СОДЕРЖАНИЕ

Том 60, номер 1, 2020

Молекулярная	радиобиология
IVIUNICKYNNUHAN	радиоонологил

Исследование количества копий и гетероплазмии митохондриальной ДНК в различных областях головного мозга крыс после краниального воздействия протонов

С. А. Абдуллаев, Э. В. Евдокимовский, А. И. Газиев

5

Радиационная цитогенетика

Концепция Т-клеточного рода как основа для анализа результатов цитогенетических исследований при локальном облучении костного мозга

Е. И. Толстых, А. В. Возилова, М. О. Дёгтева, А. В. Аклеев

12

Модификация радиационных эффектов

Опыт применения сингенных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) жировой ткани для лечения тяжелых радиационных поражений кожи в эксперименте

Ю. Б. Дешевой, Т. А. Насонова, О. А. Добрынина, Р. В. Деев, В. Г. Лебедев, А. В. Лырщикова, Т. А. Астрелина, Б. Б. Мороз

26

Общая радиобиология

Генотипические особенности восстановления пострадиационных нарушений иммунной реактивности у мышей-самок с помощью летучих хемосигналов интактных самцов

В. Г. Исаева, Л. Ю. Гривцова

34

Ралиационная эпилемиология

Анализ риска заболеваемости инсультом различных типов в когорте работников по "Маяк"

М. Б. Мосеева, Е. С. Григорьева, Т. В. Азизова

42

Радиационная физиология

Роль типологических особенностей высшей нервной деятельности крыс в нейробиологических эффектах комбинированного действия антиортостатического вывешивания, γ -излучения, протонов и ионов углерода 12 C

А. С. Штемберг, А. А. Перевезенцев, К. Б. Лебедева-Георгиевская,

О. В. Митрофанова, В. С. Кудрин, А. С. Базян

51

Неионизирующие излучения

Экспериментальная оценка последствий хронического воздействия электромагнитного излучения диапазона мобильной связи в антенатальном периоде развития крыс

О. С. Изместьева, Л. Н. Павлова, Л.П. Жаворонков	63
Радиоэкология	
Исследования по накоплению трития некоторыми водными организмами: икра и рыба (<i>Carassius gibelio</i>), водные растения (<i>Ceratophyllum</i> и <i>Lemna</i>)	
Л. Г. Бондарева	71
Радионуклиды	
Особенности накопления и распределения 90 Sr в корневой системе сосны обыкновенной в отдаленный период после Чернобыльских выпадений	
О. Б. Цветнова, А. И. Щеглов, С. Р. Бесаева	82
Вариации объемной активности радона в традиционных деревенских домах	
П. С. Микляев, Т. Б. Петрова	89
Влияние различных видов органических удобрений на переход $^{137}\mathrm{Cs}$ в урожай зерновых культур	
Н. В. Андреева, Н. В. Белова, В. К. Кузнецов, В. П. Грунская	99
Хроника	
Съезд радиобиологического общества Украины	
И. Н. Гудков	108
The textbook of a new generation "Radioecology"	
E. B. Khobotova, M. I. Ihnatenko, I. V. Hraivoronska, and Iu. S. Kaliuzhna	111
VIII Съезд по радиационным исследованиям (Москва, 20–23 октября 2020)	112

Contents

Vol.	60.	No.	1.	2020
101.	\mathbf{v}	110.		2020

-	AF 1			ъ			
1	40	lecui	lar	ка	dio	bio	logv

Study of Mitochondrial DNA Copy Number and Heteroplasmy in Different Rat Brain Regions after Cranial Irradiation of Protons

S. A. Abdullaev, E. V. Evdokimovskii, A. I. Gaziev

5

Radiation Cytogenetic

Concept of T-Cell Genus as the Basis for the Analysis of Fish Results after Local Bone Marrow Exposure

E. I. Tolstykh, A. V. Vozilova, M. O. Degteva, A. V. Akleyev

12

Modification of Radiation Effects

Experience of Application of Syngeneic Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MMSC) Adipose Tissue for Treatment of Severe Radiation Skin Lesions at Various Intervals after Exposure in the Experiment

Yu. B. Deshevoi, T. A. Nasonova, O. A. Dobrynina, R. V. Deev, V. G. Lebedev, A. V. Lyrshchikova, T. A. Astrelina, B. B. Moroz,

26

General Radiobiology

Genotypic Peculiarity Recovery Post Radiation Violations of the Immune Reactivity in Mice-Females with the Help of Volatile Chemosignals Intact Mice-Males

V. G. Isaeva, L. Yu. Grivtsova

34

Radiation Epidemiology

Analysis of Incidence Risk for Different Types of Stroke Among "Mayak" Worker Cohort

M. B. Moseeva, E. S. Grigoryeva, T. V. Azizova

42

Radiation Physiology

The Role of the Typological Characteristics of Rats Higher Nervous Activity in the Neurobiologic Effects of Combined Impact of Antiorthostatic Suspension, γ -Rays, Protons and Carbon 12 C Ions

A. S. Shtemberg, A. A. Perevezentsev, K. B. Lebedeva-Georgievskaya, O. V. Mitrofanova, V. S. Kudrin, A. S. Bazyan

51

Non-Ionizing Radiation

Experimental Evaluation of the Consequences of the Chronic Influence of Electromagnetic Radiation of the Mobile Communication Range in Antenatal Rat Development Period

O. S. Izmestieva, L. N. Pavlova, L. P. Zhavoronkov	6	
Radioecology		
Study of the Accumulation of Tritium in Some Aquatic Organisms: Eggs and Fish (<i>Carassius gibelio</i>), Aquatic Plants <i>Ceratophyllum</i> and <i>Lemna</i>		
L. G. Bondareva	71	
Radionuclide		
Features of ⁹⁰ Sr Accumulation and Distribution in the Root System of Pinus sylvestris in the remote period after the Chernobyl fallout		
O. B. Tsvetnova, A. I. Shcheglov, S. R. Besaeva	82	
Variations of Radon Activity Concentration in Traditional Village Houses		
P. S. Miklyaev, T. B. Petrova	89	
Influence of Different Types of Organic Fertilizers on the Transfer of ¹³⁷ Cs into the Grain Crops Harvest		
N. V. Andreeva, N. V. Belova, V. K. Kuznetsov, V. P. Grunskaya	99	
Chrinicle		
Congress of Radiobiological Society of Ukraine		
I. N. Gudkov	108	
The Textbook of a New Generation "Radioecology"		
E. B. Khobotova, M. I. Ihnatenko, I. V. Hraivoronska, Iu. S. Kaliuzhna	111	

МОЛЕКУЛЯРНАЯ РАЛИОБИОЛОГИЯ

УДК 577.2:576.311.347:575.224:591.481.1:599.323.4:57.084.1:539.1.047

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЛИЧЕСТВА КОПИЙ И ГЕТЕРОПЛАЗМИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В РАЗЛИЧНЫХ ОБЛАСТЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ КРАНИАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ПРОТОНОВ

© 2020 г. С. А. Абдуллаев^{1,*}, Э. В. Евдокимовский¹, А. И. Газиев¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия *E-mail: saabdullaev@gmail.com
Поступила в редакцию 27.05.2019 г.

Накопленные за последние годы результаты исследований указывают, что важнейшей мишенью радиационного поражения, наряду с ядром, являются митохондрии. Структурные и функциональные нарушения, индуцируемые радиацией в этих органеллах, оказывают влияние на пострадиационное развитие целого комплекса эффектов на уровне клеток и целого организма животных и человека. Настоящее исследование посвящено оценке изменений количества копий митохондриальной ДНК (мтДНК) относительно ядерной ДНК (яДНК), а также выявлению гетероплазмии мтДНК в трех отделах мозга (в гиппокампе, коре и мозжечке) крыс в разное время после краниального воздействия протонов. В работе использованы методы ПЦР в реальном времени и метод расшепления гетеродуплексов ПЦР-ампликонов мтДНК Surveyor-нуклеазой. Выявлено, что уровень содержания копий мтДНК в трех областях головного мозга крыс резко повышается после воздействия протонов с одновременным увеличением доли ее мутантных копий. Полученные результаты свидетельствуют о том, что синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий различаются в гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга крыс после воздействия протонов на область черепа. Можно предполагать, что повышенный мутагенез мтДНК может привести к митохондриальной дисфункции с индукцией окислительного стресса, приводящего к нестабильности ядерного генома и развитию отдаленных последствий воздействия ионизирующей радиации.

Ключевые слова: отделы головного мозга, копии мтДНК, мутагенез мтДНК, протоны, крысы **DOI:** 10.31857/S0869803120010038

Результаты эпидемиологических исследований лиц, выживших после атомной бомбардировки, а также пациентов, перенесших радиотерапию опухолей, указывают, что критическими отдаленными последствиями радиационного повреждения мозга являются когнитивные нарушения и индукция онкогенеза [1, 2].

Если радиационная индукция опухолей мозга обусловлена в основном повреждением глиальных клеток, то возникновение когнитивных дисфункций во многом определяется повреждением нервных стволовых клеток и нарушением нейрогенеза в гиппокампе [3]. Хотя результаты многих исследований на разных уровнях выявили различные структурно-функциональные нарушения в разных отделах головного мозга после радиационного воздействия, многое еще остается неопределенным. Особенно это касается выяснения начальных молекулярно-клеточных нарушений, провоцирующих дальнейшее развитие нейродегенеративных и других отдаленных последствий. Результаты ряда проведенных исследований сви-

детельствуют о том, что нарушения функций митохондрий играют ключевую роль в развитии нейродегенеративных нарушений и инициации онкогенеза [4, 5]. Известно, что активность нейронов головного мозга зависит от чрезвычайно высокого уровня энергетической поддержки в виде молекул АТФ, поставляемых митохондриями. Митохондриальные функции тесно связаны с целостностью мтДНК. Число копий мтДНК на клетку в ткани мозга более чем в 2-3 раза выше, чем в клетках печени и десятки раз выше, чем в других тканях [6, 7]. Повреждение мтДНК полностью отражается на функциях митохондрий [8] с нарушением активности комплексов окислительного фосфорилирования и усилением генерации активных форм кислорода и азота (АФК/А), сопряженной с синтезом АТФ. При этом согласно данным, полученным на различных клетках, повышенная генерация АФК/А сохраняется в течение длительного пострадиационного времени и приводит к резкому усилению оксидативного стресса в облученных клетках [9, 10]. Усиление отсроченного окислительного стресса в клетках, подвергшихся радиационному воздействию, может вызвать повреждения ядерного генома и инициацию его нестабильности [11], которая занимает центральное место в индукции канцерогенеза [12]. Нестабильность генома также является фактором нейродегенеративных заболеваний [13].

Поэтому дальнейшие исследования молекулярных и клеточных механизмов радиационного повреждения структур головного мозга остаются достаточно актуальной проблемой. Особенно это касается выяснения начальных молекулярноклеточных нарушений, провоцирующих дальнейшее развитие отдаленных последствий.

Развитие этих исследований востребовано в связи с широким использованием ионизирующей радиации (ИИ) в терапии опухолей мозга. Отсутствие достаточных знаний по воздействию космической радиации, в которой протоны занимают более 80% излучения глубокого космоса [14], на здоровье космонавтов, представляется ограничивающим фактором для космических миссий за пределы околоземной орбиты. Кроме того, люди могут подвергаться воздействию ИИ в результате ядерных аварийных инцидентов и при возможном радиологическом терроризме.

Настоящая работа посвящена исследованию количественных изменений мтДНК и ее мутантных копий (гетероплазмии) в гиппокампе, коре и мозжечке головного мозга крыс после краниального воздействия протонов (150 MeV) в дозах 3 и 5 Гр.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В исследовании использовали самцов крыс линии Sprague Dawley в возрасте 2 мес. (масса 221 ± 7.5 г), полученных из питомника филиала Института биоорганической химии РАН (Пущино, Московская обл.). В ходе эксперимента грызуны находились в помещении для животных Лаборатории радиационной биологии в Объединенном институте ядерных исследований (ОИЯИ). Облучение крыс проведено в соответствии со всеми требованиями, установленными Институтской комиссией по контролю использования животных при проведении биомедицинских экспериментов. Животные были акклиматизированы в течение 7 дней до начала экспериментов. Грызуны находились на специальной диете для мышей и крыс, со свободным доступом к чистой питьевой воде и были размещены по три животных в клетке при стандартном 12-часовом цикле свет/темнота при температуре 22 ± 2 °C и при влажности $45 \pm 5\%$. Краниальное облучение крыс проводили в дозах 3 и 5 Гр (протоны, $E = 150 \text{ M} \rightarrow \text{B}$) на установке "Фазотрон" Медико-технического комплекса Лаборатории ядерных проблем ОИЯИ (Дубна). Животные получали облучение в однократной дозе

при номинальной мощности дозы 0.8 Гр/мин. Крыс анестезировали и декапитировали через 2. 6. 24 ч после радиационного воздействия. Необлученных крыс использовали в качестве контроля. Ткани из трех отделов мозга (гиппокамп, кора, мозжечок) отделяли скальпелем на льду сразу после обезглавливания, замораживали и хранили при -80°C до выделения ДНК. Перед выделением общей геномной ДНК (яДНК и мтДНК) замороженные образцы тканей оттаивали при комнатной температуре, а затем помещали на лед. Затем образцы гомогенизировали и выделяли обшую геномную ДНК с использованием специальных наборов QIAGEN Genomic Tip Kit и Genomic DNA Buffer в соответствии с инструкциями производителя ("QIAGEN", США). Количество ДНК во всех случаях определяли по реакции с реагентом PicoGreen в соответствии с протоколом производителя ("Molecular Probes", США) с регистрацией флуоресценции на устройстве Infinite 200 NanoQuant ("Tecan Group" Ltd., Австрия). Образцы ДНК, предназначенные для анализа митохондриального генома, инкубировали в течение 20 мин при 25°C в ТЕ-буфере с эндонуклеазой рестрикции XhoI ("New England Biolabs", США) с целью релаксации сверхскрученных молекул мтДНК крысы [15]. Анализ содержания общего количества мтДНК был проведен количественным методом ПЦР в реальном времени с использованием технологии TagMan на приборе Prism 7500 ("Applied Biosystems", США). Изменение относительного количества мтДНК определяли соотношением между числом копий митохондриального гена *mPHK* и гена *GAPDH* яДНК в одной и той же пробирке. Для анализа расчетов использовали метод $2^{-\Delta\Delta CT}$. ПЦР-тесты проводили в трех повторностях для каждого образца ДНК. Для амплификации гена *mPHK* (73 п.о.) мтДНК использовали следующие праймеры: forward -5'-aat ggt tcg ttt gtt caa cga tt-3'; reverse - 5'-aga aac cga cct gga ttg ctc-3'; и зонд – R6G-AAG TCC TAC GTG ATC TGA GTT-RHQ1. Для амплификации гена GAPDH (80 п.н.) яДНК были использованы следующие праймеры: forward-5'- TGG CCT CCA AGG AGT AAG AAA C-3'; reverse 5'-GGC TCT CTC CTT GCT CTC AGT ATC -3'; и зонд – FAM-CTG GAC CAC CCA GCC CAG CAA-RTQ1. Программа ПЦР была следующей: 5 мин при 95°C, затем 40 циклов (95°C в течение 30 с, отжиг и удлинение при 60°C в течение 1 мин). Результаты представлены в виде процентного отношения (сравнение с необлученными крысами:100%). Для определения количества мутантных копий мтДНК, выделенных из тканей головного мозга, мы использовали Surveyor Mutation Detection Kit ("Transgenomic", США), как описано [16]. Для амплификации мтДНК использовали участок, охватывающий ген *mPHK* (507 пар оснований (п.о.)). В качестве праймеров были использованы

последовательности: forward -5'-cac act ctc act cgc atg aa-3' и reverse -5'-tcc ttc caa tct agt tga gg-3'. Реакционная смесь ПЦР (общий объем 25 мкл) содержала: 75 ммоль/л Трис-НСІ, рН 8.8, 20 ммоль/л (NH4)₂SO₄, 2.5 ммоль/л MgCI₂, 200 мкмоль/л каждого dNTP. 250 нмоль/л каждого праймера. 0.01% твин-20. В реакционную смесь вводили 1 нг ДНК и 1 суммарную единицу смеси Таq-и Pfu-полимераз ("Thermo Fisher Scientific", США), которую вносили методом "горячего старта" после первичной денатурации ДНК-матриц при 94°C в течение 4 мин. ПЦР проводили в режиме 35 циклов: денатурация 30 с при 94°C, отжиг 45 с при 62° С и элонгация 45 с при 72° С, после которых завершающая инкубация 4 мин при 72°С. ПЦР проводилась на программируемом термоциклере Терцик ("НПФ-ДНК-Технология", Москва). После завершения реакции все продукты ПЦР образцов ДНК были доведены до одинаковой концентрации путем добавления ТЕ-буфера. Для получения гетеродуплексов смешивали равные объемы (по 7 мкл) ПЦР-ампликонов мтДНК тканей головного мозга облученных и контрольных крыс, а также ПЦР-ампликонов мтДНК тканей головного мозга двух контрольных животных. Смеси нагревали при 99°C в течение 10 мин и медленно охлаждали до 40°C (в течение 70 мин) при скорости снижения температуры 0.3°C/мин. Затем образцы выдерживали 45 мин при комнатной температуре. К смеси гетеродуплексов добавляли 1/10 объема 0.15 моль/л раствора MgCl₂, 1 мкл Surveyor Enhancer S и 1 мкл Surveyor Nuclease S. Смесь инкубировали при 42°С в течение 60 мин. Затем реакцию останавливали добавлением 1/10 объема Stop-раствора в соответствии с протоколом производителя ("Transgenomic", США). Продукты расщепления эндонуклеазой анализировали с помощью электрофореза в 2.0%-ном агарозном геле, окрашенном бромидом этидия. ПЦР-тестирование гетеродуплексов проводили в трех повторностях для каждого образца ДНК. Интенсивность флуоресценции полос ДНК в гелях регистрировали с помощью AlphaImager Mini System ("Alpha Innotech", США). Отношение флуоресценции продуктов расщепления к общей интенсивности флуоресценции полос ДНК в геле (% ДНК, расщепленной Surveyor Nuclease) рассчитывали с использованием пакета программ ImageJ ("Wayne Rasband", США). Статистические различия между данными, полученными до и после облучения крыс, были оценены с помощью ANOVA. Результаты были рассчитаны и представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение (n = 4). Значение p < 0.05 считали статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 1 представлены результаты исследований, полученных методом $\Pi \coprod P$ в реальном вре-

мени, которые показывают, что количества копий мтДНК увеличиваются относительно яДНК в регионах мозга крыс (гиппокампа, коры и мозжечка) в течение 2—24 ч после краниального облучения в дозах 3 и 5 Гр. При этом максимальные повышения количества копий мтДНК у облученных животных мы регистрируем в гиппокампе. При инициации репликативного синтеза с вовлечением поврежденных мтДНК посредством ДНК-полимеразы у можно ожидать появление новых копий мтДНК с мутациями и делециями в клетках головного мозга крыс, подвергшихся радиационному воздействию.

Для оценки мутантных копий мтДНК дополнительно использовались временные точки через 2 нед., 1 и 2 мес. после облучения в дозе 3 Гр. От исследований в эти же сроки после облучения в дозе 5 Гр воздержались, так как возможна гибель крыс при воздействии протонов. На рис. 2 изображены типичные электрофореграммы продуктов Surveyor-эндонуклеазного расшепления гетеродуплексов ПЦР-ампликонов мтДНК. Степень расщепления этим ферментом гетеродуплексов зависит от наличия в них сайтов с неспаренными основаниями, которые могли формироваться благодаря наличию мутаций в определенном количестве копий мтДНК в тканях головного мозга облученных крыс. Растительная Surveyor-эндонуклеаза строго специфически разрезает обе нити ДНК (с 3' стороны) на участках с неспаренными основаниями (включая все замены оснований, вставки и делеции) [16]. На электрофореграммах можно заметить также, что количество продуктов эндонуклеазного расщепления гетеродуплексов различается в зависимости от дозы радиационного воздействия и времени после облучения крыс. Суммарное количество продукта, отщепленного эндонуклеазой от гетеродуплексов, регистрируемое в данных анализах, можно условно считать соответствующим числу мутантных копий в амплифицируемых образцах одинакового количества общей ДНК, выделенных из тканей головного мозга крыс.

Для сравнительного анализа результатов исследования мы количественно регистрировали процент отщепившихся продуктов (% расщепления гетеродуплексов), в результате действия Surveyor-эндонуклеазы, по отношению к интегральной интенсивности полос ДНК на гелях электрофореграмм, как указано выше. Обобщенные результаты независимых повторных анализов продуктов, отшепляемых гетеродуплексов, представлены на рис. 3. Результаты исследований показывают, что во всех трех структурах головного мозга облученных крыс в дозах 3 и 5 Гр возникает резкое увеличение количества мутантных копий мтДНК (рис. 3). Так, к 24 ч после облучения в дозе 5 Гр количество мутантных копий мтДНК в рассмотренных отделах мозга достигает около 25-

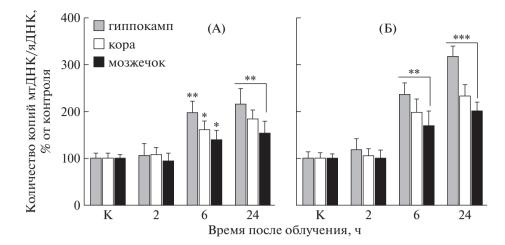


Рис. 1. Активация синтеза мтДНК в тканях разных отделов мозга крыс через 2, 6, 24 ч после воздействия протонов (150 МэВ) на область головы. А — крысы, облученные в дозе 3 Гр; Б — крысы, облученные в дозе 5 Гр. Здесь и на рис. 3 статистическая значимость различий была установлена на уровне p значений p < 0.05 (*), p < 0.01 (**), p < 0.001 (***), p < 0.05.

Fig. 1. Activation of mtDNA synthesis in tissues of different brain regions of rats in 2, 6, 24 hours after exposure to 150 MeV proton beam. (A) - rats, irradiated with a dose of 3 Gy; (B) - rats, irradiated with a dose of 5 Gy. In this Figure and in Figures 3 statistical significance was set at p < 0.05 (*), p < 0.01 (**), *** p < 0.001.

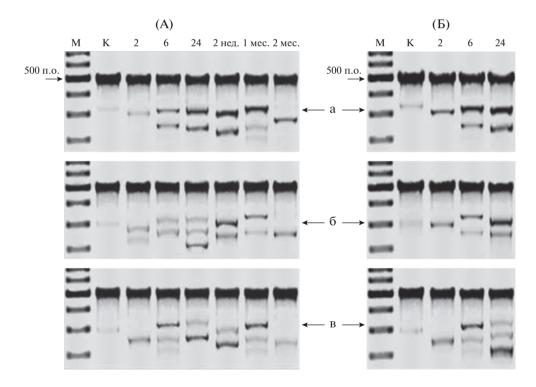


Рис. 2. Электрофорез гетеродуплексов ПЦР-ампликонов мтДНК (507 bp) из тканей разных отделов мозга крыс после воздействия протонов (150 MэВ) на область головы. Анализы проводились после обработки гетеродуплексов ПЦР-ампликонов образцов мтДНК, посредством Surveyor-нуклеазой, специфически узнающей неспаренные основания (мутантные сайты мтДНК). А – крысы, облученные в дозе 3 Гр; Б – крысы, облученные в дозе 5 Гр; а – гиппокамп, б – кора, в – мозжечок. К – гетеродуплексы ампликонов мтДНК необлученных крыс, М – маркер молекулярного веса. Электрофоретически легкие фрагменты – результат расщепления мутантных копий мтДНК.

Fig. 2 Electrophoresis of heteroduplexes of PCR amplicons of mtDNA (507 bp) in tissues of different brain regions of rats after the effect of 150 MeV protons on rat brain. Analyses were carried out after staining of heteroduplexes of PCR amplicons of mtDNA probes with mismatch-specific Surveyor-nuclease (mtDNA mutant sites) in PCR amplification. (A) – rats, irradiated with a dose of 3 Gy; (B) – rats, irradiated with a dose of 5 Gy; a – hippocampus, b – cortex, c – cerebellum. M – a marker of the molecular weight. C – amplified heteroduplexes of mtDNA amplicons in nonirradiated rats. Electrophoretically light fragments result from the disruption of mutant mtDNA copies.

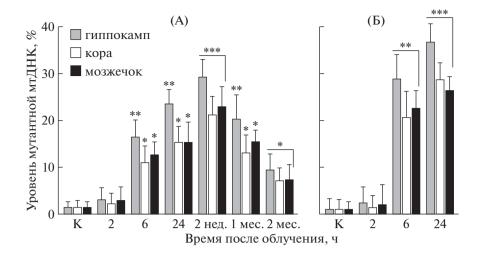


Рис. 3. Изменение относительных уровней (гетероплазмии) мутантных копий мтДНК (% расщепления Surveyor-нуклеазой гетеродуплексов ПЦР-ампликонов мтДНК) в тканях разных отделов мозга крыс после воздействия протонов (150 МэВ) на область головы. А — крысы, облученные в дозе 5 Гр; Б — крысы, облученные в дозе 3 Гр.

Fig. 3 Alterations in relative levels (heteroplasmy) of mutant mtDNA copies (disruption of heteroduplexes of PCR amplicons of mtDNA using Surveyor-nuclease, %) from tissues of different brain regions of rats after the effect of 150 MeV protons on rat brain. (A) – rats, irradiated with a dose of 5 Gy; (B) – rats, irradiated with a dose of 3 Gy.

35% от общего количества копий мтДНК в этих тканях. При облучении крыс в дозе 3 Гр максимальный уровень мутантных копий мтДНК регистрируется через 2 нед. и составляет около 20-30%, в последующие же сроки после радиационного воздействия количество мутантных копий существенно снижается. В гиппокампе наблюдается самый высокий уровень мтДНК с мутациями. Так, в этом отделе мозга статистически значимое повышение числа мутантных копий мтДНК, по сравнению с таковыми показателями для коры и мозжечка, наблюдается к 6 и 24 ч после облучения крыс в дозе 5 Гр (рис. 3). Через 24 ч и 2 нед. после радиационного воздействия в дозе 3 Гр в гиппокампе животных регистрируется статистически значимое повышение уровня мутантных копий мтДНК, по сравнению с рассматриваемыми показателями для коры и мозжечка. Таким образом, полученные результаты показывают, что увеличение количества копий мтДНК в различных участках головного мозга крыс после облучения сопряжено с индукцией мутаций в мтДНК (появление копий мтДНК с мутациями).

ОБСУЖДЕНИЕ

Очевидно, наблюдаемое нами увеличение уровней мтДНК обусловлено активацией биогенеза митохондрий с репликативным синтезом новых копий мтДНК. Ранее была показана активация биогенеза митохондрий и синтеза мтДНК в различных клетках (*in vitro*) и в тканях грызунов (*in vivo*) в пострадиационный период [18—20]. Хотя в клетках мозга значительное количество копий мтДНК повреждается и часть подверглась

мутагенезу, важнейшей гарантией сохранности генетической информации мтДНК является ее представление в клетках множеством копий [21]. Кроме того, репликация мтДНК не зависит от клеточного деления [22]. Активация биогенеза митохондрий в тканях животных после воздействия ионизирующего излучения представляет собой проявление компенсаторной реакции, связанной с энергетическими потерями в клетках на уровне целого организма. В облученных клетках возникают повышенные расходы АТФ для обеспечения дополнительных энергетических потребностей. Как известно, реакция клеток на повреждения ДНК (DNA Damage Response – DDR) – чрезвычайно энергоемкий процесс, который треповышенного расхода молекул АТФ. В процесс DDR вовлекаются различные протеинкиназы, которые подвергают в течение нескольких минут фосфорилированию множество белков на сайтах хроматина, содержащих ДНК с повреждениями. При этом, только с участием протеинкиназ ATM и ATR, выявлено более 900 регулируемых сайтов фосфорилирования хроматина, каждый из которых охватывает более 700 белков [23]. Значительные расходы АТФ связаны с процессом ремоделирования хроматина для обеспечения репарации ДНК. Так, в ответ на возникновение одного двунитевого разрыва ядерной ДНК фосфорилирование гистонов Н2АХ может охватить участок хроматина размером более одного миллиона пар оснований [24]. Таким образом, при воздействии ИИ на мозг, в первые же минуты, можно ожидать истощение пула молекул АТФ в результате фосфорилирования многих белков и активации биогенеза митохондрий. Митохондрии не

только поставляют энергию для клеточных функший, но также принимают участие в передаче сигналов клетки. Восстановление необходимого энергообеспечения может произойти, когда митохондриальные ретроградные сигнализации поступают в ядро [25]. Они способствуют изменению транскрипции ядерных генов, контролирующих активацию митохондриальных процессов для производства АТФ. Ретроградные сигнализации необходимы и для восстановления функции нейронов [25]. Другим путем поддержки производства АТФ можно рассматривать и активацию АМФ-активируемой протеинкиназы, инициирующей биогенез митохондрий, с увеличением соотношения АМР/АТФ [26]. Пострадиационная активация синтеза АТФ сопряжена с усилением генерации АФК/А, которая сохраняется в течение длительного пострадиационного времени. Эта отсроченная активация генерации АФК/А приводит к повышению оксидативного стресса в облученных клетках [9, 10]. Репликация мтДНК с повреждениями будет способствовать увеличению копий мтДНК с мутациями и делециями [17]. Полученные нами данные для всех трех отделов мозга облученных крыс в пострадиационный период также показывают возрастание количества мутантных копий мтДНК. При этом наибольший рост этого показателя выявляется в гиппокампе (рис. 3). Увеличение числа мутантных копий мтДНК также происходит за счет так называемой "клональной экспансии", возникающей в результате преимущественной репликации мтДНК с определенными типами мутаций и делеций [25]. Частота повреждений и мутаций мтДНК коррелирует с повышением уровня АФК/А в клетках [28, 29]. Поскольку мутации мтДНК приводят к нарушению цепи переноса электронов и усилению генерации АФК/А, которые индуцируют дополнительные повреждения и последующие мутации мтДНК, то мы можем предполагать, что эти события могут приводить к возникновению "порочных кругов" [30], которые будут способствовать длительному сохранению повышенного окислительного стресса в клетках мозга.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий различаются в гиппокампе, коре и мозжечке мозга крыс после краниального воздействия протонов. Эти изменения могут привести к митохондриальной дисфункции с выраженным окислительным стрессом в различных отделах головного мозга и быть сопряженными с развитием отдаленных последствий действия ИИ. Результаты указывают, что выбор митохондриально-направленных (mitochondria targeting) тушителей АФК/А является реальным подходом для смягчения (mitigation) последствий радиационного воздействия на организм.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офи м.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Hladik D.*, *Tapio S*. Effects of ionizing radiation on the mammalian brain // Mutat. Res. 2016. V. 770. P. 219–230.
- Casciati A., Dobos K., Antonelli F. et al. Age-related effects of X-ray irradiation on mouse hippocampus // Oncotarget. 2016. V. 7. № 19. P. 28040–58.
- Limoli C.L., Rola R., Giedzinski E. et al. Cell-density-dependent regulation of neural precursor cell function // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 16052–16057.
- 4. Wang Y., Xu E., Musich P.R., Lin F. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases and the potential countermeasure // CNS Neurosci Ther. 2019. [Epub ahead of print]. https://doi.org/10.1111/cns.13116
- 5. *Lee W.T., St. John J.C.* Mitochondrial DNA as an initiator of tumorigenesis // Cell Death and Disease. 2016. 7.e2171. https://doi.org/10.1038/cddis.2016.77
- 6. *Machado T.S., Macabelli C.H., Sangalli J.R. et al.* Realtime PCR quantification of heteroplasmy in a mouse model with mitochondrial DNA of C57BL/6 and NZB/BINJ Strains // PLoS ONE. 2015. V. 10. № 8. e0133650.
- 7. *Xie Y.M.*, *Jin L.*, *Chen X.J. et al.* Quantitative changes in mitochondrial DNA copy number in various tissues of pigs during growth // Genet. Molec. Res. 2015. V. 14. № 1. P. 1662–1670.
- 8. *Van Houten B., Hunter S.E., Meyer J.N.* Mitochondrial DNA damage induced autophagy, cell death, and disease // Front. Biosci. (Landmark Ed). 2016. V. 21. P. 42–54.
- 9. Azzam E.I., Jay-Gerin J.P., Pain D. Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury // Cancer Lett. 2012. V. 327. P. 48–60.
- 10. Газиев А.И. Пути сохранения целостности мито-хондриальной ДНК и функций митохондрий в клетках, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации // Радиац. биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 2. С. 117—136. [Gaziev A.I. Puti sokhraneniya tselostnosti mitokhondrial'noy DNK i funktsiy mitokhondriy v kletkakh, podvergshikhsya vozdeystviyu ioniziruyushchey radiatsii // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 2013. Т. 53. № 2. С. 117—136 (In Russian)].
- 11. *Kim G.J.*, *Fiskum G.M.*, *Morgan W.F.* A role for mitochondrial dysfunction in perpetuating radiation induced genomic instability // Cancer Res. 2006. V. 66. № 21. P. 10377–10383.
- 12. Aguilera A., Garcia-Muse T. Causes of genome instability // Annu. Rev. Genet. 2013. V. 47. P. 1–32.
- 13. *McKinnon P.J.* Genome integrity and disease prevention in the nervous system // Genes Dev. 2017. V. 31. № 12. P. 1180–1194.
- 14. *Townsend L.W.* Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space // Radiat. Prot. Dosim. 2005. V. 115. P. 44–50.

- 15. Gonzalez-Hunt C.P., Rooney J.P., Ryde I.T., Anbalagan C., Joglekar R., Meyer J.N. PCR-based analysis of mitochondrial DNA copy number, mitochondrial DNA damage, and nuclear DNA damage // Curr. Protoc. Toxicol. 2016. V. 67. P. 1–34.
- Bannwarth S., Procaccio V., Paquis-Flucklinger V. Rapid identification of unknown heteroplasmic mitochondrial DNA mutations with mismatch-specific surveyor nuclease // Methods Mol. Biol. 2009. V. 554. P. 301–313.
- 17. *DeBalsi K.L., Hoff K.E., Copeland W.C.* Role of the mitochondrial DNA replication machinery in mitochondrial DNA mutagenesis, aging and age-related diseases // Ageing Res. Rev. 2017. V. 33. P. 89–104.
- 18. *Malakhova L.V., Bezlepkin V.G., Antipova V.N. et al.* The increase in copy number of mitochondrial DNA in tissues of γ-irradiated mice // Cell. Molec. Biol. Lett. 2005. V. 10. P. 592–603.
- 19. Nugent S.M., Mothersill C.E., Seymour C. et al. Increased mitochondrial mass in cells with functionally compromised mitochondria after exposure to both direct gamma radiation and bystander factors // Radiat. Res. 2007. V. 168. P. 134–42.
- Zhang H., Maguire D., Swarts S. et al. Replication of murine mitochondrial DNA following irradiation // Adv. Exp. Med. Biol. 2009. V. 645. P. 43–8.
- Gaziev A.I., Abdullaev S., Podlutsky A. Mitochondrial function and mitochondrial DNA maintenance with advancing age // Biogerontol. 2014. V. 15. P. 417–438.

- 22. *Pinto M., Moraes C.T.* Mechanisms linking mtDNA damage and aging // Free Radic. Biol. Med. 2015. V. 85. P. 250–258.
- 23. *Matsuoka S., Ballif B.A., Smogorzewska A. et al.* ATM and ATR substrate analysis reveals extensive protein networks responsive to DNA damage // Science. 2007. V. 316. P. 1160–1166.
- 24. Bonner W.M., Redon C.E., Dickey J.S. et al. γH2AX and Cancer // Nat. Rev. Cancer. 2008. V. 8. P. 957–967.
- Hunt R.J., Bateman J.M. Mitochondrial retrograde signaling in the nervous system // FEBS Lett. 2018.
 V. 592. P. 663–678.
- 26. *Hinchy C., Gruszczyk A.V., Willows R. et al.* Mitochondria-derived ROS activate AMP-activated protein kinase (AMPK) indirectly // J. Biol. Chem. 2018. V. 293. № 44. P. 17208–17217.
- 27. Bratic A., Larsson N.G. The role of mitochondria in aging // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. P. 951–957.
- 28. *Indo H.P., Davidson M., Yen H.C. et al.* Evidence of ROS generation by mitochondria in cells with impaired electron transport chain and mitochondrial DNA damage // Mitochondrion. 2007. V. 7. № 1–2. P. 106–118.
- 29. *Ishikawa K., Takenaga K., Akimoto M. et al.* ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis // Science. 2008. V. 320. № 5876. P. 661–664.
- Mandavilli B.S., Santos J.H., Van Houten B. Mitochondrial DNA repair and aging // Mutat. Res. 2002. V. 509. P. 127–151.

Study of Mitochondrial DNA Copy Number and Heteroplasmy in Different Rat Brain Regions after Cranial Irradiation of Protons

S. A. Abdullaev^{a,#}, E. V. Evdokimovskii^a, and A. I. Gaziev^a

^a Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia [#] E-mail: saabdullaev@gmail.com

The studies accumulated over recent years indicate that mitochondria are the most important target of radiation damage, along with the nucleus. The structural and functional disturbances induced by radiation in these organelles influence the post-radiation development of a whole complex of effects at the level of cells and the whole organism of animals and humans. This study is dedicated to determining changes in the number of copies of mitochondrial DNA (mtDNA), relative to nuclear DNA (nDNA), and identifying mutant copies of mtDNA in three brain regions (in the hippocampus, cortex and cerebellum) of rats, at different times after irradiating their heads with protons. Real-time PCR, and method based on cleavage of mtDNA PCR products heteroduplexes by Surveyor nuclease were used in this study. Our findings show that after radiation exposure the level of mtDNA copy number in three brain regions of rats dramatically elevated with simultaneously increased level of mutant mtDNA copies. MtDNA synthesis and the level of mutant mtDNA copies are different in the hippocampus, cortex and cerebellum of rat brain after cranial exposure to protons. The results suggest that increased in the number of mutant mtDNA copies may lead to mitochondrial dysfunction with increased oxidative stress, leading to nuclear genome instability in brain regions and be associated with the development of delayed effects of ionizing radiation.

Keywords: brain regions, mtDNA copies, mtDNA mutagenesis, protons, rats

РАДИАЦИОННАЯ <u></u> ШИТОГЕНЕТИКА

УДК 575.224.23:612.112.94:612.419:614.876:57.087

КОНЦЕПЦИЯ Т-КЛЕТОЧНОГО РОДА КАК ОСНОВА ДЛЯ АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ КОСТНОГО МОЗГА

© 2020 г. Е. И. Толстых^{1,*}, А. В. Возилова¹, М. О. Дёгтева¹, А. В. Аклеев¹

¹ Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Челябинск, Россия *E-mail: evgenia@urcrm.ru
Поступила в редакцию 21.03.2019 г.

Оценка частоты хромосомных транслокаций в Т-лимфоцитах периферической крови является общепризнанным биодозиметрическим ретроспективным методом. Аварийное загрязнение р. Теча в 1950-е годы (Челябинская область) остеотропным долгоживущим ⁹⁰Sr дало возможность оценить влияние локального облучения красного костного мозга (ККМ) на формирование транслокаций в периферических Т-лимфоцитах местных жителей. Для этих лиц в ходе исследований методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) было отмечено, что дозы облучения ККМ, рассчитанные по данным FISH, были ниже значений, оцененных на основе измерений содержания ⁹⁰Sr в организме. В настоящем исследовании представлен аналитический обзор опубликованных данных, касающихся наиболее важных процессов развития Т-лимфоцитов и формирования в них хромосомных аберраций: характеристика основных компартментов, где происходит облучение Т-клеток; оценка времени пребывания Т-лимфоцитов и их предшественников в этих компартментах; анализ динамики клеточных популяций (пролиферация и гибель клеток) в периферическом пуле; возрастные аспекты этих процессов. В работе представлена концепция Т-клеточного рода (Т-клеточный Genus), который объединяет всех потомков Т-прогенитора с наследуемыми специфическими аберрациями, которые могли образоваться в костном мозге.

Ключевые слова: биодозиметрия, T-лимфоциты, хромосомные аберрации, костный мозг, 90 Sr, река Tеча, T-клеточный род

DOI: 10.31857/S0869803120010142

Анализ хромосомных аберраций в лимфоцитах периферической крови признан в качестве одного из важных методов биодозиметрии [1]. Наиболее полно разработаны методы оценки доз по частоте дицентриков (нестабильных хромосомных аберраций) в лимфоцитах периферической крови [1-4]. Для использования этого метода важно, чтобы цитогенетический анализ был выполнен в течение небольшого промежутка времени после облучения, так как клетки с такими аберрациями гибнут в процессе деления, т.е. происходит быстрое, зависящее от времени, снижение числа клеток с дицентриками. Использование калибровочных кривых позволяет перейти от частоты дицентриков к дозе на лимфоциты. Поскольку эти клетки крови циркулируют в организме, то оцененная доза трактуется как доза на все тело. Если облучение было частичным или неравномерным, то Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ) [1] рекомендует применять два основных метода Dolphin и Odr для расчетов доз на все тело. Оба метода используют данные о частоте аберраций и количестве дицентриков на одну клетку, а также калибровочные кривые, полученные *in vitro* для дицентриков.

В случае, когда прошло несколько и более лет после воздействия (т.е. когда большая часть клеток с дицентриками элиминировалась), то для оценок доз применяются данные по транслокациям (стабильным хромосомным аберрациям) с использованием различных модификаций метода FISH (fluorescence in situ hybridization). Объектом исследования FISH являются главным образом Т-лимфоциты, которые составляют около 75— 90% лимфоцитов периферической крови. Стимуляция митогеном Т-лимфоцитов на стадии G_0 приводит к делению клеток, что позволяет визуализировать повреждения ДНК в метафазных хромосомах. Митоген фитогемагглютинин, используемый в протоколе FISH, стимулирует к делению именно Т-лимфоциты человека in vitro [5]. Различные модификации метода применяются в случаях техногенного (в том числе аварийного) облучения, когда индивидуальная дозиметрия не проводилась, а также для верификации других дозиметрических исследований [3, 6–10]. В частности, полногеномный многоцветный mFISH-анализ и mBAND позволяют определить вид излучения, участвовавшего в поражении клетки (плотно- или редкоионизирующее) [6, 7, 10–12], поскольку характерные сложные хромосомные перестройки, детектируемые при такой окраске, являются результатом воздействия только плотноионизирующей радиацией.

Для случая частичного или неравномерного облучения от β-γ-источников (редкоионизирующее излучение) трактовка результатов FISH-исследований неочевидна. Методы Dolphin и Qdr, использующие данные по числу дицентриков в одной клетке, в этом случае неприменимы. Существует общепринятая точка зрения, высказанная в публикациях МАГАТЭ [1], что "при ретроспективной биологической дозиметрии, спустя десятилетие или более после воздействия, когда транслокации (стабильные хромосомные аберрации) измеряются методом FISH, дозовая оценка представляет собой среднюю дозу на активный (красный) костный мозг – ККМ. Связано это с тем, что первоначально облучению подверглись стволовые клетки – предшественники лимфоцитов, которые собственно и исследуются".

Ситуация облучения жителей прибрежных сел р. Теча в 1950-е годы дает уникальную возможность проверить применимость этого утверждения для условий частичного (неравномерного) облучения. Основным источником облучения для жителей прибрежных сел после сбросов в р. Теча жидких радиоактивных отходов были В-излучающие изотопы стронция ^{89,90}Sr [13, 14]. Они избирательно накапливаются в костях, в полостях которых находится ККМ. В связи с короткой длиной пробега электронов 89,90Sr-спектров облучению подвергаются только близлежащие ткани (костные поверхности, костный мозг). Таким образом, попадание ^{89,90}Sr в организм жителей прибрежных сел р. Теча привело к локальному облучению ККМ. Когорта жителей прибрежных сел р. Теча хорошо изучена, описаны эффекты радиационного воздействия (повышенный радиогенный риск развития лейкозов и солидных опухолей и др. [15-17]), а также источники облучения и подходы к оценкам доз [14, 18, 19]. Оценки доз от ^{89,90}Sr базируются на измерениях содержания 90Sr в организме [20] и биокинетических моделях для стронция [21]. Относительный вклад облучения от инкорпорированного ^{89,90}Sr в дозу на ККМ варьировал от 60% в верхнем течении р. Теча до >90% в среднем и нижнем [14].

Цитогенетические исследования лимфоцитов лиц — жителей прибрежных сел р. Теча показали [22-24], что дозы, оцененные на основе метода $FISH^1$ со стандартными калибровочными кривы-

ми, были существенно ниже, чем дозы на ККМ, рассчитанные по результатам измерений радионуклидов в организме и у-полей в местах проживания. Для того чтобы объяснить такое расхождение, мы предположили, что по прошествии десятилетий после локального облучения ККМ исследованные Т-лимфоциты периферической крови представляют собой смешанную популяцию. Часть Т-лимфоцитов, сформированных до начала облучения ККМ, подверглась только внешнему облучению и облучению за счет равномерно-распределенного ¹³⁷Cs ("небольшая доза"). Другая часть Т-лимфоцитов — это потомки прогениторов, облучившихся за счет 89,90Sr в ККМ ("большая доза"). Таким образом, лимфоциты периферической крови будут облучены в различных дозах, а средняя доза на лимфоциты будет ниже, чем доза облучения ККМ. Это означает, что трактовка данных по частоте транслокаций, рекомендованная МАГАТЭ, не может быть применена для случаев локального облучения ККМ.

Важным для обоснования нашего подхода является объяснение, каким образом в периферической крови в течение десятилетий могут существовать лимфоциты со специфическими аберрациями (или, наоборот, без них), если среднее время жизни отдельных лимфоцитов существенно меньше. В связи с этим необходим анализ динамики Т-клеточных популяций, который выявил ряд фактов. Во-первых, продукция тимусом Т-лимфоцитов резко снижается с возрастом [25, 26], однако количество лимфоцитов в периферическом пуле существенно не меняется. Во-вторых, для поддержания стабильного количества Тлимфоцитов в периферическом пуле имеет место гомеостатическая пролиферация [27], когда при делении Т-клеток происходит передача стабильных аберраций новым лимфоцитам-потомкам. Таким образом, интерес представляет не продолжительность жизни отдельного лимфоцита, а продолжительность жизни пролиферирующего клона. Более того, количественные оценки показывают, что репертуар Т-клеток периферической крови в основном формируется в детском возрасте и остается довольно стабильным в течение жизни [28-30]. Следует отметить, что прослеживание путей образования, сохранения и передачи транслокаций в Т-клетках крови в течение длительного времени является сложной задачей, поскольку требует проведения продольных исследований в течение десятилетий.

Таким образом, цель настоящего исследования заключалась в следующем: основываясь на опубликованных данных, выделить наиболее существенные процессы формирования периферического пула Т-лимфоцитов с хромосомными

¹ Использовали цельнохромосомные зонды для окрашивания трех пар хромосом, т.е. примерно 23% генома.

аберрациями и разработать новую концепцию Т-клеточного рода для целей биодозиметрии. Это включает: 1) характеристику основных компартментов, связанных с формированием транслокаций; 2) оценку временных характеристик пребывания Т-лимфоцитов и их предшественников в различных компартментах; 3) анализ динамики клеточных популяций (пролиферация и гибель клеток) в периферическом пуле; 4) описание концепции Т-клеточного рода.

ОСНОВНЫЕ КОМПАРТМЕНТЫ ПРЕБЫВАНИЯ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ

Следующие компартменты были выделены нами как наиболее существенные для формирования предшественников и зрелых Т-лимфоцитов — потенциальных носителей транслокаций: 1) красный костный мозг — место, где находятся стволовые кроветворные клетки, подвергающиеся локальному облучению остеотропными β-излучателями; 2) тимус — орган, где происходит формирование периферических Т-лимфоцитов; а также 3) периферический пул, включающий лимфоидные ткани, селезенку, печень, кровеносные сосуды и т.д. Далее подробно рассматриваются процессы, проходящие в этих компартментах.

Костный мозг

Периферические Т-лимфоциты происходят из гемопоэтических стволовых клеток, расположенных в красном костном мозге. Из этих стволовых клеток происходят различные коммитированные предшественники — прогениторы, которые первыми теряют способность к самовоспроизводству. Изредка некоторое число Т-прогениторов выходит из костного мозга в кровоток, где они получают возможность вхождения в тимус [31—34]. Число предшественников, выходящих в кровоток, уменьшается с возрастом, максимальная скорость "заселения" тимуса наблюдается в первые годы жизни [34, 35].

Следует отметить, что нет прямой зависимости между выходом прогениторов из ККМ в периферическую кровь (число Т-прогениторов в периферической крови) и производством тимусом Тлимфоцитов. За период от 20—25 до 60 лет доля Тпрогениторов в периферической крови уменьшается примерно в 2 раза, как в расчете на общее число ядросодержащих клеток [36], так и в расчете на общее число плюрипотентных гемопоэтических клеток [37], при этом продукция тимуса снижается почти на порядок [27, 38]. По некоторым экспериментальным оценкам время пребывания Т-прогениторов в циркуляции не превышает 6 мин [34].

Таким образом, производство и миграция Т-прогениторов в периферическую кровь не являет-

ся лимитирующим фактором для производства тимусом Т-лимфоцитов, хотя имеются данные, что неполное восстановление костномозговых гемопоэтических и лимфопоэтических предшественников после облучения может быть фактором, ограничивающим восстановление числа периферических лимфоцитов [39]. Такими лимитирующими факторами являются условия микроокружения в тимусе, объем эпителия и т. д. Мы можем считать, что после начала локального облучения костного мозга вся продукция тимуса потенциально несет сформированные там аберрации, и она прямо пропорциональна количеству облученных прогениторов, достигших тимуса через периферическую кровь.

Тимус

После попадания из кровеносного русла в тимус клетки-предшественники Т-лимфоцитов продолжают дифференцироваться и активно пролиферировать. В течение своего развития Т-клетки приобретают уникальные гетеродимерные Т-клеточные рецепторы (ТКР), которые могут быть использованы при распознавании патогена. Примерно 95% Т-клеток имеют ТКР с рецепторными цепочками α и β. Они появляются вследствие процесса соматической перегруппировки (рекомбинации), при которой соединяются различные сегменты генов Т-клеточных рецепторов и создается новый ген. Этот процесс присоединения является неточным и идет со вставкой нешаблонных нуклеотидов (N-нуклеотидов) в месте соединения, а также -3'- и 5'-нуклеотидных делеций из зародышевых генов, участвующих в перегруппировке. Этот участок произвольного введения нуклеотида или его стирания называется третьим участком, определяющим комплементарность (CDR3). Полученный в результате этого процесса участок хромосомы имеет уникальную нуклеотидную последовательность, которая специфична для конкретной Тклетки и всех ее потомков; отсюда проистекает клонотипический характер рецепторов [40]. То есть гены, кодирующие конкретный (уникальный) ТКР, будут переданы всем потомкам Т-лимфоцита, в том числе и после его активации чужеродным антигеном.

Т-клеточный рецептор относится к подмножеству рецепторов клеточной поверхности (эпитопов), которые указывают на клеточный тип и стадию дифференциации клетки и которые распознаются антителами. Рецепторы клеточной поверхности или кластеры дифференциации (CD)²

² CD молекулы могут действовать различным образом, часто действуя как рецепторы или лиганды (молекулы, которые активируют рецептор), важные для клетки. Они могут инициировать сигнальный каскад, меняя поведение клетки. Некоторые CD-протеины не играют роли в клеточных сигналах, но имеют другие функции, такие как клеточная адгезия. Существует примерно 250 различных CD протеинов.

обычно используются в качестве клеточных маркеров для идентификации клеток. Все Т-клетки экспрессируют CD3+ маркер; кроме того, Tклетки имеют другие CD маркеры, отражающие подгруппу клеток и стадию их дифференциации. Около 95-99% Т-клеток в периферической крови являются клетками CD4+ или CD8+. Клетки CD4+ являются хелперными клетками, продуцирующими цитокины, которые стимулируют другую Т-клеточную эффекторную функцию и продукцию антител В-клетками, они также мобилизуют мощный механизм воспаления. Клетки CD8+ являются цитотоксичными, они весьма эффективны при прямом лизисе инфицированных (вирусами, например) или злокачественных клеток, несущих антигены [41].

В тимусе Т-клетки развиваются из клеток без специфических Т-маркеров (CD3-CD4-CD8-, т.е. тройные отрицательные клетки) в CD4+CD8+ (двойные положительные клетки). Приблизительно 95-98% двойных положительных клеток гибнет вследствие положительной и отрицательной селекции. Процессы селекции допускают появление Т-клеток только с низкой аффинностью (низким сродством) к ауто-антигенам (антигенам собственных клеток) и собственному основному комплексу гистосовместимости (ауто-МНС). При этом потенциально ауто-реактивные клетки высокой аффинностью элиминируются, а оставшиеся проходят дальнейшую дифференциацию в одноположительные CD4+ и CD8+ тимоциты. Эти Т-клетки мигрируют из тимуса в периферический пул в качестве наивных Т-клеток – недавних тимусных эмигрантов (RTEs), т.е. клеток, наиболее близких к костномозговым прогениторам. Созревание Т-клеток в тимусе, которое включает пролиферацию Т-предшественников из костного мозга, положительную и отрицательную селекцию с гибелью около 95% клеток, не занимает большое количество времени и составляет по разным оценкам до 1 мес. [42].

Продуктивность тимуса существенно зависит от возраста индивида [43, 44]. К концу первого года жизни тимус достигает максимального размера [26], после этого начинается атрофия коркового и медуллярного слоя тимуса, т.е. эпителиального пространства, где непосредственно происходит созревание Т-лимфоцитов. Объем эпителия снижается на 70% в течение первых 20 лет жизни, и далее это снижение только прогрессирует [26, 45]. Уменьшение эпителиального пространства тимуса приводит к уменьшению производства Т-клеток, которое наблюдается уже в детском возрасте и далее в течение жизни.

Периферический пул

Наивные Т-клетки, т.е. клетки, не встречавшиеся с соответствующим им антигеном, подразде-

ляются на две субпопуляции: недавние тимусные эмигранты (RTEs) и наивные клетки — "ветераны", которые появляются после ряда делений RTE. Клетки RTEs могут быть идентифицированы в крови при использовании специальных маркеров [38]³. Данные по динамике RTEs используются для количественной оценки работы тимуса [42, 46—50].

Было показано, что во всех возрастных группах число RTEs значительно ниже, чем общее число наивных клеток, которое поддерживается гомеостатической пролиферацией (постоянным делением) наивных клеток [23]. Время между делениями (продолжительность жизни) увеличивается с возрастом; таким образом, постоянный размер пула наивных клеток означает снижение скорости пролиферации в течение жизни.

По оценкам N. Vrisekoop [51] для взрослых, медианные полупериоды жизни для наивных CD4+ и CD8+ были оценены как 1517 и 2374 дней соответственно. Следует отметить, что если время между делениями превышает 1000 дней, то ограничение числа делений соматических клеток (около 35. предел Хэйфлика) не важно, а клон может считаться бессмертным с точки зрения человеческой жизни. Наивные Т-клетки движутся (мигрируют) по кровотоку в поисках чуждых антигенов среди вторичных лимфоидных органов: селезенка, лимфоузлы, костный мозг, организованная лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми поверхностями и кожей, включая Пэйеровы бляшки, миндалины, легочную, назальную и связанную с кишечником лимфоидную ткань. При рождении человека периферический пул наивных клеток составляет около 90% Т-клеток. В последующем происходит снижение доли наивных клеток, соотношение между наивными клетками и Т-клетками памяти к 20 годам составляет примерно 1:1. Далее компартмент наивных Т-клеток остается относительно стабильным до возраста 80-90 лет [52-55], хотя некоторые авторы отмечали возрастное снижение пула наивных клеток и различия между мужчинами и женщинами [28, 56].

³ Основные маркеры RTE: 1) TREC — Т-рецепторные эксцизионные кольца (T cell excision circle, TREC) — экстрахромосомные кольца, продукт эписомальной ДНК, которые получаются при перегруппировке генов ТКР, и который не является репликативным, т.е. не передается клеткам-потомкам при делении материнской клетки RTE [22]; 2) CD31 — маркер идентифицирует подгруппу наивных клеток, в которых высокий уровень TREC; 3) PTK7 — протеин-тирозин-киназа 7 (PTK7), экспрессируется субпопуляцией наивных клеток CD31+CD4+ с высоким содержанием TREC; 4) Кі67 — не является маркером RTE, но является маркером клеточного цикла, который экспрессируется только пролиферирующими клетками в стадии G₁. Позволяет определить, какая часть клеточной популяции делится в настоящий момент времени.

Разнообразие ТКРВ Средний возраст CDR3 на 300000 Группа доноров Число доноров (диапазон) T-клеток ($\times 10^5$) 0 8 2.7 ± 0.1 Новорожденные (пуповинная кровь) 16(6-25)11 2.2 ± 0.3 Молодые Средний возраст 40 (30-50) 13 1.6 ± 0.5 60(51-75)18 1.4 ± 0.6 Пожилые 92 (85-105) 23 0.9 ± 0.4 Долгожители

Таблица 1. Разнообразие ТКР β в зависимости от возраста [28] (поперечные исследования) **Table 1.** Diversity of TKR β depending on age [28] (cross-sectional studies)

Клетки памяти появляются после стимуляции антигеном (в присутствии ко-стимулирующих сигналов и воспалительных цитокинов) и дифференциации наивных клеток. Скорость перехода наивных клеток в пул клеток памяти примерно соответствует скорости появления новых антигенов. Стимулированные наивные клетки (эффекторные клетки) быстро делятся, и около 95% из них гибнут от апоптоза вскоре после ликвидации патогена [57]. Некоторая часть эффекторных клеток дифференцируется в эффекторные клетки памяти, которые порождают клетки центральной памяти⁴ со свойствами, подобными свойствам стволовых клеток. Было отмечено, что центральные клетки памяти являются самообновляющимися и мультипотентными, и таким образом они обеспечивают потенциальный резервуар для Тклеток памяти в течение всей жизни [58, 59]. Пул центральных и эффекторных клеток памяти остается относительно стабильным или слегка повышенным для широкого диапазона возрастов (20— 90 лет) [53, 55]. Эффекторные клетки памяти сохраняются в периферических лимфоидных органах и в тканях организма. Они делятся быстрее по сравнению с наивными клетками (для взрослых время между делениями занимает 155 и 244 дня для CD4+ and CD8+ соответственно [51]); проходят терминальную дифференциацию после ограниченного числа делений и могут погибнуть вследствие апоптоза. Однако пул эффекторных клеток памяти поддерживается центральными клетками памяти, а гибель эффекторных клеток памяти не означает полную элиминацию специфического клонотипа.

Таким образом, хромосомная аберрация может находиться в клонах Т-лимфоцитов памяти или наивных Т-клеток.

Разнообразие Т-клеточных клонов в различные возрастные периоды (поперечные исследования)

Оценка разнообразия Т-клеточных клонов является сложной задачей, которая решается с помощью глубокого секвенирования регионов, кодирующих ТКР. Обычно глубокому секвенированию подвергают β -регион, обладающий значительно бо́льшим разнообразием, чем α -регион.

Данные глубокого секвенирования ТКРВ региона тимоцитов периферической крови от 73 доноров различного возраста были представлены О. Britanova [28], и в настоящий момент это наиболее подробное поперечное исследование разнообразия Т-клеточных клонов. Примененный метод позволил получить 1-2.6 млн различных надежно секвенированных молекул кДНК для ТКРВ на каждый образец крови (3–20 млн ядерных клеток – мононуклеаров) и выявить 0.4-0.6 млн различных уникальных клонотипов ТКРВ на образец. В работе авторы не разделяли Т-клетки на субпопуляции (наивные или клетки памяти, CD4+ или CD8+). Авторы отмечали это как недостаток работы, однако, поскольку исследование судьбы хромосомных аберраций не предполагает разделение Т-лимфоцитов на субпопуляции, этот минус не является для нас существенным. Анализ возрастной зависимости показал, что разнообразие ТКРВ (число уникальных ТКРВ) в расчете на 300 000 Т-лимфоцитов (табл. 1) максимально в пуповинной крови у новорожденных и закономерно снижается с возрастом. В молодом и среднем возрасте разнообразие (как следует из анализа табл. 1) значимо не различается и существенно снижается в пожилом возрасте, однако границу резкого снижения по этим данным можно провести только условно.

Для примера в табл. 2 приведены результаты изучения разнообразия $TKP\beta$ с учетом субпопуляций T-лимфоцитов [60], когда исследовали кровь от двух доноров (здоровые мужчины 35 и 37 лет). Разнообразие $TKP\beta$ оценивали с поправкой на "скрытые" клонотипы, представленные одной клеткой; для этого был использован математический подход, разработанный для оценки

⁴ Ahmed M. [41, 57] описывает различные модели дифференцировки Т-клеток памяти. Тип модели не является существенным для целей нашего исследования. Мы описываем линейную модель дифференцировки.

Таблица 2. Расчетные значения количества уникальных ТКРβ в различных субпопуляциях Т-лимфоцитов в организме взрослых мужчин [60]

Table 2. The calculated values of the number of unique TKR β in various subpopulations of T-lymphocytes in the body of adult men [60]

Субпопуляция	Разнообразие ТКР eta \pm ошибка			
Суонопуляция	донор 1	донор 2		
СD8+ памяти	$6.3 \times 10^5 \pm 9 \times 10^4$	$4.4 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^5$		
CD8+ наивные	$1.24 \times 10^6 \pm 5 \times 10^4$	$9.7 \times 10^5 \pm 1.3 \times 10^5$		
CD4+ памяти	$8.2 \times 10^5 \pm 4 \times 10^4$	$8.7 \times 10^5 \pm 1.2 \times 10^5$		
CD4+ наивные	$1.26 \times 10^6 \pm 1.3 \times 10^5$	$1.03 \times 10^6 \pm 8 \times 10^4$		

общего видового разнообразия в большой популяции с использованием измерений видового разнообразия в случайной конечной выборке [61]. Таким образом, табл. 2 представляет абсолютные величины разнообразия ТКРВ (т.е. их общее количество в организме) в различных субпопуляциях Т-лимфоцитов человека, полученные авторами расчетным путем.

Как следует из табл. 2, для взрослых доноров суммарное разнообразие CD4+ несколько выше, чем CD8+. Следует отметить, что для CD8+ разнообразие в пуле наивных клеток примерно в 2 раза выше, чем в пуле клеток памяти, для CD4+ — примерно в 1.2-1.5 раза выше.

Исследование разнообразия клонотипов CD8+ памяти было выполнено группой Y. Naumov [62, 63]. Авторы использовали другой подход, обследовались только взрослые лица с характеристиками комплекса гистосовместимости HLA-A2, и у них изучались клонотипы, участвующие в повторных распознаваниях эпитопа М1₅₈₋₆₆ гриппа А (эта последовательность присутствует во всех штаммах гриппа). У этих лиц (HLA-A2) формируется устойчивая реакционная способность цитотоксических клеток (CD8+) к эпитопу $M1_{58-66}$, и, как полагают, это происходит вследствие вирусных воздействий, повторяющихся с детства. Данная модель позволяет изучать относительные характеристики разнообразия клонотипов. Исследователи показали, что около 57% Т-клеток памяти у взрослых состоит из большого количества редких или одиночных клонотипов; а ~43% состоит из нескольких высокочастотных клонотипов [62, 63]. Этот второй компонент, вероятно, представляет Т-клетки, которые чаще всех анализируются при иммунных ответах. Поэтому скорость повторной антигенной стимуляции (частота появления антигена) определяет репертуар Тклеток периферической крови в специфический период времени. Авторы также указывают на резкое снижение разнообразия клонотипов памяти CD8+ в пожилом возрасте [63]. Так, вариабельность этих клонотипов у лиц среднего возраста (43-49 лет, n=8) превышала таковую у пожилых людей (68-84 года n=8) примерно в 2 раза.

Аналогично разнообразию клонотипов памяти CD8+ репертуар CD4 β-цепей у взрослых индивидов меняется мало до 65 лет, после чего также происходит резкая потеря разнообразия [52]. Эта картина наблюдалась как в пуле наивных клеток, так и в пуле клеток памяти [64].

Разделение на субпопуляции Т-лимфоцитов обычно делается в предположении, что после антигенной стимуляции наивные клетки со специфическим ТКР (весь клон) участвуют в иммунном ответе, и часть эффекторных клеток с этим ТКР формирует клон клеток памяти, т.е. пулы клеток памяти и наивных клеток содержат разные клонотины. V. Venturi и соавт. сопоставили репертуар ТКРВ в пуле цитотоксичных клеток памяти и наивных клеток CD8+ (четыре здоровых донора с характеристиками HLA-A*0201*; три из четырех, однако, были положительны по наличию цитомегаловируса) [65]. Исследователи обнаружили, что имеет место перекрывание репертуара субпопуляций Т-наивных и Т-клеток памяти: до 20% уникальных клонотипов клеток памяти встречаются и в пуле наивных клеток. Обшие клонотипы относятся к высококлеточным (высокочастотным), общее число лимфоцитов, принадлежащих общим клонотипам, составляет по меньшей мере половину клеток памяти. Чем больше клеточность общих клонотипов в пуле клеток памяти, тем она больше и в пуле наивных клеток (значимая положительная корреляция).

Численность клонотипов в рамках одной субпопуляции Т-лимфоцитов может различаться в несколько раз. Как уже говорилось выше, около 40% клеток памяти составляют несколько высококлеточных клонотипов, остальные — малоклеточные или клонотипы, представленные одной клеткой [63]. Анализ частот встречаемости клонотипов разной клеточности и представление этих частот в виде ранговой зависимости в log-log масштабе позволили заключить, что их распределение может быть описано степенным законом (показатель степени примерно равен —1.6), что указывает на фрактальный характер организации разнообразия CD8+ клонотипов памяти (по частоте их встречаемости) [66]. Степенная зависимость остается, если анализировать различные субпопуляций CD8+ клонотипов памяти, например, если анализировать разнообразие клонотипов, использующих BJ2,7.

Аналогичные степенные зависимости были получены при изучении разнообразия В-цепей всей популяции Т-лимфоцитов (СD3+) у здоровых доноров, кровь которых использовалась для трансплантации стволовых клеток [67]. Были рассчитаны клональные частоты на уровне сегментов генов: J, VJ и VJ + NI (нуклеотидные вставки). Авторы заключают, что частоты встречаемости различных вариантов генов не являются случайными, а характеризуются степенными зависимостями. То есть существуют определенные доминантные клоны и минорные (малочисленные клоны), которые вместе образуют "себе подобные" распределения внутри любых частей Т-клеточного репертуара клонотипов внутри индивида. Фактически имеет место фрактальная организация частот клонотипов.

Специальный анализ, указывающий на фрактальный характер частного распределения клонотипов Т-лимфоцитов, был также выполнен группой из Нижнего Новгорода под руководством О. Bolkhovskaya [68] с использованием общедоступных баз данных по расшифровке генов ТКР. В частности, этой группой были использованы данные, цитированные выше [60, 67, 69].

Устойчивость репертуара Т-клеточных клонов (продольные исследования)

Возможность прослеживания клонотипного репертуара одного человека в течение десятков лет осложняется тем фактом, что методы глубокого секвенирования были разработаны только в последние годы. Еще одной важной проблемой при изучении динамики Т-клеточных популяций при продольных исследованиях является тот факт, что только 2-3% лимфоцитов находятся в периферической крови в данный момент времени (в момент забора крови) [70, 71]. То есть две пробы крови, отобранные одномоментно или с небольшим интервалом времени, могут существенно различаться по составу Т-клонотипов. Это заставляет исследователей применять специальные приемы при сравнении стабильности клонотипного состава лимфоцитов периферической крови.

Продольные исследования: интервал 3 года (все тимоциты без деления на субпопуляции) [28]

Индивидуальные измерения состава клонотипов в течение 3 лет (продольные исследования) проводили на двух здоровых донорах. Донор № 1 -

кровь отбирали в возрасте 27 и 30 дет. Донор № 2 кровь отбирали в возрасте 47 и 50 лет. В качестве контроля использовали данные для двух индивидов, у которых одномоментно были взяты два образца крови и проведено раздельное секвенирование. Оказалось, что различия в репертуаре ТКРВ между образцами, отобранными с перерывом в 3 года, были минимальны. Они были сопоставимы с различиями между двумя образцами крови, полученными от контрольных доноров. Перекрывание репертуара в первом случае было 48 и 64% (донор № 1 и № 2), а в контроле — 72 и 43%. То есть клонотипный состав, по крайней мере, для первых по частоте 1000 клонов, практически не изменился, однако несколько изменилась клеточность клонов.

Авторы заключают, что постоянные высококлеточные клоны могут занимать более 50% гомеостатического пространства Т-клеток, что подтверждает ранее полученные данные о фрактальной природе разнообразия клонотипов.

Продольные исследования: интервал 7—10 лет (анализ разнообразия клонотипов памяти CD8+) [29]

Как и в вышеописанных работах этой группы, исследователи изучали индивидов с характеристиками HLA-A2.1, генерирующие устойчивую реактивность против $M1_{58-66}$. К сожалению, авторы не делали контрольный анализ двух порций крови, отобранных одномоментно, как это было описано выше в работе [28]. Однако чтобы нивелировать влияние низкочастотных клонов (синглетонов) на картину клонотипного разнообразия, исследователи проанализировали совпадение репертуаров (полученных с интервалом в 10 лет) в зависимости от клеточности клонотипов. Выяснилась следующая зависимость: если сравнивать все разнообразие, учитывая синглетоны, то через 10 лет совпадение будет только 15-30%. Если сравнивать клонотипы, представленные как минимум тремя клетками, то совпадение будет 47— 53%, шестью клетками — 61-65%. Как заключают авторы, оценка стабильности репертуара напрямую зависит от возможности максимально полно оценивать репертуар. В целом авторы делают вывод о стабильности репертуара Т-клеток памяти CD8+ в течение как минимум 10 лет.

Продольные исследования: интервал 20 лет (отдельно для субпопуляций CD4+ и CD8+) [30]

В работе [30] указывается, что приблизительно 10-30% и 30-80% последовательностей ТКР в Т-клетках CD4+ и CD8+ соответственно перекрывались в разные возрастные периоды у каждого индивида (диапазон возрастов 23-64 года, одни и те же доноры обследованы с интервалом в 20 лет). Это указывает на долгосрочное стабиль-

ное сохранение клональной композиции Т-клеток. Многие из наиболее частых последовательностей (т.е. наиболее распространенные клоны Т-клеток) сохранялись более 20 лет, а некоторые из них были расширены.

В целом, проанализировав последние данные о разнообразии клонотипов Т-клеток, исследователи приходят к выводу, что их репертуар остается весьма постоянным на протяжении всей жизни, за исключением детского возраста и старости [72].

Перемещение периферических Т-лимфоцитов между компартментами тела

Как уже говорилось, только 2—3% лимфоцитов находятся в периферической крови в данный момент времени (в момент забора крови) [70, 71]. Однако практически все лимфоциты пройдут через периферическую кровь в течение дня [73], кроме того, типичные наивные клетки проводят около получаса в сосудистом русле, прежде чем задержаться в очередном лимфатическом узле [74].

Для случая локального облучения костного мозга остеотропными радионуклидами важно оценить, какое время зрелые Т-лимфоциты проводят в костном мозге. Во время пребывания в костном мозге Т-лимфоциты дополнительно подвергаются воздействию ^{89,90}Sr, накопленному в кости. Ряд авторов [75-78] сообщали о рециркуляции T-лимфоцитов в костном мозге v млекопитающих и людей. В костном мозге представлено около 25×10^9 T-клеток (3-8% от всех ядросодержащих клеток). Т-лимфоциты поступают из крови, а после пребывания в костном мозге возвращаются в кровь, чтобы мигрировать в другие лимфоидные органы. Согласно [78], у людей процент Т-клеток, присутствующих в крови, лимфатических узлах, селезенке и ККМ, составляет примерно 3, 70, 15 и 12% соответственно. Предполагая постоянную скорость рециркуляции, циркулирующие Т-лимфоциты должны проводить около 12% своей жизни в ККМ, а их кумулятивная (пожизненная) доза формируется на 88% во внескелетных (экстраскелетных) лимфоидных тканях и на 12% в ККМ. Таким образом, в случае хронического воздействия ^{89,90}Sr частота транслокаций отражает промежуточное значение между дозами, накопленными в ЭСТ и ККМ.

КОНЦЕПЦИЯ Т-КЛЕТОЧНОГО РОДА

Как было описано выше, Т-клетки периферической крови — это пролиферирующий пул клеток. Стабильные хромосомные аберрации передаются всем потомкам Т-клеточного прогенитора (Т-прогенитора) и пролиферирующих Т-клеток, образующих клон, если транслокации не летальны. Это означает, что хромосомные аберрации будут регистрироваться до тех пор, пока какие-

либо клетки (потомки облученного прогенитора) циркулируют в организме. Эти клетки, объединенные в генус ("Genus" — Т-клеточный род), рассматриваются как потенциальные носители одного специфического маркера (хромосомной транслокации). Поэтому именно Т-клеточный род должен быть объектом рассмотрения при интерпретации цитогенетических исследований при локальном облучении костного мозга. Мы предлагаем следующее определение: Т-клеточный Genus (ТG) объединяет всех потомков Т-прогенитора с наследуемыми специфическими аберрациями, которые могли образоваться в костном мозге.

На рис. 1 представлена упрощенная схема формирования TG, которая обобщает вышеописанные особенности формирования Т-лимфоцитов и их разнообразия в различных компартментах тела человека.

Динамика TG никогда специально не изучалась, поскольку для иммунологов значительно больший интерес представляет динамика клонотипов, содержащих уникальные Т-клеточные рецепторы (ТКР). Как говорилось выше, методы глубокого секвенирования репертуара ТКР с нормализацией, основанной на уникальных молекулярных идентификаторах, позволяют изучать долгосрочную динамику клонотипов Т-клеток [28, 79]. Анализ продольных исследований показывает, что вследствие гомеостатической регуляции некоторая (возможно значительная) часть уникальных клонотипов, генерируемых тимусом, сохраняется в течение жизни человека (хотя бы на уровне синглетонов, представленных в пробах одной клеткой). Это также относится к ТG, т.е. мы должны предположить, что репертуар TG остается довольно постоянным на протяжении жизни. По аналогии с клонотипами Т-клеток периферической крови следует ожидать фрактальную организацию клонотипов в пределах конкретного ТG, что предполагает существование нескольких многоклеточных клонов и большое количество малоклеточных клонов. Потеря всего набора клонотипов, принадлежащих TG, представляется маловероятной.

Чтобы оценить вклад облученных ТG в суммарную продукцию тимуса в течение жизни, необходимо оценить зависящую от возраста динамику ТG — скорость производства и скорость потери. Поскольку нет прямых оценок, мы можем предположить, что количество произведенных RTE прямо пропорционально числу ТG (это означает, что один предшественник производит примерно одинаковое число RTE). Такое предположение позволяет экстраполировать данные по динамике RTE на динамику TG. Что касается скорости безвозвратной потери TG в зависимости от возраста, этот показатель также нельзя оценить напрямую. Тем не менее скорость потери

Род одного Т-клеточного прогенитора [Genus of specific T-cell progenitor]

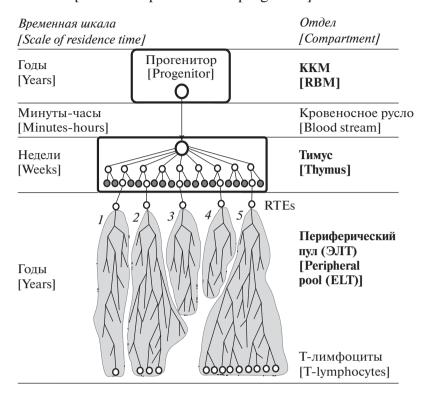


Рис. 1. Упрощенная схема образования одного Т-клеточного рода (ТG), используемая в настоящем исследовании. Т-клеточный предшественник (большой белый кружок) происходит от гемопоэтических стволовых клеток в ККМ и мигрирует к тимусу через кровоток в течение короткого периода времени. После пролиферации и дифференцировки прогенитора большая часть тимоцитов элиминируется в результате позитивной и негативной селекции (маленькие черные кружки). Оставшиеся тимоциты (небольшие белые кружки) входят в кровоток как наивные Т-клетки (СD4+ и CD8+ недавние эмигранты тимуса, RTE), которые дают начало специфическим клонотипам Т-клеток (серые фигуры) из-за деления клеток (показаны линиями) в периферическом пуле, для которого также используется название экстраскелетные ткани (ЭСТ). В рамках специфического клонотипа происходит переход от пула Т-паіче к пулу Т-памяти после стимуляции антигеном; этот процесс не показан, поскольку он не сопровождается потерей хромосомных аберраций и изменениями в Т-клеточных рецепторах. Показана судьба пяти отдельных клонотипов (различающихся по генам Т-клеточного рецептора и идентичных по остальным генам) в периферическом пуле: во время взятия крови клонотипы № 1 и № 2 содержат несколько клеток; клонотипы № 3 и № 4 были безвозвратно потеряны; клонотип № 5 — многоклеточный из-за продолжающейся стимуляции антигеном. Во время взятия крови все клетки специфического ТG (относящиеся к трем выжившим клонотипам) содержат транслокации, унаследованные от общего предшественника, подвергнутого воздействию в ККМ.

Fig. 1. Simplified scheme for the formation of a single T-cell Genus (TG) used in this study. The T-cell progenitor (large white circle) is originated from hematopoietic stem cells in RBM (red none marrow) and migrates to the thymus through the blood-stream for a short time period. After proliferator and differentiation, the majority of thymocytes are eliminated as a result of positive and negative selection (small black circles). The remaining thymocytes (small white circles) enter the bloodstream as naive T-cells (CD4+ and CD + recent thymus emigrants, RTEs), which give rise to specific T-cell clonotypes (gray shapes) due to cell division (shown by lines) in the peripheral pool, for which the name extra skeletal tissue (ECT) is also used. In the framework of a specific clonotype, there is a transition from the T-naive pool to the T-memory pool after antigen stimulation; the process is not shown, since it is not accompanied by a loss of chromosomal aberrations and changes in T-cell receptors. The fate of five separate clonotypes (differing in the genes of the T-cell receptor and identical in other genes) in the peripheral pool is shown: at the time of blood sampling, clonotypes № 1 and № 2 contain several cells; clonotypes № 3 and № 4 were irretrievably lost; clonotype № 5 is multicellular due to ongoing antigen stimulation. At the time of blood sampling, all specific TG cells (belonging to the three surviving clonotypes) contain translocations inherited from the common progenitor exposed in RBM.

клонотипа в значительной степени зависит от истории "иммунной экосистемы" отдельного индивида, наличия у него хронических инфекций, частоты контактов с чужеродным микроокружением и т.д. Что касается ТG, то потеря всех клонотипов одного TG маловероятна, а скорость

безвозвратной потери ТG должна быть малой по сравнению с темпом их производства. В этой связи следует рассмотреть следующие варианты: 1) скорость потери TG пропорциональна скорости производства TG (RTE), т.е. скорость максимальна в детском возрасте и минимальна у пожи-

лых людей; 2) потеря ТG происходит с постоянной скоростью на протяжении всей жизни; и 3) скорость потери TG обратно пропорциональна возрасту, т.е. минимальна в детстве и максимальна у пожилых людей. Эти варианты можно проверить, используя модельные подходы с привлечением данных цитогенетических исследований жителей прибрежных сел р. Теча. Разработка и валидация модели облучения Т-лимфоцитов происходит в настоящее время.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЦЕПЦИИ Т-КЛЕТОЧНОГО РОДА В БИОДОЗИМЕТРИИ

Разработанная концепция ТG прежде всего касается моделирования эффектов воздействия на лимфоциты α - и β -излучений остеотропных радионуклидов (89,90 Sr, 226 Ra и др.), т.е. случаев локального облучения костного мозга [80]. Помимо этого есть и другие радионуклиды, которые неравномерно распределяются в организме.

Наиболее практически значимыми для оценок эффектов профессионального облучения являются изотопы плутония. Плутоний аккумулируется не только на поверхности кости, облучая прилегающий слой костного мозга, но также и в печени [81], в легких и легочных лимфоузлах [82, 83], где Т-лимфоциты могут оставаться довольно долго. Следует отметить, что нормальная печень содержит большое количество лимфоцитов, которые составляют около 25% от общего количества клеток печени [84]. Среди лимфоцитов CD4+ и CD8+ Т-клетки составляют около 63%. Некоторые из этих клеток являются дифференцированными эффекторами, которым суждено умереть в результате апоптоза, но многие из них являются иммунокомпетентными клетками, проходящими через печень для обеспечения постоянного иммунного надзора, а также эффекторными Т-клетками, ассоциированными с эпителием [85]. Это означает, что даже недолгое периодическое пребывание Т-лимфоцитов в печени может привести к значительному облучению, принимая во внимание, что дозовый коэффициент, позволяющий перейти от количества поступившего радионуклида к поглощенной дозе, для печени выше в 4 раза по сравнению с дозовым коэффициентом для ККМ [81]. Аналогичная ситуация наблюдается для легочных лимфатических узлов, которые накапливают значительное количество плутония [82, 83].

Необходимо также принять во внимание, что для рабочих ядерных предприятий начало облучения приходится на возраст старше 20 лет. Это означает, что периферический пул лимфоцитов уже в основном сформирован. Таким образом, доза облучения лимфоцитов в большей мере должна быть связана не с дозой от Рu на костномозговые предшественники лимфоцитов, а с до-

зой, полученной при миграции зрелых лимфоцитов через печень, лимфоузлы и ККМ. Количественная оценка вкладов облучения в различных компартментов требует разработки соответствующей модели. Концепция ТG позволяет разработать такую модель и оценить относительный вклад различных компартментов (органов депонирования Pu) в дозу облучения лимфоцитов.

выводы

Неравномерное облучение тела человека возникает, в частности, при внутреннем воздействии β-излучения радионуклидов, характеризующегося короткой длиной пробега электронов, когда эти изотопы избирательно накапливаются в каком-либо компартменте. К таким радионуклидам относится ⁹⁰Sr, накапливающийся в костной ткани (орган-источник) и облучающий, в основном, красный костный мозг (орган-мишень). Для правильной интерпретации цитогенетических исследований с целью биодозиметрии необходимо учитывать облучение Т-лимфоцитов и их предшественников в различных компартментах — ККМ, периферический пул.

В разных компартментах и в разные периоды времени носители одной и той же разновидности хромосомных аберраций могут быть представлены разными клетками — прогениторы и зрелые лимфоциты, принадлежащие различным субпопуляциям Т-лимфоцитов. Нами была предложена новая концепция Т-клеточного рода, Т-клеточный род (genus) объединяет всех потомков Т-прогенитора с наследуемыми специфическими аберрациями, которые могли образоваться в костном мозге. Т-клеточный род является наиболее подходящим объектом моделирования для оценок средневзвешенных доз облучения Т-лимфоцитов, облучившихся в различных компартментах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. IAEA. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergences. International Atomic Energy Agency, 2011. 247 p.
- 2. *Нугис В.Ю.*, *Севанькаев А.В.*, *Хвостунов И.К. и др.* Результаты 25-летнего цитогенетического обследования лиц, подвергшихся облучению в различных дозах при аварии на Чернобыльской АЭС // Радиац. биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 81—90. [*Nugis V.Yu.*, *Sevan'kaev A.V.*, *Khvostunov I.K. et al.* The results of 25 year-cytogenetic investigation of survivors exposed to different doses of irradiation in the Chernobyl accident // Radiats. Biologiya. Radioecologiya. 2011. V. 51. № 1. S. 81—90. (In Russian)]
- Khvostunov I.K., Snigiryova G.P., Moiseenko V.V., Lloyd D.C. A follow-up cytogenetic study of workers highly exposed inside the Chernobyl sarcophagus // Radiat.

- Prot. Dosim. 2015. V. 167. № 4. P. 405–418. https://doi.org/10.1093/rpd/ncu351. http://www.memoid.ru/node/Perspektivy_atomnoj_ehnergetiki_sovremennoj_Rossii-cite_ref.D0.B0.D1.82.D0.BE. D0.BC 12-7
- 4. Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов: мед. технология № ФС-2007/015-У. Российский научный центр рентгенорадиологии, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова. М., 2007. 29 с. [Biologicheskaya indikatsiya radiatsionnogo vozdeistviya na organizm cheloveka s ispol'zovaniem tsitogeneticheskikh metodov: med. tekhnologiya № FS-2007/015-U. Rossiiskii nauchnyi tsentr rentgenoradiologii, Institut obshchei genetiki im. N.I. Vavilova. Moskva, 2007. 29 p. (In Russian)]
- 5. *Nowell P.C.* Phytohemagglutinin An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes // Cancer Res. 1960. V. 20. № 4. P. 462–466.
- 6. Sotnik N.V., Osovets S.V., Scherthan H., Azizova T.V. mFISH analysis of chromosome aberrations in workers occupationally exposed to mixed radiation // Radiat. Environ. Biophys. 2014. V. 53. № 2. P. 347–354. https://doi.org/10.1007/s00411-014-0536-7
- 7. Tawn E.J., Whitehouse C.A., Holdsworth D. et al. mBAND analysis of chromosome aberrations in lymphocytes exposed in vitro to α-particles and γ-rays // Int. J. Radiat. Biol. 2008. V. 84. № 1. P. 1–7. https://doi.org/10.1080/09553000802078412
- 8. *Tawn E.J.*, *Curwen G.B.*, *Jonas P. et al.* Chromosome Aberrations Determined by FISH in Radiation Workers from the Sellafield Nuclear Facility // Radiat. Res. 2015. V. 184. № 3. P. 296–303. https://doi.org/10.1667/RR14125.1
- 9. Пилинская М.А., Дыбский С.С., Скалецкий Ю.Н. и др. Опыт использования метода FISH для реконструкции индивидуальных доз облучения у ликвидаторов Чернобыльской аварии в рамках Украинско-Американского проекта "Лейкемия" // Цитология и генетика. 2006. Т. 40. № 3. С. 34—39. [Pilinskaia M.A., Dybskiř S.S., Skaletskiř Yu.N. et al. The experience of FISH technique application for reconstruction of individual radiation doses in Chernobyl liquidators in the framework of Ukrainian-American project "Leukemia" // Tsitologiya i Genetika. 2006. V. 40. № 3. S. 34—39. (In Russian)]
- 10. Hande M.P., Azizova T.V., Burak L.E. et al. Complex chromosome aberrations persist in individuals many years after occupational exposure to densely ionizing radiation: an mFISH study // Genes, Chromosomes, Cancer. 2005. V. 44. № 1. P. 1–9. https://doi.org/10.1002/gcc.20217
- 11. *Curwen G.B.*, *Sotnik N.V.*, *Cadwell K.K. et al.* Chromosome aberrations in workers with exposure to α-particle radiation from internal deposits of plutonium: expectations from in vitro studies and comparisons with workers with predominantly external γ-radiation exposure. 2015. V. 54. № 2. P. 195–206. https://doi.org/10.1007/s00411-015-0585-6
- 12. *Сомник Н.В., Азизова Т.В.* Использование методов mFISH и mBAND в биоиндикации воздействия внутреннего α-излучения // Радиац. биология.

- Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 2. С. 156–162. [Sotnik N.V., Azizova T.V. Using mFISH and mBAND for Bioindication of Internal α-Radiation // Radiats. Biologiya. Radioecologiya. 2016. V. 56. № 2. S. 156–162. (In Russian)]
- 13. Дегтева М.О., Шагина Н.Б., Воробьева М.И. и др. Современное представление о радиоактивном загрязнении реки Теча в 1949—1956 // Радиац. биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 5. С. 523—534. [Degteva M.O., Shagina N.B., Vorobiova M.I. et al. Contemporary Understanding of Radioactive Contamination of the Techa River in 1949—1956 // Radiats. Biologiya. Radioecologiya. 2016. V. 56. № 5. S. 523—534. (In Russian)] https://doi.org/10.7868/S0869803116050039
- 14. Degteva M.O., Napier B.A., Tolstykh E.I. et al. Enhancements in the Techa River Dosimetry System: TRDS-2016D Code for reconstruction of Deterministic Estimates of Dose from Environmental Exposures // Health Phys. 2019. V. 117. № 4. P. 378–387. https://doi.org/10.1097/HP.0000000000001067
- 15. Davis F.G., Krestinina L. Yu., Preston D. et al. Solid Cancer Incidence in the Techa River Incidence Cohort: 1956–2007 // Radiat Res. 2015. V. 184. P. 56–65. https://doi.org/10.1667/RR14023.1
- Krestinina L. Yu., Davis F.G., Schonfeld S. et al. Leukaemia incidence in the Techa River Cohort: 1953–2007 // Br. J. Cancer. 2013. V. 109. P. 2886–2893. https://doi.org/10.1038/bjc.2013.614
- 17. Schonfeld S.J., Krestinina L.Yu., Epifanova S.B. et al. Solid cancer mortality in the Techa River Cohort (1950–2007) // Radiat. Res. 2013. V. 179. №.2. P. 183–189. https://doi.org/10.1667/RR2932.1
- 18. Napier B.A., Degteva M.O., Shagina N.B., Anspaugh L.R. Uncertainty analysis for the Techa River Dosimetry System // Med. Radiol. Radiat. Saf. 2013. V. 58. № 1. P. 5–28.
- Napier B.A., Eslinger P.W., Tolstykh E.I. et al. Calculations of individual doses for Techa River Cohort members exposed to atmospheric radioiodine from Mayak releases // J. Environ. Radioact. 2017. V. 178–179. P. 156–167. https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2017.08.013
- 20. Дёгтева М.О., Толстых Е.И., Суслова Г.К. и др. Анализ результатов мониторинга содержания долгоживущих радионуклидов в организме жителей Уральского региона // Радиац. гигиена. 2018. Т. 11. № 3. С. 30—39. [Degteva M.O., Tolstykh E.I., Suslova K.G. et al. Analysis of the results of long-lived radionuclide body burden monitoring in residents of the Urals region // Radiation Hygiene. 2018. V. 11. № S. 30—39. (In Russian)]. https://doi.org/10.21514/1998-426X-2018-11-3-30-39
- 21. Shagina N.B., Tolstykh E.I., Degteva M.O. et al. Age and gender specific biokinetic model for strontium in humans // J. Radiol. Prot. 2015. V. 35. № 1. P. 87–127. https://doi.org/10.1088/0952-4746/35/1/87
- 22. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O., et al. Preliminary FISH-based assessment of external dose for residents exposed on the Techa River // Radiat. Res. 2012. V. 177. № 1. P. 84–91.
- 23. Vozilova A.V., Shagina N.B., Degteva M.O. et al. FISH analysis of translocations induced by chronic exposure

- to Sr radioisotopes: second set of analysis of the Techa River Cohort // Radiat. Prot. Dosim. 2014. V. 159. № 1–4. P. 34–37. https://doi.org/10.1093/rpd/ncu131
- 24. Дегтева М.О., Шишкина Е. А., Толстых Е.И. и др. Использование методов ЭПР и FISH для реконструкции доз у людей, облучившихся на реке Теча // Радиац. биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 1. С. 34—45. [Degteva M.O., Shishkina E.A., Tolstykh E.I. et al. Application of EPR and FISH methods to dose reconstruction for people exposed in the Techa River area // Radiats. Biologiya. Radioecologiya. 2017. V. 57. № 1. S. 30—41 (In Russian)] https://doi.org/10.7868/S0869803117010052
- 25. Bains I., Thiébaut R., Yates A.J., Callard R. Quantifying thymic export: combining models of naive T cell proliferation and TCR excision circle dynamics gives an explicit measure of thymic output // J. Immunol. 2009. V. 183. № 7. P. 4329–4336. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900743
- Steinmann G.G., Klaus B., Muller-Hermelink H.K. The involution of the ageing human thymic epithelium is independent of puberty. A morphometric study // Scand. J. Immunol. 1985. V. 22. P. 563–575. https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1985.tb01916.x
- 27. *den Braber I., Mugwagwa T., Vrisekoop N., et al.* Maintenance of peripheral naive T cells is sustained by thymus output in mice but not humans // Immunity. 2012. V. 36. № 2. P. 288–297. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.02.006
- 28. Britanova O.V., Shugay M., Merzlyak E.M. et al. Dynamics of Individual T Cell Repertoires: From Cord Blood to Centenarians // J. Immunol. 2016. V. 196. № 12. P. 5005–5013. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600005
- 29. *Naumova E.N., Gorski J., Naumov Y.N.* Two Compensatory Pathways Maintain Long-Term Stability and Diversity in CD8 T Cell Memory Repertoires // J. Immunol. 2009. V. 183. № 4. P. 2851–2858. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900162
- 30. Yoshida K., Cologne J.B., Cordova K. et al. Aging-related changes in human T-cell repertoire over 20 years delineated by deep sequencing of peripheral T-cell receptors // Exp. Gerontol. 2017. V. 1. № 96. P. 29–37. https://doi.org/0.1016/j.exger.2017.05.015
- 31. *Linton P.J., Dorshkind K.* Age-related changes in lymphocyte development and function // Nat. Immunol. 2004. V. 5. № 2. P. 133–139. https://doi.org/10.1038/ni1033
- 32. Sambandam A., Bell J.J., Schwarz B.A. et al. Progenitor migration to the thymus and T cell lineage commitment // Immunol. Res. 2008. V. 42. № 1–3. P. 65–74. https://doi.org/10.1007/s12026-008-8035-z
- 33. *Müller L., Pawelec G.* Introduction to ageing of the adaptive immune system / Eds J. A. Bosch, A. C. Phillips, & J. M. Lord. Immunosenescence: Psychological and behavioural determinants. New York: Springer, 2013. P. 17–33.
- 34. *Krueger A., Ziętara N., Łyszkiewicz M.* T-Cell Development by the Numbers // Trends Immunol. 2017. V. 38. № 2. P. 128–139. https://doi.org/10.1016/j.it.2016.10.007

- 35. *Zlotoff D.A.*, *Bhandoola A*. Hematopoietic progenitor migration to the adult thymus // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2011. V. 1217 P. 122–138. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05881.x
- 36. Wagner U., Schatz A., Baerwald C., Rossol M. Brief report: deficient thymic output in rheumatoid arthritis despite abundance of prethymic progenitors // Arthritis Rheum. 2013. V. 65. № 10. P. 2567–2572. https://doi.org/10.1002/art.38058
- 37. *Kyoizumi S., Kubo Y., Kajimura J. et al.* Age-associated changes in the differentiation potentials of human circulating hematopoietic progenitors to T- or NK-lineage cells // J. Immunol. 2013. V. 190. № 12. P. 6164—6172. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1203189
- 38. *Bains I*. Mathematical Modelling of T Cell Homeostasis: A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy of the University College London. 2010. Available at: http://discovery.ucl.ac.uk/20159/1/20159.pdf. Accessed August 29, 2019.
- 39. Stewart F.A., Akleyev AV., Hauer-Jensen M. et al. Early and late effects of radiation in normal tissues and organs threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. Annals of the ICRP. Elsevier, 2012. 322 p.
- 40. Yassai M.B., Naumov Y.N., Naumova E.N., Gorski J. A clonotype nomenclature for T cell receptors // Immunogenetics. 2009. V. 61. № 7. P. 493–502. https://doi.org/10.1007/s00251-009-0383-x
- 41. *Broere F., Apasov S.G., Sitkovsky M.V., van Eden W.* T cell subsets and T cell-mediated immunity. In Principles of Immunopharmacology (Eds.) Nijkamp FP, Parnham M. Springer. Birkhauser Basel, 2011. P. 15–27.
- 42. *De Boer R.J., Perelson A.S.* Quantification T lymphocyte turnover // J. Theor. Biol. 2013. V. 327. P. 45–87. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.12.025
- 43. *Douek D.C.*, *Betts M.R.*, *Hill B.J.* Evidence for increased T cell turnover and decreased thymic output in HIV infection // J. Immunol. 2001. V. 167. № 11. P. 6663–6668. https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.11.6663
- 44. *Bloemers B.L., Bont L., de Weger R.A. et al.* Decreased thymic output accounts for decreased naive T cell numbers in children with Down syndrome // J. Immunol. 2011. V. 186. № 7. P. 4500–4507. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001700
- 45. *Flores K., Li J., Sempowski G.D. et al.* Analysis of the human thymic perivascular space during aging // J. Clinic. Investigate. 1999. V. 104. № 8. P. 1031–1039. https://doi.org/10.1172/jci7558
- 46. *Ye P., Kirschner D.E.* Measuring emigration of human thymocytes by T-cell receptor excision circles // Crit. Rev. Immunol. 2002. V. 22. № 5–6. P. 483–497.
- 47. Ye P., Kirschner D.E. Reevaluation of T cell receptor excision circles as a measure of human recent thymic emigrants // J. Immunol. 2002. V. 168. № 10. P. 4968–4979.
 - https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.10.4968
- 48. Haines C.J., Giffon T.D., Lu L.S. et al. Human CD4+ T cell recent thymic emigrants are identified by protein tyrosine kinase 7 and have reduced immune function // J. Exp. Med. 2009. V. 206. № 2. P. 275–285. https://doi.org/10.1084/jem.20080996

- 49. *Aguilera-Sandoval C.R.*, *Yang O.O.*, *Jojic N. et al.* Supranormal thymic output up to 2 decades after HIV-1 infection // AIDS. 2016. V. 30. № 5. P. 701–711. https://doi.org/10.1097/OAD.00000000000001010.
- 50. Fink P.J. The Biology of Recent Thymic Emigrants // Annu Rev. Immunol. 2013. V. 31. P. 31–50. https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-100010
- 51. *Vrisekoop N., den Braber I., de Boer A.B. et al.* Sparse production but preferential incorporation of recently produced naive T cells in the human peripheral pool // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. № 16. P. 6115–6120. https://doi.org/10.1073/pnas.0709713105
- 52. Naylor K., Li G., Vallejo A.N. et al. The influence of age on T cell generation and TCR diversity // J. Immunol. 2005. V. 174. № 11. P. 7446—7452. https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.11.7446
- 53. Abdulahad W.H., van der Geld Y.M., Stegeman C.A. et al. Persistent expansion of CD4+ effector memory T cells in Wegener's granulomatosis // Kidney Int. 2006. V. 70. № 5. P. 938–947. https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001670
- 54. *Huenecke S., Behl M., Fadler C. et al.* Age-matched lymphocyte subpopulation reference values in childhood and adolescence: application of exponential regression analysis // Eur. J. Haematol. 2008. V. 80. № 6. P. 532–539. https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2008.01052.x
- 55. Yan J., Greer J.M., Hull R. et al. The effect of ageing on human lymphocyte subsets: comparison of males and females // Immun. Ageing. 2010. V. 7. P. 4. https://doi.org/10.1186/1742-4933-7-4
- 56. *Pido-Lopez J., Imami N., Aspinall R.* Both age and gender affect thymic output: more recent thymic migrants in females than males as they age // Clin. Exp. Immunol. 2001. V. 125. № 3. P. 409—413. https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.2001.01640.x
- 57. Ahmed R., Bevan M.J., Reiner S.L., Fearon D.T. The precursors of memory: models and controversies // Nat. Rev. Immunol. 2009. V. 9. P. 662–668. https://doi.org/10.1038/nri2619
- 58. Lugli E., Dominguez M.H., Gattinoni L. et al. Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory // J. Clin. Invest. 2013. V. 123. № 2. P. 594–599. https://doi.org/10.1172/JCI66327
- 59. Costa Del Amo P., Lahoz-Beneytez J., Boelen L. et al. Human TSCM cell dynamics in vivo are compatible with long-lived immunological memory and stemness // PLoS Biol. 2018. V. 16. № 6. e2005523. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005523
- 60. Robins H.S., Campregher P.V., Srivastava S.K. et al. Comprehensive assessment of T-cell receptor betachain diversity in alphabeta T cells // Blood. 2009. V. 114. № 19. P. 4099—4107. https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-217604
- 61. Fisher R.A., Corbet A.S., Williams C.B. The relation between the number of species and the number of individuals in a random sample of an animal population // J. Anim. Ecol. 1943. V. 12. P. 42–58. https://doi.org/10.2307/1411

- 62. *Naumov Y.N.*, *Naumova E.N.*, *Clute S.C. et al.* Complex T cell memory repertoires participate in recall responses at extremes of antigenic load // Immunol. 2006. V. 177. № 3. P. 2006—2014. https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.3.2006
- 63. Naumov Y.N., Naumova E.N., Yassai M.B., Gorski J. Selective T cell expansion during aging of CD8 memory repertoires to influenza revealed by modeling // J. Immunol. 2011. V. 186. № 11. P. 6617–6624. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100091
- 64. *Johnson P.L., Yates A.J, Goronzy J.J., Antia R.* Peripheral selection rather than thymic involution explains sudden contraction in naive CD4 T-cell diversity with age // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2012. V. 109. № 52. P. 21432—21437. https://doi.org/10.1073/pnas.1209283110
- 65. *Venturi V., Quigley M.F., Greenaway H.Y. et al.* A mechanism for TCR sharing between T cell subsets and individuals revealed by pyrosequencing // J. Immunol. 2011. V. 186. № 7. P. 4285–4294. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1003898
- 66. *Naumov Y.N.*, *Naumova E.N.*, *Hogan K.T. et al.* A fractal clonotype distribution in the CD8+ memory T cell repertoire could optimize potential for immune responses // J. Immunol. 2003. V. 170. № 8. P. 3994–4001. https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.8.3994
- 67. *Meier J., Roberts C., Avent K. et al.* Fractal organization of the human T cell repertoire in health and after stem cell transplantation // Biol. Blood. Marrow Transplant. 2013. V. 19. № 3. P. 366–377. https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2012.12.004
- 68. Bolkhovskaya O.V., Zorin D.Yu., Ivanchenko M.V. Assessing T cell clonal size distribution: a non-parametric approach. arXiv:1404.6790 [q-bio.QM] 21 Aug. 2014. Available at: https://arxiv.org/pdf/1404.6790.pdf Accessed August 29, 2019.
- 69. Robins H.S., Srivastava S.K., Campregher P.V. et al. Overlap and effective size of the human CD8+ T cell receptor repertoire // Sci. Transl. Med. 2010. V. 2. № 47. P. 47–64. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001442
- 70. *Trepel F.* Number and distribution of lymphocytes in man // A critical analysis. Klin Wochenschr. 52: 511–515 (quoted by [38])
- 71. *Di Rosa F., Gebhardt T.* Bone Marrow T Cells and the Integrated Functions of Recirculating and Tissue-Resident Memory T Cells // Front Immunol. 2016. V. 7. № 51. https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00051
- 72. Attaf M., Huseby E., Sewell A.K. αβ T cell receptors as predictors of health and disease // Cell Mol. Immunol. 2015. V. 12. № 4. P. 391–399. https://doi.org/10.1038/cmi.2014.134
- 73. Schick P.F., Trepel F., Lehmann-Brockhaus E. et al. Autotransfusion of 3H-cytidine-labelled blood lymphocytes in patient with Hodgkin's and non-Hodgkin patient. I. Limitation of the method // Acta haematol. 1975. V. 53. № 4. P. 193–205. https://doi.org/10.1159/000208184

- 74. *Pabst R*. The spleen in lymphocyte migration // Immunol. Today. 1988. V. 9. № 2. P. 43–45. https://doi.org/10.1016/0167-5699(88)91258-3
- 75. *Zhao E., Xu H., Wang L. et al.* Bone marrow and the control of immunity // Cell Mol. Immunol. 2012. V. 9. № 1. P. 11–19. https://doi.org/10.1038/cmi.2011.47
- 76. Parretta E., Cassese G., Santoni A. et al. Kinetics of in vivo proliferation and death of memory and naive CD8 T cells: parameter estimation based on 5-bromo-2'-deoxyuridine incorporation in spleen, lymph nodes, and bone marrow. //J. Immunol. 2008. V. 180. № 11. P. 7230-7239. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18490722 https://doi.org/10.1038/icb.2016.47
- 77. *Di Rosa F*. T-lymphocyte interaction with stromal, bone and hematopoietic cells in the bone marrow // Immunol. Cell Biol. 2009. V. 87. № 1. P. 20—29. https://doi.org/10.1038/icb.2008.84
- 78. *Di Rosa F., Pabst R.* The bone marrow: a nest for migratory memory T cells // Trends Immunol. 2005. V. 26. № 7. P. 360–366. https://doi.org/10.1016/j.it.2005.04.011
- 79. Britanova O.V., Putintseva E.V., Shugay M. et al. Age-related decrease in TCR repertoire diversity measured with deep and normalized sequence profiling // J. Immunol. 2014. V. 192. № 6. P. 2689–2698. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1302064
- 80. Толстых Е.И., Дегтева М.О., Возилова А.В., Аклеев А.В. Интерпретация результатов метода FISH при неравномерном внутреннем облучении человека с использование модельного подхода // Гене-

- тика. 2019. Т. 55. № 10. С. 1172—1179. [Tolstykh E.I., Degteva M.O., Vozilova A.V., Akleyev A.V. Interpretation of FISH Results in the Case of Nonuniform Internal Radiation Exposure of Human Body with the Use of Model Approach // Human Genetics. 2019. V. 55. № 10. S. 1227—1233. doi: 10.1134/S1022795419100132.] https://doi.org/10.1134/S0016675819100138
- 81. ICRP-67 (1993) Age-dependent dose to members of the public from intake of radionuclides: Part 2: Ingestion dose coefficients ICRP Publication 67; Ann. ICRP 23 (3/4): 1–167.
- 82. Suslova K.G., Khokhryakov V.F., Sokolova A.B., Miller S.C.

 ²³⁸Pu: a review of the biokinetics, dosimetry, and implications for human exposures // Health Phys. 2012.

 V. 102. № 3. P. 251–262.

 https://doi.org/10.1097/hp.0b013e318234899a
- 83. Suslova K.G., Sokolova A.B., Krahenbuhl M.P., Miller S.C. The effects of smoking and lung health on the organ retention of different plutonium compounds in the Mayak PA workers // Radiat Res. 2009. V. 171. № 3. P. 302—309. https://doi.org/10.1667/0033-7587-171.3.302
- 84. *Racanelli V., Rehermann B.* The liver as an immunological organ // Hepatology. 2006. V. 43. S. 54–62. https://doi.org/10.1002/hep.21060
- 85. Lalor P.F., Shields P., Grant A.J., Adams D.H. Recruitment of lymphocytes to the human liver // Immunol. Cell Biol. 2002. V. 80. P. 52–64. http://www.nature.com/icb/jounal/v80/n1/full/icb20027a.html-aff1 https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2002.01062.x

Concept of T-Cell Genus as the Basis for the Analysis of Fish Results after Local Bone Marrow Exposure

E. I. Tolstykh^{a,#}, A. V. Vozilova^a, M. O. Degteva^a, and A. V. Akleyev^a

^a Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia [#]E-mail: evgenia@urcrm.ru

Evaluation of the frequency of chromosome translocations in peripheral blood T-lymphocytes is a generally-accepted method of retrospective biodosimetry. Accidental contamination of the Techa River (Chelyabinsk Oblast) in 1950s with bone-seeking long-lived strontium-90 gave an opportunity to evaluate the effect of local red bone marrow (RBM) exposure on translocation formation in the peripheral T-lymphocytes of local inhabitants. The studies of the inhabitants using fluorescent *in situ* hybridization (FISH) showed that RBM doses calculated based on FISH results were lower than those estimated based on ⁹⁰Sr body burden measurements. The current study presents analytical review of the published data dealing with the most important processes of the T-lymphocyte development and formation of chromosome aberrations: characteristics of the main compartments where the exposure of T-cell occurs; assessment of the time spent by T-lymphocytes and their progenitors in these compartments; analysis of the dynamics of T-cell populations (proliferation and death); age-related aspects. The paper presents a concept of T-cell Genus (TG) united all the progeny of T-progenitor with inheritable specific aberrations that could have developed in bone marrow.

Keywords: biodosimetry, T-lymphocytes, chromosomal aberrations, bone marrow, ⁹⁰Sr, Techa river, T-cell genus

____ МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ____ ЭФФЕКТОВ

УДК 616-03:616.5:616.001.17:611.018.26:616.72:57.084.1:539.1.047

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СИНГЕННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (ММСК) ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© 2020 г. Ю. Б. Дешевой^{1,*}, Т. А. Насонова¹, О. А. Добрынина¹, Р. В. Деев², В. Г. Лебедев¹, А. В. Лырщикова¹, Т. А. Астрелина¹, Б. Б. Мороз¹

¹ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия ² Институт стволовых клеток человека, Москва, Россия *E-mail: iury.deshevoi@yandex.ru
Поступила в редакцию 15.05.2019 г.

Обобщены данные, полученные в экспериментах, где изучалась эффективность сингенных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) жировой ткани при лечении тяжелых лучевых поражений кожи. Опыты проведены на крысах инбредной линии Wistar-Kyoto, которых подвергали локальному воздействию рентгеновского излучения в области спины в дозе 110 Гр (напряжение на трубке 30 кВ, сила тока 6.1 мА, фильтр 0.1 мм Аl), при мощности дозы 17.3—20.0 Гр/мин.
Локальное облучение приводило к развитию тяжелых длительно (до 3.5 мес.) незаживающих лучевых язв кожи. ММСК вводили под кожу вокруг зоны поражения в различные сроки после облучения: в ранний период до образования язвы, в период сформировавшейся язвы и в периоды активной регенерации в пораженной ткани. Проводили как однократные, так и двукратные трансплантации клеток. Показано, что только двукратное введение ММСК (с интервалом между инъекциями
в 1 нед.) усиливает регенераторные процессы и убыстряет заживление лучевых язв. Терапевтический эффект более выражен в условиях двукратного введения ММСК в период, когда лучевая язва
уже сформирована и в пораженной коже активизируются регенераторные процессы.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, лучевые язвы кожи, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани, клеточная терапия

DOI: 10.31857/S0869803120010063

Тяжелые лучевые поражения кожи, встречающиеся в клинической практике, сопровождаются серьезными осложнениями и трудно поддаются стандартным, консервативным способам лечения [1—4]. В связи с этим в последние годы разрабатываются методы клеточной терапии данной патологии.

Имеется целый ряд публикаций, где показана эффективность применения ММСК костного мозга при лечении лучевых ожогов кожи как в эксперименте, так и в клинике [5–13]. Их благоприятное действие чаще проявляется при неглубоких поражениях кожи. Ранее для клинического применения ММСК выделяли, как правило, из костного мозга и пуповинной крови [14, 15]. В настоящее время жировая ткань является альтернативным источником получения ММСК для аутологичных трансплантаций в клинических условиях. В подкожной жировой ткани человека концентрация ММСК на несколько порядков

выше, чем в костном мозге, при этом функционально ММСК жира не отличается от ММСК костного мозга [16, 17]. Жировая ткань в значительном количестве может быть легко получена у человека при липоаспирации подкожного жира. Поэтому в настоящих исследованиях для клеточной терапии радиационных ожогов кожи мы применили ММСК, выделенные из жировой ткани.

Поверхностные лучевые ожоги кожи заживают относительно быстро и, как правило, без серьезных осложнений [1—4]. В клинике более актуальным является лечение тяжелых долго незаживающих радиационных поражений кожных покровов. Поэтому для оптимального изучения эффектов клеточной терапии нами разработана экспериментальная модель локального воздействия на кожу относительно "мягкого" рентгеновского излучения, вызывающего развитие тяжелых, долго не заживающих лучевых язв кожи [18].

Целью исследования является обобщение материалов, полученных нами в ряде экспериментов, где изучалась эффективность трансплантации (в разные сроки после локального облучения) сингенных ММСК, выделенных из жировой ткани и культивированных *in vitro*, при лечении тяжелых лучевых ожогов кожи. Полученные данные могут иметь значение для совершенствования метода клеточной терапии радиационных поражений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Эксперименты были выполнены на крысах инбредной линии Wistar-Куото массой 230—250 г, полученных из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (г. Пущино). Опыты на инбредных животных позволяют проводить трансплантации ММСК в сингенной системе (без отторжения пересаженных клеток). Все процедуры и эксперименты на животных проводили в соответствии с "Правилами лабораторной практики в Российской Федерации", утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 267 от 19.06.2003 г.

Крыс, фиксированных на операционном столике, подвергали локальному воздействию рентгеновского излучения в подвздошно-поясничной области спины на установке ЛНК-268 (РАП 100-10) в дозе 110 Гр (напряжение на трубке 30 кВ, сила тока 6.1 мA, фильтр 0.1 мм Al), при мощности дозы 17.3–20.0 Гр/мин. Площадь поля облучения на поверхности кожи -8.2-8.5 см². В этих условиях облучения было изучено глубинное распределение дозы в тканеэквивалентном фантоме. Показано, что доза рентгеновского излучения на глубине 2 мм была порядка 30 Гр, а на глубине 5— 10 мм — не более 10 Гр. Такое радиационное воздействие позволяло получать у крыс тяжелые поражения кожи с длительно (до 3.5-4 мес.) незаживающими язвами, без критической лучевой нагрузки на подлежащие ткани [18].

ММСК выделяли из клеток стромальной васкулярной фракции (СВФ) подкожной жировой ткани, полученной из брюшной и паховых областей наркотизированных интактных крыс. Для выделения СВФ предварительно размельченную жировую ткань обрабатывали коллагеназой ІА. После центрифугирования и отмывки от фермента получали очищенные клетки СВФ [19, 20]. Далее эти клетки суспендировали в культуральной среде Iscov'MDM + Glutamax + Hepes (Sigma, США), содержащей 15% эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота ("HyClone", США), гентамицин 50.0 мг/л, амфотерицин Б 2.5 мг/л и высаживали в культуральные пластиковые флаконы (Corning) для выделения MMCK и наработки этих клеток in vitro. Культивирование проводили в СО₂ инкубаторе (Sanyo, Япония). Клетки формировали на дне флакона монослой и имели фибробластоподобную морфологию. Для клеточной терапии использовали ММСК второго-третьего пассажей. Перед трансплантацией клетки отслаивали со дна флакона (трипсин-ЭДТА), отмывали от фермента, подсчитывали их количество и далее разводили стерильным раствором Хенкса до необходимой концентрации. В большинстве опытов суспензию ММСК (в которой было 87–93% живых клеток) в 1 мл солевого раствора вводили под кожу в 5 точек (по 0.2 мл на точку) вокруг лучевой язвы, отступив 5-7 мм от края очага. И только в одном эксперименте применяли аппликационное нанесение суспензии ММСК в фибриновом клее (Тиссукол, Австрия) на поверхность лучевой язвы, очищенной от струпа. По литературным данным, эффективным количеством трансплантированных ММСК при их местном однократном введении является 1.0- 3.0×10^6 клеток [21]. Количество введенных клеток в наших отдельных экспериментах различалось между собой (но в определенных пределах), что будет описано в каждом конкретном случае.

Перед трансплантацией ММСК всех облученных крыс равномерно (в соответствии с размерами язв и их клиническим течением) распределяли в различные группы. Во всех опытах в контрольной и подопытных группах было по 8—10 животных.

Течение лучевого поражения кожи прослеживалось еженедельно индивидуально у каждого животного. Эффективность клеточной терапии оценивали в динамике по изменению клинической картины и площади пораженного участка кожи, вычисляемого с помощью планиметрического метода. Для этого цифровой фотокамерой "Canon" производили фотосъемку лучевой язвы и затем рассчитывали ее площадь с помощью компьютерной программы AutoCad 14.

Патоморфологические исследования динамики течения патологических процессов в облученной коже крыс проводили с использованием рутинных гистологических методов исследований.

Полученный цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с вычислением средней и стандартной ошибки ($M\pm m$). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические проявления поражения кожи после локального рентгеновского облучения крыс в дозе 110 Гр развивались постепенно. После короткого латентного периода, на 8-10-е сут у облученных животных наблюдали симптомы сухого дерматита. К 13-15-м сут сухой дерматит перехо-

дил во влажный. К концу 3-й нед. после облучения на коже крыс (в центре зоны облучения) образовывались язвы, покрытые плотным струпом. Затем происходило медленное, постепенное заживление язв с образованием атрофического рубца к 90—110-м сут после облучения, или болезнь приобретала хронический характер.

Морфологическое исследование течения патологических процессов в облученной коже показало, что в центре зоны облучения эпидермис полностью погибал через 7-12 сут после воздействия радиации. Некроз дермы начинался несколько позже и происходил поэтапно, сопровождаясь патологическими изменениями кровеносных сосудов, выраженным отеком и образованием нескольких лейкоцитарных валов. Кроме этого, отмечались дегенеративные изменения кожной мышцы, подкожной клетчатки. Полностью зона некроза кожи (с максимумом в центре зоны облучения) формировалась к 22-27-м сут после облучения. Картина поражения соответствовала язвенно-некротическим реакциям и характеризовалась наличием выраженных изменений во всех слоях кожи. К 29–34-м сут в периферийных зонах облученной кожи начиналось постепенное восстановление митотической деятельности клеток базального слоя эпидермиса, появлялись признаки снижения воспалительных явлений в дерме и активизации регенерации поврежденных тканей. В процессе развития лучевого поражения кожи в наших экспериментах можно выделить две фазы: фазу деструкции, во время которой происходит образование очага острого лучевого некроза, и фазу репарации, когда в очаге поражения возникают процессы, направленные на ликвидацию повреждений. Разделение это (особенно для периферии зоны поражения) носит чисто условный характер. И в той, и в другой фазах явления деструкции были неотделимы от признаков репарации, и лишь общее направление течения патологического процесса позволяет рассматривать эти фазы отдельно.

В связи с этапным развитием патологического процесса в коже проведена оценка эффективности клеточной терапии в различные сроки после облучения: в ранний период формирования язвы, в период сформировавшейся язвы и в периоды активной регенерации в пораженной ткани. Изучали возможности как однократного, так и двукратного введения ММСК.

Вначале исследовали лечебную эффективность однократной трансплантации клеток, как в ранние, так и в более поздние сроки после локального облучения.

Изучали течение местных лучевых поражений в условиях однократного подкожного введения ММСК через 9 (в дозе 2.0×10^6 клеток) или 21 (в дозе 2.4×10^6 клеток) или 35 (в дозе 1.5×10^6 клеток)

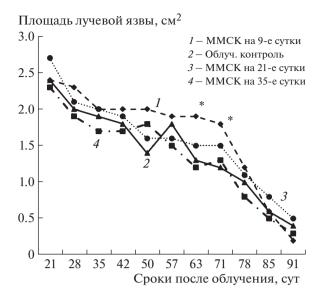


Рис. 1. Влияние однократной трансплантации сингенных ММСК на 9-е, или 21-е или 35-е сутки после облучения на заживление лучевых язв.

* Статистически значимые различия по сравнению с облученным контролем (p < 0.05).

Fig. 1. The impact of one-time syngeneic transplantation MMSC at 9 or 21 or 35 days after irradiation on healing of radiation ulcers.

* Statistically significant differences compared to the irradiated control (p < 0.05).

ток) сут после облучения животных. На рис. 1 представлены данные изменения площади поражения кожи у разных групп животных после облучения. Показано, что однократное введение сингенных ММСК через 9, или 21, или 35 сут после локального облучения не влияло на скорость заживления лучевых язв.

Отсутствие лечебной эффективности было также установлено и при однократной подкожной трансплантации ММСК (в дозе 1.8×10^6 клеток), проведенной через 82 дня после воздействия радиации.

Таким образом, в условиях наших экспериментов не удалось выявить способности однократно трансплантированных ММСК влиять на регенерацию кожи при тяжелых радиационных поражениях. Эта закономерность воспроизводилась при их введении как в ранний, так и в поздние периоды после облучения.

Далее проводилось изучение лечебной эффективности двукратного введения ММСК, проведенного в различные сроки после воздействия радиации.

Вначале исследовали эффективность комбинированного способа трансплантации клеток: раннего (на 9-е сут) подкожного введения (1.3 \times \times 10^6 клеток) и более позднего (на 23-и сут) нанесения суспензии ММСК в фибриновом клее

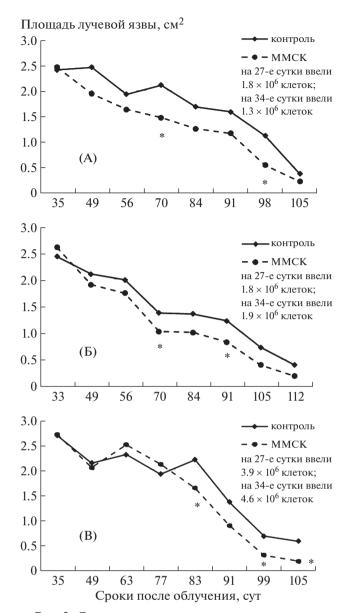


Рис. 2. Динамика заживления лучевых язв кожи у крыс после локального облучения в условиях двукратной трансплантации ММСК на 27-е и 34-е сутки после воздействия радиации. А, Б, В — три разных эксперимента.

* Статистически значимые различия по сравнению с облученным контролем (p < 0.05).

Fig. 2. Dynamics of healing Ray skin ulcers in rats after local irradiation in terms of double transplant MMSC on 27 and 34 days after exposure to radiation. The letters A, B, C are marked with three different experiments.

* Statistically significant differences compared to the irradiated control (p < 0.05).

 $(1.2 \times 10^6$ клеток) на поверхность лучевой язвы, очищенной от струпа. Интервал между двумя трансплантациями был 2 нед. Существенного влияния на заживление кожи эта процедура не оказывала.

В дальнейшем мы продолжили изучать эффективность двукратных трансплантаций (но с не-

дельным интервалом между инъекциями). Причем ММСК вводили только под кожу вокруг зоны поражения.

На рис. 2 представлены данные, полученные в трех отдельных экспериментах, где ММСК вводили через 27 и 34 сут после облучения, т.е. в период активизации регенераторных процессов в пораженной коже. Во всех трех опытах отмечено ускорение заживления лучевых язв после трансплантации ММСК. Так, в первых двух опытах, начиная с 49-56-х и по 98-105-е сут после облучения, площадь лучевых язв у леченных животных была на 15-52% меньше, чем у облученного контроля. Такая же тенденция сохранялась в третьем опыте, но эффект наступал позже – после 77-х сут. Специальных исследований по определению степени лечебной эффективности ММСК от числа трансплантированных клеток мы не проводили. Тем не менее в этих трех опытах не выявлено повышения скорости заживления язв при увеличении количества введенных клеток: 1-й опыт – суммарно ввели 3.1 млн клеток; 2-й опыт – суммарно ввели 3.7 млн клеток; 3-й опыт — суммарно ввели 8.5 млн клеток. Следует сказать, что количество трансплантированных клеток в этих опытах укладывалось в так называемый "терапевтический диапазон". Считается, что у мелких лабораторных животных для проявления лечебного эффекта ММСК при подкожном применении необходимо однократно ввести порядка $1.0-3.0 \times 10^6$ клеток на животное [21].

Двукратное подкожное введение ММСК в более поздние сроки после воздействия радиации также оказывало лечебное действие на регенераторные процессы в облученной коже. Данные, представленные на рис. 3—5, показывают, что двукратное (с интервалом в неделю) введение ММСК через 34—42 или 57—64, а также 84—92 сут после облучения стимулировало заживление лучевых язв. В этих опытах также не отмечено заметного усиления эффективности терапии при увеличении числа пересаженных клеток.

Следует обратить внимание на скорость проявления лечебного действия ММСК при разных сроках их трансплантации после облучения: при поздних (57–64 и 84–92 сут) введениях эффект наступал уже через 1 нед. после последней инъекции (рис. 4–5), при трансплантации через 27—34 дня — в двух опытах эффект наступал после 15—22 сут после последней инъекции, а в 3-м эксперименте через 43 дня (рис. 2). Возможно, что терапевтическое действие клеток лучше проявляется в период активных регенераторных процессов, которые наблюдаются в наших условиях экспериментов в более поздние периоды после воздействия рентгеновского излучения.

Степень эффективности клеточной терапии, выявленная в наших опытах, была близка к ре-

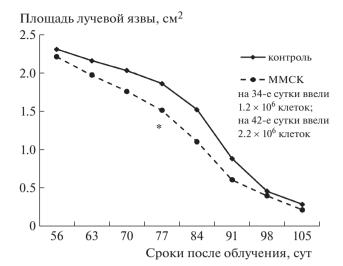


Рис. 3. Изменения площади лучевых язв кожи у крыс после локального облучения в условиях двукратной трансплантации ММСК жировой ткани на 34-е и 42-е сутки после облучения.

* Статистически значимые различия по сравнению с облученным контролем (p < 0.05).

Fig. 3. Changes in ray skin ulcers in rats after local irradiation in terms of double transplant MMSC adipose tissue on 34 and 42 days after exposure.

* Statistically significant differences compared to the irradiated control (p < 0.05).

зультатам, опубликованным ранее в обзорной статье [22], где было показано, что ускорение заживления вялотекущих язв кожи (не лучевой этиологии) при местном введении ММСК чаще всего не превышало 20—35% по сравнению с контролем. Совместное применение комплекса методов консервативной терапии (антибиотики, средства, влияющие на воспалительную реакцию, микроциркуляцию и трофику тканей и т.д.) и трансплантации ММСК может позволить добиться значительных успехов в лечении местных лучевых поражений.

Обращает на себя внимание в условиях наших опытов отсутствие лечебной эффективности ММСК при их введении в ранние сроки. Представленные результаты отличаются от полученных нами ранее данных о стимулирующем действии однократно трансплантированных на 7-е или 14-е сут аллогенных ММСК на заживление лучевых язв кожи, образующихся после локального β-облучения крыс в дозе 140 Гр [5]. По-видимому, в условиях локального рентгеновского облучения в дозе 110 Гр (в отличие от воздействия локального β-облучения) отсутствие лечебного эффекта от введения, даже сингенных ММСК, может быть связано только со спецификой динамики процессов поражения и восстановления кожной ткани при данной модели рентгеновского облучения, с более тяжелым течением патологического процесса.

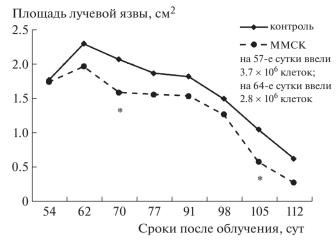


Рис. 4. Динамика заживления лучевых язв после двукратного введения ММСК жировой ткани на 57-е и 64-е сутки после локального облучения.

* Статистически значимые различия по сравнению с облученным контролем (p < 0.05).

Fig. 4. Dynamics of healing radiation ulcers after twice imposing MMSC adipose tissue on 57 and 64 days after local irradiation.

* Statistically significant differences compared to the irradiated control (p < 0.05).

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы лечебного действия подкожного введения ММСК могут быть связаны с тем, что значительная часть пересаженных клеток длительно остается и функционирует в зоне, близкой к пораженному участку кожи. Установлено, что трансплантированные под кожу ММСК способны дифференцироваться в фибробласты, которые активно участвуют в регенераторных процессах [23—25]. В то же время большинство авторов считают, что благоприятное действие ММСК, в основном, связано с их паракринным влиянием, выработкой различных факторов роста, усилением неоангиогенеза, снижением местной воспалительной реакции [14—17].

Важно отметить, что лечебный эффект проявился только при двукратной трансплантации клеток. Известно, что для реализации своего потенциала трансплантированные ММСК должны попасть в соответствующее микроокружение или создать его [26]. По-видимому, первая трансплантация клеток создает благоприятный плацдарм (микроокружение) для последующей реализации ММСК своего лечебного потенциала в условиях повторной пересадки.

Можно предположить, что заживление лучевых ран является результатом активного взаимодействия трансплантированных ММСК, клеток тканевого микроокружения, а также различных интактных клеток, мигрировавших в зону поражения. Влияние мигрировавших клеток, а также клеток, находящихся с края пораженной зоны в

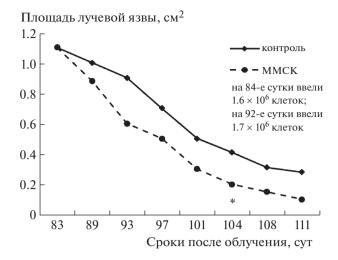


Рис. 5. Влияние двукратной трансплантации ММСК жировой ткани на 84-е и 92-е сутки после воздействия радиации на динамику заживления лучевых язв кожи.

* Статистически значимые различия по сравнению с облученным контролем (p < 0.05).

Fig. 5. The impact of double transplant MMSC adipose tissue on 84 and 92 days after exposure to radiation on the dynamics of healing of radiation ulcers of the skin.

* Statistically significant differences compared to the irradiated control (p < 0.05).

процессе регенерации кожи, велико, так как именно с краев лучевой язвы начинается ее заживление.

Представленные результаты подтверждают данные литературы о возможности использования ММСК жировой ткани для лечения лучевых ожогов в эксперименте и клинике [27—32] и расширяют наше представление об эффективности клеточной терапии при тяжелых радиационных поражениях кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные показывают, что сингенные ММСК жировой ткани могут быть эффективны при лечении длительно незаживающих лучевых язв кожи. Клеточная терапия оказывает лечебное действие при подкожном (вокруг зоны поражения) введении ММСК в период заживления сформировавшихся лучевых язв. Трансплантация клеток в это время должна быть как минимум двукратной, с интервалом между инъекциями в 1 нед.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Радиационная медицина: Руководство для врачейисследователей и организаторов здравоохранения / Под ред. Л.А. Ильина. Т. 2. М.: ИздАТ, 2001. 432 с. [Radiation Medicine: A guide for medical researchers

- and health care organizers / Ed. L.A. Ilyin. M.: Izdat, 2001. V. 2. 432 p. (In Russian)]
- 2. Бушманов А.Ю., Надежина Н.М., Нугис В.Ю. и др. Местные лучевые поражения кожи человека: возможности биологической индикации дозы (аналитический обзор) // Мед. радиология. и радиац. безопасность. 2005. Т. 50. № 1. С. 37—47. [Bushmanov A. Yu, Nadezhina N.M, Nugis V.Yu, Galstyan I.A. Local radiation damage to human skin: the possibility of a biological dose indication (analytical review) // Medical Radiology and Radiation Safety. 2005. V. 50. № 1. Р. 37—47. (In Russian)]
- Селидовкин Г.Д. Медицинская помощь при радиационной аварии с источником цезия-137 в Бразилии (1987) // Медицинские аспекты аварии на Чернобыльской атомной станции. Киев: Здоровье, 1988. С. 180–185. [Selidovkin G.D. Medical assistance in radiation accidents with source of cesium-137 in Brazil (1987) // Medical aspects of the accident at the Chernobyl nuclear power station. Kiev: Health, 1988. P. 180–185. (In Russian)]
- 4. Надежина Н.М., Филин С.В., Сачков А.В. и др. Острые местные лучевые поражения и их последствия (нештатная ситуация при дефектоскопических работах) // Мед. труда и пром. экология. 2004. № 3. С. 40—43. [Nadezhina N.M., Filin S.V., Sachkov A.V., Galstian I.A. Acute local radiation and their consequences (contingency in flaw inspection) // Occupational medicine and Industrial Ecology. 2004. № 3. P. 40—43. (In Russian)]
- 5. Мороз Б.Б., Онищенко Н.А., Лебедев В.Г. и др. Влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга на течение местных лучевых поражений у крыс после локального β-облучения // Радиац. биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49. № 6. С. 688–693. [Moroz В.В., Onischenko N.A., Lebedev V.G., Deshevoi Yu.B. et al. Influence of multipotent mesenchymal stromal cells of bone marrow on process the local radiation injury in rats after local β-irradiation // Radiat. Biology. Radioecology. 2009. V. 49. № 6. Р. 688–693. (In Russian)]
- 6. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Надежина Н.М. и др. Трансплантация мезенхимальных клеток при лечении лучевых поражений кожи // Патол. физиология и эксперим. терапия. 2011. № 1. С. 2—7. [Kotenko K.V., Moroz B.B., Nadejina N.M., Deshevoi Yu.B. et al. Mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of radiation skin lesions // Pathol. Physiology and Experim. Therapy. 2011. V. 55. №1. P. 2—7. (in Russian)]
- 7. Котенко К.В., Еремин И.И., Мороз Б.Б. и др. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012. Т. 7. № 2. С. 97—102. [Kotenko K.V., Eremin I.I., Moroz B.B. at al. Cell technologies in the treatment of radiation burns: experience Burnasyan Federal Medical Biophysical Centre // Cell transplantology and tissue engineering. 2012. V. 7. № 2. P. 97—102. (In Russian)]
- 8. Akito S., Akino K., Hiruno A. et al. Proposed regeneration therapy for cutaneous radiation injuries // Acta Med. Nagasak. 2006. V. 51. № 4. P. 50–55.

- 9. François S., Bensidhoum M., Mouiseddine M. et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage // Stem Cells. 2006. V. 24. № 4. P. 1020–1029.
- 10. François S., Mouiseddine M., Mathieu N. et al. Human mesenchymal stem cells favour healing of the cutaneous radiation syndrome in a xenogenic transplant model // Ann. Hematol. 2007. V. 86. № 1. P. 1–8.
- 11. Mehanni1 S.S., Ibrahim N.F., Hassan A.R. et al. New Approach of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells and Human Amniotic Epithelial Cells Applications in Accelerating Wound Healing of Irradiated Albino Rat // Int. J. Stem Cells. 2013. V. 6. № 1. P. 45–54
- 12. Lataillade J.J., Doucet C., Bey E. et al. New approach to radiation burn treatment by dosimetry-guided surgery combined with autologous mesenchymal stem cell therapy // Regen. Med. 2007. 2. P. 785–794.
- 13. *Коноплянников А.Г., Колесникова А.И., Саенко А.С. и др.* Кондиционная среда, обладающая лечебным эффектом: Патент РФ № 2292212, январь, 2007. [*Konopljannikov A.G., Kolesnikova A.I., Saenko A.S. et al.* Conditions medium with therapeutic effect. Patent RU № 2292212 С 1. 27.01. 2007 (In Russian)]
- 14. *Tuan R.S.*, *Boland G.*, *Tuli R*. Adult mesenchymal stem cells and cell-based tissue engineering // Arthritis Res. Ther. 2003. V. 5. № 1. P. 32–45.
- 15. *Онищенко Н.А.* Клеточные технологии и современная медицина // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2004. № 4. С. 2—11. [*Onishhenko N.A.* Cellular technology and modern medicine // Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2004. № 4. Р. 2—11. (In Russian)]
- 16. *Терских В.В., Киселева Е.В.* Биологические особенности и терапевтический потенциал стромальных клеток жировой ткани: Обзор // Пластическая хирургия и косметология. 2010. № 4. С. 613–621. [*Terskikh V.V., Kiseleva E.V.* Biological peculiarities and therapeutic potential of stromal cells of adipose tissue. Review // Plastic surgery and cosmetology. 2010. № 4. P. 613–621. (in Russian)]
- 17. Bourin P., Bunnell B.A., Casteilla L. at al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and cultured expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for adipose therapeutics and the International Society for cellular therapy (ISCT) // Cytotherapy. 2013. V. 15. P. 641–648.
- 18. *Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А. и др.* Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения // Патол. физиология и эксперим. терапия. 2013. № 4. С. 121—123. [*Kotenko K.V., Moroz B.B., Nasonova T.A. et al.* Experimental model of severe local radiation injuries of the skin after x-rays // Pathol. Physiology and Experim. Therapy. 2013. V. 57. № 4. P. 121—123. (in Russian)]
- 19. Bognest A.C., Shandadfar A., Brinchmann J.E. at al. Isolation of stromal stem cells from human adipose tissue // Methods Mol. Biol. 2006. V. 325. P. 35–46.

- Bunnell B.A., Flaat M., Gagliard Ch. et al. Adipose-derived stem cells: isolation, expansion and differentiation // Methods. 2008. V. 45. № 2. P. 115–120.
- 21. *Isakson M., C. de Blacam, Whelan D. et al.* Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: current evidence and future potential. Review article // Hundawi publishing corporation. Stem Cells Int. V. 2015, Art. ID 831095, 12 p. https://doi.org/10.1155/2015/831095
- 22. Brower J., Blumberg S., Carroll E. et al. Mesenchymal stem cell therapy and delivery systems in nonhealing wounds // Adv. Skin Wound Care. 2011. Nov. V. 24. № 11. P. 524–532.
- 23. Лунёва К.А., Лунёв А.С., Клементьева О.И. и др. Изучение путей миграции мезенхимальных стволовых клеток у животных с экспериментальным лучевым ожогом кожных покровов // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018. № 2. С. 130—134. [Lunyova K.A., Lunyov A.S., Klementyeva O.E., Ternovskaya K.E., Astrelina T.A. Study of the ways of mesenchymal stem cells migration in animals with experimental radiation skin burns // Drug development & registration. 2018. № 2. Р. 130—134. (In Russian)]
- 24. Yaojiong Wu M.D., Liwen Cheng, Paul G. Scott et al. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis // Stem cells. 2007. V. 25. Issue 10. P. 2648–2659.
- 25. Lopez-Iglesias P., Blazquez-Martinez A., Fernandez-Delgado J. et al. Short and long fate of human AMSC subcutaneously injected in mice // World J. Stem Cells. 2011. June 26. V. 3. № 6. P. 53–62.
- 26. Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я. Клеточные основы кроветворения М.: Медицина, 1977. 272 с. [Chertkov I.L., Fridenshtejn A. Ya. Cellular basis of Hematopoiesis M.: Medicine, 1977. 272 p. (in Russian)]
- 27. *Rigotti G., Marchi A., Galie M. et al.* Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose tissue-derived adult stem cells // Plast. Reconstr. Surg. 2007. V. 119. № 5. P. 1409–1422.
- 28. *Riccodono D., Agay D., Scherthan H. et al.* Application adipose-derived stem cells in treatment of cutaneous radiation syndrome // Health Phys. 2012. V. 103. № 2. P. 120–126.
- 29. *Akita S., Yoshimoto H., Ohtsuru A. et al.* Autologous adipose-derived regenerative cells are effective for chronic intractable radiation injuries // Radiat. Prot. Dosim. 2012. V. 151. № 4. P. 656–660.
- 30. Forcheron F., Agay D., Scherthan H. et al. Autologous adipose-derived stem cells favour healing in minipig model treatment of cutaneous radiation syndrome // PLOS One. February 2012. V. 7. № 2. e 31694.
- 31. Sheng-Ping H., Chun-Hsiang H., Jia-Fwu Sh. et al. Promotion of wound healing using adipose-derived stem cells in radiation ulcer of a rat model // J. Biomed. Sci. 2013. V. 20. № 1. P. 51–61.
- 32. Shukla L., Morrison W. A., Shayan R. Adipose-derived stem cells in radiotherapy injury: a new frontier // Frontiers in surgery Reconstructive and Plastic Surgery. January 2015. V. 2. Art. 1. P. 1–12.

Experience of Application of Syngeneic Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MMSC) Adipose Tissue for Treatment of Severe Radiation Skin Lesions at Various Intervals after Exposure in the Experiment

Yu. B. Deshevoi^{a,#}, T. A. Nasonova^a, O. A. Dobrynina^a, R. V. Deev^b, V. G. Lebedev^a, A. V. Lyrshchikova^a, T. A. Astrelina^a, and B. B. Moroz^a

^a Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency of Russia, Moscow, Russia
 ^b Human Stem Cells Institute, Moscow, Russia
 [#]E-mail: iurv.deshevoi@vandex.ru

The work summarizes data obtained in experiments where we studied the effectiveness of syngeneic multipotent mesenchymal stem cells (MMSC) adipose tissue when treating severe radiation skin lesions. Experiments were carried out on rats inbreed line Wistar-Kyoto, which subjected the local effects of X-ray radiation in the back in a dose of 110 Gy (30 kV tube voltage, amperage 6.1 mA, filter 0.1 mm Al), dose rate of 17.3—20.0 Gy/min. Local exposure led to the development of severe long-term (up to 3.5 months) healing Ray skin ulcers. MMSC injected under the skin around the kill zone at various intervals after exposure: in the early period prior to the formation of ulcers, ulcers and the period established during periods of active regeneration in the affected tissue. Carried out as single and double cell transplantation. It is shown that only double introduction MMSC (with an interval between injections to 1 week) increase regenerative processes and accelerates healing of radiation ulcers. Therapeutic effect is more pronounced in terms of double imposition MMSC during the period when the radiation ulcer already formed and in the affected skin in the affected skin activates regenerative pro-cesses.

Keywords: X-ray radiation, radiation skin ulcers, multipotent mesenchymal stem cells of adipose tissue, cleprecise therapy

ОБЩАЯ РАЛИОБИОЛОГИЯ

УДК 577.1:571.27:591.149.3:599.323.4:57.084.1:539.1.047

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСТРАДИАЦИОННЫХ НАРУШЕНИЙ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ У МЫШЕЙ-САМОК С ПОМОЩЬЮ ЛЕТУЧИХ ХЕМОСИГНАЛОВ ИНТАКТНЫХ САМПОВ

© 2020 г. В. Г. Исаева^{1,*}, Л. Ю. Гривцова¹

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

**E-mail: Isaevavg@yandex.ru* Поступила в редакцию 11.09.2017 г.

Показано, что естественные летучие выделения мышей-самцов способны дистанционно модифицировать показатели иммунной реактивности у мышей-самок, сниженной после действия ионизирующей радиации. У подвергнутых однократному тотальному воздействию ионизирующего излучения в сублетальной дозе (γ-лучи ⁶⁰Со на установке "Луч-1", доза 1 Гр) самок линии СВА способность к антителогенезу в селезенке в ранние сроки (3 сут) пострадиационного периода возрастает только после экспонирования с выделениями аллогенных самцов. В более отдаленный период после ионизирующего излучения (7 сут) стимулирующими свойствами относительно иммуногенеза, тестируемого по содержанию антителообразующих клеток в селезенке, обладали летучие выделения как сингенных, так и аллогенных самцов. При этом стимулирующие антителогенез свойства сингенных хемосигналов были более выражены, чем аллогенных. Иммунореактивность облученных (1 Гр) мышей-самок линии С57Вl6 после экспонирования в разные сроки пострадиационного периода с выделениями самцов исследуемых линий значимо не восстанавливалась, что, по-видимому, связано с низкой обонятельной чувствительностью мышей линии С57Вl6. Обсуждается роль хемосигнализации в избирательной стимуляции иммунитета в условиях радиационного повреждения.

Ключевые слова: мыши, ионизирующая радиация, иммунореактивность, генотип, летучие компоненты выделений

DOI: 10.31857/S0869803120010087

Известно, что в процессе своей жизнедеятельности животные продуцируют хемосигналы, маркирующие свой вид, пол, возраст, состояние и многое другое, и участвующие в химической коммуникации между особями. Большинство из хемосигналов выделяются с мочой в летучем виде и имеют форму комплексной смеси молекул, улавливаемых хемосенсорной (обонятельной) системой воспринимающих их особей [1—6].

Подавляющее большинство сведений о влиянии хемосигналов на физиологическое состояние особей в процессе коммуникации относится к нормальным условиям существования животных. В литературе также имеются данные о наличии у животных хемосигналов патологических состояний.

Так, тотально облученные рыбы выделяют в воду хемосигналы, снижающие жизнеспособность клеток плавников и жабер у интактных особей [7].

После воздействия ионизирующей радиации в сублетальных дозах в моче у лабораторных живот-

ных появляются отсутствующие в норме летучие компоненты (ЛК), экспозиция с которыми снижает у интактных особей способность к иммунному ответу на тимусзависимый антиген и содержание некоторых форменных элементов крови [8, 9]. Хроматомасс-спектрометрический анализ воздушной фазы ЛК мочи облученных в дозе 4 Гр мышей показал, что в ранние сроки после ионизирующего воздействия происходит изменение спектра ЛК мочи мышей. Ацетон, который преобладает в спектре ЛК интактных животных, практически не обнаруживается у особей, облученных в дозе 4 Гр. При этом в 2 раза повышается концентрация гептанона-2, гептанона-3, бутадиона-2,3 и особенно гидроксипропанона-2 [10].

Появление у пострадиационных ЛК иммуносупрессирующей активности, как оказалось, совпадает со сроками разгара у животных иммунологических нарушений, вызванных непосредственным воздействием ионизирующего излучения [9]. При этом иммуносупрессирующая активность пострадиационных ЛК лабораторных

мышей не зависит от генотипа донора этих выделений [11]. Хемосигналы облученных крыс и мышей обладают супрессирующей активностью в отношении друг друга [12, 13]. Даже одна облученная особь индуцировала у экспонированных с ней интактных особей нарушения иммунитета, что, по всей вероятности, связано с высокой летучестью пострадиационных ЛК [14].

Снижение иммунореактивности, тестируемой по содержанию антителообразующих клеток в селезенке на тимусзависимый антиген, зависело не только от состояния доноров ЛК, но и состояния воспринимающих их реципиентов. Так, у иммунологически высокореактивной линии мышей СВА [15] в большей степени снижается способность к иммунному ответу под влиянием пострадиационных ЛК мышей сингенной линии, чем аллогенной, а у мышей низкореактивной линии С57Вl6 [15] имеет место снижение иммунного ответа после воздействия выделений сингенных облученных особей [16].

В дальнейшем оказалось, что пострадиационные выделения обладают свойствами аттрактивных хемосигналов, привлекающих интактных особей [17]. Повышение аттрактивности между интактными и облученными самцами мышей позволяло предполагать биологическую целесообразность этого явления, и подтверждение тому было получено. Оказалось, что пострадиационные и естественные ЛК мышей способны дистанционно восстанавливать иммунную реактивность и показатели крови особей, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации [18—20]. При этом хемосигналы интактных животных обладали более выраженной восстанавливающей антителогенез активностью [20].

Все цитируемые выше данные были получены на инбредных мышах-самцах линии СВА, обладающих высокой ольфакторной чувствительностью и иммунореактивностью, и линии С57Вl6, которая по некоторым показателям характеризуется как низкоольфакторная и низкоиммунореактивная [15, 21].

Задача данного исследования заключалась в сравнительной оценке иммуномодулирующих свойств хемосигналов, выделяемых с мочой интактными мышами-самцами линий СВА и С57ВІ/6, по отношению к облученным (1 Гр) самкам сингенных и аллогенных линий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на половозрелых мышахсамках и самцах линий СВА и С57В16 с массой 25—28 г, полученных из питомника "Столбовая". Животные содержались при естественном световом режиме в условиях вивария на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к поилкам с водой. Мышей выдерживали не менее 2 нед. до начала эксперимента в одних и тех же стандартных полипропиленовых боксах для содержания животных. Каждая исследованная группа мышей состояла из шести особей.

Животных подвергали тотальному однократному воздействию γ -излучения 60 Со на установке "Луч-1" в сублетальной дозе 1 Гр при мощности дозы 6.0 мГр/c.

Донорами ЛК служили интактные мыши-самцы линий СВА и С57В16. Для получения образцов мочи, содержащих исследуемые ЛК, использовали бумажные подстилки (лист фильтровальной бумаги марки Ф, ГОСТ 12026-76), которые помещали на одни сутки под дополнительное сетчатое дно боксов. Подстилки, впитавшие в течение суток мочу интактных доноров, переносили в боксы к облученным мышам-самкам (реципиенты) также под сетчатое дно. Через сутки после экспозиции с ЛК реципиентам для индукции гуморального иммунного ответа внутрибрюшинно вводили эритроциты барана (ЭБ). Доза ЭБ – 1×10^8 клеток в 0.2 мл среды 199 с солями Хенкса и с глутамином (ПанЭко, Москва, Россия). Через 4 сут реципиентов декапитировали под эфирным наркозом. Извлекали тимус и селезенку, определяли их массу взвешиванием.

Для выделения клеток из органов использовали стеклянный гомогенизатор с тефлоновым пестиком. В качестве культуральной жидкости использовали среду 199 объемом 1 мл. Гомогенат профильтровывали через капроновое сито, отделяя лимфоциты от стромы. Количество клеток подсчитывали под микроскопом в камере Горяева общепринятым методом. Содержание антителообразующих клеток (АОК) в селезенке определяли по методу Каннингема [22].

Статистически значимые различия между группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Уровень статистической значимости принимали за p < 0.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование влияния естественных ЛК интактных мышей-самцов линий СВА и С57В16 на облученных в дозе 1 Гр мышей-самок сингенных и аллогенных линий показало следующее.

Через 3 сут после радиационного воздействия у самок СВА снижается масса селезенки и содержание в ней антителообразующих клеток (AOK), составляя соответственно 70.0 ± 4.3 и $54.8 \pm 5.6\%$ от аналогичных показателей у контрольных животных (табл. 1).

Через 7 сут после облучения у самок СВА исследуемые показатели остаются значимо ниже, чем в контрольной группе мышей. Масса селезенки составляет $87.8 \pm 0.6\%$, а содержание в ней

1 Гр + ЛК CBA

1 Γ р + ЛК C57B16

Таблица 1. Иммунологические показатели $(M\pm m)$ у облученных (1 Гр, 3-и сутки) мышей-самок СВА после экспозиции с летучими компонентами (ЛК) мочи интактных сингенных и аллогенных самцов **Table 1.** Immunological parameters $(M\pm m)$ in irradiated (1Gy, 3 day post irradiation period) female mice CBA after exposition with volatile components (VC) of urine intact singeneic and allogeneic male mice

Группа	Селезенка			Тимус	
Группа животных	масса, мг	клеточность, 1×10^6	количество АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1×10^6
Контроль	118 ± 2.8	112 ± 13.1	188 ± 22.7	30.6 ± 3.5	64.0 ± 6.2
	(100 ± 2.4)	(100 ± 11.7)	(100 ± 12.0)	(100 ± 11.3)	(100 ± 9.7)
1 Гр	$82.6 \pm 5.1*$	102 ± 6.7	103 ± 10.6*	30.6 ± 1.0	54.8 ± 5.1

 (54.8 ± 5.6)

 (36.9 ± 4.7)

 (76.6 ± 7.7)

 $69.3 \pm 8.8*$, **

144 ± 14.5**

 (100 ± 3.3)

 25.6 ± 2.6

 (83.7 ± 8.5)

 28.2 ± 1.4

 (92.2 ± 4.6)

 (85.6 ± 8.0)

 52.0 ± 4.1

 (81.3 ± 6.4)

 53.3 ± 3.8

 (83.3 ± 6.0)

 (79.7 ± 5.2)

 (57.1 ± 4.6)

 108 ± 8.0

 (84.4 ± 6.3)

 $64.0 \pm 5.1^{*, **}$

Примечание. В скобках – процент к контролю.

 (70.0 ± 4.3)

 $80.0 \pm 4.5*$

 (68.0 ± 3.8)

 (87.3 ± 5.6)

 $103 \pm 65**$

Таблица 2. Иммунологические показатели $(M \pm m)$ у облученных $(1 \Gamma p, 7$ -е сут) мышей-самок CBA после экспозиции с летучими компонентами (JK) мочи интактных сингенных и аллогенных самцов **Table 2.** Immunological parameters $(M \pm m)$ in irradiated (1 Gy, 7 day post irradiation period) female mice CBA after exposition with volatile components <math>(VC) of urine intact singeneic and allogeneic male mice

Группа	Селезенка			Тимус	
Группа животных	масса, мг	клеточность, 1×10^6	количество АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1 × 10 ⁶
Контроль	108 ± 4.6	110 ± 10.0	129 ± 15.2	32.8 ± 2.7	89.5 ± 11.5
	(100 ± 4.2)	(100 ± 9.2)	(100 ± 11.8)	(100 ± 8.1)	(100 ± 12.8)
1 Гр	$94.8 \pm 0.7*$	82.5 ± 9.5	$92.0 \pm 4.2*$	28.0 ± 2.2	77.2 ± 8.1
	(87.8 ± 0.6)	(75.0 ± 8.6)	(71.3 ± 3.3)	(85.4 ± 6.7)	(86.3 ± 9.1)
1 Гр + ЛК CBA	97.2 ± 6.5	106 ± 12.1	144 ± 16.2**	30.2 ± 0.2	73.2 ± 13.7
	(90.0 ± 6.0)	(96.4 ± 11.0)	(112 ± 12.6)	(92.1 ± 0.6)	(81.8 ± 15.3)
1 Гр + ЛК C57B16	96.4 ± 4.8	88.0 ± 6.7	111 ± 4.8**	30.8 ± 2.8	76.0 ± 8.0
	(89.3 ± 4.4)	(80.0 ± 6.1)	(86.0 ± 3.7)	(93.9 ± 8.5)	(84.9 ± 8.9)

Примечание. В скобках – процент к контролю.

АОК 71.3 \pm 3.3% от контрольных показателей (табл. 2).

Масса и клеточность тимуса мышей-самок СВА в исследуемые сроки пострадиационного периода (3-и и 7-е сутки) значимо не отличались от соответствующих показателей у контрольных особей (табл. 1 и 2).

У облученных самок СВА, экспонированных в течение 3 сут пострадиационного периода (табл. 1) с ЛК сингенных самцов (СВА), были снижены относительно контроля следующие показатели: масса селезенки, ее клеточность и со-

держание в ней АОК. При этом клеточность селезенки и содержание АОК были ниже, чем у неэкспонированных особей. Так, клеточность селезенки экспонированных самок составляла $57.1 \pm 4.6\%$ от показателя у контрольных животных, что было в 1,4 раза ниже, чем у неэкспонированных самок, а содержание $AOK - 36.9 \pm 4.7\%$, что было в 1.5 раза ниже среднестатистических показателей у неэкспонированных особей. Если же облученных мышей-самок CBA экспонировали с ЛK сингенных самцов в течение 7 сут пострадиационного периода (табл. 2), то уровень AOK в селезенке экспонированных самок увеличивался

^{*} Статистически значимые различия от контроля; ** статистически значимые различия от группы облученных (1 Гр) мышей без экспонирования с ЛК.

^{*} Значимые различия от контроля; ** статистически значимые различия от группы облученных (1 Гр) мышей без экспонирования с ЛК.

Таблица 3. Иммунологические показатели $(M \pm m)$ у облученных (1 Гр, 3-и сут) мышей-самок C57Bl6 после экспозиции с летучими компонентами (ЛК) мочи интактных сингенных и аллогенных самцов **Table 3.** Immunological parameters $(M \pm m)$ in irradiated (1 Gy, 3 day post irradiation period) female mice C57Bl6 after exposition with volatile components (VC) of urine intact singeneic and allogeneic male mice

Группа		Селезенка		Тимус		
животных	масса, мг	клеточность, 1×10^6	количество АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1×10^6	
Контроль	117 ± 6.8	152 ± 9.1	76.0 ± 5.9	50.0 ± 6.2	88.7 ± 11.5	
	(100 ± 5.9)	(100 ± 6.0)	(100 ± 7.7)	(100 ± 12.3)	(100 ± 12.9)	
1 Гр	$85.2 \pm 5.8*$	$95.0 \pm 2.9*$	$35.8 \pm 6.6*$	35.8 ± 3.6	70.3 ± 7.6	
	(72.8 ± 5.0)	(62.5 ± 1.9)	(47.0 ± 8.7)	(71.6 ± 7.2)	(79.3 ± 8.6)	
1 Гр+ЛК С57В16	$90.0 \pm 2.0*$	$75.0 \pm 5.6^{*, **}$	$22.8 \pm 3.2*$	45.7 ± 3.2	86.5 ± 5.6	
	(79.9 ± 1.7)	(49.3 ± 3.7)	(30.0 ± 4.2)	(91.4 ± 6.4)	(97.5 ± 6.3)	
1 Гр+ ЛК СВА	$81.0 \pm 9.7*$	$100 \pm 4.1*$	$41.8 \pm 10.2*$	44.3 ± 5.1	81.5 ± 6.4	
	(69.2 ± 8.3)	(65.8 ± 2.7)	(55.0 ± 13.4)	(88.6 ± 10.2)	(91.9 ± 7.2)	

Примечание. В скобках – процент к контролю.

в 1,6 раза от показателя неэкспонированных особей и составлял $112\pm12.6\%$ от аналогичного показателя у контрольных мышей. Масса и клеточность селезенки экспонированных самок в этом случае не отличались от показателей в контроле.

У облученных мышей-самок СВА, экспонированных с ЛК аллогенных самцов (C57Bl6) как в течение 3-х (табл. 1), так и 7-х сут (табл. 2) пострадиационного периода, увеличивалось содержание АОК в селезенке — соответственно в 1.4 и 1.3 раза по отношению к неэкспонированным животным, составляя 76.6 ± 7.7 и $86.0 \pm 3.7\%$ от показателя в контроле. Масса селезенки мышейсамок СВА, экспонированных с ЛК аллогенных самцов в течение 3-х сут пострадиационного периода, была выше, чем у неэкспонированных особей (табл. 1), а после экспонирования в течение 7-х сут не отличалась от контрольного показателя (табл. 1).

Мыши линии С57В16, как известно, более радиочувствительные, чем мыши линии СВА [23], и ионизирующее излучение в дозе 1 Гр вызывало у самок линии С57В16 не только снижение массы селезенки и содержания в ней АОК, но и снижение клеточности селезенки относительно среднестатистических показателей в контрольной группе мышей-самок (табл. 3). Так, через 3 сут после радиационного воздействия у самок С57В16 масса селезенки составляла 72.8 \pm 5.0%, ее клеточность — 62.5 \pm 1.9%, а содержание АОК в селезенке 47.0 \pm \pm 8.7% от соответствующих показателей у контрольных животных (табл. 3).

Через 7 сут после радиационного воздействия у самок C57Bl6 (табл. 4) масса селезенки не отличалась от аналогичного показателя у контроль-

ных особей, но оставались сниженными относительно контрольных показателей клеточность селезенки и содержание в ней AOK, составляя соответственно 66.4 ± 5.5 и $55.4 \pm 5.5\%$.

Экспонирование облученных самок линии C57Bl6 в течение 3-х сут пострадиационного периода с ЛК сингенных или аллогенных самцов не вносит существенных изменений в исследуемые показатели (табл. 3). Исключение составлял показатель клеточности селезенки самок C57Bl6, экспонированных с ЛК сингенных самцов, который снизился относительно такового у неэкспонированных особей в 1.3 раза.

После экспонирования мышей-самок C57Bl6 в течение 7-х сут пострадиационного периода с ЛК сингенных или аллогенных самцов их иммунореактивность оставалась достаточно низкой и не отличалась от таковой у неэкспонированных самок (табл. 4). При этом клеточность селезенки у облученных самок C57Bl6 после экспонирования с ЛК аллогенных самцов увеличилась, составляя 95.6 \pm 8.4% от уровня показателя в контроле, что в 1.4 раза выше, чем в группе неэкспонированных самок, а масса и клеточность тимуса даже превышали контрольный показатель — 131 \pm 5.7 и 137 \pm 5.9% соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, естественные хемосигналы, содержащиеся в моче интактных мышей-самцов, обладают способностью модулировать иммунную реактивность самок, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения в дозе 1 Гр. Эффективность хемосигналов мышей-самцов по отно-

^{*} Статистически значимые различия от контроля; ** статистически значимые различия от группы облученных (1 Гр) мышей без экспонирования с ЛК.

Таблица 4. Иммунологические показатели ($M \pm m$) у облученных (1 Гр, 7-е сут) мышей-самок C57Bl6 после экспозиции с летучими компонентами (ЛК) мочи интактных сингенных и аллогенных самцов **Table 4.** Immunological parameters ($M \pm m$) in irradiated (1 Gy, 7 day post irradiation period) female mice C57Bl6 after exposition with volatile components (VC) of urine intact singeneic and allogeneic male mice

F		Селезенка		Ти	мус
Группа животных	масса, мг	клеточность, 1×10^6	количество АОК, 1×10^3	масса, мг	клеточность, 1×10^6
Контроль	97.3 ± 4.2	113 ± 7.5	139 ± 16.1	44.2 ± 1.9	104 ± 7.6
	(100 ± 4.3)	(100 ± 6.6)	(100 ± 11.6)	(100 ± 4.4)	(100 ± 7.3)
1 Гр	84.3 ± 6.2	$75.0 \pm 6.2*$	$77.0 \pm 7.7*$	41.2 ± 4.6	106 ± 8.8
	(86.6 ± 6.4)	(66.4 ± 5.5)	(55.4 ± 5.5)	(93.2 ± 10.4)	(102 ± 8.5)
1 Гр+ЛК С57В16	84.0 ± 4.6	95.0 ± 8.9	57.0 ± 6.0 *	43.8 ± 3.3	96.0 ± 6.6
	(86.3 ± 4.7)	(84.1 ± 7.9)	(41.0 ± 4.3)	(99.1 ± 7.5)	(92.3 ± 6.3)
1 Гр+ ЛК СВА	90.6 ± 4.8)	$108 \pm 9.5**$	62.0 ± 11.1*	$58.0 \pm 2.5^{*, **}$	$142 \pm 6.1^{*, **}$
	(93.1 ± 4.9)	(95.6 ± 8.4)	(44.6 ± 7.9)	(131 ± 5.7)	(137 ± 5.9)

Примечание. В скобках – процент к контролю.

шению к облученным самкам в раннем пострадиационном периоде, как оказалось, имеет более сложную зависимость от генотипа доноров ЛК, чем действие тех же хемосигналов на облученных самцов [24]. Если у облученных мышей-самцов линии СВА на 3-и сут пострадиационного периода иммунореактивность увеличивалась как после экспонирования их с ЛК сингенных, так и аллогенных особей, при сингенной предпочтительности, то у облученных самок СВА иммунореактивность увеличивалась только после экспонировании их с ЛК аллогенных самцов. Можно предположить, что в обонятельных реакциях облученных самок на хемосигналы интактных самцов, как и в норме, доминируют репродуктивнозначимые механизмы.

С развитием пострадиационных восстановительных процессов чувствительность облученных самок СВА к хемосигналам, по-видимому, повышается, и экспонирование их с ЛК самцов как сингенной, так и аллогенной линий приводит к повышению иммунореактивности. При этом (7-е сут пострадиационного периода) после сингенной коммуникации у облученных мышей-самок линии СВА уровень антителогенеза, тестируемый по содержанию АОК в селезенке, был 1.3 раза выше, чем при их аллогенной коммуникации, и не отличался от уровня показателя иммунореактивности у контрольных (необлученных) особей.

Исходя из многочисленных полученных ранее данных и представленных в статье, можно предположить, что коммуникация с сингенными особями является залогом для обеспечения жизне-

способности животных в группах в условиях воздействия радиации.

Распознавание "семейного запаха" и коммуникация с ним были характерны не только для высокоинбредных, генетически однородных мышей, но и для беспородных лабораторных мышей, которые в комплексе спектра ЛК могут распознавать запах совместной группы и взаимодействовать с ним, повышая содержание форменных элементов в крови и снижая тем самым последствия воздействия ионизирующего излучения [25].

В отличие от самок СВА, облученные самки С57В16 не были чувствительны к ЛК как сингенных, так и аллогенных самцов. Иммунореактивность С57В16 после экспонирования с ЛК не изменялась и не зависела от сроков экспонирования в пострадиационном периоде. Исключением было увеличение показателей массы и клеточности лимфоидных органов у самок С57В16, экспонированных с аллогенными ЛК в отдаленном восстановительном после облучения периоде. Объяснением различий в эффектах между двумя линиями самок может быть низкая обонятельная чувствительность мышей линии С57В16 [21]. Ранее это уже подтверждалось в низкой их аттрактивности к пострадиационным и естественным хемосигналам [17]. Нельзя исключать и низкую иммунореактивность этой линии мышей, необходимую для развития иммунного ответа [15]. Мыши линии СВА, в отличие от С57В16, обладают высокой обонятельной чувствительностью и относятся к высокореактивным животным [15]. Показатель пролиферативной активности лимфоидной ткани облученных мышей линии СВА,

^{*} Статистически значимые различия от контроля; ** статистически значимые различия от группы облученных (1 Гр) мышей без экспонирования с ЛК.

после экспонирования с ЛК интактных особей, даже может превышать среднестатистический показатель пролиферативной активности лимфоидной ткани мышей контрольной группы [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, механизмы хемосигнализации участвуют не только в социально-значимых поведенческих реакциях животных, но и, вероятно, обеспечивают генотипзависимую иммунокоррекцию в случае пострадиационного повреждения иммунитета. С помощью избирательной коммуникации с ЛК здоровых интактных особей животные с нарушением иммунореактивности, по-видимому, могут поддерживать свою жизнеспособность.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проводили в рамках выполнения тем государственного задания МРНЦ им. А.Ф. Цыба — филиала ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России за 2015—2016 гг. и нашли свое отражение в обобщающей публикации "Синтез фундаментальных и прикладных исследований — основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику" [27].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Новиков С.Н. Феромоны и размножение млекопитающих: Физиологические аспекты. Л.: Наука, 1988. 167 с. [Novikov S.N. Feromony i razmnozhenie mlekopitayushchikh: Fiziologicheskie aspekty. Leningrad: Nauka, 1988. 167 р. (In Russian)]
- 2. Соколов В.Е., Алейников П.А., Зинкевич Э.П. Химическая коммуникация млекопитающих // Поведение животных в сообществах. Т. 2. М.: Наука, 1983. С. 52–55. [Sokolov V.E., Aleinikov P.A., Zinkevich E.P. Khimicheskaya kommunikatsiya mlekopitayushchikh. Povedenie zhivotnykh v soobshchestvakh. V. 2. М.: Nauka, 1983. P. 52–55. [In Russian)]
- 3. Зинкевич Э.П., Васильева В.С. Химическая коммуникация млекопитающих: молекулярные подходы // Зоол. журн. 1998. Т. 77. № 1. С. 10—19. [Zinkevich E.P., Vasil'eva V.S. Khimicheskaya kommunikatsiya mlekopitayushchikh: molekulyarnye podkhody // Zoologicheskiy zhurnal. 1998. V. 77. № 1. S. 10—19. (In Russian)]
- Мошкин М.П. Популяционная физиология и этология млекопитающих и птиц в проектах РФФИ // Вестник РФФИ. 2000. Т. 21. С. 5–17. [Moshkin M.P. Populyatsionnaya fiziologiya i etologiya mlekopitayushchikh i ptits v proektakh RFFI // Vestnik RFFI. 2000. V. 21. S. 5–17. (In Russian)]
- 5. *Hepper P.G.* Chemical Signals in Vertebrates. Oxford: Oxford Univ. Press, 1990. P. 282–288.
- Beauchamp G.K., Yamazaki K. Chemical signaling in mice // Biochem. Soc. Trans. 2003. V. 31. P. 147–151.

- 7. Mothersill C., Bucking G., Smith R W. et al. Communication of radiation induced stress or bystander signals between fish in vivo // Sci. Technol. 2006. V. 40. № 21. P. 6859–6864.
- 8. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Карпова Н.А. и др. Неизвестные ранее летучие пострадиационные компоненты, способные индуцировать нарушения иммунитета и крови // Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Калуга, 2001. Вып. 2. С. 422—432. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Karpova N.A. i dr. Neizvestnye ranee letuchie postradiatsionnye komponenty, sposobnye indutsirovat' narusheniya immuniteta i krovi.Trudy regional'nogo konkursa nauchnykh proektov v oblasti estestvennykh nauk. Kaluga, 2001. V. 2. S. 422—432. (In Russian)]
- 9. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н. Пострадиационные иммуносупрессирующие и аттрактивные летучие выделения: "эффект соседа (baystander effekt)" или аллелопатия в группах животных // Докл. АН. 2005. Т. 400. № 5. С. 711—713. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N. Postradiatsionnye immunosupressiruyushchie i attraktivnye letuchie vydeleniya: "effekt soseda (baystander effekt)" ili allelopatiya v gruppakh zhivotnykh // Dokl. AN. 2005. V. 400. № 5. S. 711—713. (In Russian)]
- 10. Духова Н.Н., Марданов Р.Г., Суринов Б.П. Свойства летучих компонентов мочи облученных мышей // Тез. XI регион. науч. конф. "Техногенные системы и экологический риск". Обнинск, 2014. С. 156—168. [Dukhova N.N., Mardanov R.G., Surinov B.P. Svoistva letuchikh komponentov mochi obluchennykh myshei // Tezisy XI regional'noi nauchnoi konferentsii "Tekhnogennye sistemy i ekologicheskii risk". Obninsk, 2014. P. 156—168. (In Russian)]
- 11. Исаева В.Г., Суринов Б.П. Пострадиационные летучие выделения и развитие иммуносупрессирующего эффекта у лабораторных мышей с различным генотипом // Радиац. биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 1. С. 10—16. [Isaeva V.G. Surinov B.P. Postradiatsionnye letuchie vydeleniya i razvitie immunosupressiruyushchego effekta u laboratornykh myshei s razlichnym genotipom // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2007. V. 47. № 1. S. 10—16. (In Russian)]
- 12. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Токарев О.Ю.* Аллелопатическая активность летучих выделений облученных животных // Радиац. биология. Радиоэкология. 2001. Т. 41. № 6. С. 645—649. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Tokarev O.Yu.* Allelopaticheskaya aktivnost letuchikh vydelenii obluchennykh zhivotnykh // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2001. V. 41. № 6. S. 645—649. (In Russian)]
- 13. *Исаева В.Г., Суринов Б.П.* Иммуносупрессирующая активность ксеногенных и аллогенных летучих выделений лабораторных животных // Иммунология. 2005. № 1. С. 26–28. [*Isaeva V.G., Surinov B.P.* Immunosupressiruyushchaya aktivnost' ksenogennykh i allogennykh letuchikh vydelenii laboratornykh zhivotnykh // Immunologiya. 2005. № 1. S. 26–28. (In Russian)]
- 14. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н.* Коммуникативное умножение вторичных нарушений показателей крови и иммунитета в группах интактных

- мышей, опосредованное летучими выделениями облученных особей // Радиац. биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 4. С. 387—391. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N. Kommunikativnoe umnozhenie vtorichnykh narushenii pokazatelei krovi i immuniteta v gruppakh intaktnykh myshei, oposredovannoe letuchimi vydeleniyami obluchennykh osobei // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 2004. V. 44. № 4. S. 387—391. (In Russian)]
- 15. Петров Р.В., Пантелеев Э.И., Манько В.М., Егорова В.С. Межлинейные различия антителогенеза у инбредных мышей и их генетическая обусловленность // Генетика. 1966. Т. 11. № 7. С. 78—89. [Petrov R.V., Panteleev E.I., Man'ko V.M., Egorova V.S. Mezhlineinye razlichiya antitelogeneza u inbrednykh myshei i ikh geneticheskaya obuslovlennost // Genetika. 1966. V. 11. №7. S. 78—89. (In Russian)]
- 16. *Исаева В.Г., Духова Н.Н., Суринов Б.П.* Сингенные и аллогенные иммуносупрессивные эффекты пострадиационных летучих выделений мышей // Радиац. биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 4. С. 383—386. [*Isaeva V.G., Dukhova N.N., Surinov B.P.* Singennye i allogennye immunosupressivnye effekty postradiatsionnykh letuchikh vydelenii myshei // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2004 V. 44. № 4. S. 383—386. (In Russian)]
- 17. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н.* Пострадиационные летучие выделения мышей: сингенные и аллогенные иммунные и поведенческие эффекты // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2004. Т. 138. № 10. С. 432—434. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N.* Postradiatsionnye letuchie vydeleniya myshei: singennye i allogennye immunnye i povedencheskie effekty // Byull. eksperim.biol. i med. 2004. V. 138. № 10. S. 432—434. (In Russian)]
- 18. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Карпова Н.А.* Иммуностимулирующая хемосигнализация у животных при вторичных иммунодефицитных состояниях // Докл. АН. 2008. Т. 418. № 2. С. 282—285. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Karpova N.A.* Immunostimuliruyushchaya khemosignalizatsiya u zhivotnykh pri vtorichnykh immunodefitsitnykh sostoyaniyakh // Dokl. AN. 2008. V. 418. № 2. S. 282—285. (In Russian)]
- 19. *Суринов Б.П., Исаева В.Г.* Иммуномодулирующие эффекты летучих выделений животных при пострадиационных иммунодефицитных состояниях // Радиац. биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 6. С. 665—670. [*Surinov B.P., Isaeva V.G.* Immunomoduliruyushchie effekty letuchikh vydelenii zhivotnykh pri postradiatsionnykh immunodefitsitnykh sostoyaniyakh // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 2008. V. 48. № 6. S. 665—670. (In Russian)]
- 20. *Исаева В.Г., Суринов Б.П.* Влияние естественных и пострадиационных летучих выделений мышей на иммунную реактивность и показатели крови облученных особей // Радиац. биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 6. С. 444—450. [*Isaeva V.G., Surinov B.P.* Vliyanie estestvennykh i postradiatsionnykh letuchikh vydelenii myshei na immunnuyu reaktivnost i pokazateli krovi obluchennykh osobei // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 2011. V. 51. № 6. S. 444—450. (In Russian)]
- 21. Даев Е.В., Суринов Б.П., Дукельская А.В. Влияние стресса на хемосигнализацию у лабораторных мы-

- шей линий CBA и C57BL/6 // Экол. генетика. 2007. T. 5. № 2. C. 37–43. [Daev E.V., Surinov B.P., Dukel'skaya A.V. Vliyanie stressa na khemosignalizatsiyu u laboratornykh myshei linii SVA i S57VL/6 // Ekologicheskaya genetika. 2007. V. 5. № 2. S. 37–43. (In Russian)]
- Cunningham A. A method of increased sensitivity for de testing single antibody-forming cells // Nature. 1965. V. 207. P. 1106–1107.
- 23. Коненков В.И., Труфакин В.А. Генетические различия в реакции иммунной системы человека и экспериментальных животных на радиационные воздействия // Бюлл. эксперим. биол. и мед. 2002. Т. 133. № 3. С. 312—316. [Konenkov V.I., Trufakin V.A. Geneticheskie razlichiya v reaktsii immunnoi sistemy cheloveka i eksperimental'nykh zhivotnykh na radiatsionnye vozdeistviya // Byull. eksperim. biol. i med. 2002. V. 133. № 3. Р. 312—316. (In Russian)]
- 24. Суринов Б.П., Исаева В.Г. Влияние естественных хемосигналов интактных мышей с различным генотипом на развитие иммунного ответа у облученных особей // Сб. науч. работ лауреатов областных премий и стипендий. Калуга: Калуж. Гос. ин-т развития образования, 2015. Вып. 11. С. 176—184. [Surinov B.P., Isaeva V.G. Vliyanie estestvennykh khemosignalov intaktnykh myshei s razlichnym genotipom na razvitie immunnogo otveta u obluchennykh osobei // Sbornik nauchnykh rabot laureatov oblastnykh premii i stipendii. Kaluga: Kaluzhskii gos. institut razvitiya obrazovaniya, 2015. V. 11. P. 176—184. (In Russian)]
- 25. Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н. и др. "Семейное" предпочтение восстанавливающей пострадиационные нарушения хемосигнализации у лабораторных животных // Тр. регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Калуга, 2010. Вып. 15. С. 133-137. [Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N. i dr. "Semeinoe" predpochtenie vosstanavlivavushchei postradiatsionnye narusheniya khemosignalizatsii u laboratornykh Trudy zhivotnykh regional'nogo konkursa // nauchnykh proektov v oblasti estestvennykh nauk. Kaluga, 2010. V. 15. S. 133–137. (In Russian)]
- 26. *Цыб А.Ф., Суринов Б.П., Южаков В.В. и др.* Стимулирующее влияние летучих выделений мочи интактных мышей на пролиферативную активность лимфоидной ткани селезенки облученных особей // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2013. Т. 155. № 5. С. 644–646. [*Tsyb A.F., Surinov B.P., Yuzhakov V.V. i dr.* Stimuliruyushchee vliyanie letuchikh vydelenii mochi intaktnykh myshei na proliferativnuyu aktivnost' limfoidnoi tkani selezenki obluchennykh osobei // Byul. eksperim. biol. i med. 2013. V. 155. № 5. S. 644–646. (In Russian)]
- 27. *Каприн А.Д., Галкин В.Н., Жаворонков Л.П. и др.* Синтез фундаментальных и прикладных исследований основа обеспечения высокого уровня научных результатов и внедрения их в медицинскую практику // Радиация и риск. 2017. Т. 26. № 2. С. 26—40. [*Kaprin A.D., Galkin V.N., Zhavoronkov L.P. i dr.* Sintez fundamental'nykh i prikladnykh issledovanii osnova obespecheniya vysokogo urovnya nauchnykh rezul'tatov i vnedreniya ikh v meditsinskuyu praktiku // Radiatsiya i risk. 2017. V. 26. №2. S. 26—40. (In Russian)]

Genotypic Peculiarity Recovery Post Radiation Violations of the Immune Reactivity in Mice-Females with the Help of Volatile Chemosignals Intact Mice-Males

V. G. Isaeva^{a,#} and L. Yu. Grivtsova^a

^a A. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia [#]E-mail: Isaevavg@yandex.ru

It is shown that natural volatiles secretion, come in composition urine, of mice males be able to change parameters of immune reactivity mice females reduced after the action of ionizing radiation. In subjected to a single total exposure to ionizing radiation in the sublethal dose (γ -rays ⁶⁰Co on the installation "Beam-1", dose 1 Gy) females of the CBA line the ability to antibody formation in the spleen on the thymus-dependent antigen (sheep red blood cells) in the early stages (3 days) of the post-radiation period increases only after exposure with secretions of allogeneic males. In the more distant period after ionizing radiation (7 days), the stimulating properties relative to immunogenesis, tested by the content of antibody-forming cells in the spleen, had volatile secretions of both singeneic and allogeneic males. At the same time, the stimulating antibody-Genesis properties of singeneic chemosignals were more pronounced than allogeneic ones. The ability to immune response irradiated (1 Gy) of mice females lines C57Bl6 after exposure with secretions males of syngeneic or allogeneic lines at different times (3 and 7 days) post-radiation period did not change that, evidently, to be associated with low olfactory sensitivity of the mice C57Bl6 line. The role of chemosignals in the electoral stimulation of the immune system in terms of radiation damage are discussed

Keywords: mice, ionizing radiation, immunoreactivity, genotype, volatile components of secretions

РАДИАЦИОННАЯ ЭПИЛЕМИОЛОГИЯ

УДК 616.831-005:613.648

АНАЛИЗ РИСКА ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ИНСУЛЬТОМ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ В КОГОРТЕ РАБОТНИКОВ ПО "МАЯК"

© 2020 г. М. Б. Мосеева¹, Е. С. Григорьева¹, Т. В. Азизова^{1,*}

¹ Южно-Уральский институт биофизики Федерального медико-биологического агентства России, Озёрск, Россия *E-mail: clinic@subi.su

Поступила в редакцию 02.04.2019 г.

Представлены оценки риска заболеваемости мозговым инсультом отдельных типов в когорте 22377 работников ПО "Маяк", подвергшихся хроническому облучению в результате производственной деятельности и наблюдавшихся до конца 2013 г. Информация о профессиональном маршруте и оценки суммарных поглощенных доз внешнего и внутреннего облучения на печень получены из "Дозиметрической системы для работников ПО "Маяк"-2013", медицинские данные и данные о факторах риска — из медико-дозиметрической базы данных "Клиника". За весь период наблюдения в изучаемой когорте были зарегистрированы 221 случай внутримозгового кровоизлияния (ВМК), 1463 случая инфаркта мозга (ИМ) и 342 случая неуточненного инсульта (НИ). Показано, что риск заболеваемости ВМК, ИМ и НИ в изучаемой когорте статистически значимо зависел от таких нерадиационных факторов, как пол, возраст, календарный период, продолжительность работы на основном производстве, курение, употребление алкоголя, индекс массы тела и сопутствующей патологии (артериальная гипертензия и сахарный диабет), что согласовалось с литературными данными. В результате анализа не выявлено влияния внешнего у-излучения на заболеваемость ВМК и ИМ. Однако был выявлен статистически значимо пониженный риск возникновения НИ в группах работников, подвергшихся внешнему воздействию у-излучения в суммарной поглощенной дозе на печень более 0.20 Гр, по сравнению с индивидами, подвергшимися облучению в дозе менее 0.10 Гр. Установлен статистически значимо повышенный риск заболеваемости ИМ в группах работников, подвергшихся внутреннему воздействию α-излучения в суммарной поглощенной дозе на печень более 0.10 Гр, при сравнении с лицами, облученными в более низких дозах. Не выявлено влияния внутреннего облучения на заболеваемость ВМК и НИ. Полученные результаты согласуются с данными, полученными ранее в когорте работников ПО "Маяк".

Ключевые слова: инсульт, риск, γ -излучение, α -излучение, ΠO "Маяк", профессиональное хроническое облучение

DOI: 10.31857/S0869803120010129

Цереброваскулярные заболевания (ЦВЗ, коды I60-169 МКБ-10) уже на протяжении многих десятилетий остаются важнейшей медико-социальной проблемой, поскольку характеризуются высокой частотой возникновения, смертности и инвалидности. В отличие от других исследований, употребляющих термин "инсульт" для обозначения всех ЦВЗ, в настоящем исследовании речь идет об острых формах ЦВЗ, которые включали субарахноидальное кровоизлияние (код I60 МКБ-10), внутримозговое кровоизлияние (ВМК, код 161 МКБ-10), нетравматическое субдуральное кровоизлияние (код I62 МКБ-10), инфаркт мозга (ИМ, код I63 МКБ-10) и инсульт, не уточненный как внутримозговое кровоизлияние или инфаркт мозга (НИ, код I64 МКБ-10). Инсульт — наиболее тяжелая форма ЦВЗ, в 20% случаев приводящая к смерти в течение нескольких минут-дней или

стойкой утрате трудоспособности в 80% в случае выживания.

Повышенный интерес к исследованиям по оценке радиогенного риска ЦВЗ обусловлен тем, что в настоящее время большие контингенты населения подвергаются различным видам облучения (профессиональное, техногенное, медицинское), и накопленные дозы облучения населения неуклонно растут [1]. При обследовании лиц, выживших после атомных бомбардировок в Японии в 1945 г., установлено увеличение риска смертности от всех ЦВЗ [2] и заболеваемости геморрагическим инсультом с увеличением дозы облучения [3]. Первые исследования облученной когорты работников Производственного объединения (ПО) "Маяк" показали увеличение риска заболеваемости и смертности от ЦВЗ после профессионального пролонгированного облучения [4, 5], однако в отношении инсульта такие эффекты отсутствовали [4]. Впоследствии когорта работников ПО "Маяк" была значительно расширена на 83% за счет включения индивидов, нанятых в более поздние годы, увеличен период наблюдения на 13 лет, улучшена дозиметрическая система. Целью настоящего исследования являлась оценка риска заболеваемости инсультом отдельных типов (ВМК, ИМ, НИ) в расширенной когорте работников ПО "Маяк", подвергшихся профессиональному хроническому облучению.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Изучаемая когорта

Исследование проведено в когорте 22377 работников (25% женщин) предприятия атомной промышленности ПО "Маяк", впервые нанятых на предприятие в 1948—1982 гг., независимо от пола, возраста, национальной принадлежности, образования, продолжительности работы и других характеристик. Идентификация работников изучаемой когорты осуществлялась на основании данных о профессиональном маршруте, содержащихся в "Дозиметрической системе для работников ПО "Маяк"-2013" ("ДСРМ-2013"), которой был посвящен специальный выпуск [6]. Средний возраст найма на один из основных заводов у лиц изучаемой когорты составил 24.93 (7.48) лет. Доля работников, нанятых на один из основных заводов ПО "Маяк" до 1954 г. – периода наиболее неблагоприятных производственных условий труда — составила 38%.

Дозиметрия

Дозиметрическая система для изучаемой когорты работников ПО "Маяк" претерпела несколько существенных изменений и в настоящей работе была использована последняя улучшенная версия "Дозиметрической системы для работников ПО "Маяк"-2013" (ДСРМ—2013) [6]. Для изучения влияния внешнего у-излучения на заболеваемость инсультом была использована доступная для всех работников изучаемой когорты суммарная поглощенная доза (Гр) на печень, которая на конец периода наблюдения составила 0.46 (0.65) Гр у мужчин и 0.37 (0.56) Гр у женщин.

Работники радиохимического и плутониевого заводов ПО "Маяк", помимо внешнего γ -излучения, подвергались профессиональному воздействию α -активных аэрозолей. Поглощенные дозы α -излучения в органах и тканях были оценены на основе измерений α -активности в суточной порции мочи, используя биокинетические модели поведения трансурановых радионуклидов в организме и дозиметрические модели. Плутоний

после поступления в организм (преимущественно через легкие) неравномерно распределяется кровотоком по организму, накапливаясь преимущественно в печени и костях. Биокинетические и дозиметрические модели плутония подробно изложены в специальном выпуске, посвященном "ДСРМ-2013" [6]. Кратко можно сказать, что биокинетическая модель состоит из трех основных частей: системная модель, модель желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и модель дыхательных путей (ДП). Системная модель описывает метаболизм плутония в печени, а также других органах и тканях, исключая ЖКТ и ДП. Все оценки доз, рассчитанные на основе системной биокинетической модели, высоко коррелируют между собой (ранговый коэффициент Спирмена = 0.99). В связи с тем, что в "ДСРМ-2013" отсутствовали дозы внутреннего облучения, поглощенные в кровеносных сосудах, сердце или головном мозге, т.е. органах, в которых развивается изучаемое заболевание, то аналогично предыдущим исследованиям [4, 5] для оценки риска заболеваемости инсультом после внутреннего облучения была использована доза на печень.

α-Активность в биосубстратах (моча) была измерена только у 8006 (35.8%) работников, которые потенциально могли подвергнуться воздействию α-активных аэрозолей. Среди лиц, контролировавшихся на внутреннее облучение, средний уровень α-активности на конец периода наблюдения составил 1.20 (4.42) кБк у мужчин и 1.83 (10.03) кБк у женщин. Средняя суммарная доза внутреннего воздействия α-излучения на печень, на конец периода наблюдения у работников, контролировавшихся на внутреннее облучение, составила 0.18 (0.65) Гр у мужчин и 0.40 (1.92) Гр у женщин.

Наблюдение и эффекты

Период наблюдения за изучаемой когортой начинался от даты найма на один из основных заводов ПО "Маяк" в период 1948—1982 гг. и продолжался до первого из следующих событий: даты первого диагноза инсульта; даты смерти; 31 декабря 2013 г. для тех работников, которые, как известно, были живы и проживали в г. Озёрск; даты выезда из г. Озёрск; или даты "последней медицинской информации" в случае неизвестного жизненного статуса.

Период наблюдения в настоящем исследовании был ограничен периодом проживания обследованных лиц в г. Озёрск (закрытое территориальное образование в Уральском Федеральном округе, расположенное вблизи ПО "Маяк") в связи с тем, что не представлялось возможным собрать данные о заболеваемости после выезда работника из города. Источником первичной информации о заболеваемости и смертности за вре-

¹ Здесь и далее по тексту данные представлены как среднее (стандартное отклонение).

мя проживания в г. Озёрске служили медицинские карты, истории болезни, журналы регистрации "Скорой медицинской помощи", протоколы патологоанатомического исследования, акты судебно-медицинской экспертизы, медицинские свидетельства о смерти [7].

Жизненный статус на конец периода наблюдения известен для 96% членов когорты; при этом известно, что 62% работников умерли и 38% — живы. Причина смерти известна у 99% умерших членов когорты. Аутопсия проведена у 32% умерших членов когорты, в том числе 52% среди лиц, умерших в г. Озёрск. Сведения о перенесенных заболеваниях за период проживания работника в г. Озёрск собраны на 95% работников изучаемой когорты.

Следует отметить, что из настоящего анализа были исключены работники, перенесшие острую лучевую болезнь, работники, для которых выявлены расхождения в данных о профессиональном маршруте и жизненном статусе, работники с полностью утерянной медицинской информацией.

Статистические методы

ЦВЗ относятся к группе мультифакторных заболеваний, для которых, по данным ВОЗ, к настоящему времени установлено более трехсот факторов риска, поэтому по аналогии с предыдущими исследованиями работников ПО "Маяк" [4, 5] на первом этапе с помощью стратификационной модели было изучено влияние нерадиационных факторов на заболеваемость инсультом. Нерадиационные факторы включали: пол (мужчина/женщина); достигнутый возраст (моложе 40 лет, 5-летние периоды с 40 до 75 лет, 75 лет и старше); календарный год (1948-1950 гг., далее пятилетние периоды с 1951 г. до 2010 г., 2011–2013 гг.); период найма (1948—1953 гг., 1954—1958 гг., 1959— 1963 гг., 1964—1969 гг., 1969—1972 гг., 1973—1978 гг., 1979—1982 гг.); тип производства (реакторы, плутониевый завод, радиохимический завод); возраст на момент найма (моложе 20 лет, 5-летние периоды с 20 до 40 лет, 40 лет и старше); продолжительность работы (<1 года, 5-летние периоды с 1 до 30 лет, 30 лет и больше); курение (не курящие, когда-либо курившие); индекс курения (ИК, 0 пачка \times лет, <10 пачка \times лет, 10-20 пачка \times лет, более 20 пачка \times лет); употребление алкоголя (не употреблявшие или редко употреблявшие, умеренно употреблявшие, злоупотребление); индекс массы тела (ИМТ) на входном медицинском осмотре (<нормы 2 , норма, >нормы); наличие или отсутствие диагноза "сахарный диабет" (СД) на конец периода наблюдения (для случаев - до даты диагностики изучаемого заболевания); наличие или отсутствие диагноза "артериальная гипертензия" $(A\Gamma)^3$ на конец периода наблюления.

Риск заболеваемости и смертности от инсульта был проанализирован с помощью категориального анализа, в котором относительные риски (ОР) были рассчитаны для шести диапазонов доз внешнего γ -излучения (<0.10, 0.10-0.20, 0.20-0.50, 0.50-1.00, 1.00-1.50, >1.50 Гр) и шести диапазонов доз внутреннего а-излучения (<0.01, 0.01- $0.025, 0.025 - 0.05, 0.05 - 0.10, 0.10 - 0.25, > 0.25 \Gamma p$ c поправкой на другие переменные (пол, достигнутый возраст, календарный период, статус курения, статус употребления алкоголя, суммарная поглощенная доза внешнего у-излучения на печень при анализе внутреннего облучения и суммарная поглощенная доза внутреннего α-излучения на печень при анализе внешнего облучения). Группы работников, подвергшихся самым низким уровням доз (<0.10 Гр для внешнего у-излучения и < 0.01 Гр для внутреннего α -излучения), использованы в качестве референтной группы. ОР рассчитывались методом максимального правдоподобия с помощью модуля AMFIT программы EPICURE [8]; 95%-ные доверительные интервалы (ДИ) для ОР и *p*-значения рассчитывались методом максимального правдоподобия.

Анализ риска заболеваемости инсультом в зависимости от дозы внутреннего облучения был ограничен работниками, контролировавшимися на содержание плутония, и включал только челгоды, накопленные после первой даты мониторинга плутония. При введении поправки на дозу внутреннего облучения с помощью стратификации работники, не контролировавшиеся на внутреннее облучение, были включены в отдельную группу.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Идентификация случаев ВМК, ИМ и НИ проведена на основе данных, содержащихся в медико-дозиметрической базе данных "Клиника" [7]. В изучаемой когорте за весь период наблюдения были зарегистрированы 221 случай ВМК, 1463 случая ИМ и 342 случая НИ. Период наблюдения охватывал 454105 чел.-лет.

В табл. 1 представлены результаты анализа заболеваемости инсультом разных типов в зависимости от пола и возраста. Как и ожидалось [9, 10], рассматриваемые показатели были статистически значимо ниже у женщин по сравнению с мужчинами. С увеличением достигнутого возраста ОР заболеваемости любым типом инсульта возрастал как у мужчин, так и у женщин. По сравнению с возрастной группой [65—70) лет ОР заболе-

² Нормальным ИМТ, рассчитанным как вес в килограммах, деленный на рост в метрах, возведенный в квадрат, считалось значение в диапазоне 18.5—24.99 кг/м².

³ АГ считалось состояние в том случае, если артериальное давление составляло более 140/90 мм рт. ст.

Таблица 1. ОР заболеваемости инсультом различных типов в изучаемой когорте работников ПО "Маяк" в зависимости от пола и достигнутого возраста

Table 1. RRs for the different stroke type incidence in the study cohort of Mayak workers in relation to gender and attained age

		BMK	-	ИМ		НИ	
Фак	тор	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев
		ОР у	женщин по	сравнению с мужч	инами		
Мужчины		1	167	1	1015	1	212
Женщины		0.52 (0.37-0.71)	54	0.6 (0.54-0.68)	448	0.65 (0.52-0.81)	130
		ОР для различн	ых групп по :	возрасту (относит	ельно [65–7	0] лет)	
Мужчины	<40	0.04 (0.02-0.11)	6	>0.0 (>0.0-0.01)	9	_	0
	[40-45)	0.13 (0.05-0.30)	6	0.04 (0.03-0.07)	22	0.02 (0.00-0.06)	2
	[45-50)	0.38 (0.20-0.71)	19	0.12 (0.09-0.16)	59	0.03 (0.01-0.08)	3
	[50-55)	0.27 (0.13-0.53)	12	0.23 (0.18-0.29)	104	0.08 (0.03-0.16)	8
	[55-60)	0.94 (0.56-1.60)	36	0.44 (0.36-0.55)	164	0.12 (0.06-0.23)	11
	[60-65)	1.01 (0.60-1.73)	32	0.69 (0.57-0.85)	197	0.26 (0.15-0.44)	19
	[65-70)	1	25	1	198	1	53
	[70-75)	0.73 (0.35-1.42)	12	1.11 (0.88-1.38)	129	1.29 (0.86-1.95)	42
	≥75	1.48 (0.80-2.69)	19	1.63 (1.30-2.03)	133	3.20 (2.23-4.61)	74
Женщины	<40	0.02 (0.01-0.36)	1	0.01 (>0-0.03)	2	_	1
	[40-45)	_	0	0.03 (0.01-0.09)	3	_	0
	[45-50)	0.21 (0.03-1.00)	2	0.14 (0.07-0.24)	14	_	1
	[50-55)	0.52 (0.14-1.79)	5	0.35 (0.22-0.53)	35	_	0
	[55-60)	0.33 (0.07-1.24)	3	0.39 (0.25-0.57)	37	_	0
	[60-65)	1.03 (0.36-2.97)	8	0.77 (0.55–1.07)	68	0.28 (0.08-0.81)	4
	[65-70)	1	7	1	78	1	12
	[70-75)	1.77 (0.69-4.87)	11	1.52 (1.12-2.07)	92	3.17 (1.63-6.56)	27
	≥75	2.25 (0.92–6.12)	17	1.83 (1.35-2.50)	119	11.57 (6.33–22.97)	85

ваемости был статистически значимо ниже у лиц более молодого возраста (<55 лет у мужчин и <40 лет у женщин для ВМК, <65 лет у мужчин и <60 лет у женщин для ИМ, и <65 лет у мужчин и женщин для НИ) и значимо выше у лиц более старшего возраста (≥75 лет у мужчин и ≥70 лет у женщин для ИМ и НИ).

ОР заболеваемости инсультом разных типов в зависимости от календарного периода представлен на рис. 1. Видно, что для всех типов инсульта как у мужчин, так и у женщин характерно снижение ОР в начале периода наблюдения, постепенное увеличение в период 1980—2000 гг. и постепенное снижение к концу периода наблюдения.

Анализ не выявил зависимости ОР заболеваемости мозгового инсульта от периода найма на ПО "Маяк", типа производства, возраста на момент найма как у мужчин, так и у женщин. Заболеваемость ИМ и НИ была статистически значимо ниже у мужчин, продолжительность работы которых на одном из основных заводов составила

более 30 лет, по сравнению с работниками, проработавшими 5–10 лет.

В изучаемой когорте работников выявлен повышенный ОР заболеваемости ИМ и НИ у курящих мужчин, чей индекс курения был более 20 пачка × лет, при сравнении с некурящими (табл. 2). У женщин подобной зависимости не выявлено.

При анализе заболеваемости инсультом в зависимости от употребления алкоголя выявлен статистически значимо повышенный ОР заболеваемости всеми изучаемыми типами инсульта у мужчин, злоупотреблявшими алкоголем, при сравнении с мужчинами, редко употреблявшими алкоголь (табл. 2).

Для исключения влияния облучения на уровень массы тела [11] был проанализирован ОР изучаемых эффектов в зависимости от ИМТ, зарегистрированным до начала работы на ПО "Маяк". Установлено, что ОР заболеваемости ИМ и НИ у женщин с ИМТ выше нормы был статистически

значимо выше при сравнении с женщинами с нормальным ИМТ (табл. 2).

Известно, что риск развития инсульта выше у лиц, которым ранее была диагностирована АГ или СД. В настоящем исследовании обнаружен статистически значимо повышенный ОР заболеваемости ИМ и НИ среди мужчин и женщин с установленным СД до развития инсульта (табл. 2). Был выявлен статистически значимо повышенный ОР заболеваемости для всех изучаемых типов инсульта как у мужчин, так и у женщин с диагнозом АГ, установленным до даты диагностики изучаемого эффекта, при сравнении с лицами без АГ.

Результаты анализа риска заболеваемости и смертности от инсульта различных типов в зависимости от суммарных поглощенных доз внешнего γ -излучения и внутреннего α -излучения на печень представлены в табл. 3—4. Выявлен повышенный риск заболеваемости ВМК и ИМ в отдельных диапазонах суммарных доз внешнего γ -излучения, но все оценки ОР были статистически незначимыми. Напротив, при категориальном анализе выявлен статистически значимо пониженный ОР заболеваемости НИ во всех диапазонах суммарных доз внешнего γ -излучения (за исключением 0.10-0.20 Гр) при сравнении с референс-категорией (работники, подвергшиеся внешнему облучению в дозе менее 0.10 Гр).

При анализе заболеваемости различными типами инсульта в зависимости от дозы внутреннего облучения был установлен статистически значимо повышенный ОР заболеваемости ИМ среди всех групп работников, подвергшихся облучению в суммарной поглощенной дозе на печень выше 0.01 Гр, при сравнении с работниками, подвергшимися облучению в более низких дозах. Для заболеваемости НИ повышенный ОР был выявлен только в группе работников, подвергшихся внутреннему облучению в дозе 0.05—0.10 Гр, при сравнении с работниками, подвергшимися облучению в более низких дозах.

ОБСУЖЛЕНИЕ

Настоящее исследование показало, что риск заболеваемости мозговым инсультом разных типов (ВМК, ИМ и НИ) в изучаемой когорте работников статистически значимо зависел от таких нерадиационных факторов, как пол, возраст, календарный период, продолжительность работы на основном производстве, курение, употребление алкоголя, ИМТ и наличия АГ и СД. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными [9, 10, 13–18] и данными, полученными ранее в когорте работников ПО "Маяк" [4, 5, 12]. В результате анализа не выявлено значимого влияния суммарной дозы внешнего γ-излучения на заболеваемость ВМК и ИМ. Однако следует

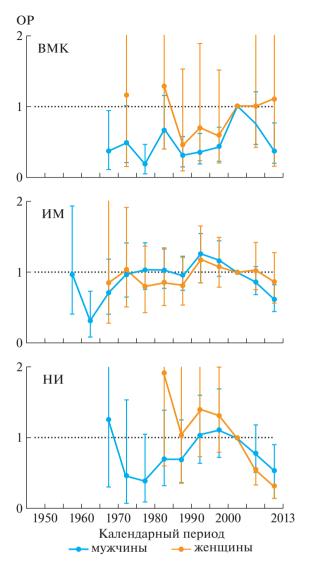


Рис. 1. ОР заболеваемости инсультом различных типов в когорте работников ПО "Маяк" в зависимости от календарного периода.

Fig. 1. RRs for different stroke type incidence in the cohort of Mayak workers in relation to calendar period.

отметить, что выявлен статистически значимый пониженный ОР заболеваемости НИ в группах работников, подвергшихся внешнему у-излучению в дозах более 0.20 Гр, при сравнении с работниками, подвергшимися облучению в дозе менее 0.10 Гр. Полученные результаты пока трудно объяснить или подтвердить другими исследованиями. Возможно, это связано, в первую очередь, с тем, что категория НИ включает в себя разные типы мозговых инсультов. Кроме этого, большая часть случаев НИ в изучаемой когорте работников была диагностирована в ранние годы наблюдения, когда отсутствовали современные методы обследования и диагностики. Влияние суммарной дозы внутреннего α-облучения на риск заболеваемости инсультом выявлено только для ИМ.

Таблица 2. ОР заболеваемости инсультом различных типов в изучаемой когорте работников ПО "Маяк" в зависимости от нерадиационных факторов

Table 2. RRs for the different stroke type incidence in the study cohort of Mayak workers in relation to non-radiation factors

		BMK		ИМ		ни	
(Фактор	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев
	ОР дл	ія работников с ра	зличным	ИК относительно	некуряц	цих	
Мужчины	0	1	33	1	191	1	34
	<10	0.95 (0.48-1.77)	13	0.98 (0.74–1.28)	70	1.08 (0.56-1.98)	14
	[10-20)	0.95 (0.52–1.68)	18	1.10 (0.86-1.39)	104	1.62 (0.94-2.75)	23
	≥20	1.27 (0.85-1.93)	80	1.32 (1.12–1.56)	524	1.49 (1.02-2.24)	100
	неизвестный ИК	1.63 (0.93-2.80)	22	1.52 (1.21–1.91)	122	3.30 (2.07-5.30)	39
	неизвестный	_	1	0.62 (0.19-1.47)	4	2.30 (0.37-7.71)	2
	статус						
Женщины	0	1	49	1	425	1	125
	<10	2.35 (0.38-7.79)	2	1.01 (0.43-1.99)	7	1.23 (0.20-3.94)	2
	[10-20)	_	1	0.92 (0.23-2.42)	3	_	0
	≥20	_	0	0.96 (0.34-2.09)	5	_	0
	неизвестный ИК	_	0	0.88 (0.22-2.31)	3	1.95 (0.32-6.41)	2
	неизвестный статус	2.03 (0.33–6.75)	2	0.65 (0.23–1.42)	5	_	1
Ol	голитуе Р для злоупотребля	 явших алкоголем л	 гибо упот:	 реблявших алкого	 ль умереі	 нно по сравнению	
	ды жоупотрессы			потреблявшими р		по по сравнению	
Мужчины	редко	1	19	1	111	1	19
J	умеренно	0.96 (0.60-1.64)	81	1.04 (0.85–1.28)	544	1.23 (0.77–2.07)	115
	злоупотребление	1.82 (1.11–3.13)	66	1.49 (1.21–1.86)	344	1.82 (1.12–3.11)	74
	неизвестно	_	1	1.14 (0.65–1.87)	16	2.03 (0.59–5.45)	4
Женщины	редко	1	36	1	330	1	99
,	умеренно	0.97 (0.49-1.80)	14	0.85 (0.68–1.07)	104	0.84 (0.52–1.30)	24
	злоупотребление	,	2	0.75 (0.34–1.41)	8	1.34 (0.33–3.60)	3
	неизвестно	1.76 (0.28–5.92)	2	0.64 (0.25–1.33)	6	0.97 (0.29–2.36)	4
ОР д	і ля работников с по		I ониженн				 НО
,	1			мальным ИМТ	.,,,	1	
Мужчины	<нормы	0.95 (0.16-3.00)	2	0.79 (0.38–1.44)	9	1.06 (0.18-3.34)	2
	норма	1	116	1	717	1	134
	>нормы	1.18 (0.79–1.73)	32	1.03 (0.87-1.21)	179	0.99 (0.66–1.43)	33
	неизвестно	0.99 (0.56-1.63)	17	0.93 (0.75-1.14)	110	1.89 (1.31-2.69)	43
Женщины	<нормы	_	0	0.50 (0.08-1.55)	2	_	0
	норма	1	29	1	223	1	50
	>нормы	0.98 (0.53-1.76)	18	1.24 (1.01-1.51)	168	1.92 (1.30-2.84)	53
	неизвестно	0.91 (0.36-2.00)	7	0.95 (0.70-1.28)	55	1.79 (1.10-2.86)	27
	ОР для раб	отников с диагно:	і зам СД по	о сравнению с раб	і отникамі	и без СД	I
Мужчины	без СД	1	159	1	901	1	173
	с СД	0.99 (0.44-1.90)	8	2.44 (1.99-2.96)	114	3.07 (2.13-4.32)	39
Женщины	без СД	1	48	1	360	1	105
	с СД	1.30 (0.49-2.85)	6	2.78 (2.17-3.51)	88	2.09 (1.31-3.21)	25
ОР для р	і работников с диагі	нозом "артериальн	ая гиперт	тензия" относител	іьно рабо	тников без гиперт	ензии
Мужчины	без АГ	1	38	1	238	1	37
	с АГ	4.00 (2.74-5.99)	129	3.59 (3.08-4.19)	777	2.83 (1.98-4.17)	175
	I	1		1	0.2	1	1 44
Женщины	без АГ	1	5	1	82	1	14

Таблица 3. ОР заболеваемости инсультом различных типов в зависимости от суммарной поглощенной дозы внешнего γ -излучения на печень (с поправкой на пол, достигнутый возраст, календарный период, статус курения, статус употребления алкоголя, суммарную поглощенную дозу внутреннего α -излучения на печень) **Table 3.** RRs for different stroke type incidence in relation to total absorbed external γ -rays liver dose (with adjustments to gender, attained age, calendar period, smoking status, alcohol consumption status, total absorbed internal α -radiation liver dose)

Суммарная		BMK		ИМ	НИ		
поглощенная в печени доза внешнего у-излучения, Гр	число случаев ОР (95% ДИ)		число случаев ОР (95% ДИ)		число случаев ОР (95% ДИ)		
(0-0.10)	69	1	408	1	115	1	
(0.10 - 0.20)	38	1.02 (0.66-1.53)	187	0.88 (0.73-1.05)	45	0.74 (0.51-1.05)	
(0.20 - 0.50)	46	0.88 (0.58-1.32)	321	0.91 (0.78-1.07)	66	0.66 (0.47-0.92)	
(0.50-1.00)	30	0.89 (0.54-1.46)	239	0.93 (0.77-1.12)	49	0.59 (0.40-0.86)	
(1.00-1.50)	19	1.10 (0.60-1.93)	134	0.93 (0.74-1.16)	33	0.63 (0.40-0.97)	
(1.50+	19	1.05 (0.55–1.95)	172	1.06 (0.84-1.32)	34	0.59 (0.36-0.94)	

Таблица 4. ОР заболеваемости инсультом различных типов в зависимости от суммарной поглощенной дозы внутреннего α -излучения на печень (с поправкой на пол, достигнутый возраст, календарный период, статус курения, статус употребления алкоголя, суммарную поглощенную в печени дозу внешнего γ -излучения) **Table 4.** RRs for different stroke type incidence in relation to total absorbed internal α -radiation liver dose (with adjustments to gender, attained age, calendar period, smoking status, alcohol consumption status, total absorbed external γ -rays liver dose)

Суммарная		BMK		ИМ	НИ		
поглощенная в печени доза внутреннего α-излучения, Гр	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	число случаев	ОР (95% ДИ)	
(0-0.01)	32	1	158	1	19	1	
(0.01 - 0.025)	22	0.95 (0.51-1.72)	188	1.45 (1.15-1.84)	34	1.58 (0.86-3.00)	
(0.025 - 0.05)	22	1.16 (0.62-2.14)	133	1.36 (1.05-1.77)	27	1.34 (0.70-2.65)	
(0.05 - 0.10)	16	0.90 (0.44-1.79)	128	1.44 (1.10-1.89)	33	1.92 (1.02-3.77)	
(0.10 - 0.25)	19	1.08 (0.53-2.14)	152	1.39 (1.06-1.82)	32	1.52 (0.79-3.04)	
(0.25+	15	0.77 (0.35–1.63)	156	1.39 (1.05–1.85)	43	1.88 (0.98-3.76)	

Полученные результаты согласуются с данными, полученными ранее в когорте работников ПО "Маяк" о том, что внутреннее облучение повышает риск развития ЦВЗ и инсульта [4].

В отличие от настоящего исследования работников ПО "Маяк" в японской когорте лиц, подвергшихся атомной бомбардировке, был проанализирован только риск смертности от ЦВЗ (430—438 коды МКБ-9), а анализ смертности от типов мозгового инсульта не был проведен в связи с тем, что до 1990-х годов дифференциальная диагностика не проводилась [2]. В этой когорте установлено возрастание риска смертности от ЦВЗ при увеличении взвешенной дозы внешнего гамма-нейтронного облучения, поглощенной в толстой кишке. Не установлено влияния курения, употребления алкоголя, образования, профес-

сии, ожирения и диабета на оценки радиогенного риска смертности от ЦВЗ.

В Японской когорте по изучению здоровья взрослого населения не выявлено статистически значимого повышения риска заболеваемости ЦВЗ с дозой облучения [8]. Однако в другом проспективном исследовании этой же когорты после введения поправки на возраст, артериальное давление, индекс массы тела, диабет, общий холестерин, курение и употребление алкоголя и город было установлено увеличение относительного риска (relative hazard) заболеваемости геморрагическим инсультом с увеличением дозы облучения у мужчин (порог дозы отсутствует), а у женщин — после пороговой дозы 1.3 Гр [3]. Не было установлено влияния дозы внешнего облучения на риск развития ишемического инсульта. Однако следу-

ет отметить, что в этих исследованиях к инсультам были отнесены болезни, имеющие согласно МКБ-10 коды G45, I60, I61, I63 — I66 и I69 (исключая I68). Поэтому сравнивать результаты, полученные в настоящем исследовании и в японских когортах, следует с осторожностью.

Таким образом, результаты исследования ОР заболеваемости мозговым инсультом различных типов (ВМК, ИМ и НИ) в когорте работников ПО "Маяк", подвергшихся хроническому облучению, показали, что:

- 1) заболеваемость инсультом различных типов зависела от нерадиационных факторов;
- 2) заболеваемость BMK и ИМ не зависела от суммарной накопленной дозы внешнего воздействия у-излучения;
- 3) выявлен статистически значимо пониженный риск заболеваемости НИ при внешнем воздействии у-излучения, но этот факт требует дальнейшего изучения;
- 4) выявлен статистически значимо повышенный риск ИМ у работников, подвергшихся внутреннему воздействию α-излучения в суммарной поглощенной дозе на печень выше 0.01 Гр, при сравнении с работниками, подвергшимися облучению в более низких дозах.

На следующем этапе исследования планируется оценка избыточного относительного риска на единицу дозы с учетом "мешающих" нерадиационных факторов, а также модификации риска в зависимости от пола, достигнутого возраста и возраста на момент найма, продолжительности работы и др.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) Sources and Effects of Ionizing Radiation. UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly with Scientific Annexes. Volume I. Annex B: Exposures of the Public and Workers from Various Sources of Radiation. New York: United Nations, 2010. 202 p.
- Shimizu Y., Kodama K., Nishi N. et al. Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950–2003 // BMJ. 2010. V. 340. b5349. https://doi.org/10.1136/bmj.b5349
- 3. *Takahashi I., Abbott R.D., Ohshita T. et al.* A prospective follow-up study of the association of radiation exposure with fatal and non-fatal stroke among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki (1980–2003) // BMJ Open. 2012. №2. e000654. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2011-000654
- 4. Azizova T.V., Muirhead C.R., Druzhinina M.B. et al. Cerebrovascular diseases in the cohort of workers first employed at Mayak PA in 1948–1958 // Radiat. Res. 2010. V. 174. P. 851–864.

- 5. Azizova T.V., Haylock R.G.E., Moseeva M.B., et al. Cerebrovascular diseases incidence and mortality in an extended Mayak worker cohort 1948–1982 // Radiat. Res. 2014. V. 182. P. 529–544.
- 6. *Napier B.A.* The Mayak worker dosimetry system (MWDS-2013): an introduction to the documentation // Radiat. Prot. Dosim. 2017. V. 176. № 1–2. P. 6–9. https://doi.org/10.1093/rpd/ncx020
- 7. *Азизова Т.В., Тепляков И.И., Григорьева Е.*С *и др.* Медико-дозиметрическая база данных "Клиника" работников ПО "Маяк" и их семей // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2009. Т. 54. № 5. С. 26—35. [*Azizova T.V., Teplyakov I.I., Grigor'eva E.S., i dr.* Mediko-dozimetricheskaya baza dannyh "Klinika" rabotnikov PO "Mayak" i ih semej // Med. radiologiya i radiac. bezopasnost'. 2009. Т. 54. № 5. S. 26—35. (In Russian)]
- 8. *Preston D., Lubin J., Pierce D., McConney M.* Epicure User's Guide. Seattle, WA: Hirosoft International Corporation, 1993.
- 9. Шевалдышев О.Н. Сравнительная характеристика цереброваскулярных заболеваний в зависимости от пола, возраста и гормональной активности // Кремлевская медицина. 2001. № 2. С. 25–28. [Shevaldyshev O.N. Sravnitel'naya harakteristika cerebrovaskulyarnyh zabolevanij v zavisimosti ot pola, vozrasta i gormonal'noj aktivnosti // Kremlevskaya medicina. 2001. № 2. S. 25–28. (In Russian)]
- 10. *Гусев Е.И.*, *Скворцова В.И.*, *Стаховская Л.В.* Эпидемиология инсульта в России // Неврология и психиатрия. Приложение "Инсульт". 2003. № 8. С. 4—8. [Gusev E.I., Skvorcova V.I., Stahovskaya L.V. Epidemiologiya insul'ta v Rossii // Nevrologiya i psihiatriya. Prilozhenie "Insul't". 2003. № 8. S. 4—8. (In Russsian)]
- 11. Тельнов В.И. Жировой обмен у работников радиохимического завода, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения в дозах ниже максимально допустимого уровня // Бюлл. радиац. медицины. 1985. № 1. С. 81—86. [Tel'nov V.I. Zhirovoj obmen u rabotnikov radiohimicheskogo zavoda, podvergshihsya vozdejstviyu ioniziruyushchego izlucheniya v dozah nizhe maksimal'no dopustimogo urovnya // Byull. Radiac. Mediciny. 1985. № 1. S. 81—86. (In Russian)]
- 12. *Мосеева М.Б., Григорьева Е.С., Азизова Т.В.* Оценка показателей заболеваемости и смертности от различных типов инсульта в когорте работников, подвергшихся профессиональному облучению // Здравоохранение Российской Федерации. 2018. Т. 62. № 3. С. 138—146. [*Moseeva M.B., Grigor'eva E.S., Azizova T.V.* Ocenka pokazatelej zabolevaemosti i smertnosti ot razlichnyh tipov insul'ta v kogorte rabotnikov, podvergshihsya professional'nomu oblucheniyu // Zdravoohranenie Rossijskoj Federacii. 2018. Т. 62. № 3. S. 138—146. (In Russian)]
- The Framingham Study. An Epidemiological investigation of Cardiovascular Disease / Eds W.B. Kannel, T. Gordon. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1973. 164 p.
- 14. Гундаров И.А., Полесский В.А., Власов В.В. Артериальная гипертензия фактор риска или индикатор риска. // Общественное здоровье и профилактика

- заболеваний. 2004. № 5. С. 12—17. [Gundarov I.A., Polesskij V.A., Vlasov V.V. Arterial'naya gipertenziya faktor riska ili indikator riska // Obshchestvennoe zdorov'e i profilaktika zabolevanij. 2004. № 5. С. 12—17. (In Russian)]
- 15. Скворцова В.И., Лимборская С.А., Сломинский П.А., Шетова И.М. Генетические аспекты ишемического инсульта // Рос. мед. журн. 2006. № 5. С. 28—31. [Skvorcova V.I., Limborskaya S.A., Slominskij P.A., Shetova I.M. Geneticheskie aspekty ishemicheskogo insul'ta // Rossijskij medicinskij zhurnal. 2006. № 5. S. 28—31. (In Russian)]
- 16. Salonen J.T., Puska P., Tuomilehto J., Homan K. Relation of blood pressure, serum lipids and smoking to the

- risk of cerebral stroke. A longitudinal study in Eastern Finland // Stroke. 1982. V. 13. № 3. P. 327–333.
- 17. *Канарейкин К.Ф., Бахур В.Т., Манвелов Л.С.* Алкоголь и курение как фактор риска мозгового инсульта // Клин. медицина. 1987. № 1. С. 17—23. [*Kanarejkin K.F., Bahur V.T., Manvelov L.S.* Alkogol' i kurenie kak faktor riska mozgovogo insul'ta // Klin. medicina. 1987. № 1. S. 17—23. (In Russian)]
- 18. *Измеров Н.Ф.* Здоровье трудоспособного населения России. // Медицина труда и промышленная экология. 2005. № 11. С. 3—9. [*Izmerov N.F.* Zdorov'e trudosposobnogo naseleniya Rossii // Medicina truda i promyshlennaya ekologiya. 2005. № 11. S. 3—9. (In Russsian)]

Analysis of Incidence Risk for Different Types of Stroke Among "Mayak" Worker Cohort

M. B. Moseeva^a, E. S. Grigoryeva^a, and T. V. Azizova^{a,#}

^a Southern Urals Biophysics Institute Russian Federal Medical Biological Agency, Ozyorsk, Russia [#]E-mail: clinic@subi.su

The present paper presents incidence risk estimates for different stroke type among cohort of 22377 Mayak workers occupationally exposed to prolonged radiation and followed up until the end of 2013. Information about work histories and estimates of liver absorbed dose from external and internal radiations were obtained from the "Dosimtery System for Mayak Workers 2013"; medical and life style factors were obtained from "Clinic" medical dosimetry database. During the follow-up period 221 cases of intracerebral hemorrhage (ICH), 1463 cases of brain cerebral infarction (BI) and 342 cases of non-specified stroke (NS) were registered in the study cohort. It was shown that ICH, BI and NS incidence risks in the study cohort depended statistically significantly on such non-radiation factors as gender, age, calendar period, duration of work at main facilities, smoking, alcohol assumption, body mass index, and co-morbidity (arterial hypertension and diabetes), which agreed with the literature data. Analyses did not reveal an effect of external gamma ray exposure on ICH and BI incidence. However, there was a NS relative risk (RR) statistically significantly below one in groups of workers exposed to external gamma rays in total absorbed liver doses above 0.20 Gy as compared with the workers exposed in doses below 0.10 Gy, which was difficult to explain or confirm/reject by other studies. RR for BI incidence was statistically significantly above one in groups of workers exposed to internal alpha particle radiation in total absorbed liver dose above 0.10 Gy as compared with workers exposed at lower doses. There was no effect of internal exposure on ICH and NS incidence. Findings agreed with the results obtained earlier in the cohort of Mayak workers.

Keywords: stroke, risk, gamma rays, alpha particles, Mayak PA, occupational prolonged radiation exposure

РАДИАЦИОННАЯ ____ ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 577.25:591.18:612.1:599.323.4:57.084.1:539.1.047

РОЛЬ ТИПОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КРЫС В НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТАХ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ, у-ИЗЛУЧЕНИЯ, ПРОТОНОВ И ИОНОВ УГЛЕРОДА ¹²С

© 2020 г. А. С. Штемберг^{1,*}, А. А. Перевезенцев¹, К. Б. Лебедева-Георгиевская¹, О. В. Митрофанова¹, В. С. Кудрин¹, А. С. Базян^{1,2}

¹ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия
² Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
*E-mail: andrei_shtemberg@mail.ru
Поступила в редакцию 24.01.2019 г.

Эксперименты по изучению влияния типологических особенностей высшей нервной деятельности (ВНД) экспериментальных животных на нейробиологические эффекты (поведение и его нейрохимические механизмы) комбинированного воздействия 10-суточного антиортостатического вывешивания (АнОВ), у-облучения, облучения ионами углерода ¹²С и высокоэнергетическими протонами продемонстрировали, что вклад облучения ионами углерода ¹²С приводит к более глубоким нарушениям соотношения ориентировочно-исследовательской активности и пассивно-оборонительного поведения и тревожности по сравнению с облучением протонами, наиболее выраженным у крыс возбудимого, тревожного, эмоционального типа. В эксперименте с облучением протонами различия между типологическими группами оказались более сглаженными, однако по ряду показателей пассивно-оборонительные компоненты поведения и тревожность у крыс экспериментальных групп также были повышены. Данные изменения сопровождались снижением обмена моноаминов преимущественно в префронтальной коре.

Ключевые слова: антиортостатическое вывешивание, γ -облучение, высокоэнергетические протоны, ионы углерода 12 С, типологические особенности высшей нервной деятельности, поведение крыс, обмен моноаминов

DOI: 10.31857/S0869803120010130

Исследование эффектов воздействия космической радиации на функции центральной нервной системы (ЦНС) приобретает особенную актуальность в последнее время в связи с планированием и подготовкой дальних длительных космических экспедиций (в частности, Марсианской миссии). В таких экспедициях, связанных с выходом корабля за пределы магнитосферы Земли, одним из основных лимитирующих возможность их осуществления факторов становится радиационный, который, в сочетании с другими факторами космического полета, может привести к нарушениям функций ЦНС, лежащих в основе операторской деятельности космонавтов. При этом основную опасность представляют галактические космические лучи – протоны высоких энергий и тяжелые ионы, обладающие энергиями в широком диапазоне, вплоть до сверхвысоких энергий порядка 10^{20} МэВ [1].

Одной из ключевых, и в то же время наименее изученных проблем является комбинированное

действие ионизирующих излучений и нерадиационных факторов космического полета, важнейшим из которых является гипогравитация [2, 3]. Общепринятой моделью гипогравитации для мелких лабораторных животных является антиортостатическое вывешивание (АнОВ) [2, 4]. В предыдущих наших работах были изучены различные нейробиологические эффекты комбинированного действия АнОВ и разных видов ионизирующих излучений [5—7].

Важность роли индивидуальных и типологических особенностей в функциональной реакции ЦНС на облучение подчеркивали большинство исследователей, занимавшихся изучением действия радиации на ее функции, однако систематических данных по этому вопросу сравнительно немного и они были получены давно [8—11]. Значение типологических особенностей ВНД для нейробиологических эффектов при комбинированном действии радиационных и нерадиационных факторов ранее не исследовалось.

В связи с этим целью настоящей работы было изучение изменений поведения животных и показателей обмена моноаминов в ключевых структурах мозга у животных с разными типологическими особенностями ВНД при комбинированном воздействии АнОВ и трех видов ионизирующих излучений — γ -излучения, высокоэнергетических протонов и ионов углерода 12 С.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

При создании АнОВ использовали индивидуальные секции из оргстекла размером $42 \times 42 \times 40$ см, скомпонованные в два стеллажа по 15 секций каждый. Животных вывешивали за основание хвоста под углом $30-40^{\circ}$ с расчетом снятия статической нагрузки с задних конечностей. При этом крыс крепили с помощью специальных карабинов, надевающихся на металлический стержень, так, чтобы они могли свободно перемещаться в пределах клетки. Таким образом, создавался антиортостаз, вызывающий перераспределение жидкостей в организме, и снималась статическая нагрузка с задних конечностей. Данная методика — принятая экспериментальная наземная модель невесомости для мелких лабораторных животных.

Стеллажи с вывешенными животными были размещены в облучательской: стеллаж с крысами, подвергавшимися воздействию и AнOB и γ-излучения — в зоне облучения на расстоянии 3.3 м от источника излучения, с таким расчетом, чтобы облучение всех крыс было равномерным; стеллаж с крысами, подвергавшимися воздействию только AнOB — в том же помещении, но вне зоны облучения. Крысы, подвергавшиеся только облучению, были размещены на стеллаже в домашних клетках.

Было проведено два эксперимента по исследованию нейробиологических эффектов синхронного комбинированного действия АнОВ и ионизирующих излучений с учетом типологических особенностей ВНД животных. АнОВ продолжалось в течение 10 сут. Для ү-облучения использовали установку ГОБО-60 с источником ¹³⁷Cs (72 гэкв. Ra). Мощность дозы составила 2.34 сГр/ч. Был проведен один суточный сеанс облучения через 3 дня после вывешивания. После окончания ү-облучения и снятия крыс с вывешивания в первом эксперименте было проведено однократное облучение головы животных ионами углерода ¹²С с энергией 420 МэВ в дозе 1 Гр на ускорителе У-70 на базе Института физики высоких энергий (Протвино). Во втором эксперименте было проведено однократное облучение головы животных протонами с энергией 170 МэВ при поглощенной дозе 1 Гр на протонном ускорителе на базе Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба (Обнинск).

Выбор режима облучения основывался на следующем: суммарная доза 3 Гр для крыс (исходя из их видовой радиочувствительности) примерно соответствует расчетной дозе, которая может быть получена космонавтами в межпланетном полете.

Были использованы общепринятые для проведения подобных исследований методы: нейрохимические методы (высокоэффективная жидкостная хроматография — HPLC) и поведенческие методы ("открытое поле", приподнятый крестообразный лабиринт, водный тест Морриса, условный рефлекс активного избегания).

Для типологизации животных использовали методику выработки условного рефлекса избегания закрытого (темного) пространства ("эмоционального резонанса") по модифицированной методике П. В. Симонова) [12]. Экспериментальная камера состояла из открытой (освещенной) и закрытой (затемненной) частей. В каждом эксперименте участвовали две крысы, экспериментальная крыса и крыса-"жертва". В течение 4-6 опытов каждую экспериментальную крысу помещали в открытую (светлую) часть камеры. Это стрессовая ситуация для крыс и они переходили в темный отсек камеры (норковый рефлекс). Пребывание экспериментальной крысы в темном отсеке сопровождалось электроболевым раздражением крысы-"жертвы", вызывающим у нее тревожную вокализацию и двигательные реакции. Регистрировали общее время нахождения экспериментальной крысы в закрытом отсеке и частоту выходов оттуда в течение 5 мин наблюдения. Показано, что различия в поведении животных в такой ситуации отражают индивидуальные типологические особенности их высшей нервной деятельности и дают возможность применять данную методику для исходного группирования животных по этому признаку [11, 13, 14].

В поведенческих исследованиях использовали метод "открытого поля" с целью выявления уровня двигательной, ориентировочно-исследовательской активности, соотношения активных и пассивно-оборонительных реакций в умеренной стрессирующей обстановке и эффективности угашения этих реакций. "Открытое поле" (ОП) представляло собой круг диаметром 100 см, разделенный на сектора с отверстием в центре каждого. Крысу помещали в центр ОП и в течение 4 мин тестирования (раздельно за первые и последующие 2 мин) регистрировали следующие показатели: горизонтальную двигательную активность (по числу пересеченных линий), вертикальную (ориентировочную) активность (по числу стоек), исследовательскую активность (по числу заглядываний в отверстия), число выходов в центр ОП и латентный период ориентировочноисследовательской реакции (время выхода из центра площадки), число актов груминга и эмоциональную реактивность (по числу фекальных болюсов). Тестирование проводили при ярком искусственном свете.

Для выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) использовали челночную камеру размером 9×60 см и высотой 30 см, разделенную перегородкой на два одинаковых отсека с независимым электрифицированным полом. Перегородка имела прямоугольное отверстие шириной 8 см и 6 см в высоту с управляемой извне дверцей, сдвигаемой вдоль плоскости проема. В съемную крышку камеры были вмонтированы две независимые лампы, располагающиеся (при закрытой крышке) по центру отсеков. Животное помешали в одну из камер при закрытой дверце между отсеками и выключенным освещением. Камеру закрывали крышкой, после чего дверцу между отсеками открывали. Выемку животного проводили в обратном порядке. Тест начинали с включения освещения в отсеке, где находилась крыса. Через 6 с на электродный пол подавали ток (0.5 мА, 100 Гц, меандр) до тех пор, пока крыса не переходила в другой отсек, где освещение выключено и тока нет. После перехода крысы освещение выключали и выдерживали паузу 10 с. Затем такую последовательность действий повторяли установленное число раз, что составляло одну серию сочетаний. Регистрировали число реакций избегания (перебежек по условному сигналу) и реакций избавления (перебежек под током). Подсчитывали коэффициент обучения – соотношение числа реакций избегания к общему числу сочетаний.

Для исследования гиппокамп-зависимого поведения крыс использовали водный тест Морриса – общепринятый тест оценки пространственной памяти и ориентации. Лабиринт Морриса представлял собой бассейн голубого цвета диаметром 150 см и высотой стенок 40 см, глубина наполнения его водой составляла 21 см. В геометрический центр одного из четырех секторов бассейна помещали круглую платформу из прозрачного оргстекла диаметром 10 см, скрытую под поверхностью воды на глубине 1 см, и, таким образом, невидимую для животного на голубом фоне; воду не подкрашивали. Платформа оставалась на одном и том же месте на протяжении всего эксперимента. Крысу помещали в воду в произвольном месте бассейна и давали свободно плавать в течение 60 с. В течение одного сеанса обучения всех тестируемых крыс запускали с одного и того же места. В случае нахождения крысой платформы ранее 60 с регистрировали время ее обнаружения и предоставляли животному в течение 20 с пребывать на платформе для ориентирования. После этого крысу снимали с платформы и запускали снова в бассейн с другого произвольного места; таким образом, два сеанса обучения формировали одну сессию. В день проводили две сессии с перерывом 4 ч. В случае, если крыса не находила платформу, фиксировали время для обнаружения платформы, равное 60 с. Тест проводили в течение 6 дней. На 7-й день проводили тест без установки платформы в один подход в течение 60 с, фиксировали время пребывания крыс в секторе, в котором платформа располагалась ранее.

Для оценки тревожности экспериментальных животных использовали приподнятый крестообразный лабиринт с длиной отсеков, равной 50 см и шириной аллеи 10 см; высота стенок огороженных отсеков составляла 40 см. Освещенность в центре огороженных отсеков составляла 12 лк, неогороженных — 60 лк. Крысу помещали в угол огороженного отсека лабиринта (одного и того же для всех тестируемых животных) и фиксировали следующие параметры: латентный период выхода на неогороженный участок, число таких выходов и общее время пребывания на неогороженном участке лабиринта.

Полученные данные были усреднены внутри каждой группы по исследуемому параметру, далее проводили статистический анализ данных. В качестве статистического критерия использовался однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) и апостериорный тест Дункана, при наличии различий в дисперсии. Уровень значимости во всех тестах был принят как p < 0.05.

Для анализа полученных данных в тесте водного лабиринта Морриса усредняли время достижения платформы в среднем за день, полученные данные также оценивали с использованием статистического критерия однофакторного дисперсионного анализа (one-way ANOVA) и апостериорного теста Дункана, при наличии различий в дисперсии.

Нейрохимические исследования. Для нейрохимических исследований контрольных и подвергнутых экспериментальным воздействиям крыс декапитировали через 10 сут, выделяли соответствующие структуры мозга: префронтальную кору, прилежащее ядро (nucleus accumbens), гипоталамус, гиппокамп и стриатум. Структуры мозга замораживали в жидком азоте и взвешивали. Выделенные структуры гомогенизировали при +4°C в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (0.2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. В качестве среды гомогенизации и выделения использовали 0.1 н НС1О4 с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (3,4-диоксибензиламин) - вещество катехоламиновой природы, но не встречающегося в нативной ткани, в концентрации — 0.5 нмоль/мл. Прилежащее ядро гомогенизировали в 40 объемах, остальные структуры мозга — в 20 объемах среды выделения. Пробы центрифугировали при +4°C, 10000 g в тече-

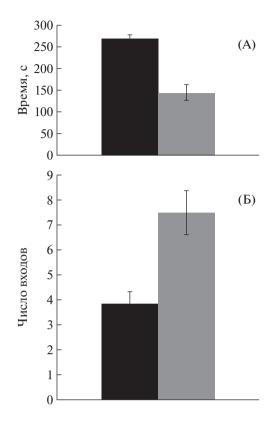


Рис. 1. Результаты тестирования животных в камере П.В. Симонова. A — время пребывания в закрытом (темном) отсеке; B — число заходов в темный отсек камеры

Fig. 1. The results of animal testing in Simonov's case. Black columns – group 1; grey columns – group 2. A – the time of rats residence in closed (dark) space; B – number of visits to dark space.

ние 15 мин. Супернатант использовали в дальнейшем для определения моноаминов и их метаболитов.

Концентрацию моноаминов и их метаболитов определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, WestLafavette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов — 20 мкл. Изучаемые вещества разделяли на обращенно-фазной колонке Repro-Sil-Pur, ODS-3, 4×100 MM, 3 MKM (Dr. Majsch GMBH, "Элсико", Москва). Hacoc PM-80 (BAS, США), скорость подвижной фазы 1.0 мл/мин, при давлении 200 атм. Мобильная фаза: 0.1 моль/л цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1.1 ммомдь/л октансульфоновой кислоты, 0.1 ммоль/л ЭДТА и 9% ацетонитрила (рН = 3.0). Скорость протока 1 мл/мин. Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V)

против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрацию образцов проводили с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД). Все использованные для анализа реактивы были высокой степени чистоты: о.с.ч., х.ч. или analyticalgrade. Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентрации моноаминов в опытных образцах рассчитывали методом "внутреннего стандарта", исходя из отношений площади пиков в стандартной смеси и в образце. Определяли содержание норадреналина (HA), дофамина (ДA) и его метаболитов — 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и гомованилиновой кислоты (ГВК), 3-метокситирамина (3-МТ), серотонина (5-окситриптамина, 5-ОТ) и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) в пяти структурах мозга: префронтальная кора, прилежащее ядро (nucleus accumbens), гипоталамус, гиппокамп и стриатум.

Результаты нейрохимических исследований выражали в виде средних величин \pm стандартная ошибка среднего. Полученные результаты анализировали с помощью односторонней ANOVA и posthoc тест Дункана. Статистически значимым результатом считали величину p < или =0.05. Величину p от 0.05 до 0.099 считали тенденцией изменений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены результаты тестирования крыс в камере П.В. Симонова — результаты выработки условного рефлекса избегания закрытого (темного) пространства при крике раздражаемой особи. По результатам тестирования типологические группы крыс можно охарактеризовать следующим образом:

- 1) с преобладанием возбуждения, эмоционально неустойчивые, с повышенной тревожностью;
- 2) с преобладанием торможения, низкоэмоциональные, с низкой тревожностью.

Видно, что крысы группы 1 характеризуются высокими показателями времени пребывания в закрытом (темном) отсеке камеры (рис. 1, A) и более низкими показателями числа выходов из него (рис. 1, Б).

В эксперименте по изучению воздействия АнОВ, γ-облучения и облучения ионами углерода ¹²С исследование поведения крыс в "открытом поле" показало существенное, статистически значимое повышение показателей пассивно-оборонительного поведения после экспериментальных воздействий у крыс с исходно повышенной возбудимостью и тревожностью, что характеризуют высокие показатели времени и числа реак-

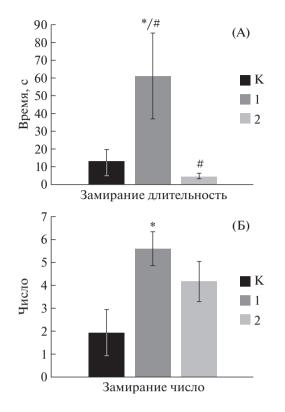


Рис. 2. Показатели реакций замирания в "открытом поле" у животных экспериментальных групп: А — среднее время замирания; Б — число реакций замирания.

Fig. 2. The indexes of "freezing" reactions in "open field" of rats of experimental groups. A- average time of "freezing"; B- number of "freezing" reactions.

ций замирания у этих животных (рис. 2). Показатели активного поведения в "открытом поле" достоверно не изменились.

Эти данные в целом подтверждаются результатами исследования поведения животных в приподнятом крестообразном лабиринте — общепринятом тесте на состояние тревожности. Крысы группы 1 характеризовались наиболее низкими показателями пребывания в открытом отсеке лабиринта (рис. 3, Б) и большим числом перебежек между отсеками (рис. 3, А).

Исследование пространственной ориентации и памяти в водном тесте Морриса показало достоверное повышение скорости обучения у крыс экспериментальных групп, более выраженное у животных с преобладанием возбуждения (рис. 4).

В эксперименте по изучению воздействия АнОВ, у-облучения и облучения высокоэнергетическими протонами исследование поведения крыс в "открытом поле" показало существенное повышение показателей пассивно-оборонительного поведения крыс экспериментальных групп,

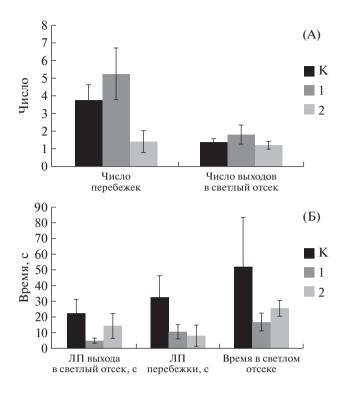


Рис. 3. Показатели поведения крыс экспериментальных групп в приподнятом крестообразном лабиринте: A – число реакций; B – время, C.

Fig. 3. The indexes of rats in experimental groups behavior in elevated cross maze. A – number of reactions; B – time.

однако не выявило достоверных различий между типологическими группами по критерию длительности реакций замирания (рис. 5, A). Было зарегистрировано достоверное повышение числа акций уринации у крыс возбудимого (эмоцио-

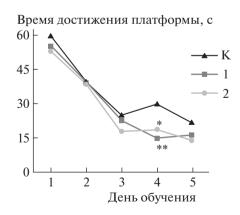


Рис. 4. Показатели поведения крыс экспериментальных групп в водном тесте Морриса. K — контроль; SR_A — группа 1; SR_R — группа 2.

Fig. 4. The indexes of rats in experimental groups behavior in Morris water maze. K- control; SR_A- group 1; SR_R- group 2.

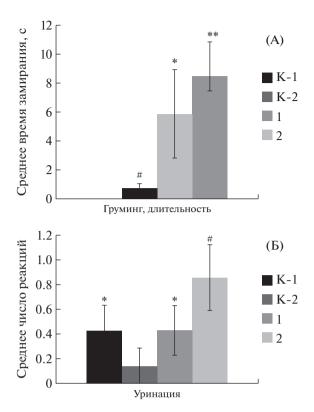


Рис. 5. Показатели пассивно-оборонительного поведения, тревожности и эмоциональности крыс экспериментальных групп в тесте "открытого поля" после воздействия экспериментальных факторов. А — время замирания; Б — число реакций уринации. К-R — контроль к группе 1; К-А — контроль к группе 2. Остальные обозначения как на рис. 2.

Fig. 5. The indexes of passive-defensive behavior, anxiety and emotionality in open field test after experimental factors impact. A-time of "freezing" reactions; B-number of urination reactions. K-R-control to group 1; K-A-control to group 2. Other names as on fig. 2.

нального, высокотревожного) типа, что свидетельствует о стимуляции эмоциональности и тревожности животных при воздействии изучаемых факторов (рис. 5, Б). Показатели активного поведения крыс экспериментальных групп в "открытом поле" после экспериментальных воздействий достоверно не изменились.

Исследование тревожности животных в тесте приподнятого крестообразного лабиринта показало, что у крыс возбудимого типа после экспериментальных воздействий происходит резкое повышение латентного периода выхода в открытый отсек лабиринта и в то же время резкое увеличение числа выходов в этот отсек и времени пребывания в нем (рис. 6).

При тестировании крыс экспериментальных групп в водном тесте Морриса существенных раз-

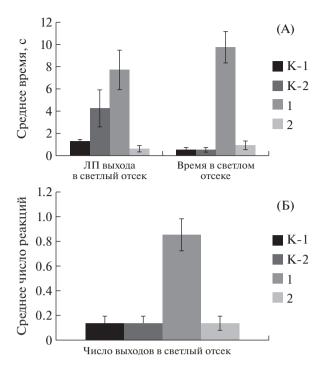


Рис. 6. Показатели поведения крыс экспериментальных групп в приподнятом крестообразном лабиринте. А — латентный период выхода в открытый отсек лабиринта и время пребывания в нем; Б — число переходов между отсеками. Остальные обозначения как на рис. 5.

Fig. 6. The indexes of rats in experimental groups behavior in elevated cross maze. A- latent time of rats exits to open space (left) and time of rats residence in open space (right); B- number of crossing between parts of maze. Other names as on fig. 5.

личий в скорости обучения не было обнаружено (рис. 7).

Для оценки когнитивных функций экспериментальных животных в этом эксперименте мы также провели исследование скорости их обучения по методике выработки условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в "челночной камере". Результаты исследования показаны на рис. 8. Видно, что у крыс тормозного (с низкой тревожностью) типа происходит существенное замедление обучения после экспериментальных воздействий по сравнению с крысами возбудимого типа и обеими контрольными группами.

Таким образом, сравнение результатов двух экспериментов по изучению комбинированного действия АнОВ и ионизирующих излучений, различающихся только одним фактором (в первом случае — облучение ионами углерода ¹²С, во втором — высокоэнергетическими протонами), на поведение экспериментальных животных показало следующее.

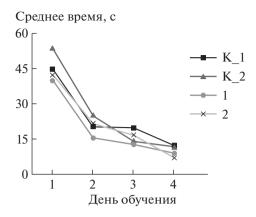


Рис. 7. Показатели поведения крыс экспериментальных групп в водном тесте Морриса. Обозначения как на рис. 5 и 6.

Fig. 7. The indexes of rats in experimental groups behavior in Morris water maze. Names as on fig. 5 and 6.

Вклад облучения ионами углерода ¹²С приводит к более глубоким нарушениям соотношения ориентировочно-исследовательской активности и пассивно-оборонительного поведения и тревожности в умеренно стрессирующей ситуации в тестах "открытого поля" и приподнятого крестообразного лабиринта по сравнению с облучением протонами, наиболее выраженным у крыс возбудимого, тревожного, эмоционального типа. Именно в этом эксперименте типологические различия в поведении животных проявились наиболее ярко.

Эффект улучшения обучения животных после облучения, зарегистрированный в этом эксперименте при тестировании крыс в лабиринте Морриса, известен достаточно давно и показан как на крысах [15], так и на обезьянах [16, 17]. Причины его до сих пор окончательно не выяснены. Есть предположение, что, с одной стороны, это может объясняться так называемым эффектом "сужения внимания" - подавлением исполнительных механизмов ориентировочной реакции в ретикулярной формации и таламусе, в результате чего животные меньше отвлекаются на посторонние раздражители; с другой стороны, может иметь место активизация компенсаторных процессов в ЦНС, вызванная облучением на первом этапе лучевой реакции.

В эксперименте с облучением протонами различия между типологическими группами оказались более сглаженными, однако по ряду показателей пассивно-оборонительные компоненты поведения и тревожность у крыс экспериментальных групп также были повышены. По-видимому, замедление обучения у крыс тормозного типа в тесте УРАИ следует отнести на счет разви-

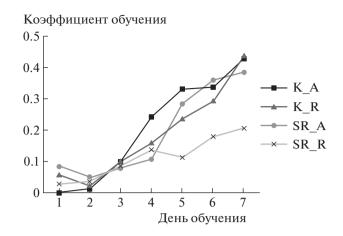


Рис. 8. Показатели обучения крыс экспериментальных групп в тесте УРАИ. Обозначения как на рис. 5. **Fig. 8.** The indexes of rats learning in shuttle-box (conditioned reflexes of active avoidance). Names as on fig. 5.

тия запредельного торможения при воздействии оборонительного подкрепления.

По результатам нейрохимических исследований наиболее значительные изменения наблюдаются в префронтальной коре. У крыс группы 1 зарегистрировано достоверное уменьшение концентрации ДОФУК, ГВК и 3-МТ. У крыс группы 2 происходит достоверное снижение концентрации ДОФУК и 3-МТ. Кроме того, выявлено достоверное уменьшение концентрации 5-ОИУК у крыс группы 2 относительно животных группы 1 (табл. 1).

Значительные изменения в концентрации моноаминов и их метаболитов в префронтальной коре при декапитации животных на ранних этапах исследований, в данном случае через сутки, после предпринятых воздействий было показано многократно, в частности, через сутки после облучения крыс ионами углерода ¹²С [18], но не через 30 и 90 сут [19]. Аналогичные изменения происходили у крыс линии WAG/Raj на ранних этапах формирования абсансной эпилепсии, а также в ответ на фармакологическое воздействие — введение медапара, через 1 сут после облучения протонами высоких энергий как на пролете [20], так и в пике Брэгга [21].

Высокая чувствительность и реактивность префронтальной коры относительно других исследованных структур мозга является фундаментальным свойством функционирования этой структуры. Повышенная реактивность префронтальной коры крыс к стрессу показана в ряде работ, в частности, в работе [22]. Медиальная префронтальная кора крыс является одним из важнейших узлов системы быстрого обучения,

Таблица 1. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в префронтальной коре крыс **Table 1.** Monoamines and their metabolites concentration (nmol/g tissue) in prefrontal cortex of rats

Группы	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр.	6.09 ± 1.15	1.18 ± 0.07	1.51 ± 0.24	0.70 ± 0.13	0.47 ± 0.07	4.31 ± 0.37	6.73 ± 0.49
1 группа	5.79 ± 0.49	0.87 ± 0.05	1.04 ± 0.04	0.28 ± 0.07	0.23 ± 0.06	3.64 ± 0.14	6.65 ± 0.36
p = 1 vs 2	0.833	<u>0.010</u>	0.123	<u>0.033</u>	0.032	0.173	0.913
2 группа	5.36 ± 0.43	0.82 ± 0.06	1.09 ± 0.03	0.45 ± 0.07	0.18 ± 0.07	3.07 ± 0.11	7.15 ± 0.24
p = 1 vs 3	0.607	<u>0.007</u>	0.166	0.171	0.039	<u>0.021</u>	0.511
p = 2 vs 3	0.571	0.595	0.326	0.163	0.723	<u>0.022</u>	0.332

Примечание. Здесь и далее: Контр. — контрольная группа; 1 группа — 1-я экспериментальная группа; 2 группа — 2-я экспериментальная группа.

Таблица 2. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в прилежащем ядре крыс **Table 2.** Monoamines and their metabolites concentration (nmol/g tissue) in nucleus accumbens of rats

Группы	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр.	2.71 ± 0.65	5.13 ± 0.52	36.73 ± 5.92	3.69 ± 0.33	0.50 ± 0.09	1.45 ± 0.27	1.84 ± 0.28
1 группа	2.47 ± 0.45	4.81 ± 0.42	39.87 ± 4.51	2.88 ± 0.1	0.72 ± 0.15	1.97 ± 0.27	2.01 ± 0.28
p = 1 vs 2	0.790	0.678	0.716	0.067	0.290	0.262	0.706
2 группа	3.16 ± 0.34	3.03 ± 0.78	43.65 ± 6.51	4.19 ± 0.64	0.60 ± 0.09	1.72 ± 0.42	2.24 ± 0.43
p = 1 vs 3	0.601	0.922	0.502	0.551	0.509	0.652	0.505
p = 2 vs 3	0.305	0.831	0.680	0.110	0.537	0.665	0.703

который извлекает недавние и отдаленные воспоминания [23]. Наблюдали быстрое усиление функционального сопряжения латеральной префронтальной коры, базальных ганглиев (хвостатого ядра — caudate nucleus и неостриатума — putamen) и орбитофронтальной коры, а также между латеральной префронтальной корой и премоторной корой [24]. Обнаружена быстрая реакция дорзо-латеральной верхней префронтальной коры к кодированию новых стимулов, в ходе задач требующих высокого уровня рабочей памяти [25].

Обнаружены также клеточные механизмы, способствующие реализации быстрых реакций нейронов префронтальной коры. Взаимодействие между ингибирующими быстрыми спайковыми интернейронами и возбуждающими пирамидальными нейронами крыс облегчает реализацию фундаментальных свойств корковых сетей. Ключевой функцией быстрых спайковых интернейронов является обеспечение быстрого тормо-

жения в локальных сетях сенсорной и моторной коры и обработки входной информации из таламуса в кору. Эти результаты свидетельствуют о наличии различных льготных подсетей или локальных сетей между быстрыми спайковыми интернейронами и пирамидальными клетками префронтальной коры крыс, которые могут быть специфическими для этой области коры [26]. Выявлена быстрая ДА-ергическая модуляция кальция и быстрых потенциалов в дендритах пирамидных нейронов префронтальной коры крыс [27]. В префронтальной коре ДА-ергическая модуляция реализуется менее чем за 0,5 с, в то время как в других структурах эта реакция занимает несколько секунд.

Помимо того, что префронтальная кора формирует и контролирует эмоциональные и мотивационные состояния [28, 29], она играет ключевую роль в когнитивных процессах [30]. Если у человека когнитивные процессы можно определить

Жирным шрифтом выделены статистически значимые величины p < или = 0.05; жирный курсив — величину p от 0.05 до 0.099 считали тенденцией изменений.

_											
Table 3. Monoa	mines and the	ir metabolites co	oncentration (n	mol/g tissue) ii	n hippocampus	of rats					
	Таблица 3. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в гиппокампе крыс										

Группы	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр.	7.79 ± 1.13	0.82 ± 0.27	0.68 ± 0.24	0.49 ± 0.11	0.35 ± 0.08	13.03 ± 1.44	7.88 ± 0.62
1 группа	7.40 ± 0.80	0.41 ± 0.07	0.54 ± 0.18	0.35 ± 0.05	0.32 ± 0.06	14.07 ± 1.05	8.38 ± 0.95
p = 1 vs 2	0.907	0.218	0.679	0.337	0.795	0.618	0.702
2 группа	7.99 ± 0.77	0.55 ± 0.18	0.88 ± 0.22	0.30 ± 0.05	0.24 ± 0.03	13.52 ± 1.44	9.39 ± 0.64
p = 1 vs 3	0.801	0.472	0.595	0.198	0.306	0.837	0.165
p = 2 vs 3	0.644	0.523	0.315	0.523	0.335	0.789	0.449

Таблица 4. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в стриатуме крыс **Table 4.** Monoamines and their metabolites concentration (nmol/g tissue) in striatum of rats

Группа	НА	дофук	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр.	0.52 ± 0.12	4.75 ± 0.36	44.16 ± 3.08	4.07 ± 0.30	0.8 ± 0.09	3.87 ± 0.33	1.450.13
1 групп	0.98 ± 0.3	5.67 ± 1.51	59.29 ± 10.03	4.27 ± 1.15	1.23 ± 0.39	4.34 ± 2.00	2.00 ± 0.72
p = 1 vs 2	0.234	0.631	0.505	0.880	0.463	0.534	0.570
2 гуппа	0.68 ± 0.11	4.05 ± 0.32	45.54 ± 2.93	2.64 ± 0.19	0.84 ± 0.1	3.14 ± 0.40	1.74 ± 0.08
p = 1 vs 3	0.405	0.227	0.828	0.022	0.752	0.652	0.171
p = 2 vs 3	0.428	0.403	0.535	0.338	0.407	0.613	0.774

Таблица 5. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в гипоталамусе крыс **Table 5.** Monoamines and their metabolites concentration (nmol/g tissue) in hypothalamus of rats

Группа	НА	дофук	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр	6.70 ± 0.16	0.33 ± 0.03	2.43 ± 0.25	0.31 ± 0.04	0.10 ± 0.01	3.34 ± 0.23	4.24 ± 0.13
1 группа	6.96 ± 0.28	0.31 ± 0.05	1.95 ± 0.16	0.33 ± 0.07	0.15 ± 0.08	3.60 ± 0.19	4.06 ± 0.12
p = 1 vs 2	0.498	0.741	0.184	0.803	0.528	0.464	0.392
2 группа	7.27 ± 0.64	0.22 ± 0.03	1.69 ± 0.18	0.24 ± 0.04	0.10 ± 0.02	3.04 ± 0.43	3.77 ± 0.05
p = 1 vs 3	0.459	0.023	0.063	0.307	0.915	0.597	0.436
p = 2 vs 3	0.697	0.189	0.355	0.333	0.552	0.321	0.621

как приобретение знаний и опыта и их дальнейшее использование, то у животных это приобретение опыта и его дальнейшее использование. Еще одной из основных функций префронтальной коры при реализации поведения животными является принятие решения и выбор действия [31], также связанное с когнитивной деятельностью.

Значительных изменений не было выявлено в прилежащем ядре и в гиппокампе (табл. 2 и 3).

В стриатуме (табл. 4) было обнаружено снижение концентрации ГВК у крыс группы 2 относительно контроля.

В гипоталамусе (табл. 5) было выявлено уменьшение концентрации ДОФУК у крыс группы 2 относительно контроля. В миндалине (табл. 6) про-

Группа	НА	ДОФУК	ДА	ГВК	3-MT	5-ОИУК	5-OT
Контр.	1.93 ± 0.41	0.87 ± 0.23	9.24 ± 3.13	1.25 ± 0.45	1.01 ± 0.26	4.75 ± 0.09	3.93 ± 0.67
1 группа	0.81 ± 0.08	1.42 ± 0.31	15.03 ± 3.66	1.68 ± 0.32	0.63 ± 0.12	5.22 ± 0.45	3.02 ± 0.38
p = 1 vs 2	<u>0.046</u>	0.237	0.249	0.508	0.273	0.688	0.318
2 группа	1.76 ± 0.19	1.52 ± 0.34	15.75 ± 3.73	1.89 ± 0.45	1.46 ± 0.39	5.41 ± 0.08	3.72 ± 0.66
p = 1 vs 3	0.755	0.201	0.266	0.397	0.411	0.641	0.845
p = 2 vs 3	<u>0.003</u>	0.857	0.976	0.862	0.741	0.104	0.435

Таблица 6. Концентрация моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в миндалине крыс **Table 6.** Monoamines and their metabolites concentration (nmol/g tissue) in amygdala of rats

изошло снижение концентрации НА у крыс группы 1 относительно контроля и крыс группы 2.

Таким образом, основной реакцией моноаминергических систем на примененные нами воздействия можно считать снижение активности ДА системы.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке программ РАН и грантов РФФИ № 17-29-01002-офи_м и № 17-29-01005-офи м.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Ушаков И.Б., Штемберг А.С. Проблемы воздействия факторов дальних длительных космических полетов на высшую нервную деятельность в модельных экспериментах на животных // Авиакосм. и экол. медицина. 2012. Т. 46. № 1. С. 5—16. [Ushakov I.B., Shtemberg A.S. The problems of long-distance longtime spaceflights factors on higher nervous activity in model experiments in animals // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya medicina. 2012. V. 46. № 1. Р. 5—16. (In Russian)]
- 2. Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Шафиркин А.В. Реактивность и резистентность организма млекопитающих. Принципы формирования, регуляции и прогнозирования. М.: Наука, 2007. 493 с. [Ushakov I.B., Shtemberg A.S., Shafirkin A.V. Reactivity and resistance of mammal organism. Principles of formation, regulation and prediction. М.: Nauka, 2007. 493 р. (In Russian)]
- 3. Штемберг А.С. Проблемы экспериментального исследования комбинированного действия факторов космического полета на функции организма животных // Рос. физиол. журн. 2014. Т. 100. № 10. С. 1152—1168. [Shtemberg A.S. Problems of experimental investigation of spaceflight factors combined impact on animals organism // Rossiyskiy fisiologicheskiy journal. 2014. V. 100. № 10. Р. 1152—1168. (In Russian)]

- 4. *Mao X.W.*, *Nishiyama N.C.*, *Pecaut M.J. et al.* Simulated microgravity and low-dose/low-dose-rate radiation induced oxidative damage in the mouse brain // Radiat. Res. 2016. C. 185.
- 5. Штемберг А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Матвеева М.И. и др. Влияние факторов космического полета, моделируемых в наземных условиях, на поведение, дискриминантное обучение и обмен моноаминов в различных структурах мозга крыс // Изв. РАН. Сер. биол. 2014. № 2. С. 168—175. [Shtemberg A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Matveeva M.I. et al. The influence of spaceflight factors modeling in ground experiments on behavior, discriminant learning, monoamines metabolism in different brain structures in rats // Izvestiya RAN. Seriya biologicheskaya. 2014. № 2. P. 168—175. (In Russian)]
- 6. Kokhan V.S., Matveeva M.I., Bazyan A.S. et al. Combinedeffects of antiorthostatic suspension and ionizing radiation on the behaviour and neurotransmitters changes in different brain structures of rats // Behav. Brain Res. 2017. № 320. P. 473–483.
- 7. Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S. et al. An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior // Life Sci. Space Res. 2019. V. 20. № 1. P. 12–19.
- 8. Котляревский Л.И., Горшелева Л.С., Хозак Л. Б. Значение типа нервной системы животных в поступательном и обратном развитии изменений высшей нервной деятельности, вызванных проникающей радиацией // Тр. ин-та высш. нервн. деят. Сер. патофизиол. 1958. Т. 4. С. 95–98. [Kotlyarevskiy I.I., Gorsheleva L.S., Khozak L.B. The importance of type nervous system in animals in progressive and backward development of higher nervous activity changes provoked by penetrating radiation // Proc. Inst. Higher Nervous Activity. Seriya Patofisiol. 1958. V. 4. P. 95–98. (In Russian)]
- 9. Саркисова К.Ю., Куликов М.А. Индивидуальные различия в реакциях на острый стресс, связанные с типом поведения (прогнозирование устойчивости к стрессу) // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1994. Т. 47. № 1. С. 89. [Sarkisova K.Ju., Ku-

- *likov M.A.* Individual differences in reactions to acute stress depended with behavioral type (the prediction of stress resistance) // Bull. Experim. Biol. Med. 1994. V. 47. № 1. P. 89. (In Russian)]
- 10. Семагин В.Н., Зухарь А.В., Куликов М.А. Тип нервной системы, стрессоустойчивость и репродуктивная функция. М.: Наука, 1988. [Semagin V.N., Zukhar A.V., Kulikov M.A. Type of nervous system, stress-resistance and reproductive function. М.: Nauka, 1988. (In Russian)]
- 11. Штемберг А.С. Роль индивидуальных типологических особенностей высшей нервной деятельности в формировании и радиационной устойчивости упроченных двигательно-оборонительных условных рефлексов у крыс // Изв. АН СССР. Сер. Биол. 1987. № 4. С. 547—557. [Shtemberg A.S. The role of higher nervous activity individual typological characteristics in formation and radiation resistance of motor defensive conditioned reflexes in rats // Izvestiya AN SSSR. Ser. Biol. 1987. № 4. P. 547—557. (In Russian)]
- 12. Симонов П.В. Условные реакции эмоционального резонанса у крыс // Нейрофизиологический подход к анализу внутривидового поведения. М.: Наука, 1976. С. 6. [Simonov P.V. Conditioned reactions of emotional resonance in rats // Neurophysiological approach to analysis of intraspecific behavior. М.: Nauka, 1976. (In Russian)]
- 13. Айрапетянц М.Г., Хоничева Н.М., Мехедова А.Я., Ильяна-Вильяр Х. Реакции на умеренные функциональные нагрузки у крыс с индивидуальными особенностями поведения // Журн. высш. нервн. деят. 1980. Т. 30. № 5. С. 994. [Airapetyanz M.G., Khonicheva N.M., Mekhedova A.Ja., Ilyana-Vilyar H. Reactions on middle functional pressures in rats with individual characteristics of behavior // Journal visshey nervnoy deyatelnosti. 1980. V. 30. № 5. P. 994. (In Russian)]
- 14. *Хоничева Н.М., Ильяна-Вильяр X.* Характер поведения в ситуации избегания как критерий оценки типологических особенностей крыс // Журн. высш. нервн. деят. 1981. Т. 31. № 5. С. 975—983. [*Khonicheva N.M., Ilyana-Vilyar H.* The character of behavior in the avoidance situation as estimation criterion of typological characteristic in rats // Journal visshey nervnoy deyatelnosti. 1981. V. 31. № 5. P. 975—983. (In Russian)]
- 15. *Blair W.C.* The effects of cranial X-irradiation on maze acquisition in rats. // J. Compar. and Physiol. Psychol. 1958. V. 54. № 2. P. 175–178.
- 16. *Harlow H.F., Scrier A.M., Simons D.G.* Exposure of primates by cosmic radiation above 90000 feet // J. Compar. Physiol. Psychol. 1956. V. 49. № 2. P. 195–200.
- 17. *Riopelle A.J., Gronsky M.A., Ades H.W.* Learned performance of monkeys after single and repeated X-irradiation // J. Compar. Physiol. Psychol. 1956. V. 49. № 5. P. 521–524.
- 18. *Matveeva M.I.*, *Shtemberg A.S.*, *Timoshenko G.N. et al.* The Effects of Irradiation by ¹²C Carbon Ions on Monoamine Exchange in Several Rat Brain Structures // Neurochem. J. 2013. V. 7. № 4. P. 303–307.

- 19. Белокопытова К.В., Белов О.В., Кудрин В.С. и др. Распределение моноаминов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс в поздние сроки после облучения ионами ¹²С // Нейрохимия. 2015. Т. 32. № 3. С. 243—251. [Belokopitova K.V., Belov O.V., Kudrin V.S. et al. The distribution of monoamines and their metabolites in rats brain structures in the late times after ¹²C ions irradiation // Neurochimia. 2015. V. 32. № 3. Р. 243—251. (In Russian)]
- 20. Штемберг А.С., Базян А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б. и др. Влияние облучения протонами высокой энергии на поведение крыс и его нейрохимические механизмы // Авиакосм. и экол. медицина. 2013. Т. 47. № 6. С. 54—60. [Shtemberg A.S., Bazyan A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B. et al. The influence of high energy protons irradiation on rats behavior and their neurochemical mechanisms // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya medicina. 2013. V. 47. № 6. P. 54—60. (In Russian)]
- 21. Shtemberg A.S., Kokhan V.S., Kudrin V.S. et al. The effect of high-energy protons in Bragg peak on the exchange of monoamines in some brain structures // Neurochem. J. 2015. V. 9. № 1. P. 66–72.
- 22. *King D., Zigmond M.J., Finlay J.M.* Effects of dopamine depletion in the medial prefrontal cortex on the stress-induced increases in extracellular dopamine in the nucleus accumbens and shell // Neurology. 1997. V. 77. №1. P. 141–153.
- 23. Gonzalez C., Kramar C., Garagoli F. et al. Medial prefrontal cortex is a crucial node of a rapid learning system that retrieves recent and remote memories // Neurobiol. Learn. Mem. 2013. V. 103. P. 19–25.
- 24. *Ruge H., Wolfensteller U.* Functional integration processes underlying the instruction-based learning of novel goal-directed behaviors // Neuroimage. 2013. V. 68. P. 162–172.
- 25. *Hung Y., Smith M.L., Taylor M.J.* Functional dissociations in prefrontal-hippocampal working memory systems // Cortex. 2013. V. 49. № 4. P. 961–967.
- 26. Zaitsev A.V., Lewis D.A. Functional properties and short-term dynamics of unidirectional and reciprocal synaptic connections between layer 2/3 pyramidal cells and fast-spiking interneurons in juvenile rat prefrontal cortex // Eur. J. Neurosci. 2013. V. 38. № 7. P. 2988—2998.
- 27. Zhou W.L., Antic S.D. Rapid dopaminergic and GABAergic modulation of calcium and voltage transients in dendrites of prefrontal cortex pyramidal neurons // J. Physiol. 2012. V. 590. № 16. P. 3891–3911.
- 28. Раевский К.С., Сотникова Т.Д., Гейнетдинов Р.Р. Дофаминергическая система мозга: Гетерогенность рецепторов, функциональная роль, фармакологическая регуляция // Успехи физиол. наук. 1996. Т. 27. № 1. С. 3—29. [Raevskiy K.S., Sotnikova T.D., Geynetdinov R.R. Brain dopaminergic system: receptors geterogenicity, functional role, pharmacological regulation // Uspekhi fisiol. nauk. 1996. V. 27. № 1. Р. 3—29. (In Russian)]

- 29. *McGregor I.S.* Contrasting effects of stress on medial and sulcal prefrontal cortex self-stimulation // Brain Res. Bul. 1991. V. 27. № 2. P. 225–229.
- 30. Базян А.С., Мидзяновская И.С., Кузнецова Г.Д. и др. Возможные механизмы формирования типологических особенностей поведения крыс линии WAG/Rij // Журн. высш. нервн. деят. 2001. Т. 51. № 6. С. 720—727. [Bazyan A.S., Midzyanovskaya I.S., Kuznetsova G.D. et al. The possible mechanisms of ty-
- pological characteristics of rats WAG/Rij behavior formation // Journal visshey nervnoy deyatelnosti. 2001. V. 51. № 6. P. 720–727. (In Russian)]
- 31. Bechara A., Damasio A.R. The Somatic Marker Hypothesis: A neural theory of economic decision // Games and Economic Behavior. 2005. № 52(2). P. 336–372. http://www.psychwiki.com/index.php?title=Bechara, A., and Damasio, A. R. (2005)&action=edit&redlink=1

The Role of the Typological Characteristics of Rats Higher Nervous Activity in the Neurobiologic Effects of Combined Impact of Antiorthostatic Suspension, γ-Rays, Protons and Carbon ¹²C Ions

A. S. Shtemberg^{a,#}, A. A. Perevezentsev^a, K. B. Lebedeva-Georgievskaya^a, O. V. Mitrofanova^a, V. S. Kudrin^a, and A. S. Bazyan^{a,b}

^a Institute of Biomedical Problems, Russian Academie of Sciences, Moscow, Russia
^b Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academie of Sciences, Moscow, Russia

[#]E-mail: andrei shtemberg@mail.ru

The investigation of role of the influence of typological characteristics of rats higher nervous activity on neurobiological effects (rats behavior and its neurochemical mechanisms) of the combined impact of 10-days antiorthostatic suspension, gamma, high energy protons and carbon ¹²C ions irradiation were demonstrated that ¹²C ions irradiation produced the deep disturbances of the rats behavior in rats belong to excitable, anxiety, emotional type. In experiment with protons irradiation the differences between typological groups were less visible, however the passive-defense behavior in rats of experimental groups were also increased. These changes were accompanied by decreasing of monoamine metabolism in prefrontal cortex.

Keywords: antiorthostatic suspension, gamma-irradiation, high energy protons, carbon ions ¹²C, rats typological characteristics of higher nervous activity, rats behavior, monoamine metabolism

____ НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ____ ИЗЛУЧЕНИЯ

УЛК 537.8:599.323.4:591.3:57.084.1

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОСЛЕДСТВИЙ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДИАПАЗОНА МОБИЛЬНОЙ СВЯЗИ В АНТЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ РАЗВИТИЯ КРЫС

© 2020 г. О. С. Изместьева^{1,*}, Л. Н. Павлова¹, Л.П. Жаворонков¹

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба— филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия

**E-mail: olgaizmestieva@mail.ru* Поступила в редакцию 06.06.2019 г.

В опытах на крысах Вистар проведена оценка последствий хронического воздействия низкоинтенсивного электромагнитного излучения (ЭМИ) диапазона сотовой связи (1—4 ГГц) в сочетании с многочастотным импульсно-модулированным электромагнитным "шумом" на модели эмбриотоксических эффектов и анализа постнатального развития облученного потомства. В работе показано, что при отсутствии видимой патологии беременности и родов у облученного потомства в постнатальном онтогенезе регистрируются отклонения в состоянии центральной нервной системы. Функциональный дефицит проявился в виде эмоциональной неустойчивости, снижении двигательной компоненты ориентировочно-исследовательской реакции и, как следствие, — снижении когнитивных функций.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, сотовая связь, антенатальный период развития, соматическое и психофизиологическое развитие, функциональный дисбаланс

DOI: 10.31857/S0869803120010099

В организме человека и животных многие физиологические процессы, такие, как внутриклеточные взаимодействия, межклеточные связи, биологические ритмы и многие физиологические процессы в организме сопровождаются перемещением заряженных частиц, например, при работе ионных каналов в мембранах клеток. По этой причине "внешние электромагнитные поля могут в ряде случаев выступать как источники электромагнитных помех, снижающих надежность жизненных процессов человека" [1, 2]. Этот факт приобретает особую актуальность в связи с беспрецедентным ростом суммарной напряженности электромагнитного поля (ЭМП) и интенсивности неионизирующих электромагнитных излучений (ЭМИ), глобальным внедрением в повседневную жизнь сотовой связи [3]. Сложившуюся ситуацию в мире Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) охарактеризовала как "электромагнитное загрязнение окружающей среды". В опубликованной литературе имеются указания на то, что частое и длительное по времени использование сотовых телефонов повышает риск развития не только функциональных расстройств со стороны нервной системы и слухового анализатора [4-7], но и способствует развитию опухолей мозга и внутреннего уха [8]. Повышенный риск развития опухолей мозга регистрировали преимущественно в группе молодых пользователей 20-29 лет [9, 10], в то время как для старших возрастных категорий таких закономерностей не отмечали. На основании многочисленных данных Международное агентство ВОЗ по исследованию рака классифицировало радиочастотное ЭМИ как возможный канцерогенный фактор. По результатам многочисленных эпидемиологических исследований хотя и представлены противоречивые заключения о статистической достоверности выявленных отклонений в развитии детей, тем не менее, делается вывод об имеющейся связи между воздействием ЭМИ сотовых телефонов и проблемами в общем и психофизиологическом развитии подростков и детей [11-13].

В России Российский национальный комитет по защите от неионизирующих излучений (РНКЗНИ) рекомендует максимально ограничить использование сотовых телефонов детьми и подростками до 16 лет, а также беременными.

В связи с этим считаем целесообразным в модельных экспериментах оценить последствия хронического ЭМИ-воздействия в режимах,

близких к диапазону сотовой связи. С этой целью в опытах на крысах производили хроническое облучение в антенатальном периоде развития (посредством облучения беременных самок) с последующей оценкой эффектов ЭМИ в пострадиационном онтогенезе. Основной предпосылкой использования данного подхода является высокая радиочувствительность организма в период интенсивной пролиферации и морфологического созревания на стадии эмбрионального развития. Ранее в опубликованных нами работах [14, 15] в опытах на крысах при использовании доз ионизирующей радиации от 20 до 40 сГр, приходящихся на сопоставимые этапы развития мозга, показано воспроизведение радиоэмбриологических эффектов и поведенческой тератологии в сопоставимых с эффектами у человека дозовых пределах и качественных проявлениях.

В работе представлены результаты комплексного исследования на крысах, позволяющие оценить физиологическое состояние организма в анте- и постнатальном онтогенезе, после хронического СВЧ-воздействия в период внутриутробного развития.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Опыты проведены на крысах Вистар, полученных из питомника "Столбовая" – филиал ФГБУН "Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства". Половозрелых самок (возраст 3.5 мес., масса тела $230 \pm 10 \, \text{г}$) после верификации у них беременности по общепринятой методике [16] подвергали воздействию хронического облучения в безэховой камере в условиях климатического комфорта. В течение всего эксперимента, в том числе в период облучения, животные содержались в стандартных условиях крупного лабораторного вивария и на стандартном рационе питания на основе брикетированных кормов, имея свободный доступ к воде и корму. Все работы с животными выполняли в соответствии с требованиями нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы и гуманном отношении к животным [17].

Облучение животных производили в зоне сформированной волны источника электромагнитного излучения. При этом использовали два режима СВЧ-облучения, отличающиеся частотным диапазоном, которые создавались блоком из 10 генераторов, а именно − 1−2 ГГц с шагом несущей частоты 0,1 ГГц (режим 1) или 2−4 ГГц с шагом 0.2 ГГц (режим 2). Длительность импульса составила 25 мс с суммарной пиковой мощностью − до 1000 мкВт/см² при равном вкладе несущих. Частота следования импульсов была в пределах ведущих частот электроэнцефалограммы (≤6 Гц), что обеспечивало значение средней плотности

потока энергии не выше 100 мкВт/см². Облучение или ложное облучение проводили ежедневно по 2 ч в течение всего периода беременности (20 дней).

Эффекты многократного действия ЭМП тестировали по критериям внутриутробной гибели плода, динамики массы тела и жизнеспособности крысят в раннем пострадиационном онтогенезе, спонтанной двигательной активности по тесту "открытое поле", физической динамической работоспособности по длительности бега в третбане и способности животных к обучению по характеру формирования и воспроизведения условнорефлекторной реакции избегания (УРИ) на модели оборонительного рефлекса.

Все использованные тесты по оценке физиологического состояния организма в пре- и постнатальном онтогенезе проводили в соответствии с методическими рекомендациями, прописанными в руководствах по доклиническому испытанию препаратов и гигиеническому нормированию [18].

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с использованием параметрического t-критерия Стьюдента и точного метода Фишера (ТМФ). При анализе эффектов на обучаемость в тесте УРИ также применены: регрессионный анализ, U-критерий Вилкоксона—Манна—Уитни, медианный критерий χ^2 . Различия считали значимыми при p < 0.05. Статистический анализ проводился с помощью программы Origin 6.0 ("MicroCal Software", США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Течение беременности и родов у групп крыс, облученных в режимах 1 и 2, не отличались от показателей контрольной группы животных (табл. 1). Число крысят в помете, а также их суммарная по помету масса на все исследуемые сроки не отличались от показателей контроля. При анализе соматического развития крысят в пострадиационном онтогенезе (табл. 2) следует отметить, что животные, облученные в антенальном периоде в режиме 1, за 30 дней наблюдения относительно быстрее набирали массу тела. В то же время по остальным показателям развития раннего постнатального онтогенеза - сроки прорезывания зубов, покрытие шерстью и прозревание – животные трех групп между собой не отличались. Из этого следует, что существенного влияния на беременность и раннее развитие ЭМИ в использованных режимах не оказывало.

Тест принудительного бега крыс в возрасте 1.5 мес. по дорожке третбана до полного утомления (отказ от бега, несмотря на электрокожную стимуляцию) позволяет оценить физическую выносливость животных, интегрально характеризу-

Таблица 1. Основные показатели течения беременности и родов у крыс, подвергнутых воздействию многочастотного импульсно-модулированного ЭМИ в диапазоне частот 1−2 ГГц (режим № 1) и 2−4 ГГц (режим № 2) в течение всей беременности

Table 1. The main indicators of pregnancy and childbirth in rats exposed to multi-frequency pulse-modulated EMR in the frequency range 1-2 GHz (mode N = 1) and 2-4 GHz (mode N = 2) throughout pregnancy

Группа животных	Прибавка массы тела самки, %	Потеря массы тела самки за роды, %	Потеря массы на одного крысенка, %	Количество плодов в помете	Вес крысят при рождении, г
Контроль	27.7 ± 3.1	2.9 ± 0.6	0.57 ± 0.12	7.4 ± 1.3	5.63 ± 0.40
	n = 13	n = 8	n = 8	n = 10	n = 10
Режим № 1	32.8 ± 2.8	4.7 ± 1.8	0.52 ± 0.18	7.7 ± 0.5	5.52 ± 0.18
	n = 11	n = 7	n = 7	n = 10	n = 10
Режим № 2	32.6 ± 2.5	3.9 ± 2.6	1.09 ± 0.91	7.1 ± 0.9	5.75 ± 0.24
	n = 9	n = 5	n = 5	n = 9	n = 9

Примечание. n — число пометов.

Таблица 2. Динамика массы тела крысят (г), подвергнутых хроническому воздействию многочастотного импульсно-модулированного ЭМИ в разных режимах в антенатальном периоде развития **Table 2.** Dynamics of body weight of rats (g) irradiated to chronic exposure to multi-frequency pulse-modulated electromagnetic radiation in different modes in the antenatal period of development

-	Число	Возраст крысят, сут							
Группы	животных в группе	1	3	7	14	21	30	40	
Контроль	63	5.63 ± 0.40 (9)	7.14 ± 0.23	14.0 ± 0.5	28.6 ± 0.7	42.8 ± 1.4	69.0 ± 4.3 n = 26		
		(3)					970.2 ± 3.3 n = 37	9121.2 ± 4.7 n = 37	
Режим № 1	51	5.52 ± 0.20 (10)	7.34 ± 0.29	14.2 ± 0.3	29.4 ± 0.6	43.6 ± 0.78	6 84.7 ± 1.9* n = 27	$ @ 131.2 \pm 5.5 $ n = 27	
		(10)					$978.8 \pm 2.7* n = 24$	9134.6 ± 5.6 n = 24	
Режим № 2	48	5.70 ± 0.24 (9)	7.93 ± 0.24	15.6 ± 0.4	29.2 ± 0.7	45.7 ± 1.2	σ 77.0 ± 3.6 $n = 22$	n = 22	
							977.6 ± 2.7 n = 26	9126.7 ± 3.7 n = 26	

Примечание. В скобках указано количество пометов; режим 1-10 несущих в диапазоне частот 1-2 ГГц с шагом 0.1 ГГц; режим 2-10 несущих частот в диапазоне 2-4 ГГц с шагом 0.2 ГГц.

ющую их соматическое состояние. По итогам предварительного тестирования интактных крыс определена скорость протяжки ленты (26 м/мин), позволяющая корректно оценивать физическую выносливость животных.

Данные о продолжительности бега подопытных и контрольных крыс приведены в табл. 3. Следует отметить, что группа крыс, облученных в антенатальном периоде в режиме 2, обладает относительно меньшей физической выносливостью, что регистрируется по значимому снижению средней продолжительности бега у самок, и

тенденции к снижению доли крыс с хорошей выносливостью (бег более 30 мин).

Для режима 1, напротив, зарегистрировано даже увеличение средней по группе продолжительности бега за счет "перехода" части животных из категории "средних" в "выносливые". Аналогичные эффекты выявлены как у самцов, так и у самок.

Спонтанную двигательную активность (СДА) потомства оценивали в возрасте 2 мес. по тесту "открытого поля" (равномерно освещенный манеж 1×1 м, разделенный на 16 квадратов).

^{*} Отличия от группы "Контроль" статистически значимы (t-критерий Стьюдента (p < 0.05)).

Таблица 3. Основные показатели бега крыс, подвергнутых хроническому воздействию сложноорганизованного ЭМИ диапазона частот 1-2 ГГц (режим 1) и 2-4 ГГц (режим 2) в антенатальном периоде развития **Table 3.** The main indicators of the running of rats irradiated to the chronic effects of the complexly organized EMR frequency range of 1-2 GHz (mode 1) and 2-4 GHz (mode 2) in the antenatal period of development

Пол	Б		Средняя	Число крыс с бегом			
	Группа	n	продолжитель- ность бега (мин)	до 10 мин	11—30 мин	более 30 мин	
Самки	контроль	33	31.8 ± 3.3	1	20	12	
	режим 1	23	47.9 ± 5.3*	0	6**	17	
	режим 2	27	22.8 ± 2.9*	3	20	4	
						p = 0.085	
Самцы	ронтроль	26	26.8 ± 3.1	4	15	7	
	режим 1	26	38.2 ± 3.6*	1	9	16**	
	режим 2	21	22.9 ± 2.4	2	16	3	

Примечание. n — число крыс в группах.

Таблица 4. Основные показатели спонтанной двигательной активности крыс Вистар, подвергнутых многократному СВЧ-облучению в антенатальном периоде развития

Table 4. Main indicators of spontaneous motor activity of Wistar rats irradiated to multiple microwave radiation in the antenatal period of development

Группа	Число животных Лаг-фаз	Лаг-фаза, с Количество вставаний	Груминг	Дефекация	Количество болюсов	Заходы в углы	Число пересечений квадратов	
			Berubumm				центральная зона	периферия
Самцы								
Контроль	31	6.7 ± 1.0	10.3 ± 1.5	5.3 ± 0.9	1.2 ± 0.2	12.9 ± 1.7	3.9 ± 0.9	36.6 ± 5.1
Режим 1	26	85.1 ± 33.3*	8.9 ± 1.6	3.6 ± 0.6	2.4 ± 0.3*	10.6 ± 1.7	3.1 ± 0.8	30.8 ± 5.0
Режим 2	21	17.8 ± 7.3	8.0 ± 1.3	5.9 ± 0.7	1.2 ± 0.3	6.6 ± 1.1*	$1.6 \pm 0.5*$	$19.6 \pm 3.0*$
	Самки							
Контроль	35	3.5 ± 0.3	12.0 ± 2.4	4.0 ± 0.5	2.1 ± 0.3	11.2 ± 1.7	1.8 ± 0.7	32.4 ± 5.2
Режим 1	24	43.2 ± 27.4*	10.0 ± 1.6	4.3 ± 0.7	2.0 ± 0.4	$12. \pm 2.1$	2.0 ± 0.8	35.2 ± 6.2
Режим 2	28	4.2 ± 0.8	11.6 ± 1.8	4.4 ± 0.6	1.6 ± 0.4	8.3 ± 1.1	1.0 ± 0.3	23.4 ± 3.8

^{*} Отличия от группы "Контроль" статистически значимы (p < 0.05).

Крысу помещали в центр поля и визуально в течение двух последовательных 5-минутных интервалов регистрировали ряд параметров локомоторной активности животных, а именно: лаг-фазу (время до начала исследования пространства), груминг, вертикальную и горизонтальную активность в центральной и периферической зоне манежа, количество заходов в углы и актов дефекации.

Суммарно эти параметры позволяют судить о психоэмоциональном состоянии животных — наличии возбуждения или угнетения, тревожности, страха, активности в условиях равномерно освещенного пространства.

Из данных, представленных в табл. 4, следует, что выявленные различия по сравнению с контролем в параметрах СДА подопытных крыс можно охарактеризовать как заторможенность. Так, у шести из 26 самцов (режим 1) резко увеличен период до первого выхода из центра поля, а две особи не двигались все 10 мин наблюдения. У крыс этой группы увеличено число дефекаций, что говорит о состоянии тревоги. У обеих подопытных групп число передвижений между квадратами уменьшено, эти различия для "режима 2" высоко достоверны.

^{*} Отличия от группы "Контроль" статистически значимы по t-критерию Стьюдента, (p < 0.05); ** отличия от группы "Контроль" статистически значимы по χ^2 ($\chi^2 = 6.31, p < 0.05$).

Таблица 5. Основные показатели выработки условного рефлекса избегания у крыс-самцов, подвергнутых хроническому СВЧ-воздействию в антенатальном периоде развития

Table 5. The main indicators of the development of a conditioned avoidance reflex in male rats irradiated to chronic microwave exposure in the antenatal period of development

Сроки тестирования	Группы	Лаг-фаза	Количество УРИ	Отказы	ОБ-50	Серии из 7 УРИ (число крыс)	Коэффициент регрессии нарастания у/н
Исходный тест	Контроль	19.6 ± 2.9	4.8 ± 0.8	6.1 ± 0.9	202 ± 30	0/25	0.02 ± 0.003
	Реж. 1	15.3 ± 2.8	4.2 ± 0.6	4.3 ± 0.9	308 ± 78	0/26	0.01 ± 0.002
	Реж. 2	15.6 ± 3.1	2.8 ± 0.7	7.4 ± 1.2	738 ± 120	1/20	$0.008 \pm 0.001*$
1-е сутки	Контроль	13.2 ± 2.9	21.4 ± 2.7	6.0 ± 1.8	58.8 ± 6.2	13/25	0.09 ± 0.003
	Реж. 1	9.9 ± 2.4	14.8 ± 2.0	4.5 ± 1.2	80.3 ± 12.5	6/26 &	$0.036 \pm 0.003*$
	Реж. 2	16.0 ± 3.4	14.1 ± 2.9	8.6 ± 2.2	89.5 ± 11.7*	8/20	$0.045 \pm 0.002*$
7-е сутки	Контроль	5.9 ± 1.8	27.2 ± 2.9	7.2 ± 2.3	39.6 ± 4.9	17/25	0.10 ± 0.007
	Реж. 1	8.4 ± 1.8	19.5 ± 2.6	7.1 ± 1.9	65.9 ± 7.4*	12/26	$0.07 \pm 0.002*$
	Реж. 2	5.2 ± 1.5	23.8 ± 3.6	8.0 ± 2.5	49.1 ± 10.7	9/20 &	$0.05 \pm 0.007*$
25-е сутки	Контроль	6.4 ± 2.7	29.9 ± 3.4	4.5 ± 2.2	27.2 ± 7.8	14/22	0.11 ± 0.008
	Реж. 1	7.8 ± 2.2	25.5 ± 3.4	6.0 ± 2.3	44.7 ± 9.0	14/24	$0.07 \pm 0.004*$
	Реж. 2	8.0 ± 3.7	31.6 ± 3.7	5.2 ± 2.3	21.1 ± 4.9	15/20	0.11 ± 0.001

^{*} Отличия от группы "Контроль" статистически значимы (t-критерий Стьюдента, p < 0.05); [&] отличия от группы "Контроль" статистически значимы по χ^2 (уровень критерия -6.78, p < 0.01).

Выявленные в опытах на самцах тенденции в целом воспроизводятся и при изучении СДА крыс-самок.

Условно-рефлекторная деятельность. Способность крыс к выработке и воспроизведению условного оборонительного рефлекса избегания (УРИ) тестировали по достижении крысятами возраста 3 мес. в трехканальной челночной камере при следующей последовательности сигналов: свет + звук (условный сигнал) — 4 с, болевое электрическое раздражение — 8 с. Пауза между циклами составляла 20 с. За один сеанс крысам предъявляли по 50 сочетаний условного и безусловного раздражителей, анализируя количество и динамику избегания наказания путем перехода в безопасный отсек бокса. Подопытные группы рандомизировали по результатам предварительных испытаний из 30 попыток.

При анализе выработки и воспроизведения условных реакций избегания (УРИ) использовали ряд показателей, отражающих конечную результативность либо характеризующих скорость обучения. К интегральным критериям относили: 1) число пропущенных ударов тока до регистрации первого УРИ — лаг-фаза; 2) количество УРИ и перебежек в другой отсек после удара; 3) число отказов (отсутствие перебежек даже на электрокожное подкрепление); 4) среднее число попыток до серии из пяти и более УРИ подряд (критерий оценки состояния консолидации памятного следа); 5) наличие крыс, имеющих серии УРИ и

среднее число серий за сеанс; 6) среднее по группе значение латентного периода реакций (избегания либо перебежки).

Показатели скорости обучения основаны на оценке параметров кривых линейной регрессии, отражающих нарастание успешных решений (избеганий) в процессе обучения. При многократных испытаниях регрессионный анализ позволяет количественно оценить различия в исходном уровне обученности и скорости обучения (по коэффициентам уравнений регрессии), а также вычислить такие информативные показатели, как степень консолидации навыка (отношение уровня обученности в начале повторного теста к аналогичному показателю в конце предыдущего тестирования) и относительную скорость обучения, определяемую при сравнении наклонов регрессионных кривых у подопытных и контрольных животных в каждый срок испытания. При использовании в качестве функции отношения числа УРИ к числу совершенных попыток вычисляли удобный для сравнения критерий 50% обученности (ОБ-50) с доверительным интервалом. При анализе динамики отношения числа успешных попыток избегания к неуспешным (у/н) применяли пошаговую регрессию по суммарному результату для группы за интервал в десять попыток с шагом в две попытки [19].

Из анализа результатов, представленных в табл. 5, видно, что на срок "1 сут" у крыс обеих подопытных групп регистрируется значимое сни-

жение коэффициента регрессии нарастания успех/неуспех. При этом выявляется в виде тенденции или статистически значимого эффекта уменьшение доли крыс с сериями из семи УРИ и отставание роста расчетного количества попыток до достижения уровня 50% обученности в обеих группах. Выявленное отставание в выработке условного рефлекса избегания, проявляющееся у подопытных крыс по итогам испытаний в первые сутки, более четко проявляется при повторных тестированиях в течение недели и практически исчезает через месяц.

ОБСУЖЛЕНИЕ

Результаты представленной работы в целом подтверждают ранее опубликованные данные эпидемиологических исследований и свидетельствуют о наличии негативного воздействии ЭМП низкой интенсивности в частотном диапазоне сотовой связи на организм человека и животных в пренатальном периоде развития. Исследование, при котором в комплексе оценивалось состояние потомства, облученного режимами импульсного многочастотного ЭМИ, проведено впервые. Интересным оказался тот факт, что по общеупотребимым показателям, отражающим течение беременности и ранний пострадиационный онтогенез, отклонений у облученного потомства не выявлено. Тем не менее в отдаленные сроки постнатального развития при достижении животными возраста половой зрелости у облученного потомства фиксируется отставание в развитии. Это проявилось в снижении выносливости к физической нагрузке у самок-крыс, облученных в диапазоне частот 2-4 ГГц. Несмотря на разнонаправленность изменений, выявленных в физическом состоянии в пострадиационном онтогенезе, следует отметить сам факт их наличия в отдаленные сроки после низкоэнергетического СВЧ-воздействия. Интегральная оценка психофизиологического статуса подопытных крыс в целом свидетельствует о формировании в постнатальном периоде эмоциональной неустойчивости, снижении двигательной компоненты ориентировочноисследовательской реакции и, как следствие снижения когнитивных функций. Выявленные различия в психофизиологическом статусе можно расценивать как отдаленные последствия многократного СВЧ-облучения в диапазоне сотовой связи. Полученные нами закономерности хорошо согласуются с результатами, представленными и другими исследователями при использовании моночастотного (2.4 ГГц) электромагнитного излучения [20]. Из опубликованных работ заслуживает внимание исследование на мелких лабораторных грызунах [21, 22], где показана прямая зависимость между количеством измененных нейронов в тканях мозга и величиной удельной поглощенной энергии. В ряде независимых исследований авторы приходят к выводу о том, что ЭМИ в диапазоне сотовой связи действует на нервные информационные пути и на области головного мозга, обеспечивающие процессы запоминания [23–25]. Необходимо отметить, ЭМИ в диапазоне сотовой связи может сказываться и на репродуктивном здоровье мужчин. Это предположение основано на результатах экспериментов на животных, когда у потомства облученных самцов регистрировали снижение выработки тестостерона и нарушение сперматогенеза [26, 27]. Одним из возможных механизмов повреждающего действия ЭМП может быть оксидантный стресс, проявление которого в ряде случаев регистрировали по реакции ферментативного звена антиоксидантной системы, росту продуктов окисления белков в гиппокампе крыс [28] и маркеров воспаления в сыворотке крови крыс [29] после длительного ЭМИ-воздействия.

Таким образом, совокупный анализ данных литературы и полученных данных экспериментальных исследований свидетельствует о наличии реакций ведущих функциональных систем развивающегося организма на повторные воздействия ЭМИ нетепловой интенсивности в режимах, близких к параметрам сотовой связи. Регистрируемые сдвиги, как правило, не выходят за пределы, допустимые для эффективных компенсаторных реакций, однако наличие этих реакций в течение достаточно длительного периода может привести к уменьшению функционального "резерва" с последующим развитием соответствующих патологических изменений. Поэтому изучаемый фактор в совокупности с многочастотным электромагнитным "шумом" можно расценить как негативный биотропный фактор внешней среды.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научно-исследовательского проекта № 18-413-40004.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Жаворонков Л.П., Петин В.Г. Влияние электромагнитных излучений сотовых телефонов на здоровье // Радиация и риск 2016. Т. 25. № 2. С. 43—56. [Zhavoronkov L.P., Petin V.G. Vliyanie elektromagnitnykh izlucheniy sotovykh telefonov na zdorov'e // Radiatsiya i risk 2016. V. 25. № 2. S. 43—56. (In Russian)]
- 2. *Жаворонков Л.П.*, *Петин В.Г.* Количественные критерии микроволнового поражения. М.: ГЕОС, 2018. 232 с. [*Zhavoronkov L.P.*, *Petin V.G.* Kolichestvennye kriterii mikrovolnovogo porazheniya. M.: GEOS, 2018. 232 s. (In Russian)]
- 3. *Григорьев Ю.Г., Бирюков А.П.* Мобильная связь и здоровье населения: к оценке риска при техногенном электромагнитном загрязнении среды // Мед.

- радиология и радиац. безопасность. 2013. Т. 58. № 6. С. 44–61. [*Grigor'ev Yu.G., Biryukov A.P.* Mobil'naya svyaz' i zdorov'e naseleniya: k otsenke riska pri tekhnogennom elektromagnitnom zagryaznenii sredy // Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'. 2013. V. 58. № 6. S. 44–61. (In Russian)]
- 4. *Hilert L., Berglind N., Arnetz B.B.* Prevalence of self-reported hypersensitivity of electric or magnetic fields in a population-based questionnaire survey // Scand. J. Work. Environ. Health. 2002. V. 28. № 1. P. 33–41.
- 5. *Johansson O.* Electrohypersensitivity: state-of-the-art of a functional impairment // Electromagn. Biol. Med. 2006. V. 25. № 4. P. 245–258.
- 6. Ziskin M. Electromagnetic hypersensitivity a COMAR Technical information Statement // IEEE Eng. Med. Biol. 2002. V. 21. № 5. P. 173–175.
- 7. *Hocking B.* Preliminary report: symptoms associated with mobile phone use // Occup. Med. 1998. V. 48. № 6. P. 357–360.
- 8. Muscat J., Malkin M. Thompson S., Shore R. et al. Handheld cellular telephones risk of brain cancer // JAMA. 2000. V. 284. № 23. P. 3001–3007.
- Hardell L., Hansson Mild K., Carlsberg M. Further aspects on cellular and cordless telephones and brain tumours // Int. J. Oncol. 2003. V. 22. № 2. P. 399–407.
- 10. Lahkola A., Auvinen A., Raitanen J. et al. Mobile phone use and risk of glioma in 5 North European countries // Int. J. Cancer. 2007. V. 120. № 8. P. 1769–1775.
- 11. *Хорсева Н.И.*, *Григорьев Ю.Г.*, *Горбунова Н.В.* Психофизиологические показатели детей-пользователей мобильной связью. Сообщение 1. Современное состояние проблемы // Радиац. биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 5. С. 611—616. [*Khorseva N.I.*, *Grigor'ev Yu.G.*, *Gorbunova N.V.* Psychophysiological indicators for children using mobile phones. Communication. 1. Current state of the problem // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya Radiation Biology. Radioecology. 2011. V. 51. № 5. P. 611—616. (In Russian)]
- 12. Хорсева Н.И., Григорьев Ю.Г., Горбунова Н.В. Психофизиологические показатели детей-пользователей мобильной связью. Сообщение 2. Результаты четырехлетнего мониторинга // Радиац. биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 5. С. 617–623. [Khorseva N.I., Grigor'ev Yu.G., Gorbunova N.V. Psychophysiological indicators for children using mobile phones. Communication. 2. Results of four-year monitoring // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya Radiation Biology. Radioecology. 2011. V. 51. № 5. P. 617–623. (In Russian)]
- 13. *Thomas S., Heinrich S., von Kries R., Radon K.* Exposure to radio-frequency electromagnetic fields and behavioral problems in Bavarian children and adolescents // Eur. J. Epidemiol. 2010. V. 25. № 2. P. 135–141.
- 14. Изместьева О.С. Биологические эффекты пролонгированного антенатального γ-облучения на фоне экспериментально индуцированных тиреопатий: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Обнинск: ГУ МРНЦ РАМН, 2000, 24 с. [Izmest'eva O.S. Biologicheskie effekty prolongirovannogo antenatal'nogo γ-oblucheniya na fone eksperimental'no indutsirovannykh tireopatiy: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Obninsk: GU MRNTs RAMN, 2000, 24 s. (In Russian)]

- 15. Изместьева О.С., Жаворонков Л.П., Семин Ю.А. и др. Экспериментальная оценка эмбриотоксического действия низкоинтенсивного ионизирующего излучения в разных периодах внутриутробного развития // Радиац. биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 1. С. 39—44. [Izmest'eva O.S., Zhavoronkov L.P., Semin Yu.A. i dr Eksperimental'naya otsenka embriotoksicheskogo deystviya nizkointensivnogo ioniziruyushchego izlucheniya v raznykh periodakh vnutriutrobnogo razvitiya // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2012. V. 52. № 1. S. 39—44. (In Russian)]
- 16. *Конописцев Л.А.* Датирование сроков беременности у крыс и влияние яйцеклеток на количество живых плодов // Онтогенез. 1975. Т. 6. Вып. 4. С. 411—413. [*Konopistsev L.A.* Datirovanie srokov beremennosti u krys i vliyanie yaytsekletok na kolichestvo zhivykh plodov // Ontogenez. 1975. V. 6. Vyp. 4. S. 411—413. (In Russian)]
- 17. Euroguide on the accommodation and care of animals used for experimental and other scientific purposes. London: FELASA, 2007.
- 18. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во "Медицина", 2005. 832 с. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv / Pod obshchey redaktsiey chlena-korrespondenta RAMN, prof. R.U. Khabrieva. 2 izd., pererab. i dop. M.: Izd-vo "Meditsina", 2005. 832 s. (In Russian)]
- 19. *Павлова Л.Н., Жаворонков Л.П., Дубовик Б.В.* Влияние низкоинтенсивного широкополосного импульсно-модулированного электромагнитного поля на когнитивные функции мозга крыс // Радиация и риск. 2013. Т. 22. № 2. С. 91—100. [*Pavlova L.N., Zhavoronkov L.P., Dubovik B.V.* Vliyanie nizkointensivnogo shirokopolosnogo impul'sno-modulirovannogo elektromagnitnogo polya na kognitivnye funktsii mozga krys // Radiatsiya i risk. 2013. V. 22. № 2. S. 91—100. (In Russian)]
- 20. DastAmooz S., Tahmasebi Boroujeni S., Shahbzi M., Vali Y. Physical activity as an option to reduce adverse effect of EMF exposure during pregnancy. // Int. J. Dev. Neurosci. 2018. № 71. P. 10–17.
- 21. Salford L., Brun A., Eberhardt J. et al. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones // Environ. Health Perspect. 2003. V. 111. № 71. P. 881–883.
- 22. *Salford L., Nittby H., Brun A. et al.* Non-thermal effects of EMF upon the mammalian brain: the Lund Experience // Environmentalist. 2007. V. 27. № 4. P. 493–500.
- 23. *Cjbb B., Jauchem O., Adair E.* Radial arm maze performance of rats following repeated low level microwave radiation exposure // Bioelectromagnetics. 2004. V. 25. № 1. P. 49–57.
- 24. *Nittby H., Grafström G., Tian D.P. et al.* Cognitive impairment in rats after long-term exposure to GSM-900 mobile Phone Radiation // Bioelectromagnetics. 2008. V. 29. № 3. P. 219–232.
- 25. Fragopoulou A., Koussoulakos I., Margaritis L. Cranial and postcranial skeletal variations induced in mouse

- embryos by mobile phone radiation // Pathophysiology. 2010. V. 17. \mathbb{N}_{2} 3. P. 169–177.
- 26. *Jin-hui Li, Da-peng Jiang, Ya-feng Wang et al.* Influence of electromagnetic pulse on the offspring sex ratio of male BALB/c mice // Environ. Toxicol. Pharmacol. 2017. V. 54. P. 155–161.
- 27. *Yang M.J.*, *Lang H.Y.*, *Miao X. et al*. Effects of paternal electromagnetic pulse exposure on the reproductive endocrine function of male offspring: a pilot study // Toxicol. Res. (Camb). 2018, V. 7. № 6. P. 1120–1127.
- 28. *Jiang D.P., Li J.H., Zhang J. et al.* Long-term electromagnetic pulse exposure induces Abeta deposition and cognitive dysfunction through oxidative stress and overexpression of APP and BACE1 // Brain. Res. 2016. V. 1. № 1642. P. 10–19.
- 29. *Bilgici B.*, *Gun S.*, *Avci B. et al.* What is adverse effect of wireless local area network, using 2.45 GHz, on the reproductive system? // Int. J. Radiat. Biol. 2018. V. 94. № 11. P. 1054–1061.

Experimental Evaluation of the Consequences of the Chronic Influence of Electromagnetic Radiation of the Mobile Communication Range in Antenatal Rat Development Period

O. S. Izmestieva^{a,#}, L. N. Pavlova^a, and L. P. Zhavoronkov^a

^aA. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

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

In the experiments on Wistar rats, the effects of chronic low-intensity microwave exposure to the cellular range (1–4 GHz) were evaluated in combination with multi-frequency pulse-modulated electromagnetic "noise" on the model of embryotoxic effects and analysis of postnatal development of irradiated offspring. It was shown that, in the absence of a visible pathology of pregnancy and childbirth, irradiated offspring in postnatal ontogenesis demonstrates deviations in the state of the central nervous system. Functional deficiency manifested itself in the form of emotional instability, a decrease in the motor component of an orienting-exploratory reaction and, as a result, a decrease in cognitive functions.

Keywords: electromagnetic radiation, cellular communication, antenatal period of development, somatic and psychophysiological development, functional imbalance

—— РАДИОЭКОЛОГИЯ

УЛК 539.163:574.6:597:581.526.3

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО НАКОПЛЕНИЮ ТРИТИЯ НЕКОТОРЫМИ ВОДНЫМИ ОРГАНИЗМАМИ: ИКРА И РЫБА (Carassius gibelio), ВОДНЫЕ РАСТЕНИЯ (Ceratophyllum и Lemna)

© 2020 г. Л. Г. Бондарева*

Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Мытищи, Россия *E-mail: lydiabondareva@gmail.com
Поступила в редакцию 04.01.2019 г.

Проведены длительные исследования по накоплению трития водными организмами: икра, водные растения, рыба, состоящие из трех этапов. В конце первой стадии (25 дней) было выявлено токсическое действие трития (5000 и 50000 Бк/л) на стадии эмбриогенеза икры карася (*Carassius gibelio*). Однако дальнейший перевод молоди рыб в условия без трития позволил вырастить физиологически нормальных особей рыб. На втором этапе тритий накапливался в биомассе водных растений *Ceratophyllum* и *Lemna*. Было обнаружено, что основное снижение содержания трития наблюдается в течение первых 48 ч после начала эксперимента (до 70%). Когда рыбы потребляли растительную пищу, обогащенную тритием (результат второй стадии эксперимента), было установлено, что до 50% общего накопленного трития находилось в мышечной ткани и 30% в печени рыбы. При этом наибольший вклад в накопление трития оказал холестерин ~30% от общего количества трития, а с учетом эфиров холестерина — 50%.

Ключевые слова: тритий, накопление, рыбы, икра, Ceratophyllum, Lemna

DOI: 10.31857/S0869803120010051

Тритий (³H) в окружающей среде, поступающий из природных и антропогенных источников, часто используется для оценки воздействия радиации на человека. Как изотоп водорода тритий может легко проникать в различные материалы окружающей среды, содержащие водород. В воде поверхностных водоемов, расположенных вне влияния предприятий ядерно-топливного цикла, концентрация ³H ("фон") в настоящее время находится в диапазоне от 1 до 4 Бк/л. В компонентах окружающей среды тритий связан с молекулами воды, называемой тритиевой водой (HTO), а также с органическими соединениями в виде органически связанного трития (ОСТ) [1–5].

Органически связанный тритий, или "органический тритий" — сумма всех атомов трития, связанных с органическими молекулами в биологических организмах. Широко признается, что органический тритий может быть разделен на две фракции [1, 2, 6]: обменная фракция и необменная фракция. Обменный органический тритий связан в соединениях главным образом с атомами кислорода, азота и находится в изотопном равновесии со свободной водой и атмосферной влагой [1, 2]. И наоборот, необменный органический тритий связан с атомами углерода, входящими в состав вещества (некоторые авторы называют эту фракцию "С-связанный тритий"), и таким обра-

зом, прочно связан с органической структурой. Он представляет собой интеграцию экологических уровней в периоды роста биологических организмов [1, 2, 6, 7].

Поведение в окружающей среде трития привело к тому, что проникновение трития в биосферу, миграцию, аккумуляцию и ассимиляцию у высших организмов, в том числе и водных, можно в целом описать поведением воды, а также метаболизмом соединений, содержащих тритийорганический углерод. Именно поэтому ³Н является биодоступным и свободно аккумулируется в высших организмах. В конечном итоге тритий поступает в организм человека [6, 7].

Независимо от пути поступления тритий равномерно распределяется по органам и тканям. Среди практически важных радионуклидов тритий является примером наименее селективного распределения в живом организме с относительно быстрым накоплением дозы во всех богатых жидкостью частях тела [8—12].

Целью данного исследования было изучение накопления трития в некоторых водных организмах (рыбе), с учетом потенциального воздействия трития на развитие икры и при приеме обогащенной тритием растительной пищи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследований был взят используемый в пищу наиболее распространенный вид рыб — карась серебряный (*Carassius gibelio*).

Среди основных факторов, повлиявших на выбор данного вида рыб для экспериментов, были следующие:

- хорошие адаптивные свойства карася;
- невысокие требования к качеству внешней среды;
- быстрая адаптация к переменам температуры воды;
- устойчивость этого вида рыб к возможным водным болезням.

В первой части эксперимента изучали влияние трития на эмбриогенез икры карася.

Для проведения экспериментов использовали промышленную оплодотворенную икру карася. Средний диаметр икринок составлял ~1 мм. В каждую модельную систему вносили до 125 г икры. В течение всего эксперимента икра находилась в водопроницаемом контейнере для предотвращения смыва икры в фильтрующее устройство. Объем водной среды в каждом случае составлял 50 л, в которую до внесения икры вносили тритий в виде тритиевой воды (НТО): 500, 5000 и 50000 Бк/л. В качестве контрольной рассматривалась система, в которую не вносился тритий, за исключением ранее присутствующего, фонового содержания (~4 Бк/л) [13, 14].

В течение всего периода эмбриогенеза (25 дней, при температуре 16.5 ± 2.5 °C) модельные системы находились в инкубационных условиях. Через 25 дней воздействия трития с разной активностью часть мальков карася были изъяты из систем с тритием и подвергнуты исследованиям.

Другая часть была помещена в аквариумы с чистой водой для доращивания и использования в следующих экспериментах и питалась чистым кормом.

В период доращивания мальки карася приобрели форму взрослой рыбы, появилась чешуя, т.е. мальки превратились в молодь карася.

На втором этапе эксперимента исследовали накопление трития зелеными водными растениями, которые в последующем были высушены и использовались в качестве добавки к пище рыбам. Экспериментальной средой служила вода, отобранная в р. Енисей. В качестве растений-гидробионтов использовали роголистник и ряску. Ряска выращена в лабораторных условиях, роголистник отобран в р. Енисей, в пункте отбора проб воды. Непосредственно перед экспериментом проводили анализ используемых водных растений для получения исходных данных по содержанию трития, микро- и макрокомпонентов.

Вода была предварительно профильтрована через мембранные фильтры с диаметром пор 0.2 мкм.

Стандарт тритиевой воды (Packard Bioscience Ltd) с концентрацией 33 кБк/мл использован для получения экспериментальных сред.

На втором этапе зеленые растения-гидробионты накапливали биомассой тритий, который был внесен в количестве $10~\rm M\, B\kappa$ на аквариум объемом $100~\rm n$. Удельная активность составила $100~\rm k\, B\kappa/n$. Тритий вносили в виде свободной тритиевой воды — HTO. Масса растений составляла (сырой вес): роголистник — $3000~\rm r$, ряски — $3000~\rm r$.

Процесс накопления растениями трития сопровождался мониторингом содержания радионуклида в водной и воздушной средах. Пробы воды отбирали из каждого аквариума с середины водного слоя с помощью черпака с длинной ручкой. Объем отобранной пробы воды составлял ~50 мл. Для определения содержания трития в камере использовали предварительно высушенный силикагель, который помещали на оптимальной высоте от уровня водного слоя (~30 см) и по мере необходимости заменяли на свежую порцию силикагеля. Тритий из вынутого силикагеля выделяли в виде поровой жидкости с использованием установки, созданной автором статьи.

Условия проведения эксперимента были следующие — климатическая камера (объемом 1.6 м³, высотой 1.3 м) использовалась для создания рабочих условий. Скорость кондиционирования воздуха была 100 л/мин. Влажность поддерживали на уровне 50–70%. Температура была около 15°C. Освещение поддерживалось двадцатью лампами 58-W Phyton.

Длительность экспериментов по накоплению трития растительной биомассой составляла от 168 ч (для ряски) до 336 ч (для роголистника). Окончание экспериментов фиксировалось по выходу на насыщение линии убыли трития из водной среды плюс период стабилизации систем.

Для изучения изменения прироста площади ряски использовали фотоаппарат SONY-A580 (Япония), делали фотографии и после считали площадь в программе ImageJ.

Для определения длины побегов роголистника использовали канцелярскую линейку.

По окончании второй стадии эксперимента растения с накопленным тритием высушивали при температуре ~ 45 °C.

После высушивания безводные концентраты зеленой массы смешивали с сухим кормом для рыб, состоящим из смеси животных и растительных остатков (1:1). Другие компоненты, входящие в корм — кукурузная мука, рыбий жир, соевый протеин, соевое масло, витамины, минералы и др. Смесь формовали в гранулы массой 0.3 г и хранили в герметичной упаковке до полного ис-

пользования в эксперименте. Содержание трития в каждой грануле составляло ~50 Бк. Гранулы не были гомогенизированы. Тритийсодержащие гранулы служили в качестве ежедневной добавки к рациону.

На третьем этапе эксперимента в аквариумы со свежеотфильтрованной водой помещали наиболее здоровую молодь исследуемого вида рыб (после первого этапа эксперимента из системы с внесением 50000 Бк/л трития) — по 10 особей в каждый аквариум. Большее количество рыб было не целесообразно из-за стесненных условий проводимых экспериментов.

На этом этапе молодь карася кормили пищей, в состав которой были включены растения с накопленным тритием: в одном аквариуме использовали в качестве добавки ряску, во втором — роголистник. Третий аквариум служил в качестве контроля.

Ежедневно скармливали рыбам в каждом аквариуме 600 Бк трития. Максимальное внесенное количество трития за 550 сут составило 330 кБк на особь.

Продолжительность третьей части эксперимента составляла 550 сут с промежуточным отбором из каждого аквариума по пять особей через 250 сут. Общая длительность третьей стадии эксперимента была выбрана с учетом того, что тритий, находящийся в необменной форме, имеет период полувыведения около 500 сут [1, 2, 8] плюс еще 50 сут, а интервал 250 сут был выбран как 1/2 от 500 сут.

Несмотря на то что количество особей карася в опытных системах через 250 сут уменьшилось, рацион оставшихся рыб никак не изменился, т.е. на каждого карася приходилось по 600 Бк трития в корме.

На каждом этапе рыб вынимали из воды и аккуратно высушивали бумажными полотенцами, но не промывали. После этого каждая особь была измерена и взвешена.

Во всех случаях проводилось препарирование всех рыб на фрагменты: чешуя, кожа с плавниками, жабры, скелет вместе с головой, мышечная масса, кишечник со всем содержимым, желудок со всем содержимым.

Мышечная масса каждой особи была взвешена и разделена на три части: из одной части определяли содержание общего трития, вторую использовали для определения содержания трития, связанного с липидами. Третью часть использовали для определения содержания трития, связанного с протеинами.

Особи, находившиеся в контрольной системе, анализировались на общее содержание липидов, золы, видов и массы белков. Данные исследования проводили в соответствии с рекомендация-

ми, разработанными для анализа рыб [8, 10, 11], а полученные результаты использовали для расчетов доли распределения трития по составным частям и соблюдения баланса по основным компонентам исследуемого организма. В составных частях экспериментальных особей определяли содержание органически связанного трития с последующей интерпретацией данных. Данный подход достаточно широко распространен в радиобиологических исследованиях ввиду сложностей детектирования трития в биологическом материале [8, 10, 11].

Особое внимание уделялось печени, которая предварительно была очищена от всех сосудов. В печени контрольных образцов определяли содержание общих липидов, белка, фосфолипидов, холестерина, триацилглицерина [15]. Полученные данные использовали при оценке вклада каждой составляющей в связывании трития.

Перед измерением пробы воды (из аквариума и выделенной из силикагеля) фильтровали через ацетат-целлюлозный фильтр с диаметром пор 0.22 мкм. Определение содержания трития в воде проводили с использованием традиционной методики [16—18].

Определение трития в образцах рыбы и ее органах

Для определения трития в твердых образцах необходимо перевести исследуемые объекты в жидкое состояние. Для этого использовали около 15 г сырого веса водных растений или рыбы (определение содержания общего трития). Каждую навеску помещали в круглодонную колбу, смешивая с толуолом в соотношении 1:10, и подвергали отгонке азеотропной смеси. Отгонка продолжалась в течение 4 ч при температуре ~70°C на установке, созданной Л.Г. Бондаревой.

После выделения жидкой фракции из исследуемых объектов аликвоту смешивали со сцинтилляционным коктейлем, либо, при необходимости, подвергали дистилляции с $KMnO_4$ для устранения опалесценции и окраски растворов [18—20]. После дистилляции также отбирали аликвоту и смешивали с коктейлем.

Содержание трития в образце рассчитывали согласно следующим рекомендациям [21, 22]:

$$c = [(R - R_0)/\varepsilon V] e^{\lambda \Delta t}, \tag{1}$$

где: c — содержание трития в образце (Бк/л); R — скорость счета в образце в секунду; R_0 — скорость счета фонового образца в секунду; ε — эффективность счета; V — объем образца в виале, π ; λ — константа распада, λ = 0.05576; Δt — интервал времени между получением образца и его измерением, год.

Метод измерения содержания трития

Содержание трития в водных средах определяли методом жидкостно-сцинтилляционной спек-

Таблица 1. Химический состав и физические показатели воды **Table 1.** Chemical and physical parameters of water

	Химический состав воды							
элемент	содержание	элемент	содержание	элемент	содержание			
	мг/л							
C	46 ± 3	Na	4.0 ± 0.2	Mg	2.1 ± 0.1			
Si	8.0 ± 0.4	S	4.2 ± 0.2	Fe	2.8 ± 0.2			
Cl	3.3 ± 0.2	Ca	1.9 ± 0.1	Al	6.2 ± 0.3			
	•	MK	г/л	'				
P	460 ± 23	Cu	1.10 ± 0.05	V	5.0 ± 0.3			
K	190 ± 8	Zn	16 ± 1	Sr	460 ± 20			
	•	НГ	/л					
Cd	180 ± 6	Bi	7.8 ± 0.4	Th	4.6 ± 0.2			
		U	160 ± 8					
	•	Бк	:/л					
$^{3}\mathrm{H}$	4 ± 2	$^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$	0.217 ± 0.098	²¹² Pb	0.165 ± 0.091			
²¹⁴ Bi	0.262 ± 0.052	²¹⁴ Pb	0.27 ± 0.09	²³⁴ Th	0.63 ± 0.42			
	Физические показатели воды							
pН	7.6	Температура, °С	~7	минерализация	0.08 г/л			

трометрии [18—20]. Предел обнаружения составлял ≤ 1 Бк/л [20].

В качестве стандарта использовали тритиевую воду с сертифицированным содержанием радионуклида — $0.1~\rm K/n$. Перед измерениями в чистые виалы наливали сцинтилляционный коктейль ($V \sim 10~\rm mn$). Охлаждали до заданной температуры в отсутствие света. Затем пипеткой отбирали необходимый объем исследуемого образца ($V \sim 10~\rm mn$) и вводили в виалу. Виалу закрывали пробкой и встряхивали до полного смешивания пробы со сцинтилляционным коктейлем. Перед измерениями смесь выдерживали в темном и прохладном месте ($t = +7°\rm C \pm 1°\rm C$) в течение 24 ч для стабилизации люминесценции [5].

Стандартные и фоновые пробы готовили одновременно с основными пробами, чтобы свести к минимуму ошибку измерения. Время измерения исследуемых проб составляло 8—24 ч.

Содержание трития в исследуемых пробах измеряли с использованием жидкостно-сцинтилляционного спектрометра Quantuluse-1220, США (Центр коллективного пользования Красноярского научного центра СО РАН).

Фоновые значения содержания трития в воде определены в интервале 0.926—1.002 СРМ, эффективность счета рассчитана согласно стандартному методу [23] и составила 25.37—26.10%.

Статистические расчеты

Статистическую обработку результатов коли-

чественного, химического, биологического и токсикологического анализов проводили с использованием методов кластерного, факторного и регрессионного анализа с помощью программного продукта STATISTICA 6.0 [24]. Анализ проводили после проверки нормальности распределения, данные с большими разбросами относительно среднего нормализовали по формуле $Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$, где X — нормируемая величина, μ — среднее арифметическое распределения. Достоверность полученных результатов оценивали с использованием коэффициента Стьюдента (p <

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 приведены химический состав и физические показатели воды, используемой в настоящих исследованиях.

В экспериментах также контролировались следующие параметры воды: растворенный кислород, температура, pH, электропроводность, содержание NO_2^- , NH_3/NH_4^+ , NO_3^- .

1. Изучение влияния трития на развитие икры

Эмбриональный период развития — это не только выход зародыша из оболочки, он также

< 0.05) [24].

Таблица 2. Эффект действия тритиевой воды на развитие икры, через 25 дней после начала эксперимента **Table 2.** The effect of tritium water on the development of eggs, 25 days after the start of the experiment

Удельная активность трития, Бк/л	Количество икринок, шт.	Количество погибших икринок, шт. $(%)$	Количество икринок с аномальным развитием, шт. (%)
Контроль	3500 ± 150	$280 \pm 20 (9)$	250 ± 15 (7)
500	7600 ± 200	$850 \pm 15 (11)$	$750 \pm 20 (10)$
5000	3500 ± 100	$700 \pm 10 \ (20)$	$1100 \pm 100 (30)$
50000	4400 ± 200	$950 \pm 30 \ (20)$	$1400 \pm 50 (30)$

Таблица 3. Длина мальков рыбы разного возраста **Table 3.** The length of young fish in deferent age

			Длина, мм		
Модельная система	Возраст мальков, сут	Количество, шт.	средняя (разница по отношению к контролю, %)	диапазон	
Контроль	35	800 ± 50	17 ± 1	16.8-17.4	
50000 Бк/л		850 ± 50	18 ± 1	17.6-18.1	
			$(1.1 \pm 0.2\%)$		
Контроль	76	500 ± 50	28.3 ± 2.8	27.8-28.9	
50000 Бк/л		500 ± 50	28.4 ± 2.4	28.0-28.9	
			$(0.4 \pm 0.1\%)$		
Контроль	125	210 ± 30	65.7 ± 6.6	65.0-67.0	
50000 Бк/л		210 ± 30	70.6 ± 6.7	69.6-77.5	
			$(9.7 \pm 0.3\%)$		
Контроль	150	75 ± 15	80.3 ± 8.6	88.3-92.2	
50000 Бк/л		100 ± 15	81.7 ± 7.9	70.1-93.3	
			$(2.2 \pm 0.2\%)$		

Примечание. Доращивание в чистой воде и на чистом корме.

включает в себя период в течение некоторого времени после выклева, пока предличинка, обладая еще рядом эмбриональных особенностей строения органов дыхания, кровообращения и пищеварения, проходит заключительные этапы эмбрионального развития. По окончании первого этапа в каждой экспериментальной системе рассчитывали количество погибшей икры, количество мальков с аномалиями в развитии и количество мальков с развитием, близким к физиологическому. Результаты приведены в табл. 2.

По истечению 25 сут и появлению основной массы мальков часть их подвергалась исследованиям (взвешивание, определение длины и пр.).

По результатам оценки внешних признаков, на уровне воздействия трития, примерно равному (5000 Бк/л) или превышающего (в 6.5 раз) уровень вмешательства (7700 Бк/л), явный радиационный эффект проявляется только на стадии развития икры. При этом доля погибших икринок и

мальков с аномальным развитием в системах с $5000~\rm{ Kk/n}$ и $50\,000~\rm{ Kk/n}$ сопоставима.

Большая часть мальков из варианта с внесением 50 000 Бк/л была помещена в чистую среду (чистая вода, чистый корм), где оставалась для подращивания и последующего использования. Мальки из модельных систем с внесением 500 и 5000 Бк/л в дальнейших исследованиях не использовали.

В табл. 3 приведены результаты изменения длины мальков в условиях доращивания в чистой воде, где в качестве пищи использовали чистый корм. В таких условиях мальки находились в течение 150 дней, до начала проведения третьего этапа эксперимента.

Как видно из результатов, представленных в табл. 3, максимальная разница длины выявлена только у мальков на 125-е сут (9.7%), однако на 150-е сут эта разница уменьшилась в несколько раз. Длина мальков из опытной системы отлича-

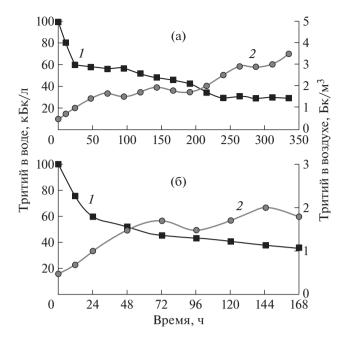


Рис. 1. Динамика изменения содержания трития в воде экспериментальных систем (I) и в воздухе климатической камеры (2): a-c роголистником, b-c ряской.

Fig. 1. Dynamics of changes in the tritium content in the water of the experimental systems (1) and in the air of the climate chamber (2): a - with Ceratophyllum, b - with Lemna.

лась от мальков контрольной системы в пределах погрешности.

Так как молодь рыбы после 150 сут. доращивания использовалась в третьей стадии эксперимента, морфологические параметры изучали на ограниченном количестве рыб. Отобранные образцы молоди использовали в том числе и при определении химического состава.

2. Накопление трития водными растениями

На рис. 1 приведена динамика убыли трития в воде на этапе накопления трития исследуемыми гидробионтами и содержание трития в атмосфере климатической камеры.

Как можно заметить, основная убыль трития наблюдалась первые 48 ч от начала эксперимента, затем проходил добор радионуклида биомассой. Общая убыль трития составила от 60 до 70% от исходной активности для ряски и роголистника соответственно.

Условия проведения экспериментов были выбраны оптимальными, следствием чего было минимальное испарение с поверхности аквариумов, на это указывают показатели гигрометра, которые варьировали в диапазоне погрешности, установленной для данного вида оборудования. Влажность в течение всего времени эксперимен-

тов не превышала 70%. На оптимальность выбранных условий окружающей среды в климатической камере указывает отсутствие резких перепадов определяемых содержаний трития в воздухе камер (кривые 2, рис. 1).

В табл. 4 приведены результаты определения морфологических показателей биомассы исследуемых растений и распределение трития в виде свободной тритиевой воды и ОСТ.

Из представленных результатов видно, что доля трития в виде ОСТ в биомассе растений составила 19—21% от общего содержания трития, которое накопилось в ходе экспериментов (табл. 4).

При этом внешний вид и морфология практически всех растений были удовлетворительны, наблюдался заметный прирост биомассы (табл. 4).

3. Накопление трития в системе водные растения—рыба

Перед началом третьего этапа исследований было проведено определение концентрации ряда химических элементов и трития в биомассе рыб. Результаты приведены в табл. 5.

В табл. 6 представлены данные изменения морфологических параметров исследуемых рыб при проведении третьей стадии исследований.

Из представленных результатов можно заметить, что рыбы развивались достаточно хорошо. Это видно по увеличению массы и длины особей (табл. 6). При этом вес и длина рыб в контрольной и опытных системах были сопоставимы, т.е. варьировались в пределах погрешности.

В связи с тем, что условия содержания рыб были более благоприятными (достаточное количество пищи, оптимальный режим освещения и температуры, циркуляция воды в аквариумах) по сравнению с естественными, наблюдался достаточно быстрый набор веса [25].

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что потребление рыбной продукции возрастает во всем мире. Количество и качество этого продукта зависят от вида рыбы, а также от природы ее происхождения (выращенная в естественных или в искусственных условиях). В количественном соотношении содержание мышечной ткани каждой особи варьирует в пределах 40—50% от общей массы рыбы. Следовательно, при потреблении рыбы человеком основной дозообразующей частью является, главным образом, мышечная ткань.

В соответствии с этим нами были проведены исследования по связыванию трития именно с этой частью рыб (табл. 7), а также была определена доля трития, связанного с печенью.

Таблица 4. Динамика изменения морфологических параметров биомассы исследуемых растений и распределения трития по формам нахождения

Table 4. Dynamics of changes in the morphological parameters of the studied aquatic plants and the distribution of tritium in the forms of location

Вариант	Пания он/п	Ілина, см/площадь, см ² Масса, г (сырой вес)		Содержание	трития, кБк/	кг сырого	веса (%)	
опыта	длина, см/п	лощадь, см	масса, г (сырой вес)		H	ГО	OBT	
	Pоголистник $(n=10)$							
Контр.	0 ч	336 ч	0 ч	336 ч	0 ч	336 ч	0 ч	336 ч
	$(5 \pm 1)/-*$	$(8 \pm 2)/-*$	2.5 ± 0.6	5.7 ± 0.5	$(1.0 \pm 0.2) \times$	$(1.0 \pm 0.3) \times$	<МДА**	<МДА
					$\times 10^{-3}$	$\times 10^{-3}$		
					(100)	(100)		
Эксп.	$(5 \pm 1)/-$	$(10 \pm 1)/-$	2.5 ± 0.7	8.4 ± 0.8	$(1.0 \pm 0.2) \times$	22 ± 1	<МДА	6 ± 1
					$\times 10^{-3}$	(79)		(21)
					(100)			
			Ря	ска $(n = 50)$	•	•		•
Контр.	0 ч	168 ч	0 ч	168 ч	0 ч	168 ч	0 ч	168 ч
	$-/(0.10 \pm 0.06)$	$-/(0.18 \pm 0.07$	0.12 ± 0.05	0.17 ± 0.05	$(0.9 \pm 0.5) \times$	$(0.8 \pm 0.6) \times$	<МДА	<МДА
					$\times 10^{-3}$	$\times 10^{-3}$		
					(100)	(100)		
Эксп.	$-/(0.11 \pm 0.07)$	$-/(0.25 \pm 0.05)$	0.12 ± 0.06	0.21 ± 0.03	$(0.9 \pm 0.5) \times$	17 ± 1	<МДА	4 ± 1
					$\times 10^{-3}$	(81)		(19)
					(100)			

^{*} Не определяли.

Таблица 5. Результаты анализа исходных образцов рыб (n = 70) **Table 5.** Results analysis of initial samples of fish

	Радионуклиды			Содержание		
	³ H			<МДА		
		мг/кг сы	рого веса			
элемент	содержание	элемент	содержание	элемент	содержание	
Na	73 ± 3	Mn	2 ± 1	Cu	0.8 ± 0.2	
K	54 ± 4	P	14 ± 2	Cl	10 ± 1	
C	46 ± 5	S	15 ± 3	Ca	14 ± 1	
Fe	11 ± 2	Si	27 ± 4	Mg	7 ± 2	

Таблица 6. Изменение морфологических параметров исследуемых особей карася (n = 5) в контрольной и опытных системах

Table 6. Changes in the morphological parameters of the fish samples in control and test systems

Параметры	Исходные	Исходные 250-е сутки					
контроль							
Масса, г	120 ± 17	500 ± 55	800 ± 110				
Длина, см	17 ± 3	35 ± 5	60 ± 6				
Опыт: ряска/роголистник							
Масса, г	$121 \pm 16/122 \pm 15$	$508 \pm 60/504 \pm 55$	$805 \pm 110/802 \pm 108$				
Длина, см	$16 \pm 2/17 \pm 2$	$34 \pm 5/37 \pm 6$	$61 \pm 5/63 \pm 6$				

^{**} МДА — минимально детектируемая активность.

	Удельная активность, кБк/кг (%)				
Фрагмент рыбы	вариант с рогол	истником $(n=5)$	вариант с ряской $(n = 5)$		
	0 ч	550 сут	0 ч	550 сут	
Вся рыба	<МДА	7.8 ± 1.1	<МДА	8.4 ± 0.9	
Мышечная ткань (доля от	<мда	4.2 ± 0.7	<МДА	4.7 ± 0.7	
всего содержания в рыбе, %)		(54 ± 5)		(56 ± 2)	
Печень	<мда	2.7 ± 0.9	<МДА	3.0 ± 0.8	
		(34 ± 3)		(36 ± 5)	

Таблица 7. Уровни накопления трития мышечной тканью и печенью рыбы и суммарное содержание трития в рыбе Table 7. The levels of accumulation of tritium by muscle tissue and liver of fish and the total tritium content of the whole fish

Как видно из представленных результатов, мышечная ткань накапливает большую долю трития, поглощенного всей рыбой (до 56%), при этом доля накопленного трития не зависит от пищи, которая употреблялась рыбой. В обоих случаях с печенью было связано около 35% от всего накопленного рыбой трития.

В табл. 8 приведены данные по содержанию воды, общих липидов, белков и их фракций в печени рыб в конце всего эксперимента.

Полученные результаты указывают на незначимый разброс показателей в выделенных фракциях липидов и белка. В связи с этим оценку вклада каждой из выделенных фракций печени на накопление трития проводили по усредненному показателю (табл. 9).

Представленные результаты свидетельствуют о том, что тритий накапливается в печени, преимущественно связываясь жировыми тканями, в состав которых входят липиды (~39%). Чуть меньше трития связано с белками (~19%). Меньше всего трития находится в виде свободной воды (~3% от всего содержания трития в печени).

Таблица 8. Пределы биохимических показателей печени у образцов рыб (n = 5)

Table 8. The limits of biochemical parameters of the liver in fish samples (n = 5)

№	Показатели	%					
	$\%$ от сырой массы ткани, (5 \pm 1) г						
1	Общие липиды	16-18					
2	Белок	10-12					
3	Вода	70					
	% от сухой массы, (1.5	± 0.2) г					
4	Фосфолипиды	12-13					
5	Холестерин	11-15					
6	Триацилглицерины	25-27					
7	Эфиры холестерина	43-45					

Неучтенное содержание трития, накопленное печенью, связано с неидентифицированными веществами, входящими в состав печени.

Печень является самым крупным из паренхиматозных органов. Она выполняет ряд функций:

- 1) принимает и распределяет вещества, поступившие в организм из пищеварительного тракта, которые приносятся с кровью. Эти вещества проникают в гепатоциты, подвергаются химическим превращениям и в виде промежуточных или конечных метаболитов поступают в кровь и разносятся в другие органы и ткани;
 - 2) служит местом образования желчи;
- 3) синтезирует вещества, которые используются в других тканях;
- 4) инактивирует экзогенные и эндогенные вещества, а также гормоны.

Такое разнообразие функций обусловлено особенностями строения печени и ее отдельных клеток.

Печень имеет очень высокий уровень метаболической активности. В печени реэстерифицируются липиды пищи, откуда они разносятся кровью в другие ткани и жировые депо, а мобилизующие из депо липиды вновь переносятся в печень — основное место их окисления и синтеза [26, 27]. Был выявлен рост уровня трития в мышечной массе рыб, связанного с липидами, до 39% от содержания трития всей рыбы, и больший вклад липидов, входящих в состав печени, в накопление трития (~39% от общего содержания трития в печени).

Количество фосфолипидов в тканях, по сравнению с другими фракциями, в меньшей степени связано с физиологическим состоянием рыб. Оно не зависит от особенностей питания [26, 27]. Поскольку условия содержания всех рыб было одинаковым, то и содержание фосфолипидов имеет низкую вариативность, что влияет и на долю связывания трития этой фракцией, максимум которой составил 7.9%.

Использование холестерина в процессах биосинтеза, а также в регуляции мембран является причиной пристального внимания к оценкам доли связывания трития. В проведенных экспериментах был выявлен наибольший вклад в накопление трития именно холестерином (~30%). С учетом эфиров холестерина доля связывания трития достигает 50% (в пересчете на сухую массу) от всего накопленного печенью трития.

В период интенсивного накопления веса липиды запасаются в депо в виде триацилглицеринов. В связи с тем, что рацион питания и режим содержания особей рыб не менялись в течение всего срока проведения эксперимента, то и содержание триацилглицеринов увеличивалось. На это указывает общий прирост массы мышечной ткани рыб, особенно увеличение содержания липидов. Эта закономерность была перенесена и на исследуемый орган – печень. Следовательно, увеличение содержания трития в триацилглицерине имеет прямую зависимость от содержания липидов в печени. Увеличение доли необменного органически связанного трития как в печени, так и во всем организме в целом увеличивает радиотоксичность трития по сравнению со свободной тритиевой водой.

Важную роль в физико-химических процессах, сопровождающих распад трития, играет перераспределение электронной плотности в среде. Атом трития при распаде излучает В-частицу, кроме того образуется ³He, который и химически, и физически отличается от атома водорода. Частица ³Не чрезвычайно активна и склонна к акцептированию электрона из окружающей среды (например, ближайшей органической молекулы) с образованием устойчивой оболочки инертного газа. При этом инициируются катион-радикалы различной активности. Таким образом, продукты бета-распада трития способны запускать (или активировать) цепи переноса заряда/электрона в биохимических процессах. ³Не, образованный вместо включенного нуклида водорода, создает ситуацию, когда электрон-нейтральная биологическая макромолекула приобретает положительный заряд. Это приводит к увеличению ее химической активности, последствия которой могут быть неконтролируемыми и, чаще всего, очень негативными. Примером такого процесса являются трансмутационные генетические эффекты у живых организмов [28–30].

Таким образом, проведенные исследования, на примере распространенного вида пресноводных рыб (карася серебряного *Carassius gibelio*), показали важность изучения поведения трития в живых организмах.

Таблица 9. Содержание трития в составных частях печени рыб, Бк/г (% к общему содержанию трития в печени), (n = 5)

Table 9. Determination of tritium content in fish liver components, Bq/g (% of total tritium content in the liver).

	Опыты с ряской	Опыты с роголистником
Сыра	ая масса, Бк/г (%	6)
Вода	0.022 ± 0.003	0.022 ± 0.002
	(3)	(3)
Общие липиды	0.303 ± 0.007	0.294 ± 0.008
	(39)	(39)
Общие белки	0.146 ± 0.006	0.136 ± 0.007
	(19)	(18)
Суха	я масса, Бк/г (%	())
Фосфолипиды	0.104 ± 0.009	0.106 ± 0.008
	(7.8)	(7.5)
Холестерин	0.398 ± 0.005	0.411 ± 0.008
	(30)	(29)
Триалглицерины	0.261 ± 0.015	0.286 ± 0.014
	(19.5)	(20.7)
Эфиры холестерина	0.274 ± 0.010	0.300 ± 0.011
	(20)	(21)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных долгосрочных модельных экспериментов по накоплению трития некоторыми водными организмами — икра и рыба карася серебряного (*Carassius gibelio*), водные растения — *Ceratophyllum* и *Lemna*, получено следующее:

- 1. Набольший эффект, связанный со смертностью икры *Carassius gibelio* и аномальным развитием мальков, проявляется в системах, содержащих тритий в концентрациях 5000 и 50000 Бк/л. Для концентрации 500 Бк/л трития видимый эффект не выявлен, так как данные сопоставимы с результатами, полученными для контрольной системы.
- 2. При доращивании мальков, после воздействия водной среды, содержащей 50000 Бк/л трития, в чистой системе, длина и вес молоди карася сопоставимы с образцами из контрольной системы.
- 3. Накопление трития водными растениями *Ceratophyllum* и *Lemna* происходит в течение первых 48 час. от внесения растений в модельную систему. По окончанию эксперимента высушенная биомасса использовалась как наполнитель корма для рыб.
- 4. При употреблении обогащенной тритием растительной пищи выявлено, что при хрониче-

ском поступлении трития в течение 550 сут. основное количество накопленного трития обнаружено в мышечной ткани рыб (\sim 55%) и печени (\sim 35%). При этом до 39% от накопленного печенью трития связано с жировой тканью печени.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Роспотребнадзора.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- EPA 680\4-74-001. Accumulation of tritium in various species of fish reared in tritiated water. Program Element 1HA325. 20 p.
- Fecundity and Fertility. Proc. Workshop on Tritium Radiobiology and Health Physics. Oct 1981 / Eds Matsudaira et al. (NIRS-M-41. Chiba 260, Japan). P. 207–220.
- 3. Effects of Ionizing Radiation on Aquatic Organisms. NCRP Report № 109. Bethesda, Maryland, USA, 1991. 115 p.
- Effects of radiation on the environment. UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly with Scientific Annexes. V. II. Scientific Annex E. Effect of ionizing radiation on non-human biota. New York: United Nations, 2011. 164 p.
- NCRP. Tritium in the Environment. National Council on Radiation Protection and Measurements, Report № 109. Washington, DC. 1979. 62 p.
- Иваницкая М.В., Малофеева А.И. Источники поступления трития в окружающую среду // Тритий это опасно. Челябинск, 2001. С. 22—29. [Ivanitska-ya M.V., Malofeeva A.I. Sources of tritium in the environment // Tritium is dangerous. Chelyabinsk, 2001. P. 22—29. (In Russian)]
- 7. Дозиметрический и радиометрический контроль при работе с радиоактивными веществами и источниками ионизирующих излучений: метод. руководство: В 2 т. / Под общей ред. В.И. Гришмановского. Т. 2: Индивидуальный контроль: Радиометрия проб. М.: Энергоиздат, 1980. 204 с. [Dosimetric and radiometric control when working with radioactive substances and sources of ionizing radiation: method. guide: in 2 t. / Under the general ed. I.V. Grishmanovsky. M.: Energoizdat, 1980. V. 2: Individual control: Radiometry of samples. 204 p. (In Russian)]
- 8. *Melintescu A., Galeriu D.* Dynamic model for tritium transfer in an aquatic food chain // Radiat. Environ. Biophys. 2011. V. 50. P. 459–473.
- ISO/DIS 20079. Water quality Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (Lemna minor) — Duckweed growth inhibition test. Reference number ISO 20079:2005(E).
- Galeriu D. Tritium. Radionuclides in the Environment / Ed. D.A. Atwood. West Sussex, England: John Wiley& Sons Ltd., 2010. P. 47–65.
- 11. McCubbin D., Leonard K.S., Bailey T.A. et al. Incorporation of organic tritium (³H) by marine organisms and

- sediment in the severn estuary / Bristol channel (UK) // Mar. Pollut. Bull. 2001. V. 42. № 10. P. 852–863.
- 12. *Murphy C.E.* Tritium transport and cycling in the environment // Health Phys. 1993. V. 65. P. 6683–6697.
- 13. *Bondareva L., Schultz M.K.* Investigation of the tritium content in surface water, bottom sediments (zoobenthos), macrophytes, and fish in the mid-stream region of the Yenisei River (Siberia, Russia) // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2015. V. 22. № 2. P. 18127—18136.
- Bondareva L. Tritium in the freshwater ecosystem of the Yenisei River: behavior, accumulation, and transformation // Tritium: Advance in Research and Application / Ed. Jankovic. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2018. pp. 47–98.
- 15. Практикум по биохимии: Учеб. пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во МГУ, 1989. 509 с. [Workshop on biochemistry: Studies. Allowance / Ed. S.E. Severin, G.A. Solovieva. М.: Publishing House of Moscow State University, 1989. 509 p. (In Russian)]
- UNSCEAR Document A/AC.82/R.360: Contamination from Nuclear Explosions, UNSCEAR, March 1979.
- 17. The Tritium Systems Test Assembly at the Los Alamos National Laboratory, Los Alamos National Security, Benefits LANL, NNSA & National Security, DOE, 2002. 36 p.
- 18. Tritium measurement techniques: Recommendations of the National Council on Radiation Protection and Measurements (NCRP report; no. 47) Paperback 1976. 99 p.
- Bondareva L. Natural occurrence of tritium in the ecosystem of the Yenisei River // Fus. Sci. Technol. 2011. V. 4. P. 1304–1307.
- 20. *Pointurier F., Baglan N., Alanic G.* A method for the determination of low-level organic-bound tritium activities in environmental samples // Appl. Radiat. Isotop. 2004. V. 61. Issues 2–3. P. 293–298.
- 21. NCRP. Tritium in the Environment. National Council on Radiation Protection and Measurements. Report № 62. Bethesda MD US, 1979. 24 p.
- 22. NCRP Tritium and Other Radionuclide Labelled Organic Compounds Incorporated in Genetic Material. National Council on Radiation Protection and Measurements. Report №63. Bethesda MD US, 1979. 31 p.
- ISO 9698: 2010. Water quality Determination of tritium activity concentration – Liquid scintillation counting method. 24 p.
- 24. *Боровиков В.П.* STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. СПб.: Питер, 2003. 688 с. [*Borovikov V.P.* STATISTICA. The art of analyzing data on a computer: For professionals. St. Petersburg: Piter, 2003, 688 p. (In Russian)]
- 25. *Привезенцев Ю.А., Власов В.А.* Рыбоводство. М.: Мир, 2004. 456 с. [*Privezentsev Yu. A., Vlasov V. A.* Fish breeding. M.: Mir, 2004. 456 p. (In Russian)]
- 26. Baumgartner F. Theoretical Foundation and Experimental Proof of the Accumulating Transfer of Tritium from Water into DNA and other Biomolecules in vitro and in vivo // Radiat. Biol. Radiol. 2002. V. 40. № 5. P 495–499.

- 27. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Учебник / Под ред. акад. АМН СССР Дебова С.С. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 1990. 528 с. [Berezov T. T., Korovkin B. F. Biological chemistry. Textbook / Ed. Acad. USSR Acad. of Medical Sciences Debov S.S. 2nd ed. M.: Medicine, 1990. 528 p. (In Russian)]
- Ueno A.M. et al. Cell killing and mutation to 6-thioguanine resistance after exposure to tritiated amino acids and tritiated thymidine in cultured mammalian cells // Tritium Radiobiology and Health Physics / Ed. S. Oka-
- da. Proceedings of Third Japan-US Workshop, Kyoto, Japan, 1988. IPPJ-REV-3.
- 29. *Tano S*. Effects of low dose tritiated water and tritium labelled compounds on the induction of somatic mutations in Tradescantia // Radiat. Prot. Dos. 1986. V. 16. № 1–2. P. 141–144.
- 30. *Hyodo-Taguchi Y*. Tritium effects on the gonads of aquarium fish, Oryzias latipes. 1. Fecundity and fertility. Proc. Workshop on Tritium Radiobiology and Health Physics. Oct 1981 / Eds Matsudaira et al. (NIRS-M-41. Chiba 260, Japan). 1985. P. 207–220.

Study of the Accumulation of Tritium in Some Aquatic Organisms: Eggs and Fish (*Carassius gibelio*), Aquatic Plants *Ceratophyllum* and *Lemna*

L. G. Bondareva#

Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman,
Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

#E-mail: lvdiabondareva@gmail.com

The long-term studies on the tritium accumulation in the organisms: eggs, plants, fish consisting of three stages were performed. At the end of the first stage (25 days), the toxic effect of tritium (5000 and 50000 Bq/l) at the stage of embryogenesis of the crucian eggs (*Carassius gibelio*) was revealed. However, further transfer of the juvenile fish into the conditions without tritium allowed one to grow physiologically normal fish individuals. At the second stage tritium was accumulated by the biomass of the aquatic plants *Ceratophyllum* and *Lemna*. It was found that the main tritium decrease was observed in the first 48 hours after the beginning of the experiment (up to 70%). When the fish consumed the tritium-containing food prepared with the addition of the plants from the second stage of the experiment, it was established that up to 50% of the total accumulated tritium was located in the muscle tissue and 30% in the fish liver. Here, the biggest contribution into the tritium accumulation was found to be made by cholesterol (\sim 30%, and taking into account the cholesterol ethers -50%).

Keywords: tritium, accumulation, fish, eggs, Ceratophyllum, Lemna

——— РАДИОНУКЛИДЫ **——**

УДК 539.163:58.009:631.4:582.475.4

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ 90 Sr В КОРНЕВОЙ СИСТЕМЕ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ЧЕРНОБЫЛЬСКИХ ВЫПАДЕНИЙ

© 2020 г. О. Б. Цветнова^{1,*}, А. И. Щеглов¹, С. Р. Бесаева¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия *E-mail: tsvetnova@mail.ru
Поступила в редакцию 21.03.2019 г.

Рассматриваются особенности накопления и распределения 90 Sr в корнях сосны обыкновенной в условиях загрязненных сосняков Брянского Полесья. Установлено, что удельная активность 90 Sr в корнях сосны неодинакова и меняется в зависимости от их диаметра и глубины распространения: максимальный показатель отмечается во фракциях <3 мм, минимальный ->20 мм; с глубиной удельная активность 90 Sr в соответствующих фракциях корней заметно уменьшается. Показано, что перенос радионуклидов корневыми системами растений наиболее значим для 90 Sr по сравнению с 137 Cs, вклад корней в общее загрязнение 90 Sr 0-30 см слоя почв сосняка в 3 раза выше, чем 137 Cs (соответственно 3 и 1%). Определено, что относительное распределение запасов 90 Sr в корнях в лесных экосистемах Брянского Полесья в настоящее время не аналогично распределению запасов его химического аналога — кальция.

Ключевые слова: корни, сосна обыкновенная, 90 Sr, удельная активность, Ca, запасы, вклад, Брянское Полесье

DOI: 10.31857/S0869803120010154

В работах, посвященных вопросам перераспределения радиоактивных элементов, было показано, что одним из факторов, обусловливающих этот процесс, является перенос радионуклидов корневыми системами растений. Установлено, что удельная активность ¹³⁷Сѕ и ⁹⁰Ѕг в корнях, как правило, выше таковой в надземной части растений, а также прилегающей минеральной толще почв, причем с глубиной данные различия нарастают. В целом общей закономерностью для различных видов древесных растений было то, что наибольшая активность радионуклидов, в частности, ¹³⁷Сѕ, в подземной части характерна для мелких корней и примерно в 2–4 раза меньшая – для крупных [1–5] и др.

В последнее время интерес к роли корневых систем в перераспределении техногенных радионуклидов в почвенном профиле возрос. Было подтверждено, что накопление ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr в корнях различается в зависимости от их размера [6], типа почв [7], массы корней, подвижности элементов питания [8], конкуренции с основными ионами, находящимися в системе "почва—растение", влияния ризосферных процессов и почвенных микроорганизмов на биологическую доступность этих радионуклидов, наличия факторов, обусловливающих перенос элементов и поглоще-

ние их корнями, а также процессов, влияющих на долговременную динамику поглощения [9–12] и др.

В более детальных исследованиях, посвященных особенностям распределения ¹³⁷Сѕ в корнях, было показано, что удельная активность этого радионуклида в корнях меняется в зависимости от их диаметра и глубины распространения: наименьшие показатели отмечаются в крупных (>20 мм), а наибольшие — в мелких (<3, 3—10 мм) фракциях корней. Кроме того, был оценен вклад корней в общие запасы ¹³⁷Сѕ в корнеобитаемой толще различных биогеоценозов зоны радиоактивного загрязнения и установлено, что с глубиной эта величина возрастает [13].

Вместе с тем исследований подобной направленности по распределению другого дозообразующего радионуклида чернобыльского выброса — 90 Sr — в корнях древесных растений в зависимости от их диаметра, глубины проникновения и ряда других факторов не так много. Также практически не проводилась корреляция между распределением в различных фракциях корней 90 Sr и его химического аналога Са на стадии квазидинамического равновесия.

В связи с этим целью данной работы была сравнительная оценка накопления и распределения $^{90}{\rm Sr}$ и Ca во фракциях корней древесных рас-

Таблица 1. Удельная активность 90 Sr в различных фракциях корней сосны и удельная активность и запасы (плотность загрязнения) 90 Sr в 0-30-сантиметровой толще почв сосняка **Table 1.** Specific activity of 90 Sr in different fractions of pine roots and specific activity and the 90 Sr deposition in 0-30-cm

soil layer of pine forest

	Удельная активность и плотность загрязнения почв		Удельная активность корней, кБк/кг				
Глубина, см			фракции корней, мм				
	кБк/кг	кБк/м ²	<3	3-10	10-20	>20	
0-10	3.58 ± 0.9	53.8	3.24 ± 0.41	2.18 ± 0.27	0.55 ± 0.07	0.60 ± 0.08	
10-20	2.10 ± 0.7	31.4	2.33 ± 0.35	1.30 ± 0.16	_*	0.87 ± 0.09	
20-30	0.08 ± 0.03	14.8	1.46 ± 0.16	0.96 ± 0.14	_*	0.54 ± 0.06	

^{*}Данные фракции были отобраны в количестве, недостаточном для проведения анализа.

тений, локализованных на различных глубинах, в лесных экосистемах наиболее загрязненных регионов Российской Федерации в отдаленный период после чернобыльских выпадений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводили в период 2017—2018 гг. в сосняке-зеленомошнике 70-80-летнего возраста на участке стационарного радиоэкологического полигона, заложенного в 1988 г. на территории Брянской области (Красногорское лесничество), характеризующейся наиболее высокими уровнями радиоактивного загрязнения в пределах РФ. Доминирующей породой древесного яруса данного растительного сообщества является сосна обыкновенная (Pinus sylvestris L.). На участке сформированы слабоподзолистые иллювиальножелезистые песчаные почвы на флювиогляциальных отложениях [14], которые характеризуются низким содержанием гумуса, кислой реакцией среды, ненасыщены основаниями, обеднены элементами питания, в составе ППК основными обменными катионами являются Ca и Mg [10].

Для оценки удельной активности ⁹⁰Sr и содержания его химического аналога – Са в корнях сосны различного диаметра проводили их отбор по общепринятым методикам [15]. Для этого на площадке выбирали модельное дерево сосны, в направлении от ствола которого закладывали траншею на ширину кроны. Из траншеи послойно отбирали образцы почвы с корнями растений. Отбор корней производили из 0-10, 10-20 и 20-30-сантиметровых слоев корнеобитаемой толщи почв. Методика отбора включала послойное снятие почвы с последующей отмывкой корней различного диаметра. Почву после замачивания промывали на наборе сит с различными диаметрами, что позволило разделить корневую массу на следующие фракции: <3 мм — тонкие сосущие корни; 3-10 мм — ростовые корни; 10-20 мм — крупные ростовые корни; >20 мм — корни, выполняющие опорную функцию. Затем определяли биомассу каждой фракции в различных слоях [13]. Одновременно с отбором проб корней из каждого 0—10-сантиметрового слоя осуществляли отбор образцов почвы для определения удельной активности 90 Sr и содержания Ca.

Измерение удельной активности 90 Sr во всех пробах осуществляли после их радиохимической подготовки, результатом которой было получение счетного образца — оксалата кальция с соосожденным 90 Sr [16]. Измерения проводили на спектрометрической установке МКС-01A "Мультирад" (Россия) в 3—5-кратной повторности. Ошибка измерения — 10-15%.

Определение количества обменного кальция в почвах осуществляли атомно-абсорбционным методом в солевой вытяжке 1 н КС1; в образцах корней растений — после сухого озоления [17] и растворения в 6 моль/л НСІ методом комплексонометрического титрования трилоном Б с индикатором мурексидом [18].

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с помощью стандартных пакетов программ. В расчетах запасов ⁹⁰Sr и Са использовали данные по фитомассе различных фракций корней, полученные нами ранее [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что удельная активность 90 Sr в различных слоях 0-30 см толщи почв колеблется от 0.08 до 3.58 кБк/кг с максимальными показателями в верхнем 0-10 см слое. Суммарная плотность загрязнения исследуемой толщи почв сосняка по 90 Sr составляет 66.48 кБк/м² (табл. 1). При этом основной запас радионуклида сосредоточен в слое 0-10 см (лесная подстилка и подстилающая минеральная толща) -53.8%.

Полученные нами данные по распределению ⁹⁰Sr в подземных органах сосны обыкновенной свидетельствуют, что величина удельной активности данного радионуклида варьирует в зависи-

Таблица 2. Содержание кальция в корнях сосны обыкновенной, % на абсолютно сухое вещество **Table 2.** Calcium content in the roots of Scots pine, % of a completely dry substance

Фракция	Глубина, см				
корней, мм	0-10	10-20	20-30		
<3	0.65 ± 0.06	0.57 ± 0.06	0.37 ± 0.04		
3-10	0.50 ± 0.06	0.32 ± 0.04	0.24 ± 0.03		
10-20	0.19 ± 0.03	_*	_*		
>20	0.13 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.10 ± 0.02		

^{*}Данные фракции были отобраны в количестве, недостаточном для проведения анализа.

мости от размера корней и глубины их распространения (табл. 1).

Так, удельная активность ⁹⁰Sr колеблется от 0.54 кБк/кг во фракции >20 мм на глубине 20—30 см до 3.24 кБк/кг во фракции <3 мм на глубине 0—10 см. Таким образом, в целом отмечается понижение активности ⁹⁰Sr в корнях с глубиной и увеличением их диаметра, что свидетельствует о неравномерности загрязнения корней, локализованных в различных слоях почвенного профиля, что, очевидно, связано с вариациями плотности загрязнения исследуемых слоев корнеобитаемой толщи (табл. 1).

Следует также подчеркнуть, что удельная активность 90 Sr в корнях самой тонкой фракции диаметром <3 мм, локализованных в слоях 0—10 и 10—20 см, практически соответствует, а в слое 20—30 см в 18 раз выше таковой в прилегающей минеральной толще почв (табл. 1), как отмечалось нами ранее и для 137 Cs [5, 19]. Это свидетельствует о роли данной фракции в переносе радионуклида в почве, которая с глубиной резко возрастает.

Аналогичные исследования проведены по оценке содержания Са в исследуемых почвах и фракциях корней сосны. Они показали, что содержание обменного Са в ППК слабоподзолистых иллювиально-железистых песчаных почв

изучаемого сосняка Брянской области невелико и колеблется в диапазоне 1.12—4.21 мг-экв/100 г с максимальными показателями в верхней части минеральной толши [10].

Содержание кальция в корнях сосны варьирует в более широком интервале — от 0.096 до 0.65%, максимальное его количество зафиксировано во фракции <3 мм на глубине 0-10 см, а минимальное — во фракции >20 мм на глубине 20-30 см (табл. 2).

С использованием полученных нами ранее данных по фитомассе [13] были рассчитаны запасы 90 Sr и Са в различных фракциях корней (табл. 3).

Их оценка показала, что запасы 90 Sr в исследуемых фракциях корней сосны обыкновенной, локализованных в различных слоях 0-30 см толщи почв, колеблются от 12.45 Бк/м 2 (фракция размером 3-10 мм в слое 20-30 см) до 1.27 кБк/м 2 (фракция >20 мм в слое 0-10 см) (табл. 3).

При этом суммарный запас 90 Sr в корнях составляет 2.99 кБк/м 2 с вариациями по глубинам от 1.88 до 0.70 кБк/м 2 , основная его часть приурочена к слою 0—10 см (60.7%) с наибольшей долей корней диаметром >20 мм, что связано с доминированием фитомассы данной фракции. Наименьшая часть запаса 90 Sr сосредоточена в слое 10—20 см — 15.9% с преобладанием фракции >20 мм. В слое 20—30 см величина запаса возрастает до 23.4%, здесь большая часть сосредоточена во фракции <3 мм.

Запасы химического неизотопного аналога 90 Sr — кальция в корнях сосны в сумме составляют 5.92 г/м² (табл. 4), при этом их основная часть (67.6%) также приурочена к слою 0—10 см, меньший запас отмечается в слое 10—20 см (25.7%) и минимальный (6.8%) — в толще 20—30 см. Причем, в отличие от 90 Sr, на всех глубинах наибольший запас Са сосредоточен во фракции крупных корней диаметром >20 мм.

Таблица 3. Запасы 90 Sr и Ca в корнях сосны обыкновенной **Table 3.** The total amount of 90 Sr and Ca accumulated in the roots of Scots pine

	Глубина, см						
Фракция корней, мм	0-10		10-20		20-30		
	⁹⁰ Sr, Бк/м ²	Ca, г/м ²	⁹⁰ Sr, Бк/м ²	Ca, г/м ²	⁹⁰ Sr, Бк/м ²	Ca, г/м ²	
<3	281.88	0.57	162.89	0.40	511.35	0.04	
3-10	205.11	0.47	14.33	0.40	12.45	0.03	
10-20	52.66	0.18	_	_	_	_	
>20 _{MM}	1275.41	2.78	298.57	0.72	175.80	0.33	
Суммарный запас	1815.06	4.00	475.79	1.52	699.60	0.40	

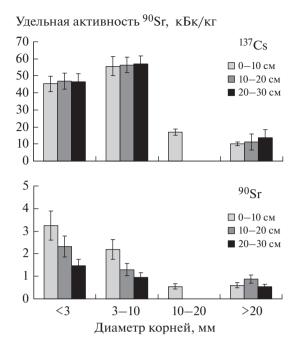


Рис. 1. Изменение удельной активности 137 Cs и 90 Sr в различных фракциях корней сосны обыкновенной. **Fig. 1.** Changes in the specific activity of 137 Cs and 90 Sr in different fractions of Scots pine roots.

ОБСУЖДЕНИЕ

В целом полученные нами результаты накопления и распределения ⁹⁰Sr в корнях сосны обыкновенной хорошо согласуются с данными наших предшествующих исследований по распределению ¹³⁷Cs в корнях этой породы. Сравнительный анализ накопления и распределения в корнях сосны ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr показывает, что удельная активность радионуклидов в подземных органах, как vже отмечалось, меняется в зависимости от их диаметра: наименьший показатель характерен для крупных, а наибольший – для мелких фракций [5, 13, 19]. Эти закономерности были отмечены и в работах ряда авторов, которые свидетельствуют о том, что наименьшая активность ⁹⁰Sr отмечается в крупных корнях и значительно большая — в мелких [4, 6, 8, 20] и др. Однако если удельная активность ¹³⁷Cs в корнях с глубиной незначимо меняется для соответствующей фракции [13], то для 90 Sr характерно заметное снижение рассматриваемого показателя с глубиной (табл. 1, рис. 1).

Наблюдаемые отличия в распределении ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr во фракциях корней сосны, очевидно, обусловлены физиологическими особенностями древесных растений по отношению к накоплению и распределению неизотопных химических аналогов этих элементов — К и Са. Как известно, К в большей степени накапливается в физиологиче-

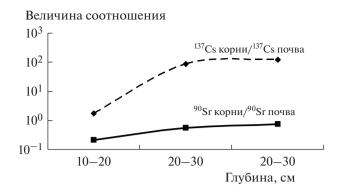


Рис. 2. Изменение величины соотношения "корни/почва" в профиле почв с глубиной.

Fig. 2. Change in the root/soil ratio in the soil profile with the depth.

ски активно растущих органах и тканях, в частности, в наружных слоях камбия корней; Са, напротив, — в клеточных стенках корней и тканях с невысокой метаболической активностью [5, 19, 21–23].

Аналогичные изменения характерны и для показателей соотношений рассчитанной нами средневзвешенной удельной активности ¹³⁷Cs в кор- $\rm H x / ^{137} C s \ B \ п o v B e, ^{90} S r \ B \ к o p H x x / ^{90} S r \ B \ п o v B e (далее)$ "корни/почва"). Величина соотношения ⁹⁰Sr в κ орнях/ 90 Sr в почве значительно ниже, чем таковая для ¹³⁷Cs, что, очевидно, связано с различиями в биологической доступности данных радионуклидов. Однако как для 137 Cs, так и для 90 Sr характерно однонаправленное нарастание различий между величинами соотношений "корни/почва" с глубиной, хотя для ⁹⁰Sr отмеченные изменения в профиле имеют более сглаженный характер. Так, для ¹³⁷Cs данное соотношение меняется от 1.7 в слое 0-10 см до 122.8 в слое 20-30 см; для 90 Sr — от 0.21 в слое 0-10 см до 0.73 в слое 20-30 см (рис. 2).

Это, как уже подчеркивалось, видимо, связано с особенностями распределения ¹³⁷Сs и ⁹⁰Sr в корнеобитаемой толще почв, различиями в биологической доступности и закономерностях изменения удельной активности данных радионуклидов в корнях с глубиной. Как известно, и что подтверждается нашими данными, для ⁹⁰Sr характерно более плавное изменение в вертикальном профиле [5, 19, 22, 24].

Сравнивая запасы 137 Cs и 90 Sr в корнях, в первую очередь, следует подчеркнуть, что запасы 137 Cs в них (для слоя 0—30 см) достигают 61, 56 кБк/м², что почти в 21 раз больше, чем 90 Sr, что связано с различиями в плотностях загрязнения территории рассматриваемыми радионуклидами [10, 24]. Вместе с тем как для 137 Cs, так и для 90 Sr можно вычленить преобладающие фракции:

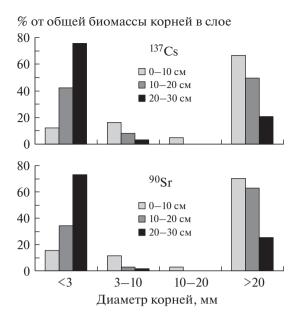


Рис. 3. Относительное распределение запасов 137 Cs и 90 Sr в корнях сосны обыкновенной, локализованных в 0—30 см толще почв.

Fig. 3. The relative distribution of 137 Cs and 90 Sr total amount in the roots of Scots pine, located in the 0-30 cm soil layer.

>20 мм на глубине 0-10 см и <3 мм на глубине 20-30 см (рис. 3).

Это обусловлено соответствующими изменениями фитомассы данных фракций и удельной активностью в них 90 Sr.

Нами также был оценен вклад корней в общее загрязнение 137 Cs и 90 Sr корнеобитаемой 0—30 см толщи почв исследуемого сосняка (рис. 4), который рассчитывался как отношение запасов радионуклидов в корнях к их суммарным запасам в почве и корнях (Вклад, % = запас радионуклида в корнях/запас радионуклида почва +корни).

Для 137 Сs этот вклад составляет 0.96%; для 90 Sr — в 3 раза выше. Отсюда очевидно, что роль корневых систем в переносе 90 Sr более значима, чем 137 Cs.

Сравнительный анализ распределения в корнях сосны ⁹⁰Sr и его химического аналога Са показал, что аналогии в их распределении не отмечается (рис. 3, 5). Вместе с тем в наших предыдущих исследованиях было установлено, что в настоящее время в загрязненных лесах Брянского Полесья поведение ¹³⁷Cs в системе "почва—растение" близко к таковому его химического аналога — калия [10]. Вероятно, это связано с теми же причинами, на которые указывалось выше [5, 19, 21—23].

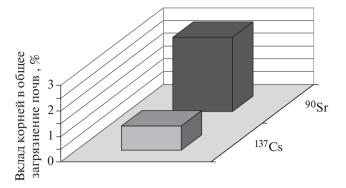


Рис. 4. Относительный вклад корней в общее загрязнение 137 Cs и 90 Sr 0-30 см корнеобитаемой толщи почв.

Fig. 4. The relative contribution of roots to the total contamination of 137 Cs and 90 Sr is 0-30 cm soil layer.

выводы

- 1. Распределение ⁹⁰Sr и ¹³⁷Cs в корнях сосны обыкновенной во многом согласуется. Общей закономерностью для обоих радионуклидов является снижение удельной активности в корнях с увеличением их диаметра. При этом удельная активность ⁹⁰Sr в соответствующих фракциях корней заметно уменьшается с глубиной, удельная активность ¹³⁷Cs с глубиной практически не меняется.
- 2. Общий запас 90 Sr в корнях составляет 2.99 кБк/м², при этом максимальный процент приурочен к слою 0–10 см (60.7%), с наибольшей долей корней диаметром >20 мм, что связано с доминированием фитомассы данной фракции. Суммарный запас 90 Sr в корнях сосны в 0–30 см толще почв сосняка более чем в 20 раз меньше, чем таковой 137 Cs, что связано с различиями в плотностях загрязнения территории данными радионуклидами.

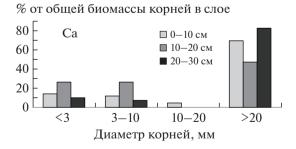


Рис. 5. Относительное распределение запасов Са в корнях сосны обыкновенной, локализованных в $0-30\,\mathrm{cm}$ толще почв.

Fig. 5. Relative distribution of total amount of Ca in the roots of Scots pine, located in 0-30 cm soil layer.

- 3. Перенос радионуклидов корневыми системами растений более значим для 90 Sr. Вклад корней в общее загрязнение 90 Sr 0-30 см слоя почв сосняка составляет около 3%, в то время как 137 Cs в 3 раза ниже.
- 4. Относительное распределение запасов 90 Sr в корнях в сосняках Брянского Полесья в настоящее время отличается от распределения в корнях запасов кальция. Основная часть (67.6%) запасов Са, как и 90 Sr, приурочена к слою 0—10 см, но, в отличие от 90 Sr, на всех глубинах наибольший запас Са сосредоточен во фракции крупных корней диаметром >20 мм.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Алексахин Р.М., Нарышкин М.А. Миграция радионуклидов в лесных биогеоценозах. М.: Наука, 1977. 144 с. [Alexakhin R.M., Naryshkin, M.A. Radionuclide migration in forest ecosystems. М.: Nauka, 1977. 144 р. (In Russian)]
- 2. Ипатьев В.А., Багинский В.Ф., Булавик И.М. и др. Лес. Человек. Чернобыль. (Лесные экосистемы после аварии на Чернобыльской АЭС: состояние, прогноз, реакция населения, пути реабилитации). Гомель: Ин-т леса НАН Беларуси, 1999. 454 с. [Ipatyev V.A., Baginsky V.F., Bulavik I.M. et al. The Forest. Man. Chernobyl. (Forest ecosystems after the accident at the Chernobyl NPP: condition, prediction, response of the population, ways of rehabilitation). Gomel: Institute of forest of NAS of Belarus, 1999. 454 p. (In Russian)]
- 3. *Махонина Г.Н., Тимофеев-Ресовский Н.В., Титлянова А.А., Тюрюканов А.Н.* Распределение стронция-90 и цезия-137 по компонентам биогеоценоза // Докл. АН СССР. 1961. Т. 140. № 5. С. 1209—1212. [*Makhonina N.G., Timofeev-Resovskii N.V., Titlyanova A.A., Tyuryukanov A.N.* The distribution of strontium 90 and cesium-137 for the components of the biogeocenosis // Reports of the USSR Academy of Sciences. 1961. V. 140. № 5. Р. 1209—1212. (In Russian)]
- 4. Парфенов В.И., Якушев Б.И., Мартинович Б.С. и др. Радиоактивное загрязнение растительности Беларуси (в связи с аварией на Чернобыльской АЭС). Мн.: Наука и техника, 1995. 582 с. [Parfenov V.I., Yakushev В.І., Martinovich В.S. et al. Radioactive contamination of vegetation of Belarus (in connection with the Chernobyl accident). Minsk: Science and technology, 1995. 582 р. (In Russian)]
- 5. *Щеглов А.И.* Биогеохимия техногенных радионуклидов в лесных экосистемах: по материалам 10-летних исследований в зоне влияния аварии на ЧАЭС. М.: Наука, 2000. 236 с. [Shcheglov A.I. Biogeochemical migration of technogenic radionuclides in forest ecosystems: by the materials of 10-year research in the area effected by the Chernobyl accident. M.: Nauka, 2000. 236 p. (In Russian)]
- Von Firck Y., Rosen K., Sennerby-Forsse L. Uptake and distribution of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr in Salix viminalis plants // J. Environ. Radioact. 2002. V. 63. №1. P. 1–14.

- 7. Abu-Khadra S.A., Abdel-Sabour M.F., Abdel-Fattah A.T., Eissa H.S. Transfer factor of radioactive Cs and Sr from Egyptian soils to roots and leafs of wheat plant // IX Radiation Physics and Protection Conference. Cairo, Egypt, 2008. P. 185–196.
- 8. *Rantavaara A., Raitio H.* ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr root uptake of pine saplings in a managed forest // Radioprojection Colloquies, 2002. V. 37 (Cl), P. Cl-565–Cl-568.
- 9. *Парамонова Т.А.*, *Мамихин С.В.* Корневое поглощение ¹³⁷Сѕ и его распределение между надземными и подземными органами растений: Анализ литературы // Радиац. биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 6. С. 646–662. [*Paramonova T.A.*, *Mamikhin S.V.* Root Uptake of ¹³⁷Cs and its Distribution between Above- and Underground Biomass of Plants: Analysis of the Literature // Radiation biology. Radioecology. 2017. V. 57. № 6. Р. 646–662. (In Russian)]
- 10. *Щеглов А.И.*, *Цветнова О.Б.*, *Касацкий А.А.* Динамика загрязнения ¹³⁷Cs различных компонентов лесных экосистем Брянского Полесья // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. 2014. № 3. С. 17—22. [*Shcheglov A.I.*, *Tsvetnova O.B.*, *Kasatskii A.A.* Pollution dynamics ¹³⁷Cs of the various components of forest ecosystems of Bryansk Polesye // Bulletin of Moscow University. Ser. 17. Soil science. 2014. № 3. P. 17—22. (In Russian)]
- 11. *Ehlken S., Kirchner G.* Environmental processes affecting plant root uptake of radioactive trace elements and variability of transfer factor data: a review // J. Environ. Radioactivity. 2002. V. 58. P. 97–112.
- 12. *Bataitiene I.P., Butcus D.* Evaluation of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr transfer from soil to Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) by the discrimination coefficients // The 8th Int. Conf. of Environmental Engineering. Vilnius, Lithuania, 2011. P. 270–274.
- 13. *Щеглов А.И.*, *Цветнова О.Б.*, *Попова Е.П.* Влияние корней древесных растений на перераспределение ¹³⁷Сѕ в почвах сосняков и березняков зоны радиоактивного загрязнения // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение. 2016. № 2. С. 45—50. [*Scheglov A.I. Tsvetnova O.B.*, *Popova E.P.* Effect of the trees roots on the redistribution of ¹³⁷Сѕ in soils of pine and birch forests of radioactive contamination zone // Bulletin of Moscow University. Ser. 17. Soil science. 2016. № 2. P. 45—50. (In Russian)]
- Классификация почв СССР. М.: Колос, 1977.
 221 c. [Classification of soils of the USSR. M.: Kolos, 1977. 221 p. (In Russian)]
- 15. Базилевич Н.И., Титлянова А.А., Смирнов В.В. и др. Методы изучения биологического круговорота в различных природных зонах. М.: Мысль, 1978. 185 с. [Bazilevich N.I., Titlyanova A.A., Smirnov V.V. The methods to study biological cycle in different natural zones. М.: Mysl', 1978. 185 р. (In Russian)]
- 16. Методические рекомендации MP 2.6.1.0094-14 "Радиохимическое определение удельной активности цезия-137 и стронция в пробах пищевой продукции, почвы, других объектов окружающей среды и биопробах" (Утв. Главным государственным врачом РФ 16 сентября 2014 г.). [Methodical recommendations MR 2.6.1.0094-14 "Radiochemical determination of specific activity of cesium-137 and strontium in samples of food products, soil, other envi-

2020

- ronmental objects and bioassays" (App. Chief state doctor of the Russian Federation on September 16, 2014. (In Russian))
- 17. Минеев В.Г., Дурынина Е.П., Кочетавкин А.В. и др. Практикум по агрохимии. М.: МГУ, 1989. 304 с. [Mineev V.G., Durynina E.P., Acetamin A.V. et al. Workshop on agricultural chemistry. M.: MSU, 1989. 304 p. (In Russian)]
- 18. Теория и практика химического анализа почв / Под ред. Л.А. Воробьевой. М.: ГЕОС, 2006. 400 с. [Theory and practice of chemical analysis of soils / Ed. L.A. Vorobyova. M.: GEOS, 2006. 400 p. (In Russian)]
- 19. Shcheglov A.I., Tsvetnova O.B., Kliashtorin A.L. Biogeochemical migration of technogenic radionuclides in forest ecosystems. M.: Nauka, 2001. 235 p.
- 20. Переволоцкий А.Н., Булавик И.М., Переволоцкая Т.В. и др. Особенности распределения ¹³⁷Сѕ и ⁹⁰Ѕг в почве и накопления древесиной и корой сосны (*Pinus silvestris* L.) в различных условиях местопроизрастания // Радиац. биология. Радиоэкология. 2007. Т. 47. № 4. С. 463—470. [*Perevolotsky A.N., Bulavik I.M., Perevolotskaya T.V. et al.* The features of the distribution of ¹³⁷Сѕ and ⁹⁰Ѕг in the soil and accumulation by wood and bark of pine (*Pinus silvestris* L.) under different vegetation conditions // Radiation biology. Radioecology. 2007. V. 47. № 4. P. 463—470. (In Russian)]

- 21. *Крамер П.Д., Козловский Т.Т.* Физиология древесных растений. М.: Лесная пром-ть, 1983. 464 с. [*Kramer P. J., Kozlowski T. T.* Physiology of woody plants. M.: Forest industry, 1983. 464 p. (In Russian)]
- 22. Переволоцкий А.Н., Переволоцкая Т.В. Прогнозирование вертикального распределения ¹³⁷Сѕ и ⁹⁰Ѕг в лесных почвах Республики Беларуси // Радиац. биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 6. С. 625—635. [Perevolotsky A.N., Perevolotskaya T.V. Prediction of vertical distribution of ¹³⁷Сѕ and ⁹⁰Ѕг in forest soils of the Republic of Belarus // Radiation biology. Radioecology. 2012. V. 52. № 6. Р. 625—635. (In Russian)]
- 23. *Greder M.* Uptake of nuclides by plants. Technical Report. TR-04-14. Department of Botane, Stockholm University, 2004. 70 p.
- 24. Грабеклис И.А. Распределение стронция-90 в почве сосновых биогеоценозов Брянской области в отдаленный период после чернобыльских выпадений // Мат. междунар. молодежного научного форума "Ломоносов 2017". М.: МГУ, 2017. [Grabeklis I.A. Distribution of strontium-90 in the soil of pine biogeocenoses of the Bryansk region in the remote period after the Chernobyl fallout // Proc. int. youth scientific forum "Lomonosov 2017". М.: MSU, 2017. (In Russian)]

Features of ⁹⁰Sr Accumulation and Distribution in the Root System of *Pinus Sylvestris* in the Remote Period after the Chernobyl Fallout

O. B. Tsvetnova^{a,#}, A. I. Shcheglov^a, and S. R. Besaeva^a

^a M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia [#]E-mail: tsvetnova@mail.ru

The article deals with the features of 90 Sr accumulation and distribution in the roots of *Pinus sylvestris* (L.) under the conditions of radioactively contaminated pine forests of Bryansk Polesie. It was found that the specific activity of 90 Sr in pine roots varies depending on their diameter and depth of distribution: the maximum value is observed in fractions <3 mm, the minimum ->20 mm; the specific activity of 90 Sr in the corresponding fractions of roots is significantly reduced with the depth . It is shown that radionuclide transfer by root systems of plants is most significant for 90 Sr compared to 137 Cs, the contribution of roots to the total contamination of 90 Sr 0-30 cm soil layer of pine forest is 3 times higher than 137 Cs (3 and 1%, respectively). It is determined that the relative distribution of the total amount of 90 Sr in the roots in the forest ecosystems of Bryansk Polesie is currently not similar to the distribution of the total accumulation of its chemical analogue - calcium.

Keywords: roots, Scots pine, ⁹⁰Sr, specific activity, Ca, the total amount, the contribution, Bryansk Polesie

———— РАДИОНУКЛИДЫ ———

УДК 546.027:550.42:546.296

ВАРИАЦИИ ОБЪЕМНОЙ АКТИВНОСТИ РАДОНА В ТРАДИЦИОННЫХ ДЕРЕВЕНСКИХ ДОМАХ

© 2020 г. П. С. Микляев^{1,*}, Т. Б. Петрова²

¹ Институт геоэкологии им. Е.М. Сергеева РАН, Москва, Россия ² МГУ им. М.В. Ломоносова, химический ф-т, Москва, Россия *E-mail: peterm7@inbox.ru
Поступила в редакцию 26.03.2018 г.

В целях оценки временной вариабельности концентрации радона в помещениях традиционных деревенских домов были проведены непрерывные измерения объемной активности радона в помещениях двух домов, расположенных в западной части Московской области (Можайский и Истринский районы) в августе 2017 г., в июле—августе 2018 г. и в феврале—марте 2019 г. Летом 2017 г. одновременно выполнялись непрерывные измерения плотности потока радона с поверхности грунта рядом с домом. Установлено, что характер вариаций концентрации радона в помещении зависит от сезона. В летний период объемная активность радона в деревенских домах подвержена сильным суточным колебаниям, которые характеризуются максимумами ночью и минимумами днем. Концентрация радона прямо пропорциональна перепаду температур внутри и вне помещения и обратно пропорциональна скорости ветра. Зимой концентрация радона в помещении была в среднем в 3 раза выше, чем летом, и изменялась обратно пропорционально перепаду температур внутри и вне помещения, суточные колебания отсутствовали. Независимо от сезона такие факторы как плотность потока радона с поверхности грунта, а также режим эксплуатации помещений (проветривание) практически не влияют на концентрацию радона в деревенских домах.

Ключевые слова: вариации радона, концентрация радона в помещениях, плотность потока радона из грунта, стек-эффект

DOI: 10.31857/S0869803120010117

Оценка радонового риска - одна из важнейших составляющих обеспечения радиационной безопасности населения. Анализ результатов многолетних исследований связи рака легкого с облучением радоном в жилищах [1-3] показал, что радон является ведущим канцерогенным фактором, уступающим по значимости лишь курению. Оценка радонового риска проводится на основе данных об экспозиции населения радоном, представляющей собой функцию от средней концентрации радона и времени нахождения человека в помещении. Считается, что риск наступает в результате достаточно длительного (~25 лет) периода экспозиции [4]. Основным источником неопределенности при оценке радонового риска является существенная временная вариабельность объемной активности радона в помещениях. Этот фактор может приводить к существенному смещению результата оценки риска, особенно в случае использования "мгновенных" методов измерения объемной активности радона. В этой связи во всем мире активно проводятся исследования, направленные на выявление закономерностей временных вариаций объемной активности радона в помещениях [5-12]. Основной причиной вариабельности объемной активности радона в помещениях считают изменение интенсивности воздухообмена в здании, в том числе за счет изменения режима проветривания помещений. В этой связи важным фактором считается режим эксплуатации зданий: в неэксплуатируемых зданиях при закрытых окнах и дверях обычно ожидаются более высокие абсолютные значения и меньшая вариабельность концентрации радона, чем в условиях обычной эксплуатации помещения, в условиях постоянного или периодического проветривания. Частота проветривания помещений зависит, в свою очередь, от сезона, а также от привычек жителей. Повышенные концентрации радона ожидаются также в домах, построенных с применением энергосберегающих технологий [13]. Вместе с тем ряд более ранних исследований показал отсутствие корреляции между вариациями скорости воздухообмена и концентрации радона в помещениях [14].

Следует отметить, что за рубежом основным объектом исследований всегда были одноквартирные частные дома. Многоэтажные городские здания признаются слишком сложным объектом

для исследований. Для западных стран это во многом оправдывается структурой жилого фонда, в которой одноквартирные дома преобладают. В России сложилось так, что доля многоэтажных зданий в радоновых исследованиях всегда была существенной [7-9], в то время как деревянные сельские дома — традиционные русские избы — в этом отношении исследованы слабее. Вместе с тем традиционные русские деревянные дома широко распространены в сельской местности и частном секторе многих городов. Доля деревянных домов в структуре жилого фонда России составляет 53% от общего количества индивидуальных зданий. По общей жилой площади (индивидуальные и многоквартирные дома) деревянные дома составляют около 18% жилищного фонда России [15]. В летний период доля жителей деревенских домов, основную часть которых составляют дети, существенно возрастает в связи с дачным сезоном. В то же время одноэтажные сельские дома при одинаковом геогенном радоновом потенциале территории характеризуются значительно большими концентрациями радона по сравнению с городскими [16]. В этой связи исследование поведения радона в традиционных деревенских домах представляется весьма актуальным. Кроме того, простая конструкция одноэтажных деревянных домов, характеризующихся практически беспрепятственным проникновением радона из грунтового основания в жилое помещение, а также отсутствием выделения радона из строительных материалов, делают их, можно сказать, эталонным объектом для изучения закономерностей поступления радона в помещения из грунтового основания.

Известно, что основным источником поступления радона в помещения является грунт в основании здания [14]. Величины, характеризующие потенциальное выделение радона из грунта объемная активность радона в грунтовом газе и плотность потока радона с поверхности грунта также испытывают значительные временные колебания. Временная вариабельность этих параметров характеризуется сезонной и суточной периодичностью, а также спонтанными всплесками [17-21]. Вариации плотности потока радона из грунтов основания также могут быть причиной колебаний концентрации радона внутри помещений. В этой связи возникает вопрос о вкладе вариаций потока радона из грунтов в наблюдаемые колебания концентрации радона в зданиях. Следует отметить, что в России плотность потока радона с поверхности грунта на участках строительства новых зданий регламентируется санитарными правилами [22]. Таким образом, в отечественной системе радиационно-гигиенического нормирования плотность потока радона с поверхности открытого грунта достаточно жестко связана с ожидаемыми значениями концентрации радона в проектируемом здании. Однако на данный момент характер связи между наблюдаемыми концентрациями радона в помещениях и интенсивностью выделения радона из геологической среды изучен недостаточно. Очевидно, что концентрация радона в здании должна определяться двумя основными факторами: а) изменением интенсивности поступления радона из грунтов под зданием и б) режимом воздухообмена в помещениях. Возникает вопрос, какой вклад вносит каждый из перечисленных факторов в радоновый баланс здания? Какой процесс в большей степени влияет на вариации радона в зданиях, и в каких условиях? Анализ литературы показывает, что на этот вопрос пока нет четкого ответа. Мало того, непрерывных долговременных измерений объемной активности радона в здании и одновременно скорости выделения радона из грунта в литературе практически не представлено, за исключением классической пионерской работы [23] и единичного отечественного исследования [24].

В этой связи нами была поставлена задача проведения мониторинга, включающего непрерывные измерения объемной активности радона в традиционных деревянных сельских домах, при этом в одном случае параллельно проводился также непрерывный мониторинг плотности потока радона с поверхности грунта рядом с домом с целью уточнения закономерностей поступления радона из грунта в здание.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследования проводили в Московской области в дер. Троица Можайского района (дом 1950-х годов постройки) и в дер. Алехново Истринского района (дом построен в начале XX в.). Измерения проводились в традиционных русских деревенских одноэтажных домах (избах) похожей конструкции, представляющих собой бревенчатый сруб с большими сенями и пристроенными застекленными террасками. Оба дома стоят на ленточном кирпичном фундаменте, имеют подпол, высотой около 0.8 м. Грунт в подполах обоих домов - слабопроницаемый покровный суглинок. Подпол с земляным основанием заглублен примерно на 0.3 м ниже уровня земли, пол в избах дощатый, поднят над поверхностью земли приблизительно на 0.5 м. Внутренняя площадь обоих бревенчатых срубов, где проводились измерения, составляет $25 \text{ м}^2 (5 \times 5 \text{ м})$, высота потолка 2.3-2.6 м. Проветривание помещений в обоих избах осуществляется с помощью входной двери и одного, расположенного напротив, открывающегося окна (в остальных окнах были установлены зимние двойные рамы). Входные двери в избы утеплены, выходят в сени. Обе избы хорошо теплоизолированы, в результате чего в жаркие дни в них долго сохраняется прохлада, а в ночные часы – тепло.

Отопление домов разное, хотя традиционные русские печи в обоих случаях разобраны. В дер. Троица Можайского района сруб отапливается небольшой железной печкой, которая растапливалась только в прохладную погоду преимущественно по вечерам. Дом в дер. Алехново Истринского района оборудован системой отопления с газовым котлом. Отопление работает постоянно и выключалось только в жаркую погоду. В доме поддерживалась постоянная температура 18-22°C (зимой в отсутствие жителей $8-10^{\circ}$ C). Оба дома жилые, в период проведения мониторинга помещения эксплуатировались в обычном режиме. Летом в домах жили постоянно, периодически в обоих случаях жители уезжали в город, и дома на некоторое время (от 3 до 10 дней) оставались пустыми, с закрытыми окнами и дверями. Зимой жители приезжали только по выходным дням, в остальное время дом стоял закрытым, мощность отопительного котла снижалась до минимального уровня.

В дер. Троица Можайского района мониторинговые исследования проводились в период с 14 по 31 августа 2017 г. Измерения были организованы по следующей схеме. Мониторинг концентрации (объемной активности) радона в помещении проводился с помощью радиометра радона Radon Scout Plus (РГА-1100 Плюс) фирмы SARAD GmbH (Германия). Прибор позволяет в течение длительного времени автоматически регистрировать концентрацию радона в помещении каждый час с записью результатов во встроенной энергонезависимой памяти. Диапазон измерений объемной активности (ОА) радона в воздухе составляет 0-10 МБк/м³. Погрешность измерений составляет 20% (10) при значениях ОА радона 200 Бк/м³ в измерительном интервале 1 ч. Кроме концентрации радона прибор также позволяет ежечасно регистрировать температуру, относительную влажность воздуха и атмосферное давление в помещении. Радиометр радона в течение всего эксперимента был установлен на высоте 1 м на столе в центре жилого помещения (бревенчатого сруба).

Параллельно на участке в непосредственной близости от дома была организована площадка (2 × 2 м), где проводился непрерывный мониторинг плотности потока радона с поверхности грунта в трех контрольных точках. Контрольные точки представляли собой неглубокие лунки со снятым дерновым покровом, расположенные в вершинах равностороннего треугольника с ребром 1.5 м. Измерения плотности потока радона проводились с помощью метода открытой камеры с активированным углем. Суть метода, его преимущества и недостатки подробно описаны в работах [19, 25]. Смену накопительных камер в контрольных точках проводили каждые 4 ч. По-

сле экспонирования уголь из камер пересыпался в герметичные колонки и выдерживался в течение 3 ч для установления радиоактивного равновесия между радоном и его короткоживущими продуктами распада. Измерение активности радона в угле проводили по регистрации β-излучения продуктов распада радона радиометром В-частиц с блоками детектирования БДБ-13, входящего в состав измерительного комплекса для мониторинга радона "КАМЕРА-01" (НТЦ "НИ-ТОН", Россия). Среднюю плотность потока радона с поверхности грунта за время экспонирования камер определяли как функцию активности радона в угле, площади накопительной камеры и времени ее экспонирования. Диапазон измерений плотности потока радона составляет от 3 до 100 000 мБк/(M^2 с). Относительная погрешность измерения не превышает 30% (2σ). Смену накопительных камер в контрольных точках производили в одно и то же время суток приблизительно в 0:00, 4:00, 8:00, 12:00, 16:00 и 20:00, иногда с небольшими отклонениями. По результатам измерений, полученным в трех точках, определяли среднее арифметическое, которое и использовали как значение плотности потока радона с поверхности грунта на экспериментальной площадке. Каждые 4 ч, в момент смены накопительных камер, на площадке также определяли влажность почвы (качественно) с помощью садового почвенного влагомера "Moisture", и температуру воздуха на высоте 2 м от поверхности земли с помощью стеклянного спиртового термометра F + R80.

В дер. Алехново Истринского района проводили только мониторинг объемной активности радона и микроклиматических параметров в помещении с применением радиометра радона Radon Scout Plus (РГА-1100 Плюс) фирмы SARAD GmbH (Германия). Радиометр радона, так же как и в предыдущем случае, в течение всего эксперимента был установлен на высоте 1 м на столе в центре жилого помещения (бревенчатого сруба). Измерения проводились в летнее время в период с 02 июля по 25 августа 2018 г., и зимой в течение трех недель в период с 9 февраля по 3 марта 2019 г.

На обоих участках была измерена удельная активность естественных радионуклидов в грунтах основания домов с применением полевого успектрометра СКС-99 "Спутник", со сцинтилляционным блоком детектирования. Блок детектирования помещали в шпур на глубину $0.5\,\mathrm{M}$ от поверхности (геометрия измерений 4π). Удельная активность радионуклидов в грунтах представлена в табл. 1.

При анализе метеорологических параметров (температура воздуха, атмосферное давление, количество осадков, скорость ветра) использовали данные метеорологической станции "Можайск", расположенной в 17 км от дер. Троица и "Ново-

Таблица 1. Удельная активность радионуклидов в грунтах основания исследуемых домов

 Table 1. Specific activity of radionuclides in the soils of the studied houses base

Местополо-	Удельная активность радионуклидов, Бк/кг					
жение	²²⁶ Ra	²³² Th	⁴⁰ K	¹³⁷ Cs		
Дер. Троица	43 ± 8	20.5 ± 3.5	555 ± 84	<5		
Дер. Алехново	38 ± 7	24 ± 5	680 ± 110	<8		

Иерусалим", в 13 км от дер. Алехново. Информация предоставлена сайтом "Расписание Погоды", гр5.ru.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показывают полученные результаты, объемная активность радона в деревенских домах подвержена существенным временным вариациям как периодического, так и непериодического характера. В табл. 2 приведены коэффициенты корреляции между концентрацией радона в помещении ($C_{\rm Rn}$) и колебаниями метеорологических факторов, такими как температура атмосферного воздуха вне помещения (Tа), перепад температур внутри и вне помещения (ΔT), атмосферное давление (Pa) и скорость ветра (Va). В последнем столбце приведен коэффициент корреляции между объемной активностью радона в помещении и плотностью потока радона с поверхности грунта (J_{Rn}), для дер. Троица (в дер. Алехново измерения плотности потока радона не проводили). Как видно из таблицы, концентрация радона в помещениях деревенских домов проявляет значимую корреляцию, прежде всего с параметрами, определяющими воздухообмен в здании, такими как перепад давлений внутри и вне помещения и скорость ветра, в то время как корреляция с плотностью потока радона из грунта отсутствует. Последнее хорошо иллюстрируется графиком, приведенным на рис. 1, из которого видно, что вариации объемной активности радона в помещении деревенского дома не связаны с колебаниями скорости выделения радона из грунтов.

Временные вариации объемной активности радона, зарегистрированные в летний период 2017 г. (дер. Троица) и 2018 г. (дер. Алехново), характеризуются весьма близкой структурой и кардинально отличаются от вариаций, наблюдаемых в зимний период, что проиллюстрировано на рис. 2, а также в табл. 3.

Летом наблюдается четкий суточный ритм колебаний концентрации радона в помещениях с максимумами в ночные и утренние часы и минимумами во второй половине дня. Анализ суточных колебаний, усредненных за весь период наблюдений (рис. 3), показывает, что в период примерно с 8:00 до 13:00 происходит достаточно резкий спад $C_{\rm Rn}$, после активность радона остается низкой вплоть до 20:00, когда вновь начинается ее плавный рост. Предположение, что данный характер суточных колебаний C_{Rn} связан с режимом проветривания помещения (днем окна и двери, как правило, открыты, а ночью — закрыты), не подтвердилось. Во-первых, в большинстве случаев время начала снижения концентрации радона в помещении значительно раньше, чем время пробуждения и начала активной деятельности жильцов дома. Во-вторых, в период с 25 по 27 августа 2017 г., а также в период с 1 по 10 августа 2018 г. в домах жильцы отсутствовали, окна и двери были закрыты, проветривания не происходило, однако это никак не повлияло на характер колебаний радона в помещении (см. рис. 1 и рис. 4).

Вместе с тем рост и спад объемной активности радона тесно связаны с изменением соотношения между температурой воздуха внутри и вне помещения (рис. 3). Падение концентрации радона в утренние часы начинается после того, как темпе-

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между объемной активностью радона в домах и метеорологическими параметрами, а также плотностью потока радона из грунтов

Table 2. Correlation coefficients between the indoor radon concentration and meteorological parameters, as well as the radon flux density from soil surface

Место наблюдений	Период наблюдений	Число наблюдений	Коэффициент корреляции между объемной активностью радона и следующими параметрами					
			<i>T</i> a	ΔT	<i>P</i> a	<i>V</i> a	$J_{ m Rn}$	
Дер. Троица	14-31.08.2017	108	-0.42	0.58	0.08	-0.54	-0.12	
Дер. Алехново	2.07-25.08.2018	324	-0.56	0.7	0.19	-0.63	_	
	9.02-3.03.2019	138	-0.21	-0.6	-0.28	-0.19	_	

Примечание. Ta — температура атмосферного воздуха вне помещения, $\Delta \mathit{T}$ — перепад температур внутри и вне помещения, Pa — атмосферное давление, Va — скорость ветра, $\mathit{J}_{\rm Rn}$ — плотность потока радона с поверхности грунта; жирным шрифтом выделены значения коэффициента корреляции более 0.5 ($\mathit{p}=0.01$).

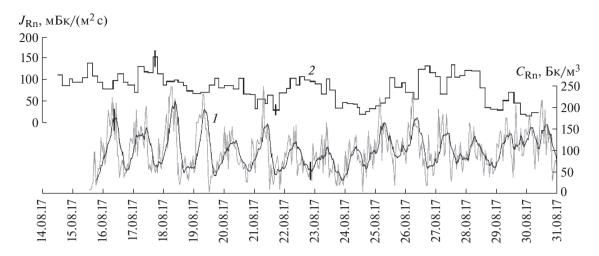


Рис. 1. Результаты одновременных измерений объемной активности радона в доме (I) и плотности потока радона с поверхности грунта (I) в дер. Троица.

Fig. 1. Results of simultaneous measurements of indoor radon concentration (1) and radon flux density from the ground surface (2) in the Troitsa village.

ратура воздуха на улице становится выше, чем в доме (перепад температур внутри и вне помещения принимает отрицательные значения), и наоборот, постепенный рост концентрации радона вечером начинается после того, как перепад температур становится положительным. Кроме того, дневной спад концентрации радона в помещении совпадает с увеличением скорости ветра. Оба эти параметра — перепад температур и скорость ветра — обусловливают явление теплового и ветрового напора на оболочку здания, определяющего воздухообмен в помещении.

Описанное выше соотношение между $C_{\rm Rn}$ и ΔT указывает на существование в ночные часы так называемого "стек-эффекта" или эффекта "дымовой трубы", который обусловливает поступление радона из подпола (из грунтов основания здания). Этот эффект, возникающий за счет теплового напора на оболочку здания, известен в качестве одной из основных причин формирования повышенной концентрации радона в домах в холодные периоды, когда температура воздуха в помещении выше, чем снаружи [26–29]. Ночью

за счет перепада температур более теплый воздух внутри помещения поднимается вверх и выходит наружу через окна, щели, дымовую трубу. В результате в нижней части помещения создается пониженное давление относительно наружного пространства, что приводит к поступлению в помещение воздуха, обогащенного радоном, из подпола и грунтов основания здания через щели в полу. Днем, когда температура воздуха в доме становится ниже, чем окружающая атмосфера, поступление радона из подпола прекращается. Отрицательный перепад температур внутри и вне здания, а также действие ветрового напора приводят к поступлению в помещение воздуха из окружающей атмосферы и соответственно снижению концентрации радона.

Перечисленные факторы определяют не только суточные, но и более длительные колебания объемной активности радона в помещении. Среднесуточные значения объемной активности радона в помещении также тесно связаны со среднесуточным перепадом температур внутри и вне помещения. Так, во второй половине июля

Таблица 3. Результаты радонового мониторинга на экспериментальных площадках **Table 3.** Results of continuous radon measurements at experimental sites

Место	Период измерений	Объемная активность радона (C_{Rn}), Бк/м ³					
измерений		\overline{X}	σ	$ ilde{X}$	ε	min-max	
Дер. Троица	14-31.08.2017	92	53	86	1.8	<5-275	
Дер. Алехново	2.07-25.08.2018	75	45	66	2.0	<5-249	
	9.02-3.03.2019	233	96	212	1.6	50-471	

Примечание. \bar{X} — среднее арифметическое, σ — стандартное отклонение, \tilde{X} — среднее геометрическое, ϵ — геометрический стандарт (геометрическое стандартное отклонение), min-max — диапазон колебания.

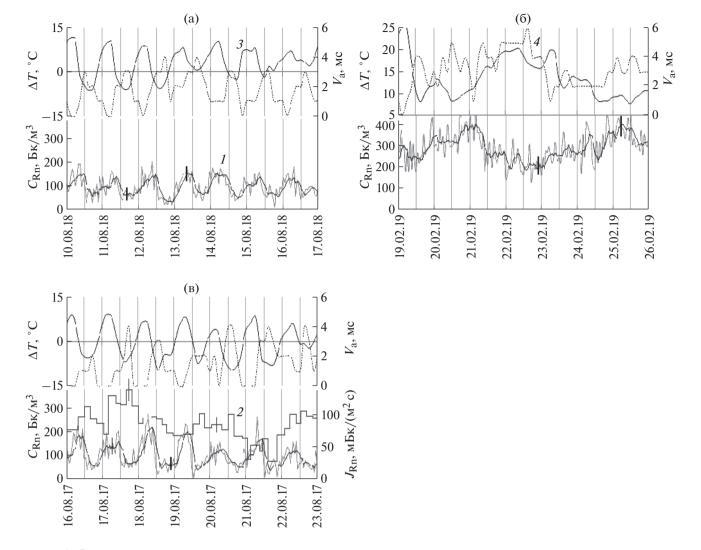


Рис. 2. Фрагменты временных рядов непрерывных измерений объемной активности радона в помещениях традиционных деревянных домов в дер. Алехново летом 2018 г. (а) и зимой 2019 г. (б), а также в дер. Троица летом 2017 г. (в): 1- объемная активность радона в помещении, 2- плотность потока радона с поверхности грунта, 3- перепад температур внутри и вне помещения, 4- скорость ветра.

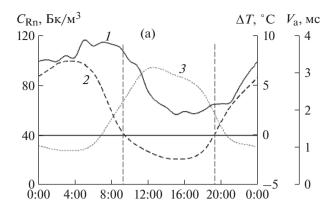
Fig. 2. Fragments of time series of indoor radon continuous measurements in the traditional wooden houses in Alekhnovo village in the summer of 2018 (a) and winter 2019 (6), and also in the Troitsa village in the summer of 2017 (B): I — the indoor radon concentration, 2 — the radon flux density from the ground surface, 3 — the difference between inside and outside temperature, 4 — wind speed.

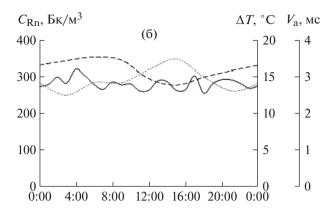
2018 г. (см. рис. 4), в жаркую погоду, когда среднесуточный перепад температур принимал преимущественно отрицательные значения, концентрация радона в помещении снизилась вплоть до нулевых значений. В этот же период наблюдались наибольшие значения скорости ветра, что, повидимому, также способствовало снижению концентрации радона. При положительных значениях перепада температур внутри и вне помещения среднесуточные значения концентрации радона вновь увеличивались.

В зимний период как характер временных вариаций, так и абсолютные значения концентрации радона в помещении существенно отличают-

ся от летних (табл. 3, рис. 2, 3). Зимой концентрация радона в помещении существенно (в 3 раза) выше, чем летом, а суточные колебания отсутствуют. Вариации объемной активности радона характеризуются периодом около 4—5 сут и тесно связаны с колебаниями перепада температур внутри и вне помещения, однако корреляция между этими показателями не прямая, как летом, а обратная. Значимого влияния других метеорологических факторов не обнаруживается.

Обратная корреляция между $C_{\rm Rn}$ и ΔT свидетельствует о том, что зимой перепад давлений, обусловленный "стек-эффектом", вызывает подсос в помещение воздуха из атмосферы. Одновре-





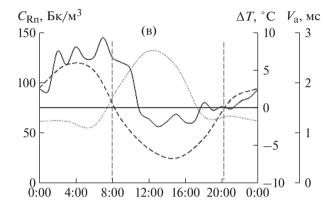


Рис. 3. Суточные колебания объемной активности радона, усредненные за весь период наблюдений, в помещениях традиционных деревянных домов в дер. Алехново летом 2018 г. (а) и зимой 2019 г. (б), а также в дер. Троица летом 2017 г. (в): 1 — объемная активность радона в помещении, 2 — перепад температур внутри и вне помещения, 3 — скорость ветра.

Fig. 3. Diurnal variations of indoor radon concentrations averaged over the entire observation period in the Alekhnovo village in the summer of 2018 (a) and winter 2019 (6), and also in the Troitsa village in the summer of 2017 (B): I – indoor radon concentration, 2 – the difference between inside and outside temperature, 3 – wind speed.

менно высокие концентрации радона в помещении свидетельствуют о значительном поступлении радона из грунтов основания (других источников радона в деревянном доме нет). Можно предположить, что, по мере увеличения перепада температур внутри и вне помещения, сначала в помещение поступает в основном воздух из подпола, что ведет к повышению концентрации радона (корреляция между C_{Rn} и ΔT положительная). Однако при достаточно высоких значениях ΔT подъемная сила воздуха увеличивается настолько, что начинается подсос воздуха в жилое помещение не только из подпола, но и из окружающей атмосферы. С этого момента дальнейшее увеличение перепада температур приводит к относительному снижению концентрации радона в помещении, и корреляция между этими показателями становится обратной. Однако для обоснования данного предположения необходимы более длительные наблюдения.

Следует отметить, что наблюдаемая нами закономерность (увеличение концентраций радона

в помещении ночью и в холодный период) характерна для зданий, в которых присутствует прямая пневматическая связь между грунтовым основанием и жилыми помещениями и где площаль основания велика по сравнению с общим объемом здания, что характерно для традиционных деревенских домов. Очевидно, что наличие герметичного барьера между подполом и жилым помещением позволило бы предотвратить подток воздуха из подпола и соответственно не допустить роста концентрации радона в помещении. Известно, что в случае, когда подземная часть здания надежно изолирована от надземной, или при незначительной площади основания здания по сравнению с его общим объемом (например, в многоэтажных зданиях), концентрации радона в зимний период часто ниже, чем летом [7, 24, 30]. Это объясняется тем, что перепад давления вне и внутри здания в этих случаях приводит к поступлению в помещения преимущественно наружного воздуха через неплотности в оболочке здания и окна на нижних этажах. В таких случаях значи-

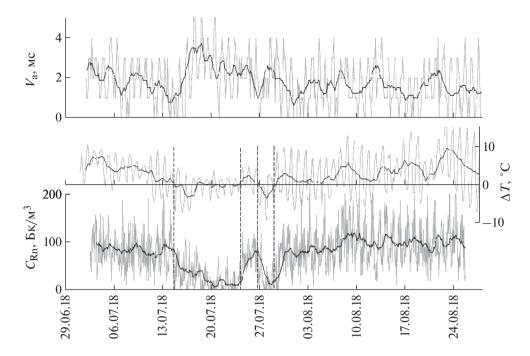


Рис. 4. Вариации скорости ветра, перепада температур внутри и вне помещения и объемной активности радона в помещении деревянного дома в дер. Алехново летом 2018 г. (жирная линия — среднесуточные значения). **Fig. 4.** Variations of wind speed, difference between inside and outside temperature, and indoor radon concentration in the wooden house in the Alekhnovo village in the summer of 2018 (thick line — daily average values).

тельно больший вклад в вариации концентрации радона вносят эффект ветрового напора и режим проветривания [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что характер колебаний концентрации радона в традиционных русских деревенских домах существенно зависит от сезона. В летнее время вариации объемной активности радона характеризуются очень четко выраженной суточной составляющей с максимумами в утренние часы и минимумами во второй половине дня, связанной с суточной инверсией перепада температур внутри и вне помещения, а также изменением скорости ветра. Более длительные вариации радона связаны с этими же факторами. В жаркую погоду, когда среднесуточные значения перепада температур принимают отрицательные значения, наблюдается существенное снижение концентраций радона вплоть до нулевых значений. Для летнего времени характерно наличие прямой корреляции между объемной активностью радона в помещении и перепадом температур внутри и вне помещения и обратной корреляции со скоростью ветра.

Зимой в отапливаемых домах наблюдаются более высокие концентрации радона, чем летом, а суточные колебания отсутствуют. В качестве ос-

новного фактора, определяющего вариации объемной активности радона, выступает также перепад температур внутри и вне помещения, однако между этими параметрами наблюдается не прямая, а обратная корреляция.

Такие факторы как изменение эксхаляции радона из грунтов основания и режим эксплуатации (проветривания) помещения на концентрацию радона в традиционных деревенских домах заметного влияния не оказывают.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 0142-2019-0025).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Darby S., Hill D., Auvinen A. et al. Residential radon and lung cancer: detailed results of a collaborative analysis of individual data on 7148 subjects with lung cancer and 14208 subjects without lung cancer from 13 epidemiologic studies in Europe // Scand. J. Work, Environ. Health. 2006. V. 32. Supp. 1. P. 1–83.
- 2. *Krewski D., Lubin J.H., Zielinski J.M. et al.* Residential Radon and Risk of Lung Cancer: A Combined Analysis of 7 North American Case-Control Studies // Epidemiology. 2005. V. 16. P. 137–145.

- 3. *Lubin J.H., Wang Z.Y., Boice J.D. et al.* Risk of lung cancer and residential radon in China: pooled results of two studies // Int. J. Cancer. 2004. V. 109. P. 132–137.
- Онищенко А.Д., Жуковский М.В. Роль искажающих факторов в радоновом эпидемиологическом исследовании // Радиац. гигиена. 2017. Т. 10. №1. С. 65-75. [Onishchenko A.D., Zhukovskij M.V. Rol' iskazhayushchih faktorov v radonovom epidemiologicheskom issledovanii // Radiacionnaya gigiena. 2017. Т. 10. № 1. S. 65-75. (In Russian)]
- 5. *Barros N., Steck D., Field R.* Utility of short-term basement screening radon measurements to predict yearlong residential radon concentration on upper floors // Radiat. Protect. Dosim. 2016. V. 171. № 3. P. 405–413.
- 6. Burke Q., Murphy P. Regional variation of seasonal correction factors for indoor radon levels // Radiat. Meas. 2011. V. 46. № 10. P. 1168–1172.
- Tsapalov A., Kovler K. Indoor radon regulation using tabulated values of temporal radon variation // J. Environ. Radioact. 2018. V. 183. P. 59–72.
- 8. Васильев А.В., Жуковский М.В. Характер и периодичность изменения объемной активности радона в помещении // АНРИ. 2015. № 2. С. 42—47. [Vasil'ev A.V., Zhukovskij M.V. Harakter i periodichnost izmeneniya ob'emnoj aktivnosti radona v pomeshchenii // ANRI. 2015. № 2. S. 42—47. (In Russian)]
- 9. *Маренный А.М., Романов В.В., Астафуров В.И. и др.* Проведение обследований зданий различного назначения на содержание радона на территориях, обслуживаемых ФМБА России // Радиац. гигиена. 2015. Т. 8. № 1. С. 23—29. [*Marennyy A.M., Romanov V.V., Astafurov V.I. i dr.* Provedenie obsledovanij zdanij razlichnogo naznacheniya na soderzhanie radona na territoriyah, obsluzhivaemyh FMBA Rossii // Radiacionnaya gigiena. 2015. Т. 8. № 1. S. 23—29. (In Russian)]
- 10. *Цапалов А.А.*, *Маренный А.М.* Принципы радонового контроля в помещениях зданий // АНРИ. 2014. № 1. С. 6–15. [*Tsapalov A.A.*, *Marennyy A.M.* Principy radonovogo kontrolya v pomeshcheniyah zdanij // ANRI. 2014. № 1. S. 6–15. (In Russian)]
- 11. Онищенко А.Д., Жуковский М.В., Васильев А.В. Влияние временных вариаций уровней радона и погрешностей измерений на оценку средних сезонных значений объемной активности радона в помещении // АНРИ. 2013. № 3. С. 2—12. [Onishchenko A.D., Zhukovskij M.V., Vasil'ev A.V. Vliyanie vremennyh variacij urovnej radona i pogreshnostej izmerenij na ocenku srednih sezonnyh znachenij ob'emnoj aktivnosti radona v pomeshchenii // ANRI. 2013. № 3. S. 2—12. (In Russian)]
- 12. *Miles J.C.H.* Temporal variation or radon levels in houses and implications for measurement strategies // Radiat. Prot. Dosim. 2001. № 93. P. 369–375.
- 13. Vasilyev A.V., Yarmoshenko I.V. and Zhukovsky M.V. Low air exchange rate causes high indoor radon concentration in energy-efficient building // Radiat. Prot. Dosim. 2015. V. 164. № 4. P. 1–5.
- 14. Источники, эффекты и опасность ионизирующей радиации. Доклад НКДАР ООН за 1988 г. М.: Мир, 1992. Т. 1. 552 с. [Istochniki, effekty i opasnost' ioniziruyushchej radiacii. Doklad NKDAR OON za 1988 g. M.: Mir, 1992. Т. 1. 552 s. (In Russian)]

- 15. Жилищное хозяйство в России. 2016: Стат. сб. М.: Росстат, 2016. 63 с. [Zhilishchnoe hozyajstvo v Rossii. 2016: Stat. sb. M.: Rosstat, 2016. 63 s. (In Russian)]
- Zhukovsky M., Yarmoshenko I., Kiselev S. Combination of geological data and radon survey results for radon mapping // J. Environ. Radioact. 2012. V. 112. P. 1–3.
- 17. Белецкая Ю.В., Крупный Г.И., Мамаев А.М., Расцветалов Я.Н. Вариации плотности потока радона с поверхности почвы экспериментального полигона // АНРИ. 2010. № 1 (60). С. 34—36. [Beleckaya Yu.V., Krupnyj G.I., Mamaev A.M., Rascvetalov YA.N. Variacii plotnosti potoka radona s poverhnosti pochvy eksperimental'nogo poligona // ANRI. 2010. № 1 (60). S. 34— 36. (In Russian)]
- 18. Гулабянц Л.А., Заболоцкий Б.Ю. Сезонная вариация потока радона из грунта и оценка радоноопасности площади застройки // АНРИ. 2004. № 4. С. 46—50. [Gulabyanc L.A., Zabolockij B. Yu. Sezonnaya variaciya potoka radona iz grunta i ocenka radonoopasnosti ploshchadi zastrojki // ANRI. 2004. № 4. S. 46—50. (In Russian)]
- 19. Маренный А.М., Цапалов А.А., Микляев П.С., Петрова Т.Б. Закономерности формирования радонового поля в геологической среде. М.: Изд-во "Перо", 2016. 394 с. [Marennyy A.M., Tsapalov A.A., Miklyaev P.S., Petrova T.B. Zakonomernosti formirovaniya radonovogo polya v geologicheskoj srede. М.: Izdatel'stvo "Pero", 2016. 394 s. (In Russian)]
- Szabó K., Jordan G., Horváth A., Szabó C. Dynamics of soil gas radon concentration in a high permeable soil based on a long-term high-resolution measurement series // J. Environ. Radioact. 2013. V. 124. P. 74–83.
- 21. *Mullerova M., Holy K., Bulko M.* Daily and seasonal variations in radon activity concentration in the soil air // Radiat. Prot. Dosim. 2014. V. 160. № 1–3. P. 222–225.
- 22. СП 2.6.1.2612-10 "Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ 99/2010)". [SP 2.6.1.2612-10 "Osnovnye sanitarnye pravila obespecheniya radiacionnoj bezopasnosti (OSPORB 99/2010)" (In Russian)]
- 23. *Nazaroff W.W., Feustal H., Nero A.V. et al.* Radon transport into a detached one-storey house with a basement // Atoms. Environ. 1985. № 19. P. 31–46.
- 24. *Цапалов А.А., Кувшинников С.И.* Зависимость объемной активности радона в помещениях от разности внутренней и наружной температур воздуха // АНРИ. 2008. № 2. С. 37—43. [*Tsapalov A.A., Kuvshinnikov S.I.* Zavisimost' ob'emnoj aktivnosti radona v pomeshcheniyah ot raznosti vnutrennej i naruzhnoj temperatur vozduha // ANRI. 2008. № 2. S. 37—43. (In Russian)]
- 25. Tsapalov A., Kovler K., Miklyaev P. Open charcoal chamber method for mass measurements of radon exhalation rate from soil surface // J. Environ. Radioact. 2016. V. 160. P. 28–35.
- 26. Eaton R.S., Scott A.G. Understanding radon transport into houses // Radiat. Prot. Dosim. 1984. № 7. P. 251–253.
- 27. *Pinel J., Fearn T., Darby S.C., Miles J.C.H.* Seasonal correction factors for indoor radon measurements in the United Kingdom // Radiat. Prot. Dosim. 1995. V. 58. 127–132.

- 28. Васильев А.В. Радонобезопасность современных многоэтажных зданий: Дис. ... канд. техн. наук. Екатеринбург: Институт промышленной экологии УрО РАН, 2014. [Vasil'ev A.V. Radonobezopasnost' sovremennyh mnogoetazhnyh zdanij: Dis. ... kand. tekhn. nauk. Ekaterinburg: Institut promyshlennoj ekologii UrO RAN, 2014. (In Russian)]
- 29. Киселев С.М., Жуковский М.В., Стамат И.П., Ярмошенко И.В. Радон: от фундаментальных исследований к практике регулирования. М.: Изд-во "ФГБУ ГнЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА
- России", 2016. 432 с. [Kiselev S.M., Zhukovskij M.V., Stamat I.P., Yarmoshenko I.V. Radon: ot fundamental'nyh issledovanij k praktike regulirovaniya. Moskva: Izd-vo "FGBU GnC FMBC im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii", 2016. 432 s. (In Russian)]
- 30. *Цапалов А.А.* Закономерности поведения радоновой активности в помещениях зданий и принцип контроля // Вестн. МГСУ. 2011. № 3. С. 15—23. [*Capalov A.A.* Zakonomernosti povedeniya radonovoj aktivnosti v pomeshcheniyah zdanij i princip kontrolya // Vestnik MGSU. 2011. № 3. S. 15—23. (In Russian)]

Variations of Radon Activity Concentration in Traditional Village Houses

P. S. Miklyaev^{a,#} and T. B. Petrova^b

^a Sergeev Institute of Environmental Geoscience, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia ^b Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Moscow, Russia [#] E-mail: peterm7@inbox.ru

In order to assess the time variability of radon concentration in the premises of traditional village houses, continuous measurements of radon activity concentration in the premises air of two houses located in the Western part of the Moscow region (Mozhaisk and Istra districts) were carried out in August 2017, in July—August 2018 and in February—March 2019. In the summer of 2017, continuous measurements of radon flux density from the ground surface near the house were performed simultaneously. It was found that the nature of variations in radon concentration in the room depends on the season. In summer, the radon concentration in village houses is subject to strong daily fluctuations, which are characterized by highs at night and lows during the day. Radon concentration is directly proportional to the temperature difference inside and outside the room and inversely proportional to the wind speed. In winter, the indoor radon concentration was on average three times higher than in summer, and varied inversely with the temperature difference inside and outside the house there were no daily fluctuations. Regardless of the season, factors such as the radon flux density from the ground surface, as well as the mode of operation of the premises (ventilation) practically do not affect the concentration of radon in village houses.

Keywords: radon variations, indoor radon concentration, radon flux density from soil surface, stack effect

——— РАДИОНУКЛИДЫ **——**

УДК 539.163:631.4:631.95:631.8

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ОРГАНИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ НА ПЕРЕХОД $^{137}\mathrm{Cs}$ В УРОЖАЙ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

© 2020 г. Н. В. Андреева^{1,*}, Н. В. Белова¹, В. К. Кузнецов¹, В. П. Грунская²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия ² Тульский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Плавск, Россия *E-mail: nva2803@yandex.ru Поступила в редакцию 19.03.2019 г.

В длительных стационарных опытах изучена эффективность действия различных видов органических удобрений на дерново-подзолистой почве и выщелоченном черноземе, загрязненных ¹³⁷Сѕ в результате аварии на ЧАЭС. Установлено, что применение подстилочного и бесподстилочного навоза, соломы, сидератов на дерново-подзолистой песчаной почве при раздельном и совместном внесении оказывало положительное влияние на показатели плодородия почвы и снижало биологическую подвижность ¹³⁷Сѕ. Содержание обменных форм ¹³⁷Сѕ в почве уменьшалось на 4.2% при запашке сидерата, в сочетании с соломой — на 4.1—4.3%, а при внесении соломы и сидерата на фоне навоза — на 5.8—8.0% по сравнению с контролем. Комплексное применение соломы и сидерата на фоне подстилочного навоза снижает накопление ¹³⁷Сѕ в зерне ячменя в 1.6—2.4 раза. Применение кислого среднеразложившегося торфа в дозе 30 т/га на фоне NPK на дерново-подзолистой песчаной почве способствовало повышению накопления ¹³⁷Сѕ в зерне овса в 1.2—1.5 раза. Запашка сидератов бобовых культур на выщелоченном черноземе повышает накопление ¹³⁷Сѕ в зерне и соломе озимой пшеницы в 1.4—1.9 раза.

Ключевые слова: радионуклиды, органические удобрения, 137 Cs, биологическая подвижность

DOI: 10.31857/S086980312001004X

Сельскохозяйственная продукция, полученная на радиоактивно загрязненных угодьях, является основным источником поступления радионуклидов в рацион населения. После аварии на Чернобыльской АЭС агропромышленное производство накопило широкий спектр приемов, позволяющих существенно снизить уровни загрязнения получаемой продукции [1-3]. Вместе с тем снижение объемов применения минеральных удобрений, наблюдаемое в последние годы, вызывает необходимость поиска дополнительных средств поддержания почвенного плодородия. В системе мер по сохранению и повышению плодородия почв одним из таких приемов является насыщение севооборотов органическими удобрениями, в том числе за счет соломы зерновых культур, различных видов навоза, а также сидератов и торфа. Рациональное использование органических удобрений, пополняя запас элементов питания, способствует улучшению всех агрономически ценных показателей почвенного плодородия [4-6]. Внесение органических удобрений является также эффективным агроприемом по снижению поглощения радионуклидов растениями, уменьшая в большинстве случаев поступление ¹³⁷Сѕ в урожай сельскохозяйственных культур в 1.5—3.0 раза, причем наибольший эффект отмечается на почвах легкого гранулометрического состава [7—10]. При этом органические удобрения оказывают как прямое, так и косвенное влияние на подвижность радионуклидов в системе почварастение.

Прямое влияние заключается в образовании с радионуклидами различных по подвижности органо-минеральных комплексов, а также в увеличении обеспеченности элементами питания, емкости поглощения почв и закреплении радионуклидов в почвенно-поглощающем комплексе [11—13]. В связи с этим значительное влияние на процессы поведения радионуклидов в почве будут оказывать вид и качественный состав органических удобрений, состав гумусовых веществ органических удобрений, соотношение элементов питания и их доступность для растений, факторы, влияющие на процессы минерализации органического вещества.

Косвенное влияние на снижение поступления радионуклидов в растения обусловливается снижением удельной активности радионуклидов в урожае за счет эффекта "биологического разбавления" вследствие более интенсивного нараста-

ния биомассы и повышения урожайности сельскохозяйственный культур [14, 15].

Целью работы являлась оценка воздействия различных видов органических удобрений на накопление ¹³⁷Cs сельскохозяйственными растениями и изменение основных параметров плодородия почв.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Полевые эксперименты проводили в различных почвенно-климатических условиях на территориях, подвергшихся радиоактивному загрязнению в результате аварии на Чернобыльской АЭС [9, 11, 14].

Полевой стационарный опыт в Брянской области заложен в 1996 г. на Новозыбковской опытной станции в вариантах: 1. Контроль; 2. NPK; 3. Солома; 4. Солома + NPK; 5. Сидерат; 6. Сидерат + NPK; 7. Солома + сидерат; 8. Солома + сидерат + NPK, на фоне внесения подстилочного и бесподстилочного навоза в дозах, эквивалентных 80 т/га подстилочного навоза. Севооборот 4-польный: картофель, ячмень, овес, озимая рожь + + редька масличная пожнивно. Солому озимой ржи в измельченном виде (9,2 т/га) и сидерат в виде зеленой массы редьки масличной (35 т/га) вносили непосредственно на месте произрастания этих культур. Все органические удобрения вносили под первую культуру севооборота — картофель. Под остальные культуры севооборота вносили минеральные удобрения общим фоном N90 под ячмень, P40K90 — овес и N90P60 — озимую рожь. На вариантах опыта с совместным применением органических и минеральных удобрений доза NPK была эквивалентна содержанию питательных веществ в 40 т/га подстилочного навоза.

Почва опытного участка дерново-подзолистая песчаная: содержание гумуса 1.9%; р H_{KCI} 5.9; гидролитическая кислотность и сумма поглощенных оснований соответственно 1.6 и 4.7 мг-экв/100 г почвы; содержание подвижных форм фосфора (P_2O_5) и калия (K_2O) соответственно 325 и 130 мг/кг почвы. Плотность загрязнения опытного участка 137 Cs составляла 510-590 кБк/ 2 . Исследования проводили на второй культуре севооборота — ячмене. Агрохимические показатели почвы, а также содержание подвижных форм радионуклида в почве определяли после уборки урожая.

Полевой эксперимент по оценке влияния торфа на подвижность ¹³⁷Сѕ в системе почва—растение проводили в Хойникском районе Гомельской области Республики Беларусь. Опыт состоял из трех вариантов: 1) контроль (N70P70K70); 2) торф 30 т/га + N70P70K70; 3) торф 30 т/га + N210P210K210. Почва опытного участка дерново-подзолистая песчаная: содержание гумуса

2.4%; р $H_{\rm KCI}$ 5.3; гидролитическая кислотность и сумма поглощенных оснований 3.4 и 3.7 мг-экв/100 г почвы соответственно; содержание подвижного фосфора (P_2O_5) 140 мг/кг и обменного калия (K_2O) – 86 мг/кг почвы. Плотность загрязнения опытного участка ¹³⁷Cs составляла 650—700 кБк/м².

Изучение влияния различных видов сидератов и соломы на накопление ¹³⁷Cs в урожае зерновых культур проводили в полевом стационарном опыте, заложенном в 2006 г. в Тульской области. В качестве сидеральных культур использовали клевер луговой, люпин и козлятник восточный, биомассу которых после скашивания запахивали при подготовке поля под озимые культуры, а солому зерновых культур использовали под следующую культуру.

Действие удобрений изучали в 8-польном севообороте: овес + козлятник, козлятник 1 г.п., козлятник 2 г.п., козлятник 3 г.п., козлятник 4 г.п., озимая пшеница, ячмень, люпин (горох, клевер красный), яровая пшеница на трех вариантах опыта: 1) контроль без удобрений, 2) N30-45P30K30, 3) N60-90P60K60. Почва опытного участка чернозем выщелоченный среднесуглинистый с содержанием гумуса 6.4%; pH_{KCI} 5.0; гидролитическая кислотность и сумма поглощенных оснований 2.8 и 31.0 мг-экв/100г почвы соответственно; подвижный фосфор 132 мг/кг; обменный калий 146 мг/кг. Плотность загрязнения 137Cs составляла 190-210 к6к/100

Определение агрохимических характеристик проводилось общепринятыми методами: pH_{KCl} — потенциометрически; гумус по Тюрину; гидролитическая кислотность по Каппену; сумма обменных оснований по Каппену—Гильковицу; подвижные формы P_2O_5 и K_2O соответственно по Кирсанову и Масловой для дерново-подзолистых и по Чирикову — для черноземных почв [16].

Для определения форм нахождения 137 Сs в почве использовали метод последовательной экстракции. В качестве экстрагентов для определения обменных форм 137 Сs использовали раствор 1 н CH₃COONH₄ (pH 7.0), а форм 137 Сs, непрочно связанных с оксидами железа, алюминия и глинистыми минералами, — 1н HCl. Более фиксированные в почве формы 137 Сs извлекали 3 н HCl [17].

Определение удельной активности $^{137}\mathrm{Cs}$ в образцах почв, почвенных вытяжках и растениях проводили γ -спектрометрическим методом на многоканальном анализаторе IN 1200 с германиевым детектором. Ошибка измерения не превышала $\pm 10\%$.

Содержание элементов питания в используемых органических удобрениях соответствовало среднему их содержанию в данных видах удобрений. Торф характеризовался кислой реакцией (рН 4.7), низким содержанием калия и фосфора,

Вид удобрений	N, %	P ₂ O ₅ , мг/кг	K ₂ O, мг/кг	Зольность, %	Степень разложения, %
Навоз бесподстилочный	0.38 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.43 ± 0.01	_	_
Навоз подстилочный	0.32 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.25 ± 0.02	_	_
Солома	0.50 ± 0.03	0.31 ± 0.02	1.05 ± 0.02	_	_
Сидерат (редька масличная)	0.50 ± 0.02	1.10 ± 0.01	1.70 ± 0.03	_	_
Сидерат (клевер луговой)	1.10 ± 0.01	1.20 ± 0.02	1.80 ± 0.02	_	_
Сидерат (люпин)	1.30 ± 0.02	1.30 ± 0.02	1.90 ± 0.04	_	_
Торф низинный	2.10 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.13 ± 0.01	7.0 ± 0.2	42.0 ± 0.5

Таблица 1. Характеристика органических удобрений **Table 1.** Characteristics of organic fertilizers

средней степенью разложения и недостаточно высокой зольностью (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов исследований в полевом опыте в Брянской области показал, что на дерново-подзолистой песчаной почве внесение соломы, сидерата и их сочетаний, как на фоне навоза, так и без него, обусловливает в большинстве случаев достоверное по сравнению с контролем снижение кислотности почвенного раствора, повышение емкости поглощения, содержания гумуса и подвижных форм фосфора и калия (табл. 2). При этом внесение сидерата и комплексное использование сидерата и соломы оказывают более значимое положительное влияние на агрохимические показатели, чем применение только одной соломы. Так, запашка сидерата и сидерата с соломой повышали pH с 5.9 до 6.4-6.6, в то время как в варианте с соломой существенных изменений рН не наблюдалось. Емкость поглощения почвы возросла с 6.9 в контроле до 11.5—13.5 мг-экв/100 г при внесении сидерата и сочетании его с соломой, т.е. практически в 2 раза. В накоплении гумуса в почве в этих вариантах получена аналогичная закономерность.

Уровень накопления радионуклидов в урожае сельскохозяйственных культур зависит от комплекса факторов, в том числе и от их содержания в обменной форме. Проведенные исследования показали, что запашка соломы снижает подвижность ¹³⁷Cs — достоверное снижение содержания наиболее доступной для растений обменной формы радионуклида по сравнению с контролем составило 3.0%, подвижной формы (вытяжка 1 н HCl) — на 1.2%, прочно связанной (вытяжка 3 н HCl) — на 2.0% (табл. 3).

Эффективность запашки зеленого удобрения по влиянию на подвижность ¹³⁷Сs равнозначна по отношению к внесению соломы, а их комплексное применение снижает подвижность радионук-

лида на 4.1% или в 1.6 раза по сравнению с контролем.

Снижение биологической подвижности 137 Сs после применения органических удобрений может быть обусловлено изменением физико-химических характеристик почвы, в частности увеличением емкости поглощения (ЕКО) и содержания гумуса. Корреляционный анализ выявил обратную зависимость между содержанием гумуса и обменной формы 137 Сs в почве — коэффициент корреляции Пирсона составил -0.81 ($t_{\rm r}$ Стьюдента $6.23 > t_{0.05}$ 2.10).

Применение органических удобрений не только оптимизирует почвенные показатели, но и заметно снижает подвижность ¹³⁷Cs в системе почва-растение. Наиболее эффективным приемом по снижению накопления ¹³⁷Cs в урожае зерна ячменя оказалось внесение соломы, как раздельно, так и совместно с сидератом (рис. 1, А). При запашке одного сидерата наблюдалась тенденция к повышению перехода ¹³⁷Cs в растения. Раздельное применение навоза и соломы уменьшает поступление ¹³⁷Cs в зерно ячменя в 1.4—1.5 раза, причем подстилочный навоз был более эффективен, чем бесподстилочный. Максимальное снижение размеров накопления радионуклида в растениях наблюдалось при комплексном внесении соломы и сидерата на фоне подстилочного навоза – в 1.6– 2.4 раза ниже, чем в контроле.

Дополнительное внесение полного минерального удобрения практически не меняет полученные закономерности по действию изучаемых видов органических удобрений на плодородие дерново-подзолистой песчаной почвы и подвижность ¹³⁷Cs в почве, а накопление радионуклидов в урожае зерна снижается в 1.1 раза (рис. 1, Б).

Накопление радионуклидов в урожае растений может существенно зависеть от качества органических удобрений [18, 19]. Применение кислого среднеразложившегося торфа в дозе 30 т/га с фоновым внесением удобрений на дерново-подзолистой песчаной почве в 1.2—1.5 раза увеличи-

Таблица 2. Действие органических удобрений на основные показатели плодородия дерново-подзолистой песчаной почвы

Table 2. The effect of organic fertilizers on the main indicators of fertility of sod-podzolic sandy soil

Вариант опыта	pH _{KCL}	Гумус, %	ЕКО, мг-экв/100г	P_2O_5 , мг/кг	K_2O , мг/кг			
Бесподстилочный навоз								
Контроль	$\frac{5.92 \pm 0.03}{6.13 \pm 0.01}$	$\frac{2.02 \pm 0.04}{2.44 \pm 0.03}$	$\frac{6.35 \pm 0.05}{7.44 \pm 0.02}$	$\frac{325.4 \pm 1.7}{365.7 \pm 1.5}$	$\frac{130.4 \pm 3.3}{152.2 \pm 3.1}$			
Солома	$\frac{5.95 \pm 0.02}{6.27 \pm 0.01}$	$\frac{2.27 \pm 0.02}{2.74 \pm 0.03}$	$\frac{7.03 \pm 0.02}{7.01 \pm 0.01}$	$\frac{290.5 \pm 5.0}{375.3 \pm 4.8}$	$\frac{111.7 \pm 2.2}{158.4 \pm 3.1}$			
Солома + сидерат	$\frac{6.51 \pm 0.03}{6.63 \pm 0.01}$	$\frac{3.83 \pm 0.01}{3.62 \pm 0.03}$	$\frac{12.05 \pm 0.04}{11.52 \pm 0.01}$	$\frac{365.8 \pm 2.9}{430.6 \pm 3.1}$	$\frac{112.2 \pm 1.9}{167.6 \pm 2.1}$			
Сидерат	$\frac{6.44 \pm 0.02}{6.47 \pm 0.01}$	$\frac{3.45 \pm 0.04}{3.14 \pm 0.01}$	$\frac{10.15 \pm 0.01}{7.83 \pm 0.01}$	$\frac{380.5 \pm 3.8}{375.2 \pm 6.2}$	$\frac{107.3 \pm 3.0}{170.4 \pm 2.7}$			
		Подстилоч	ный навоз					
Контроль	$\frac{6.11 \pm 0.02}{6.35 \pm 0.01}$	$\frac{2.48 \pm 0.02}{2.62 \pm 0.02}$	$\frac{7.54 \pm 0.02}{8.32 \pm 0.01}$	$\frac{380.9 \pm 2.8}{400.7 \pm 3.1}$	$\frac{118.2 \pm 1.9}{135.4 \pm 2.2}$			
Солома	$\frac{6.05 \pm 0.03}{6.07 \pm 0.04}$	$\frac{2.64 \pm 0.03}{2.73 \pm 0.02}$	$\frac{8.17 \pm 0.03}{8.05 \pm 0.01}$	$\frac{365.2 \pm 5.3}{340.4 \pm 4.8}$	$\frac{131.6 \pm 4.1}{162.5 \pm 4.7}$			
Солома + сидерат	$\frac{6.64 \pm 0.01}{6.63 \pm 0.02}$	$\frac{4.24 \pm 0.01}{4.41 \pm 0.03}$	$\frac{15.06 \pm 0.02}{15.53 \pm 0.03}$	$\frac{340.6 \pm 2.9}{380.1 \pm 3.5}$	$\frac{107.2 \pm 3.6}{132.8 \pm 2.9}$			
Сидерат	$\frac{6.37 \pm 0.02}{6.32 \pm 0.01}$	$\frac{3.77 \pm 0.01}{4.08 \pm 0.03}$	$\frac{13.07 \pm 0.04}{11.94 \pm 0.02}$	$\frac{375.3 \pm 4.4}{340.6 \pm 4.3}$	$\frac{106.9 \pm 2.9}{131.4 \pm 2.7}$			

Примечание. В числителе — без внесения навоза, в знаменателе — при внесении 160 т/га навоза.

Таблица 3. Влияние органических удобрений на формы нахождения 137 Cs в почве **Table 3.** Influence of organic fertilizers on the forms of 137 Cs in soil

Donus or tro	¹³⁷ Cs, % от суммарного количества								
Вариант опыта	1 н AcNH ₄	1 н HCl	3 н HCl	фиксированный					
Без внесения навоза									
Контроль	11.6 ± 1.3	8.3 ± 0.7	18.7 ± 1.1	61.4 ± 3.3					
Солома	8.6 ± 0.7	7.1 ± 0.8	16.7 ± 1.2	67.6 ± 4.2					
Солома + сидерат	7.5 ± 0.5	7.1 ± 0.4	14.8 ± 0.8	70.6 ± 5.3					
Сидерат	8.2 ± 0.7 6.0 ± 0.5		16.1 ± 0.4	69.7 ± 7.4					
	<u>.</u>	Бесподстилочный наво	3	!					
Контроль	10.9 ± 1.2	9.1 ± 0.2	16.2 ± 0.3	63.8 ± 2.5					
Солома	8.4 ± 1.5	8.2 ± 0.2	16.1 ± 0.3	67.3 ± 3.2					
Солома + сидерат	7.0 ± 1.2	7.1 ± 0.3	15.3 ± 0.1	70.6 ± 2.2					
Сидерат	8.2 ± 0.5	7.2 ± 0.1	16.5 ± 0.1	68.1 ± 4.3					
	'	Подстилочный навоз	'	•					
Контроль	10.6 ± 0.2	6.4 ± 0.4	18.4 ± 2.1	64.6 ± 5.4					
Солома	8.1 ± 0.2	5.6 ± 0.3	15.7 ± 2.3	70.6 ± 4.2					
Солома + сидерат	7.0 ± 0.3	4.9 ± 0.3	14.0 ± 1.2	74.1 ± 5.2					
Сидерат	6.5 ± 0.4	4.7 ± 0.3	13.7 ± 1.3	75.1 ± 6.2					

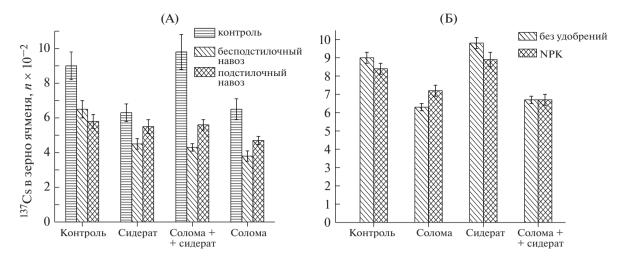


Рис. 1. Коэффициенты перехода 137 Cs в зерно ячменя в зависимости от применения различных видов органических удобрений при раздельном (A) и комплексном внесении с минеральными удобрениями (Б).

Fig. 1. Transfer factors (TF) of ¹³⁷Cs from soil to barley grain depending on the application of different types of organic fertilizers for separate (A) and complex application with mineral fertilizers (B).

вает накопление ¹³⁷Cs в зерне овса (рис. 2). Дополнительное внесение в вариантах с торфом повышенных доз полного минерального удобрения (N210P210K210) способствовало возрастанию накопления ¹³⁷Cs в урожае растений в 1.5 раза. На 2-й год после внесения торфа возрастающее влияние торфа на накопление ¹³⁷Cs в урожае овса в 1.3 раза сохранялось, однако на 3-й год исследований каких-либо достоверных различий между вариантами не наблюдалось (рис. 2).

Усиление биологической подвижности ¹³⁷Сs при внесении торфа может быть обусловлено его специфическими свойствами и, в частности, повышенной кислотностью, образованием подвижных соединений с фульвокислотами торфа, эффектом физико-химической пассивации почвенных минералов, что препятствует прочному закреплению радионуклида в почвенно-поглощающем комплексе [18, 19].

Бобовые культуры, в силу своей уникальной способности фиксировать атмосферный азот и переводить его в доступные для растений формы, являются важным фактором интенсификации и экологизации земледелия. Являясь хорошими предшественниками, бобовые культуры могут накапливать в почве до 250—400 кг/га азота и, таким образом, полностью обеспечивают азотом последующую культуру севооборота, повышая урожайность без дополнительных затрат [20].

Установлено, что несбалансированно высокие дозы азотных удобрений в большинстве случаев способствуют повышению накопления ¹³⁷Cs в растениях в 1.5—3.0 раза [21, 22]. О влиянии биологически связанного азота и различных видов сидератов из бобовых культур на биологическую

подвижность ¹³⁷Сs в настоящее время нет единой точки зрения. Однако высокие дозы симбиотического азота и лабильные органические соединения, образующиеся в почвах после сидеральных культур, могут оказывать существенное влияние на поведение радионуклидов в системе почварастение. Отмечается возрастание накопления ¹³⁷Сs в урожае сельскохозяйственных культур, размещенных в севообороте после многолетних бобовых трав или сидеральных культур [10, 11].

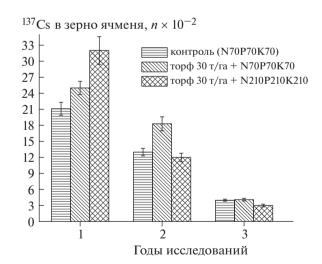


Рис. 2. Коэффициенты накопления ¹³⁷Cs в зерне овса при внесении торфа и различных доз минеральных удобрений.

Fig. 2. Concentration ratio (CR) of accumulation of ¹³⁷Cs in oat grain when applying peat and various doses of mineral fertilizers.

Таблица 4. Коэффициенты перехода 137 Cs в урожай зерновых культур при использовании различных видов сидератов (Бк/кг)/(кБк/м²), $n \times 10^{-2}$

Paros (514/111)/(11514/111);				_
Table 4. Transfer factors of	¹³⁷ Cs to the grain	crops using different type	s of green manure.	$n \times 10^{-2}$

Вариант	200	8 г.	2009 г.		2010 г.		20011 г.	
Бариант	зерно	солома	зерно	солома	зерно	солома	зерно	солома
Озимая пшеница по козлятнику восточному после 4 лет пользования								
Контроль без сидератов	1.1 ± 0.2	1.8 ± 0.3	1.3 ± 0.2	2.0 ± 0.3	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.7 ± 0.2
Контроль с сидератами	1.9 ± 0.3	3.1±0.4	2.2 ± 0.4	3.3 ± 0.5	1.4 ± 0.2	3.1 ± 0.4	1.5 ± 0.3	2.8 ± 0.2
N90P60K60	3.0 ± 0.5	4.5 ± 0.7	3.5 ± 0.5	5.7 ± 0.8	2.6 ± 0.4	5.4 ± 0.6	2.5 ± 0.5	4.8 ± 0.5
Яровая пшеница по сидератам после 1 года пользования (2008 г – горох; 2009 г – люпин; 2010 г – клевер; 2011 – горох)								
Контроль без сидератов	1.0 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.2 ± 0.2	2.0 ± 0.2	1.2 ± 0.3	2.1 ± 0.2
Контроль с сидератами	1.5 ± 0.3	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.4	2.4 ± 0.5	1.6 ± 0.2	2.5 ± 0.3	1.7 ± 0.3	3.3 ± 0.4
N60P60K60	2.4 ± 0.4	2.3 ± 0.4	3.1 ± 0.5	4.5 ± 0.7	2.4 ± 0.4	3.2 ± 0.5	2.1 ± 0.3	4.6 ± 0.6
	l	я	і нмень по сол	і іоме яровой	пшеницы	l	l	l
Контроль без сидератов	0.9 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.2	1.0 ± 0.1	1.8 ± 0.4	1.3 ± 0.3	2.2 ± 0.4
Контроль с сидератами	0.8 ± 0.2	1.7 ± 0.3	0.9 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.0 ± 0.3	1.8 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.9 ± 0.2
N60P60K60	0.9 ± 0.3	2.0 ± 0.4	1.2 ± 0.1	1.9 ± 0.5	1.1 ± 0.3	2.0 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.9 ± 0.3

В Тульской области на выщелоченных черноземах в течение 4 лет проводились полевые исследования по оценке влияния раздельного и комплексного применения минеральных удобрений, сидератов и соломы на накопление ¹³⁷Сѕ в зерне и соломе зерновых культур. При этом в различные годы изучались разные виды сидератов (клевер луговой, люпин, горох), которые выращивались в течение одного вегетационного периода и козлятник восточный, который возделывался в течение 4 лет.

Установлено, что многолетнее возделывание козлятника восточного и последующая его запашка в качестве сидерата во все годы исследований способствовали возрастанию накопления 137 Cs в зерне в 1.4-1.7 раза и 1.5-1.9 раза в соломе озимой пшеницы (табл. 4).

Дополнительное внесение небольших доз минеральных удобрений (N30-45P30K30) оказывало в большинстве случаев статистически недостоверное воздействие на процессы накопления ¹³⁷Cs в урожае зерновых культур.

Применение повышенных доз минеральных удобрений (N60-90P60K60) практически во всех

случаях способствовало увеличению накопления ¹³⁷Cs в зерне и соломе растений в 1.5—1.8 раза, что может быть связано с повышением содержания минерального азота в почве наряду с ранее накопленными запасами биологически фиксированного азота. Внесение минеральных удобрений в вариантах с использованием соломы не оказывало какого-либо значимого влияния на изменение накопления радионуклидов в урожае, что обусловлено, вероятно, дополнительным расходом накопленного и поступившего в почву азота на минерализацию соломы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Систематическое применение органических удобрений способствует накоплению гумуса, улучшает физико-химические свойства почвы — увеличивает запас питательных веществ, уменьшает кислотность, повышает содержание поглощенных оснований, поглотительную способность и буферность почвы. Проведенные исследования показали, что на дерново-подзолистой песчаной почве применение соломы, сидерата и их сочетаний на фоне навоза и без него оказывает

значимое положительное влияние на агрохимические показатели: снижается кислотность почвенного раствора, повышается емкость поглощения на 2.0—9.2 мг-экв/100 г, содержание гумуса 0.9—2.0% и подвижных форм фосфора и калия в почве на 40—80 мг/кг и 20—30 мг/кг соответственно. Наиболее эффективным приемом является совместное применение соломы и сидерата на фоне внесения 80 т/га подстилочного навоза.

Изменение почвенных показателей явилось одной из основных причин снижения биологической подвижности $^{137}\mathrm{Cs}$ в почве. При запашке соломы содержание наиболее доступной для растений обменной формы радионуклида уменьшалось на 3%, а в вариантах с комплексным применением соломы и сидерата — на 4.1% по сравнению с контролем.

Использование органических удобрений для ограничения поступления радионуклидов в сельскохозяйственные растения доказало свою практическую значимость. Под влиянием органических удобрений снижается подвижность ¹³⁷Сs в системе почва—растение. Наиболее эффективным приемом является внесение соломы, как раздельно, так и совместно с сидератом на фоне применения навоза и минеральных удобрений.

Качество органических удобрений может оказывать значительное влияние на накопление радионуклидов в урожае растений. Зеленое удобрение (сидерат) обогащает почву органическим веществом, способствует накоплению азота, снижает кислотность, улучшает физические свойства, в результате усиливается биологическая активность почвы. Но в то же время усиление азотного режима почвы приводит к увеличению поступления ¹³⁷Сs в растения. Применение кислого среднеразложившегося торфа на дерново-подзолистой песчаной почве способствует увеличению накопления 137 Cs в растениях в 1.2—1.5 раза, а дополнительное внесение минеральных удобрений (N210P210K210) — в 1.5 раза. Возрастающее влияние торфа на накопление радионуклида в зерне овса сохранялось в течение двух лет.

В исследованиях на выщелоченном черноземе длительное применение сидератов способствовало возрастанию накопления ¹³⁷Cs в зерне озимой пшеницы в 1.4—1.7 раза, в соломе — в 1.5—1.9 раза. Дополнительное внесение повышенных доз минеральных удобрений приводит к увеличению накопления радионуклида в зерне и соломе растений в 1,5—1,8 раза. При этом внесение минеральных удобрений на фоне запашки соломы не оказывает значимого влияния на изменение перехода ¹³⁷Cs в урожай.

Таким образом, при применении разных видов органических удобрений на радиоактивно загрязненных территориях необходим учет всего комплекса факторов, оказывающих влияние как

на состояние почвенного плодородия, так и поведение радионуклидов в системе почва—растение, что позволяет наиболее адекватно оценивать агрономическую и радиологическую эффективность защитных агрохимических мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Санжарова Н.И., Сысоева А.А., Исамов Н.Н. и др. Роль химии в реабилитации сельскохозяйственных угодий, подвергшихся радиоактивному загрязнению // Рос. хим. журн. 2005. Т. XLIX. С. 26—34. [Sanzharova N.I., Sysoeva A.A., Isamov N.N. i dr. Rol' himii v reabilitacii sel'skohozyajstvennyh ugodij, podvergshihsya radioaktivnomu zagryazneniyu // Rossijskij himicheskij zhurnal. 2005. T. XLIX. S. 26—34. (In Russian)]
- Сельскохозяйственная радиоэкология / Под ред. Р.М. Алексахина, Н.А. Корнеева. М.: Экология, 1992. 400 с. [Sel'skohozyajstvennaya radioekologiya / Pod red. R.M. Alexahina, N.A. Korneeva. M.: Ekologiya, 1992. 400 s. (In Russian)]
- 3. Рекомендации по ведению сельского хозяйства в условиях радиоактивного загрязнения территории в результате аварии на Чернобыльской АЭС на период 1991—1995 гг. М., 1991. 58 с. [Rekomendacii po vedeniyu sel'skogo hozyajstva v usloviyah radioaktivnogo zagryazneniya territorii v rezul'tate avarii na Chernobyl'skoj AES na period 1991—1995 gg. M., 1991. 58 s. (In Russian)]
- 4. Органические удобрения в интенсивном земледелии / Под ред. В.Г. Минеева. М.: Колос, 1984. 303 с. [Organicheskie udobreniya v intensivnom zemledelii / Pod red. V.G. Mineeva. М.: Kolos, 1984. 303 s. (In Russian)]
- 5. Босак В.Н., Головач А.А., Дембицкая Т.В., Мезенцева Е.Г. Влияние различных видов органических удобрений на продуктивность зернопропашного севооборота и плодородие дерново-подзолистой супесчаной почвы // Агрохимия. 2008. № 8. С. 26—32. [Bosak V.N., Golovach A.A., Dembickaya T.V., Mezenceva E.G. Vliyanie razlichnyh vidov organicheskih udobrenij na produktivnost' zernopropashnogo sevooborota i plodorodie dernovo-podzolistoj supeschanoj pochvy // Agrohimiya. 2008. № 8. S. 26—32. (In Russian)]
- 6. Русакова И.В. Содержание и качественный состав гумуса дерново-подзолистой супесчаной почвы при длительном применении соломы зерновых и зернобобовых культур // Агрохимия. 2009. № 1. С. 11—17. [Rusakova I.V. Soderzhanie i kachestvennyj sostav gumusa dernovo-podzolistoj supeschanoj pochvy pri dlitel'nom primenenii solomy zernovyh i zernobobovyh kul'tur // Agrohimiya. 2009. № 1. S. 11—17. (In Russian)]
- 7. *Гудков И.Н.* Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии: монография Киев: Изд-во УСХА, 1991. 328 с. [*Gudkov, I.N.* Osnovy obshchej i

- sel'skohozyajstvennoj radiobiologii: monografiya. Kiev: Izd-vo USKHA, 1991. 328 s. (In Russian)]
- 8. Подоляк А.Г., Жданович В.П., Одинцова Л.Е. и др. Влияние органических удобрений на аккумуляцию ¹³⁷Сs и ⁹⁰Sr в травостое суходольного луга на дерново-подзолистой песчаной почве // Агрохимия. 2005. № 11. С. 66—75. [Podolyak A.G., Zhdanovich V.P., Odincova L.E. i dr. Vliyanie organicheskih udobrenij na akkumulyaciyu ¹³⁷Cs i ⁹⁰Sr v travostoe suhodol'nogo luga na dernovo-podzolistoj peschanoj pochve // Agrohimiya. 2005. № 11. S. 66—75. (In Russian)]
- 9. Санжарова Н.И., Кузнецов В.К., Аксенова С.П. Накопление ¹³⁷Сs сельскохозяйственными культурами на песчаных и супесчаных почвах Белорусского Полесья под влиянием различных мелиорантов // Сельскохоз/ биология. 1996. № 3. С. 277. [Sanzharova N.I., Kuznetsov V.K., Aksenova S.P. Nakoplenie ¹³⁷Ss sel'skohozyajstvennymi kul'turami na peschanyh i supeschanyh pochvah Belorusskogo Poles'ya pod vliyaniem razlichnyh meliorantov // Sel'skohozyajstvennya biologiya. 1996. № 3. S. 277. (In Russian)]
- 10. Рамников А.Н., Жигарева Т.Л., Петров В.К. Эффективность окультуривания дерново-подзолистых почв в земледелии на радиоактивно загрязненных территориях // Бюлл. ВИУА. 2001. № 114. С. 151—154. [Ratnikov A.N., Zhigareva T.L., Petrov V.K. Effektivnost' okul'turivaniya dernovo-podzolistyh pochv v zemledelii na radioaktivno zagryaznennyh territoriyah // Byulleten' VIUA. 2001. № 114. S. 151—154. (In Russian)]
- 11. Драганская М.Г., Чаплыгина В.В., Белоус Н.М. Роль органических удобрений в снижении накопления ¹³⁷Сs в растениях // Плодородие. 2005. № 4. С. 37—38. [*Draganskaya M.G., Chaplygina V.V., Belous N.M.* Rol' organicheskih udobrenij v snizhenii nakopleniya 137Cs v rasteniyah // Plodorodie. 2005. № 4. S. 37—38. (In Russian)]
- 12. *Агапкина Г.И.* Органические формы соединений искусственных радионуклидов в почвенных растворах природных биогеоценозов // Радиац. биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 4. С. 404—411. [*Agapkina G.I.* Organicheskie formy soedinenij iskusstvennyh radionuklidov v pochvennyh rastvorah prirodnyh biogeocenozov // Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya. 2002. V. 42. № 4. S. 404—411. (In Russian)]
- 13. *Илахун А., Карпухин А.И., Торшин С.П.* Поступление радионуклидов в растения кукурузы в водных культурах с применением органических лигандов // Плодородие. 2008. № 4. С. 46—47. [*Ilahun A., Karpuhin A.I., Torshin S.P.* Postuplenie radionuklidov v rasteniya kukuruzy v vodnyh kul'turah s primeneniem organicheskih ligandov // Plodorodie. 2008. № 4. S. 46—47. (In Russian)]
- 14. *Белова Н.В., Кузнецов В.К., Санжарова Н.И.* Эффективность применения различных видов органических удобрений на сельскохозяйственных угодьях, подвергшихся радиоактивному загрязнению // Плодородие. 2007. № 1. С. 37—39. [*Belova N.V.*,

- *Kuznetsov V.K.*, *Sanzharova N.I*. Effektivnost' primeneniya razlichnyh vidov organicheskih udobrenij na sel'skohozyajstvennyh ugod'yah, podvergshihsya radioaktivnomu zagryazneniyu // Plodorodie. 2007. № 1. S. 37–39. (In Russian)]
- 15. Алексахин Р.М., Тихомиров Ф.А., Моисеев И.Т. Поведение ¹³⁷Сs в системе почва—растение и влияние внесения удобрений на накопление радионуклида в урожае // Агрохимия. 1992. № 8. С. 127—138. [Alexahin R.M., Tihomirov F.A., Moiseev I.T. Povedenie ¹³⁷Cs v sisteme pochva—rastenie i vliyanie vneseniya udobrenij na nakoplenie radionuklida v urozhae // Agrohimiya. 1992. № 8. S. 127—138. (In Russian)]
- 16. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. 688 с. [Praktikum po agrohimii / Pod red. V.G. Mineeva.: М.: Izd-vo MGU, 2001. 688 s. (In Russian)]
- 17. Павлоцкая Ф.И. Миграция радиоактивных продуктов глобальных выпадений в почвах. М.: Атомиздат, 1974. 216 с. [Pavlockaya F.I. Migraciya radioaktivnyh produktov global'nyh vypadenij v pochvah. М.: Atomizdat, 1974. 216 s. (In Russian)]
- 18. Водовозова И.Г., Погодин Р.И. Влияние органического вещества почвы на переход радиоактивных изотопов в растения // Радиоактивные изотопы в почвенных и пресноводных системах. Свердловск, 1981. С. 15–18. [Vodovozova I.G., Pogodin R.I. Vliyanie organicheskogo veshchestva pochvy na perekhod radioaktivnyh izotopov v rasteniya // Radioaktivnye izotopy v pochvennyh i presnovodnyh sistemah. Sverdlovsk, 1981. S. 15–18. (In Russian)]
- Valke E., Cremers A. Sorption-desorption dynamics of radiocaesium in organic matter soils // Sci. Total Environ. 1994. V. 154. P. 275–283.
- 20. Посыпанов Г.С. Биологический азот. Проблемы экологии растительного белка: монография. М.: Изд-во МСХА, 1993. 272 с. [Posypanov G.S. Biologicheskij azot. Problemy ekologii rastitel'nogo belka: monografiya. М.: Izd-vo MSKHA, 1993. 272 s. (In Russian)]
- 21. *Тулина А.С., Ставрова Н.Г., Семенов В.М.* Закономерности поступления ¹³⁷Сѕ в растения из дерновоподзолистой песчаной почвы при внесении азотных удобрений // Агрохимия. 2007. № 11. С. 61—70. [*Tulina A.S., Stavrova N.G., Semenov V.M.* Zakonomernosti postupleniya ¹³⁷Сѕ v rasteniya iz dernovopodzolistoj peschanoj pochvy pri vnesenii azotnyh udobrenij // Agrohimiya. 2007. № 11. S. 61—70. (In Russian)]
- 22. *Щибулько Н.Н., Киселева Д.В.* Влияние доз и сроков внесения азотных удобрений на накопление ¹³⁷Сs в растениях и продуктивность зерновых культур // Агрохимия. 2010. № 4. С. 56–61. [*Cibul'ko N.N., Kiseleva D.V.* Vliyanie doz i srokov vneseniya azotnyh udobrenij na nakoplenie ¹³⁷Cs v rasteniyah i produktivnost' zernovyh kul'tur // Agrohimiya. 2010. № 4. S. 56–61. (In Russian)]

Influence of Different Types of Organic Fertilizers on the Transfer of ¹³⁷Cs into the Grain Crops Harvest

N. V. Andreeva^{a,#}, N. V. Belova^a, V. K. Kuznetsov^a, and V. P. Grunskaya^b

^a Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia
 ^b Tula Research Institute for Agriculture, Plavsk, Russia
 [#]E-mail: nva2803@yandex.ru

Long-term stationary experiments allowed studying the effectiveness of various types of organic fertilizers on sod-podzolic soil and leached chernozem contaminated with ¹³⁷Cs due to the Chernobyl accident. It was established that the use of litter and liquid manure, straw, green manures on sod-podzolic sandy soil at separate and joint application had a positive effect on soil fertility indicators and reduced the biological mobility of ¹³⁷Cs. The content of exchangeable forms of ¹³⁷Cs in soil decreased by 4.2% when ploughing the green manure, in combination with straw, it decreased by 4.1–4.3%, and at the application of straw and green manure against the manure background – by 5.8–8.0%, in comparison to the control. The combined application of straw and green manure against the background of litter manure reduces the accumulation of ¹³⁷Cs in barley grain by 1.6–2.4 times. The introduction of acidic mid-decomposed peat at a dose of 30 t/ha against NPK background to sod-podzolic sandy soil facilitated an increase in the accumulation of ¹³⁷Cs in the grain of oats by 1.2–1.5 times. Ploughing of green manure of legumes into a leached chernozem increases the accumulation of ¹³⁷Cs in grain and straw of winter wheat by 1.4–1.9 times.

Keywords: radionuclides, organic fertilizers, ¹³⁷Cs, biological mobility

_____ ХРОНИКА _____

СЪЕЗД РАДИОБИОЛОГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА УКРАИНЫ

DOI: 10.31857/S0869803120010075

1-4 октября 2019 г. в Киеве проходил 7-й съезд Радиобиологического общества Украины с международным участием. Съезд был посвящен памяти основателя общества и его бессменного президента, выдающегося радиобиолога академика Национальной академии наук Украины Дмитрия Михайловича Гродзинского (1929-2016) в связи с 90-летием со дня его рождения. Съезд принимал Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины (НУБиП), в котором в 1987 г. была создана первая в стране узкопрофильная кафедра радиобиологии и радиоэкологии и в структуру которого входит Украинский НИИ сельскохозяйственной радиологии, организованный через месяц после аварии на Чернобыльской АЭС как филиал ВНИИ сельскохозяйственной радиологии в г. Обнинск.

В работе Съезда приняли участие 89 специалистов в области радиобиологии, радиоэкологии, радиационной безопасности и смежных направлений, представляющих 23 научно-исследовательских учреждения и 20 высших учебных заведений Украины, а также несколько ученых из Азербайджана, Беларуси, России, Словакии, Турции. Было заслушано девять пленарных и 54 секционных докладов, а также представлено 18 постеров.

Докладом о веховых датах в жизни Д.М. Гродзинского и его вкладе в науку съезд открыл вице-президент общества И.Н. Гудков (НУБиП). Д.М. Гродзинский создал известную во всем мире школу радиобиологии растений, сотрудниками которой впервые была доказана возможность процессов репарации в образовательных клетках высших растений, роль репопуляции и регенерации в их пострадиационном восстановлении, значение позиционной информации клеток в образовании морфозов и опухолей, сформулировал положение о влиянии низких доз радиации на нестабильность генома и микроэволюционные процессы в биоте, создал учение об эпигенетической радиоадаптации организмов. Было подчеркнуто, что именно по инициативе Дмитрия Михайловича при Научном совете по радиобиологии АН СССР была создана секция радиобиологии растений, которой он руководил в течение ряда лет, отмечено, что в течение многих лет он был членом редакционного совета, членом редакционной коллегии, а в 1988-1991 гг. возглавлял редколлегию журнала "Радиобиология".

В пленарном докладе А.П. Кравец, которая после смерти Д.М. Гродзинского возглавила отдел биофизики и радиобиологии в Институте клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины (ИКБиГИ), были представлены результаты исследований последних лет работы ученого и его сотрудников о роли эпигеномных механизмов в радиоустойчивости и радиоадаптации растений. Была установлена связь между различиями в профилях метилирования ДНК с радио-

чувствительностью и адаптивным потенциалом организма, что имеет важное значение в формировании механизмов индивидуальной радиоустойчивости. Исследования протеома растений, произрастающих в течение ряда поколений в Чернобыльской зоне отчуждения (ЧЗО), показали, что изменения в эпигеноме при облучении охватывают не только защитные и репаративные системы, но весь метаболизм растений — изменения претерпевают практически все функциональные группы белков от запасных белков зрелых семян до стрессовых энзимов первичного метаболизма.

В докладе директора УкрНИИ сельскохозяйственной радиологии В.А. Кашпарова доказывалось, что плотность радионуклидного загрязнения территории в настоящее время не в полной мере отображает радиологическую обстановку, в связи с чем основным критерием опасности воздействия ионизирующего облучения должна быть эффективная доза для представительного человека. До настоящего времени в отдельных регионах Украины загрязнение молока коров превышает установленные допустимые уровни. Без применения защитных мероприятий такая ситуация может сохраняться до 2040 г. Но при относительно небольших затратах на реализацию соответствующих контрмер (менее 100 тыс. евро) на загрязненных территориях, где проживает население, возможно производство нормативно "чистой" продукции и снижение доз облучения человека ниже установленного дозового предела в 1 мЗв в год.

Показано, что выведенные в 1991 г. из хозяйственного оборота вследствие аварии на Чернобыльской АЭС сельскохозяйственные угодья в Житомирской, Киевской и Черниговской областях в настоящее время нелегально используются, что требует пересмотра их отнесения ко 2-й зоне радиоактивного загрязнения и официального возвращения в хозяйственное использование в соответствии с реальной радиологической обстановкой. Предложено в соответствии с рекомендациями МАГАТЭ использовать ЧЗО для создания международных референтных радиоэкологических научных полигонов в наземных и водных экосистемах.

В докладе генерального директора Национального научного центра радиационной медицины Украины (ННЦРМ) Д.А. Базыки были представлены результаты исследований клеточно-молекулярных механизмов действия ионизирующей радиации на организм человека и эпидемиологии отдаленных эффектов облучения. Обоснованы положения о дозовой зависимости изменений поверхностного фенотипа, ядерных структур и функциональной активности клеток крови при острой лучевой болезни в интервале малых доз и при формировании общих реакций нервной и иммунной систем в период восстановления после облучения; исследованы механизмы злокачественной трансформа-

ции при формировании отдаленных эффектов облучения.

В докладе В.В. Талько, представляющей ту же организацию, была дана оценка поглощенных доз внутриутробного облучения щитовидной железы радиоактивным йодом на основе Публикации 88 МКРЗ, эффективных доз облучения эмбриона и плода, а также эквивалентных доз на головной мозг при облучении in utero. Представлены доказательные данные радиационно ассоциированного уменьшения окружности головы и грудной клетки при рождении, а также радиационно ассоциированного эксцесса крупноузлового зоба и, возможно, рака щитовидной железы. Отдаленные нейропсихиатрические и эндокринные эффекты пренатального облучения ¹³¹ I могут быть обусловлены относительно кратковременным воздействием, уровень которого ранее считался безопасным.

Основные направления современных радиобиологических исследований, в которые радиационная цитогенетика неопухолевых клеток и тканей вносит весомый вклад, были обозначены в докладе Н.А. Мазник и В.А. Винникова (Институт медицинской радиологии НАМН Украины): 1) сравнительная оценка генотоксичности разных режимов лучевой терапии; 2) разработка референтной системы для детекции возможного переоблучения и выявления пациентов с повышенной радиочувствительностью; 3) выявление немишенных эффектов частичного облучения, таких как геномная нестабильность и эффект свидетеля; 4) разработка подходов для прогнозирования ранних и отдаленных лучевых повреждений; 5) оценка сочетанного действия радиационного и химического фактора в условиях химиолучевого лечения онкологических заболеваний. Приведенные положения были проиллюстрированы данными собственных исследований. Также рассматривались сравнительные возможности различных цитогенетических методов для выявления случаев аварийного переоблучения пациентов, приводились данные о программах международных организаций, направленных на поддержку биодозиметрических исследований в области радиационной медицины и онкологии.

Результаты многолетних радиобиологических исследований по сравнительному анализу эффектов внутреннего облучения радионуклидами чернобыльского происхождения в модельных и полевых экспериментах были представлены в докладе А.И. Липской (Институт ядерных исследований НАН Украины). Исследовались процессы дозообразования, состояние системы костномозгового кроветворения, окислительного метаболизма, цитогенетические эффекты. Продемонстрирована специфичность изменений и выраженность биологических эффектов при внутреннем облучении радионуклидами ¹³¹I, ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr, которые зависели от режима поступления радионуклидов, а также особенностей формирования дозы.

В исследованиях радиогенных изменений у мелких грызунов из ЧЗО установлено, что хроническое действие малых доз ионизирующего излучения приводит к существенным нарушениям в системе кроветворения, повышению уровня гено- и цитотоксических повреждений клеток костного мозга. Отмечали также значительную индивидуальную вариабельность исследуемых показателей, что свидетельствует о неоднородности реагирования гетерогенных природных популя-

ций на действие радиационного фактора. Показано, что при хроническом облучении в диапазоне малых доз в организме происходят параллельные процессы как повреждения критических систем, так и компенсаторно-восстановительных реакций.

О формировании дозовых нагрузок на водную биоту в водоемах ЧЗО и биологических эффектах говорилось в докладе Д.И. Гудкова (Институт гидробиологии НАН Украины). Процессы естественного самоочищения водоемов от радионуклидного загрязнения происходят крайне медленно, в результате чего компоненты экосистем в большинстве озер, стариц и затонов продолжают характеризоваться высокими уровнями содержания ⁹⁰Sr. ¹³⁷Cs и изотопов трансурановых элементов. В градиенте мощности поглощенной дозы 0.07-420 мкГр/ч у водных организмов установлены дозозависимые цитогенетические и соматические эффекты, свидетельствующие о радиационном воздействии на субклеточном, клеточном, тканевом, организменном и популяционно-видовом уровнях. Для высших водных растений в наиболее загрязненных ралионуклилами волоемах выявлено снижение устойчивости к поражению паразитическими грибами и беспозвоночными, следствием чего является существенное снижение темпов роста, семенной продуктивности и биомассы растений. Частота хромосомных нарушений в тканях высших водных растений и эмбрионах моллюсков в загрязненных радионуклидами водоемах многократно превышает уровень спонтанного мутагенеза, присущего гидробионтам, и может быть проявлением радиационно-индуцированной генетической нестабильности.

Влияние радионуклидного загрязнения почв в ЧЗО на состав микробных сообществ было рассмотрено в докладе *Е.Ю. Паренюк* (НУБиП). В результате метагеномного анализа проб и проведенных биоинформативных исследований было идентифицировано около 4300 видов представителей почвенной микрофлоры. Установлено, что на биоразнообразие микроорганизмов, с одной стороны, оказывает влияние уровень радиоактивного загрязнения (по ¹³⁷Сs), а с другой — количество азота в почве. Наибольшее видовое разнообразие было отмечено для проб, отобранных на территории захороненного "Рыжего леса".

Большинство не только пленарных, но и секционных докладов было связано с продолжающимися исследованиями последствий аварии на Чернобыльской АЭС и их минимизацией.

Миграция радионуклидов чернобыльского происхождения в различных объектах окружающей среды и возможности влияния на эти процессы были рассмотрены в докладах А.Е. Кагляна и др., Е.Н. Волковой и др. (Институт гидробиологии НАН Украины), А.А. Орлова (УкрНИИ лесного хозяйства), Ю.В. Хомутинина и др. (НУБиП), Ю.Н. Мандро и М.М. Виничука (Университет "Житомирская политехника").

Значительное количество докладов было посвящено медицинским аспектам состояния здоровья населения, проживающего на загрязненных радионуклидами территориях: частоте возникновения злокачественных новообразований (А.Е. Присяжнюк и др., Д.А. Белый и др., ННЦРМ; С.В. Коваль и др., Институт экспериментальной патологи, онкологии и радиобиологии НАН Украины); мониторингу состояния здоровья детей (В.Г. Бебешко, Е.Н. Бруслова и др., ННЦРМ); проявле-

нию стресс-индуцируемой иммуносупрессии (В.Л. Со-коленко, С.В. Соколенко, Черкасский национальный университет); особенностям формирования доз внутреннего и внешнего облучения организма (И.П. Дрозд и А.И. Липская, Л.К. Бездробная и др., Институт ядерных исследований НАН Украины).

Влияние хронического облучения ионизирующей радиацией на параметры психонейроиммуноэндокринной регуляции, а также комбинированного действия радиации и других факторов физической природы были рассмотрены в докладах *Е.А. Ракша-Слюсаревой* и др. (Донецкий национальный медицинский университет).

Значительное количество докладов было посвящено цитогенетическим и биохимическим исследованиям в клетках различных тканей и организмов: В.А Курочкина, О.А. Костура и И.П. Дрозд (Институт ядерных исследований НАН Украины), Г.М. Мачульский и др. (Национальный университет "Черниговский коллегиум", Н.Л. Шевцова и др. (Институт гидробиологии НАН Украины), А.В. Клепко и др. (НУБиП).

Проблемы разработки и испытания новых радиозащитных препаратов были рассмотрены в докладах Л.П. Деревянко и др. (НУБиП), Н.М. Веялкиной, О.М. Кадуковой и др. (Институт радиобиологии НАН Беларуси), В.В. Талько, Н.П. Атаманюк и др. (ННЦРМ), В.К. Кольтовера и др. (Институт химической физики РАН; Н.Е. Узленковой и др. (Институт медицинской радиологии НАМН Украины); Г.И. Лавренчук, О.Ф. Сенюк (ННЦРМ).

Несколько докладов, представленных сотрудниками ИКБиГИ, были посвящены различным аспектам действия ионизирующей радиации на растения: морфологическим изменениям ($E.\Gamma$. Нестеренко и др.), влиянию на накопление вторичных метаболитов в лекарственных растениях ($A.\Gamma$. Саливон и др.), на экспрессию генов цветения (M.B. Кривохижа, H.M. Рашидов), адаптивному ответу на действие низких доз УФ-радиации (B.B. Жук и др.), на эффективность иммунных систем (HO.B. Шилина и др.).

В заключительном слове президент общества *Н.М. Рашидов* отметил, что, несмотря на трудности, обусловленные в основном недостаточным финансированием науки, за прошедшие после 6-го съезда четыре года в Украине отмечен определенный прогресс в радиобиологических исследованиях. Возросло количество работ, выполняемых по международным проектам. Большинство исследований связано с изучением отдаленных последствий аварии на Чернобыльской АЭС и носит в значительной степени прикладной, практический характер. К сожалению, мало проводится работ по изучению действия малых доз радиации, ее хроническому действию, сочетанных эффектов радиации и других факторов, немишенных эффектов, поиску новых радиозащитных средств.

8-й Съезд Радиобиологического общества Украины решено провести в 2023 г.

И. Н. Гудков

_____ ХРОНИКА ——

THE TEXTBOOK OF A NEW GENERATION "RADIOECOLOGY"

© 2020 r. E. B. Khobotova^{1,*}, M. I. Ihnatenko¹, I. V. Hraivoronska¹, and Iu. S. Kaliuzhna¹

¹ Kharkiv National Automobile and Highway University, Kharkiv, Ukraine

*E-mail: elinahobotova@gmail.com

DOI: 10.31857/S0869803120010105

The science of radioecology has lately become of great importance in training bachelors in certain areas of education, for example, environmental engineers. Therefore, there is a great necessity in knowledge of the basic laws of radioactivity, the behavior of artificial and natural radionuclides in the biosphere and the biological effects of ionizing radiation. The content of higher education today has triggered off a number of problems, and their resolution determines its form in the future. An integrated approach is being introduced when choosing the advanced methods and ways of teaching, new learning technologies and distance learning are brought into practice, organizational and methodological materials on students' independent work are being improved. One of the methodological approaches to solve these problems is the creation of innovative educational literature, which takes into account all challenges of higher education. The textbooks are designed to be reliable tools that provide trustworthy information to maintain and improve understanding of critical concepts by students.

The essence of the task is to organize the cognitive activity by combining all the components of the educational process in one methodical edition: presentation of theoretical material, the practical part in the form of tasks, test tasks, tasks for self- control and examples of problem-based individual tasks. The textbook is used in the study of the professionally-oriented discipline "Radioecology", aimed at shaping the professional qualities of a future specialist, which is fully reflected in the very content of the textbook 1. Attention is focused on the issues that every ecologist must know.

Theoretical part of the textbook is a methodically adapted system that includes the following sections: "Atomic nucleus structure", "Natural radioactivity", "Artificial radioactivity", "Ionizing radiation", "Dosimetry", "Technologically-modified radiation background", "Radiation protection", "Sources of man-made radioactivity", "Nu-

clear power engineering", "Prospects for development of nuclear power engineering after the Chernobyl accident", "Circulation of artificial radioisotopes in the external environment", "General laws of radiobiological effect of radiation", "Radiation syndromes and radiation poisoning". In presenting the material, the principle of logical inter-thematic relations is observed. Each section has a fairly voluminous theoretical material, without simplification, characteristic of some modern educational publications. The text-book is aimed at the future; therefore, in the theoretical part, the latest achievements in the field of radioecology and radiobiology are presented as the additional material.

The practical part of the textbook submits tasks and exercises of various difficulty levels: easy, medium, hard and creative. Mastering the practical part of the textbook motivates learning activities. Differentiation of the practical part according to the difficulty level and a gradual transition to higher levels contributes to it greatly. Individual tasks in the form of problem situations are a creative component of the practical part. When performing a task that combines various topics of the discipline, interdisciplinary links are traced and different approaches to the solution are possible. Individual tasks are of great importance in enhancing the study of various professionally-oriented environmental disciplines by students. Individual tasks of various difficulty levels are the new integrated approaches, focused on the knowledge and practical professional training, which creates the basis for the formation of a competitive personality. Controls of students' knowledge and skills are presented in the form of tasks for self-control and test tasks of various types

The content, the structure of the textbook, the depth of interpretation of the material and its methodological orientation form students' research thinking, impart the skills to solve specific practical tasks on radiation problems at the place of production, increase the level of qualification and competence of the future specialist. The textbook is designed to help students organize their independent work.

¹ Хоботова Е.Б., Грайворонська І.В., Уханьова М.І. Радіоекологія. Харків: ХНАДУ, 2018. 288 с.; 31 іл.

VIII Съезд по радиационным исследованиям (Москва, 20–23 октября 2020)

Уважаемые друзья и коллеги!

Правление Российского радиобиологического общества и бюро Научного совета РАН по радиобиологии приглашают Вас, Ваших сотрудников и коллег принять участие в работе VIII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность), который состоится с 20 по 23 октября 2020 года в Москве на базе Государственного научного центра РФ "Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна" ФМБА России.

На пленарных и секционных заседаниях съезда планируется обсудить итоги фундаментальных исследований и новые результаты в области радиобиологии, радиоэкологии и проблем радиационной безопасности. Тематика заседаний в основном соответствует секциям Научного совета РАН по радиобиологии:

- 1. Молекулярная радиобиология. Радиационная генетика.
- 2. Молекулярно-клеточные механизмы действия радиации, механизмы и прогноз отдаленных последствий действия радиации.
- 3. Медико-биологические последствия действия радиации.
 - 4. Радиобиологические основы лучевой терапии.
 - 5. Радиационная физиология.
 - 6. Радиационная иммунология и гематология.
 - 7. Противолучевые средства.
- 8. Радиобиология тяжелых ионов. Космическая радиобиология.
 - 9. Теоретическая радиобиология.
- 10. Дозиметрия и микродозиметрия ионизирующих излучений.
 - 11. Радиобиология неионизирующих излучений.
 - 12. Экологические проблемы радиобиологии.
- 13. Радиационная безопасность и гигиеническое нормирование.

14. Радиобиологическое и радиоэкологическое образование.

Регистрация участников съезда и представление тезисов докладов осуществляются на сайте съезда: www.radbio2020.ru

Тезисы доклада на русском языке необходимо представить в организационный комитет через сайт съезда не позднее 30 апреля 2020 года. Объём тезисов не более 1 страницы формата A4, шрифт Times New Roman, размер шрифта — 12, межстрочный интервал — 1, абзацный отступ – 1 см, поля сверху и слева 3 см, снизу и справа – 2 см, переносы слов не допускаются. Первая строка — название доклада (прописные буквы, жирный шрифт), вторая строка – инициалы и фамилия авторов (курсив, фамилию докладчика подчеркнуть), третья строка – название учреждения, город, страна (обычный шрифт); четвертая строка – адрес электронной почты докладчика. Далее, через одну пустую строку следует основной текст тезисов (обычный шрифт, выравнивание по ширине). В тезисах должны быть представлены следующие основные разделы: цель, материалы и методы, результаты, выводы (заключение). Сокращения должны быть расшифрованы в тексте: рисунки и таблицы не допускаются.

Обращаем Ваше внимание на то, что каждый автор может быть соавтором не более чем в трех тезисах докладов. Тезисы, присланные после указанного срока или оформленные не по правилам, не рассматриваются.

Оргвзнос для участников съезда составит 1000 руб., для аспирантов и студентов — 500 руб. Взнос можно будет внести по приезде при регистрации.

Приглашаем всех, кто занимается проблемами радиобиологии, радиоэкологии и радиационной безопасности, принять участие в работе VIII Съезда по радиационным исследованиям!