сотовыми телефонами, особенно у детей и подростков. Как в нашей стране, так и за рубежом профессор Ю.Г. Григорьев признан ведущим специалистом по проблеме оценки опасности и нормированию электромагнитных полей вообще и создаваемых мобильной связью, в частности. Только за последние годы им совместно с коллегами изданы монографии: Григорьев Ю.Г., Григорьев О.А. “Сотовая связь и здоровье” (2013) и Григорьев Ю.Г., Хорсева Н.И. “Мобильная связь и здоровье детей” (2014).

Кроме того, в 2009 г. Ю.Г. Григорьевым в творческом содружестве с коллегами из ведущих НИИ России были проведены широкие исследования и подготовлены и утверждены СанПин “Гипогеомагнитные поля в производственных и общественных зданиях и сооружениях”. Заме-

тим, что будущее межпланетной пилотируемой космонавтики во многом зависит от знания механизмов действия этого сложного фактора, актуального для человека в ряде случаев на Земле и особенно в дальнем космосе.

Ю.Г. Григорьев на протяжении 18 лет был председателем Российского национального комитета по защите от неионизирующих излучений, является членом бюро Научного совета по проблемам радиобиологии РАН, членом Российской Научной Комиссии по защите от ионизирующей радиации, постоянным членом Консультативного Комитета ВОЗ по Международной программе “Электромагнитные поля и здоровье человека”, Международной Комиссии по электромагнитной безопасности (ICEMS), членом редколлегии журнала “Радиационная биология. Радиоэкология”. Он вдохновенно работал в Большой медицинской энциклопедии (БМЭ).

Ю.Г. Григорьев неоднократно выступал с докладами за рубежом на международных научных форумах, участвовал в международных переговорах и разработке международных программ в Австрии, США, Германии, Франции, Греции, Италии, Испании, Китае, Голландии, Южной Корее, Японии, Швейцарии, Швеции, Норвегии, Финляндии, Канаде, Бельгии, Болгарии, Словении, Венгрии, Чехии, Турции и в других странах.

Юрий Григорьевич является автором более 400 научных работ и 23 монографий.

Им создана школа в области радиобиологии ионизирующих и неионизирующих излучений, гигиены и экстремальной физиологии. Продолжая лучшие традиции отечественной науки, под его руководством было подготовлено и успешно защищено 70 кандидатских и докторских диссертаций.

Ю.Г. Григорьев гордо несет звание участника Великой Отечественной войны, имеет боевые награды (орден Отечественной войны 2-й степени, две медали “За боевые заслуги”, “За освобождение Белоруссии” и др.). За научные достижения ему присуждена Государственная премия СССР. Он награжден орденами Ленина, Трудового Красного Знамени и орденом “Знак Почета”, Грамотой Президиума Верховного совета РСФСР, “Золотым крестом” ФМБА.

Вся многогранная деятельность Ю.Г. Григорьева, в которой воплотился дар пронизательного исследователя, талант вдумчивого организатора, опыт терпеливого педагога, реализм оптимистичного практика и целеустремленность истинного ученого, его склонность к своевременному обобщению исследований, превосходная научная интуиция, поразительное “чутье” момента, смелость при подготовке научных публикаций, удивительная целеустремленность в сочетании с доброжелательным отношением к своим коллегам – до-

стойный пример для молодого поколения и всех коллег. Биографии и публикаций Юрия Григорьевича хватит не на одного, а на нескольких крупных ученых! Его книга “Алгоритмы радиобиологии” (2015), написанная им в 90-летнем возрасте, является блестящим образцом честного самоосмысления ученым своего места в Науке и ее Истории.

В заключение прибегну к не совсем обычной аналогии. Мне представляется, что отношение всех коллег и друзей профессора Ю.Г. Григорьева к его яркой и цельной личности можно сравнить, пожалуй, с отношением англичан к своей королеве (Елизавета II и Юрий Григорьевич, кстати говоря, практически одного возраста!). Большинство англичан связывают с королевой стабильность страны и своей собственной жизни. Примерно так и у радиобиологов с Юрием Григорьевичем.

Мы хорошо знаем – наука, как и космос, бесконечна. Значит, бесконечны и люди, занимающиеся наукой и космосом. Поэтому бесконечен для нас, для науки радиобиологии и ее космической части, и наш выдающийся радиобиолог – профессор Юрий Григорьевич Григорьев. Пожелаем же ему от всех, кто его знает по науке и жизни, от редколлегии журнала “Радиационная биология. Радиоэкология” крепкого здоровья и продолжения своего замечательного радиобиологического марафона, марафона в неизведанное!

Мы очень хотим этого продолжения. В добрый час, дорогой Юрий Григорьевич! Многая лета!

И.Б. Ушаков
академик РАН,
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

ИГОРЮ НИКОЛАЕВИЧУ ГУДКОВУ – 80 ЛЕТ



27 июля исполняется 80 лет со дня рождения известного радиобиолога, доктора биологических наук, профессора, профессора кафедры радиобиологии и радиозэкологии Национального университета биоресурсов и природопользования Украины (НУБиП Украины), академика Национальной академии аграрных наук Украины, Заслуженного деятеля науки и техники Украины, в течение многих лет члена редакционного совета нашего журнала, ассоциированного члена бюро Научного совета по радиобиологии РАН, в котором он в течение долгих лет руководил секцией “Радиобиология растений”, Игоря Николаевича Гудкова.

И.Н. Гудков родился в д. Поздеки Оричевского района Кировской области. В 1947 г. семья переехала в Украину, куда отец, полковник военно-ветеринарной службы, кандидат ветеринарных наук, после демобилизации из рядов Советской Армии был направлен на научно-преподавательскую работу в Белоцерковский сельскохозяй-

ственный институт. В 1962 г. с отличием окончил факультет почвоведения и агрохимии Украинской сельскохозяйственной академии в Киеве (ныне НУБиП Украины) и после обязательной отработки на производстве в 1964 г. поступил в аспирантуру Института физиологии растений АН УССР по специальности радиобиология. Выбор специальности был не случайным. Еще будучи студентом, под влиянием курса “Сельскохозяйственная радиобиология”, который читал выдающийся украинский агробиолог, академик АН УССР и ВАСХНИЛ П.А. Власюк, увлекся идеями этой науки, о которой в те годы – период массовых испытаний атомного оружия – много писали. Именно П.А. Власюк рекомендовал студента своему сотруднику и ученику, молодому ученому, впоследствии академику НАН Украины, директору Института физиологии растений Д.М. Гродзинскому. Под его руководством И.Н. Гудков подготовил и в 1967 г. защитил кандидатскую, а в

1979 г. – докторскую диссертации, прошел путь от аспиранта до заместителя директора института.

Основные научные работы И.Н. Гудкова этого периода посвящены исследованиям в области противорадиационной защиты и пострадиационного восстановления растений. Им впервые были установлены радиозащитные свойства некоторых металлов, фитогормонов, ненасыщенных углеводов, циклических нуклеотидов; доказана возможность внепланового синтеза ДНК в клетках гамма-облученных высших растений, однозначно свидетельствующая о наличии у них систем репарации, роль клеточной гетерогенности в формировании радиоустойчивости образовательных тканей.

После аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г. произошла переориентация научных направлений многих радиобиологических подразделений Украины. В июне 1986 г. постановлением Совета Министров Украины И.Н. Гудков был назначен руководителем Межведомственной экологической группы по мониторингу радиоактивного загрязнения бассейна р. Днепр. ЧАЭС была построена на самом крупном притоке Днепра р. Припять, формировавшей после аварии более 40% его радиоактивного стока, и предполагалось, что вода может стать одним из основных факторов формирования дозы облучения не только человека, но и всей биоты. Изучение физико-химического состояния радионуклидов и их поведения в водной среде позволило сделать относительно благоприятный, что позднее полностью подтвердилось, прогноз радиоэкологической ситуации гидросферы главной водной магистрали Украины как на близкий после аварии период, так и на последующие годы.

В 1987 г. по приглашению ректората Игорь Николаевич возвращается в свою альма-матер, где основывает и в течение 32 лет руководит кафедрой радиобиологии и радиоэкологии. С первых месяцев коллектив кафедры включается в выполнение заданий комплексной республиканской программы “Сельскохозяйственная радиология”, целями которой были изучение и минимизация последствий аварии на ЧАЭС в аграрной сфере страны. Основными направлениями научных исследований И.Н. Гудкова становятся работы по миграции радионуклидов в объектах сельскохозяйственного производства, разработке теоретических основ и практических приемов снижения их накопления в растениях и организме продуктивных животных, изучение влияния радионуклидного загрязнения территорий на биоразнообразие растений, животных, микрофлоры, которые продолжают до настоящего времени.

Вместе с Д.М. Гродзинским он изучил, обобщил и описал радиобиологические эффекты в популяциях растений на загрязненных вследствие

аварии на ЧАЭС территориях, выявил мутации, выпадение отдельных видов растений. Он обосновал роль некоторых элементов питания в блокировании поступления радионуклидов в растения, установил, что азотные удобрения усиливают их поступление только в том случае, когда вносятся в субстрат в физиологически кислых формах, в частности в виде аммиачной селитры – наиболее широко используемого в Европе азотного удобрения. Продолжая начатые в Институте физиологии растений исследования, он в условиях загрязненных радионуклидами территорий не только подтвердил радиозащитное действие некоторых микроэлементов, но и показал их способность снижать поступление радиоактивных изотопов цезия и стронция в растения.

Подвергнув многостороннему анализу как собственные экспериментальные данные, так и результаты других исследователей, он разработал и обобщил систему приемов и методов по снижению поступления радионуклидов в растения, которая последовательно включает особенности обработки почвы, внесения химических мелиорантов, органических и минеральных удобрений в определенных количествах и соотношениях, подбор культур в севооборотах, изменения в режимах орошения, использование специальных приемов, направленных на торможение транспорта радионуклидов миграционными путями.

Игорь Николаевич разработал комплексную стратегию противорадиационной защиты человека, проживающего на загрязненных радионуклидами территориях, основанную, с одной стороны, на потреблении продуктов с минимальным количеством радионуклидов, а с другой – введением в рацион продуктов, обладающих радиопротекторными, радиоблокирующими и радиодекорпорирующими свойствами.

Научный вклад ученого составляют сотни научных и учебно-методических работ, среди которых 20 индивидуальных и коллективных монографий, 19 учебников и учебных пособий на русском, украинском, английском языках, два из которых – “Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии” (1991), а также “Радиобиология с основами радиоэкологии” (2015), подготовленный в соавторстве с известными российскими радиобиологами А.Г. Кудяшевой и А.В. Москалёвым, рекомендованы для преподавания дисциплины на территории России.

Со дня основания в 1991 г. Национальной комиссии по радиационной защите населения при Верховном Совете Украины И.Н. Гудков является ее членом, членом двух специализированных советов по защите докторских диссертаций, редколлегий ряда журналов, с 1991 до 2015 г. с перерывами курировал диссертационные работы по радиобиологии при ВАК Украины.

В родном университете с 2019 г. уже в должности профессора кафедры Игорь Николаевич продолжает вести основные курсы кафедры “Радиобиология”, “Радиоэкология”, “Радиоэкологический мониторинг”, руководит дипломными работами студентов, работой аспирантов и докторантов. В течение ряда лет он вел радиобиологические спецкурсы в главном вузе Украины – Киевском национальном университете им. Тараса Шевченко, неоднократно приглашался Ю.Б. Кудряшовым для чтения лекций в Московском государственном университете им. М.В. Ломоносова. Им подготовлены 15 кандидатов и докторов наук.

В 2018 г. Игорю Николаевичу присвоено почетное звание “Заслуженный профессор НУБиП Украины”.

Выдающийся интеллект, настоящая интеллигентность, тактичность, умение найти для каждого добрые слова снискали ему всеобщее уважение коллег и искреннюю любовь студентов. Желаем юбиляру долгих и творческих лет жизни, богатого здоровья, успехов в научной и педагогической работе на стезе, которой И.Н. Гудков посвятил всего себя.