

СОДЕРЖАНИЕ

Том 60, номер 2, 2020

Методология научного поиска

Критерий Хилла “временная зависимость”. Обратная причинность и ее радиационный аспект

А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, А. П. Бирюков

115

Молекулярная радиобиология

Исследование влияния протонного излучения на протеом клеток головного мозга мыши

*А. В. Литвинчук, Е. С. Зорина, А. Т. Копылов, В. О. Попова,
О. К. Легина, Н. Л. Ронжина, Н. А. Верлов, Д. Л. Карлин,
В. В. Лысенко, В. Ф. Ежов, С. Н. Нарыжный*

153

Общая радиобиология

Danio rerio как экспериментальная модель в радиобиологии

А. А. Ливанова, А. В. Завирский, В. Ю. Кравцов

163

Модификация радиационных эффектов

Перспективы ингаляционной доставки медицинских средств защиты при радиационных поражениях

*И. М. Иванов, А. С. Никифоров, М. А. Юдин, С. В. Чепур,
Ю. А. Прошина, А. М. Свенцицкая*

175

Радиоэкология

Изменчивость в популяциях растительных тест-организмов при биоиндикации водоемов с повышенным содержанием тяжелых естественных радионуклидов, химическим загрязнением и недостатком биогенов

И. С. Боднарь, Е. В. Чебан, Н. Г. Рачкова

189

Математическая модель распределения радионуклидов в системе “надземная фитомасса растений–поверхность почвы” при хронических радиоактивных выпадениях в лесном биогеоценозе

Т. В. Перволоцкая, А. Н. Перволоцкий

203

Радионуклиды

Современные уровни долгоживущих радиоизотопов плутония в донных отложениях соленых озер Крыма

*Н. Н. Терещенко, А. В. Трапезников, А. А. Параскив,
В. Ю. Проскурнин, А. П. Платаев*

211

Рецензии

Gudkov I.M., Vinichuk M.M. Radiobiology & radioecology. Киев–Херсон: Oldi-Plus, 2019. 416 с. (in English)

С. А. Гераськин

222

Хроника

Владиславу Георгиевичу Петину – 80 лет

224

Contents

Vol. 60, No. 2, 2020

Methodology of Scientific Research

Hill's Criteria "Temporality". Reverse Causation and its Radiation Aspect

A. N. Koterov, L. N. Ushenkova, A. P. Biryukov

115

Molecular Radiobiology

Research of the Effect of Proton Radiation on the Brain Proteome of Mouse

*A. V. Litvinchuk, E. S. Zorina, A. T. Kopylov, V. O. Popova, O. K. Legina,
N. L. Ronzhina, N. A. Verlov, J. L. Karlin,
V. V. Lysenko, V. F. Ezhov, S. N. Naryzhny*

153

General Radiobiology

Danio rerio as an Experimental Model in Radiobiology

A. A. Livanova, A. V. Zavirsky, V. Yu. Kravtsov

163

Modification of Radiation Effects

Prospects for Inhalation Delivery of Medical Protectors in Radiation Damage

*I. M. Ivanov, A. S. Nikiforov, M. A. Yudin, S. V. Chepur,
Y. A. Proshina, A. M. Sventitskaya*

175

Radionuclides

Modern Levels of Long-lived Radioisotopes of Plutonium in Bottom Sediments of Salt Lakes of the Crimea

*N. N. Tereshchenko, A. V. Trapeznikov, A. A. Paraskiv,
V. Yu. Proskurnin, A. P. Plataev*

189

Radioecology

Variability in Populations of Plant Test-organisms in Water Bioindications with an Increased Content of Heavy Natural Radionuclides, Chemical Pollution and Insufficient of Biogenes

I. S. Bodnar, E. V. Cheban, N. G. Rachkova

203

Mathematical Model of Radionuclide Distribution in the System "Aboveground Plant Phytomass–Soil Surface" for Chronic Radioactive Fallout in the Forest Biogeocenosis

T. V. Perevolotskaya, A. N. Perevolotsky

211

Reviews

Gudkov I.M., Vinichuk M.M. Radiobiology & Radioecology. Kiev–Kherson: Oldi-Plus, 2019. 416 c. (in English)

S. A. Geras'kin

222

Chronicle

Vladislav Georgievich Petin is 80 Years Old

224

МЕТОДОЛОГИЯ НАУЧНОГО ПОИСКА

УДК 167:61:573.01

*По отношению к операции обращения времени,
все физические величины делятся на два класса.
(Давыдов А.С. “Квантовая механика”)*

КРИТЕРИЙ ХИЛЛА “ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ”. ОБРАТНАЯ ПРИЧИННОСТЬ И ЕЕ РАДИАЦИОННЫЙ АСПЕКТ[#]

© 2020 г. А. Н. Котеров^{1,*}, Л. Н. Ушенкова¹, А. П. Бирюков¹

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

*E-mail: govorilga@inbox.ru

Поступила в редакцию 16.09.2019 г.

В обзоре рассмотрены различные аспекты критерия причинности “Временная зависимость” и соответствующих ему конфаундеров в рамках временного смещения в том числе для радиационной эпидемиологии. Отмечается, что этот руководящий принцип является единственным критерием во всех комплексах правил оценки причинной обусловленности для неэкспериментальных (описательных) дисциплин, поскольку фальсификация по нему сразу же устраняет вероятность причинности. Проанализирована точная терминология критерия, его философская суть, уходящая истоками в труды Д. Юма и Дж. Милля (воздействие должно быть перед эффектом), эпидемиологический смысл (необходимость соблюдения правдоподобного латентного периода для изучаемой патологии), а также трудности установления временной зависимости в ретроспективных исследованиях и ее неабсолютность для отдельных дисциплин и ситуаций в медико-биологической сфере. Представлены определения понятий “обратная причинность” (протопатическое смещение) из фундаментальных источников, а также близких к нему конфаундингов в рамках временных смещений (показания, противопоказания и тяжести патологии/прогноза). Перечислены подходы для устранения этих временных смещений. Приведены многочисленные примеры обратной причинности как из обыденной жизни (социология, политология и психология), так и из области эпидемиологии и медицины. Подробно рассмотрены факты обратной причинности для канцерогенеза в радиационной эпидемиологии, все из которых находятся в рамках диагностического или терапевтического облучения, нередко назначаемого пациентам с уже имеющимися предпосылками к злокачественным новообразованиям. Наиболее важным таким примером является облучение в детском и молодом возрасте при компьютерной томографии; в обзоре кратко рассмотрены все масштабные эпидемиологические исследования на эту тему (2012–2019) применительно к проблеме обратной причинности. Сделан вывод, что обзор может послужить для лучшего ориентирования в фактах обратной причинности не только в эпидемиологии и медицине, но и в обыденной жизни.

Ключевые слова: временное смещение, критерий причинности “Временная зависимость”, обратная причинность, протопатическое смещение, конфаундинг показания, конфаундинг тяжести/прогноза показания, диагностические облучения, компьютерная томография

DOI: 10.31857/S086980312002006X

ВВЕДЕНИЕ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИЧИННОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И ОПИСАТЕЛЬНЫХ ДИСЦИПЛИНАХ

Определение причинности явлений – краеугольный камень как нашей обыденной жизни [1]¹ (список примечаний идет после основного текста), так и многих дисциплин, и эмпирических, и описательных: философии [3, 4], биологии, эпидемиологии, медицины, физики [5], химии [6]²,

экологии [8, 9], экономики [10], социологии [5, 11], юриспруденции [12, 13], истории [14], психологии [5] и др. [5, 15].

В большинстве перечисленных дисциплин (кроме, возможно, философии и истории) доказательность может основываться на выявлении статистически значимых ассоциаций: между причиной и следствием, между воздействием и эффектом, между характеристикой группы и ее последующими поведенческими особенностями, и т.п. [5]³. В экспериментальных дисциплинах, где возможно определять условия опыта, получе-

[#] Публикуется в авторской редакции.

ние подобных доказательств достаточно ясно (экспериментальным называется подход, когда можно проконтролировать хотя бы один варьирующий фактор из многих [31]). Выявление в эксперименте статистически значимой ассоциации или корреляции — это *конечный* этап доказательным контролируемым испытаниям в медицине [5, 31]). Но для описательных дисциплин, включающих вместе с эпидемиологией экономику, социологию, психологию, историю и др. вышеперечисленные, нет никаких “*post hoc, ergo propter hoc*” (“после этого — поэтому вследствие этого”, лат.), “ассоциация не означает каузацию” (т.е. причинность; парафраз из известной работы Hill A.V., 1965 [18]; подробнее см. в [27, 32]), какой бы статистической значимости ни была корреляция.

Выявленная ассоциация в описательных исследованиях при отсутствии контроля над вариант(ами) может объясняться следующими неучтенными факторами [9, 12, 13, 18, 22–24, 27, 33–36]:

- случайностью (“chance”);
- вмешивающимися факторами (“третий фактор”; “confounder”; “конфаундер”; подробнее см. в [27]);
- систематическими ошибками (bias — “смещение”⁴);
- обратной причинностью [10, 33, 36] (и др.); рассмотрена ниже.

Ранее в Сообщении 1 нами было приведено множество примеров определения эффектов именно конфаундерами, причем как при радиационных, так и при нерадиационных воздействиях [27]. Десятки типов субъективных уклонов (bias) при планировании и проведении исследований, а также при интерпретации полученных данных, перечислены и разобраны во многих источниках по эпидемиологии (к примеру, из цитированных выше обзоров, пособий и документов в [2, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 16, 22–26, 28, 31, 33, 34, 36]), а также (порядка 30) в оксфордском словаре по эпидемиологии [37].

Определенный интерес представляет не рассмотренное нами ранее влияние случайности, которое априори кажется не слишком важным, но на деле может давать самые удивительные, причем статистически значимые, корреляции и ассоциации⁵. Термин “случайность” используется для обозначения отсутствия причины [34]; именно для снижения ее вероятности служат тесты на статистическую значимость [35]. Величина $p \leq 0.05$ рассматривается в медико-биологических дисциплинах как свидетельство неслучайной связи/отличия, причем в последние годы порог значимости p предлагается уменьшить до 0.032 (2016) [43] и даже до 0.005 (2017) [44].

Но статистическая значимость не гарантирует, что единичные ассоциация/отличие являются неслучайными. Как отмечается в [35], повседневная жизнь полна маловероятных событий и совпадений: тысячи людей выиграли в лотереи, а многие другие погибли в результате несчастных случаев, хотя вероятности соответствующих событий были чрезвычайно малы, к примеру, одно на 100000 или меньше. Случайность не ведет себя по-разному в научных исследованиях и в повседневной жизни. Хотя первые и отличаются от второй тем, что в дополнение к необходимым значениям p наука требует суждения, опирающегося на достоверные знания, чтобы отбросить элемент случайности [35]. Даже когда значение p очень мало и было получено в результате рандомизированного исследования, его результаты все равно могут быть отклонены, *если они не имеют смысла* [45] (цитировано по [35]; см. также здесь прим. 5).

Надо отметить, что случайные события систематически не повторяются, но в эпидемиологии и медицине не всегда есть возможность это проверить⁶.

В связи с изложенным, для описательной эпидемиологии установление статистически значимой ассоциации между двумя явлениями, в отличие от экспериментальных дисциплин, только самый первый, *исходный* этап доказательства причинности [9, 16–24] (точная цитата — в [22]).

Чтобы подтвердить причинность ассоциации, вслед за постулатами Генле–Коха 19 в. для инфекционных заболеваний, в 1950–1970-х гг. в эпидемиологии был разработан ряд “мер предосторожности” [16], пунктов (“points”) [47] — положений (“viewpoints”) [18] — руководящих принципов (“guidelines”) [48] — мнений (“judgments”) [8] — критериев (“criteria”) [49] — постулатов (“postulate”) [20] и др. (см. в [21, 27, 32]) для оценки причинности хронических, неинфекционных патологий. Названные термины означают по сути одно и то же, а качественные отличия их по силе утверждения служат только отражением субъективных позиций авторов. Наиболее известны девять критериев причинности Хилла (Austin Bradford Hill) [18], восемь из которых этот авторитетный в прошлом английский статистик в области эпидемиологии и медицины только собрал воедино, взяв у других авторов (подробнее см. в [13, 20, 21, 27, 32, 50]). Тем не менее теперь критерии причинности в эпидемиологии называются почти всегда “критериями Хилла” или “руководящими принципами Хилла” [2, 7, 9, 12, 13, 22, 27, 30–32, 34, 35, 37, 42, 50, 51] (и мн. др., включая объемные западные пособия по эпидемиологии и статистическим методам в медицине)⁷.

Мы не будем здесь даже перечислять девять критериев Хилла (подробнее см. наш цикл сооб-

щений [27, 32]), скажем только, что сам Хилл подчеркивал, что это никакие не строгие правила-критерии, а некие принципы, руководства, чтобы оценить степень вероятности того, что ассоциация причинна (“viewpoints”) [18]. Вслед за ним указанное положение повторяется практически в каждом соответствующем источнике на тему причинности [2, 7–11, 21, 26–28, 32–34, 48, 51–53]. Ведь в философском плане получение абсолютного знания причинности для медико-биологических дисциплин – невозможно, даже в каком угодно эксперименте [3, 10, 18, 26, 34, 54] (подробнее см. в [27]).

Тем не менее один пункт – положение – руководящий принцип (и т.д.) является именно *критерием* и даже *постулатом*. Это – временная зависимость, порядок времени. То есть воздействие должно быть перед эффектом.

ТЕРМИНОЛОГИЯ ДЛЯ КРИТЕРИЯ “ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ”

Критерий временной зависимости формулируется разными авторами в относительно произвольной форме, поэтому во избежание путаницы представлялось целесообразным привести соответствующую терминологию из известных нам источников (табл. 1)⁸.

Материал из табл. 1 выявляет некоторую негомогенность терминологии: смыслы названий/конструкций могут отчасти не совпадать. Очевидно, что наиболее употребительным является англоязычный термин “Temporality”, появившийся в основополагающих документах 1964 г. [56] и 1965 г. [18] (хотя во втором случае А.В. Хилл использовал также и “Temporal relationship”). Имеется множество примеров, что в одной работе встречаются разные наименования для рассматриваемого критерия порядка времени (подобных источников порядка 20%). В основном включены, как и в публикации Hill A.V., 1965 [18], два главных термина, но есть и рекорд: в Coughlin S.S., 2010 [77] встречаются сразу пять наименований из приведенных в табл. 1. Такая литературная художественность при изложении правил не представляется целесообразной.

Что же касается переводов критерия на русский, то видны либо многословные объяснения [53, 75, 76], либо не совсем правильные сочетания (так, “зависимость “время–эффект”” [74] может быть трактована вне причинного поля, а просто, скажем, как обострение заболевания).

Весьма точным представляется термин M. Susser “Time order” [21, 48, 64], т. е. “Порядок времени”, но это наименование практически никем, кроме самого автора, не использовалось. Из остальных наиболее удачным названием на русском, на наш взгляд, будет “Временная зависимость”, хотя

первое слово и требует постановки ударения. Вслед за переводом “Эпидемиологического словаря” под редакцией Дж. М. Ласта [37] мы будем использовать именно данный термин. Априорность этого следует из самого названия текущего раздела и табл. 1, когда временная зависимость как раз и не соблюдена: вывод (в названиях) идет перед материалом, этот вывод как бы и сформировавшим.

Возможно, важность вопроса о терминологии критерия “временная зависимость” и не столь высока, но применительно к необходимости точных формулировок для критериев причинности можно вспомнить неудачное совпадение смыслов двух руководящих принципов [37]: “consistency” (означает постоянство ассоциации для разных популяций, ареалов и др., но одним из трех смыслов, который только и “знает” переводчик Google, является “согласованность”) и “coherence” (согласованность с текущими медико-биологическими знаниями). Это порой вносит путаницу, в результате чего критерий “coherence” (имеющий важные специфические черты и значение [78, 79]) просто опускается, в том числе в российских пособиях [53, 74, 76].

ФИЛОСОФСКОЕ СУТЬ ВРЕМЕННОГО КРИТЕРИЯ: ВОЗДЕЙСТВИЕ ДОЛЖНО БЫТЬ ПЕРЕД ЭФФЕКТОМ

Данное положение с обыденной позиции представляется излишней банальностью: “кажется очевидным” [48], “интуитивно ясно” [53], “самоочевидный (self-evident) и тривиальный критерий” [80], “причины предшествуют следствиям даже при написании фразы «причина и следствие»” [9], “является частью определения причины” [53] и др. Однако это положение приводится и подчеркивается практически всеми авторами, рассматривающими принципы каузации [2, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 18–21, 23–26, 28, 31, 33–37, 48, 49, 51–53, 57–60, 62–67, 69, 71, 73–76, 78–80] (и др.; представлены только ранее использованные ссылки), начиная от философов прежних столетий. Так, первые два правила (rules) “о причинах и следствиях” Дэвида Юма (D. Hume; 18 в.) представляют собой следующее (перевод из [3]): “Причина и действие должны быть смежными в пространстве и времени” (Правило 1) и “Причина должна предшествовать действию” (Правило 2). Аналогичное построение входит в четвертый из пяти канонов Дж. С. Милля (J.S. Mill; 19 в.): “Если вслед за изменением одного явления замечается изменение другого, то мы можем заключить о причинной связи между ними” (перевод из [4]).

В монографии, посвященной установлению принципов причинности в экологии (2015) [9], авторы сочли необходимым указать, что в пространственном и временном масштабе челове-

Таблица 1. Терминология разных авторов для критерия причинности “временная зависимость”
Table 1. Terminology of different authors for the causal criterion “Temporality”

Термин или конструкция	Основные авторы и общее число источников
Temporal association	Dorn H.F., 1953 [16]* и еще 14 источников (многие – в рамках U.S. Environmental Protection Agency; USEPA; 2000–2014)
Time sequence	Hammond E.C., Horn D., 1954 [17] (цитировано по [21])* и еще два источника (2000 и 2002 гг.)
The simultaneous presence of organism and disease and their appearance in the correct sequence	Yerushalmy J., Palmer C.E., 1959 [55]* (развитие постулатов Генле–Коха для инфекционных патологий на хронические заболевания)
Time trend	Sartwell P.E., 1960 [47]*
Time relation	Stallones R.A., 1963 [49]*
Temporality	Доклад Surgeon General (Главного врача [53]) США о последствиях курения от 1964 г. [56]*; Hill A.B., 1965 [18]; Rothman K., 2012 [2]; Rothman K., Greenland S., 2005 [57, 58]; Rothman K. et al., 2008 [59]; Weed D.L.**; Gorelic L.S., 1996 [60], Weed D.L., 1997–2005 [61, 62] (всего пять работ) и еще 124 источника (1983–2019)
Temporal relationship	Hill A.B., 1965 [18]; Evans A.S., 1976; 1978 [20, 63]; BEIR-VII [31] и еще 48 источников (1979–2017)
Time order	Susser M., 1986–1991 [21, 48, 64]*** и еще 7 источников, преимущественно рассматривающих работы М. Susser
Temporal order	Три источника (2010–2018)
Temporal ordering	Phillips C.V., Goodman K.J., 2006 [65] и еще один источник (2016)
Temporal sequence	13 источников (1987–2017), в том числе НКДАР-2006 [66]
Temporally correct association	Один источник (2010)
Temporal plausibility	Один источник (2014)
Temporal proximity	Два источника (2014 и 2016 гг.)
Time relationship	Два источника (1999 и 2016 гг.)
Temporal relation	Девять источников (1980–2013)
Temporal concordance (Concordance of temporality)	Девять источников (2012–2017); почти все – в рамках USEPA
Temporal incompatibility (критерий, обеспечивающий основу для отказа от причинности)	Fox G.A., 1991 [8]; USEPA, 1998 [67] (работа [8] – основополагающая в плане переноса критериев причинности в экологию)
Временная зависимость	Эпидемиологический словарь под редакцией Дж.М. Ласта (перевод от 2009 г. под редакцией В.В. Власова [37])
Темпоральность (калька с англоязычного термина)	“Памятная записка оценки достоверности причинно-следственной связи” (“Врачи – без-границ”, 2015) [68]
Последовательность во времени	Пособие по доказательной медицине Fletcher R.H. et al., 1996 [69] (перевод с англ. издания 1998 г.; в оригинале – “Temporal relationship”). Пособие по эпидемиологии Хасанова Г.Р. и др., 2017 [70]
Временная связь	Пособие по доказательной медицине Гринхальх Т. (Greenhalgh T.), 2006 [71] (перевод с англ.). Лекции по эпидемиологии и доказательной медицине Брико Н.И., 2007 [72]

Таблица 1. Окончание

Термин или конструкция	Основные авторы и общее число источников
Временные соотношения экспозиции и заболевания	Пособие по эпидемиологии Власов В.В., 2006 [53]. В этом источнике критерии причинности в их специфическом подразделении взяты, судя по всему, из пособия “Epidemiology” L. Gordis (пять изданий, 1996–2014 гг.) [73]. Соответствующий термин в последней – “Temporal relationship”
Зависимость “время–эффект”	Пособие по факторам окружающей среды и здоровью Семеновых Г.К. и др., 2011 [74]
Последовательность в действии причины и ее следствия: действия причины или причинного фактора должны предшествовать следствию или заболеванию	Монография “Канцерогенез” под ред. Д.Г. Заридзе (2004) [75]
Причинно-следственная связь односторонняя: причина – следствие, а не наоборот. Обязательное условие – причина всегда предшествует следствию	Пособие по эпидемиологии Покровский В.И. и др., 2007 [76]

* Подробнее см. в нашем Сообщении 2, посвященном истории критериев причинности [32].

** Ныне активно функционирующий Douglas L. Weed (США) за десятки лет уделил много внимания теории и практике каузации (масса публикаций и синтетических исследований), будучи консультирующим экспертом по проблемам на стыке меду-биологических дисциплин, права, коммерции и государственной политики (подробнее см. в [32]).

*** Возможно, данное наименование, специфичное только для работ Mervin Susser, имело место уже в монографии этого автора о причинности от 1973 г. [19] (т.е. в первой монографии по эпидемиологии на данную тему в мире, согласно [26]). Этот источник недоступен и, по-видимому, не представлен в электронной версии.

ского опыта время не обращается (последствия не вызывают их собственных причин [81, 82]; цитировано по [9]). Эта асимметричная природа нашего временного опыта называется “направленностью” [48, 83], из-за которой причинно-следственные связи имеют характер временного порядка (хотя в философском плане здесь не все так однозначно⁹). Один из основоположников критериев причинности в эпидемиологии, М. Susser, выделял два абсолютно необходимых свойства причинной ассоциации: это *временной порядок* (“Time order”; т.е. *X предшествует Y*) и *направленность* (т.е. *X приводит (leads) к Y*) [48]¹⁰.

ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ – ГЛАВНЫЙ И ЕДИНСТВЕННЫЙ “КРИТЕРИЙ” ПРИЧИННОСТИ

Фальсификация по критерию “временная зависимость” (согласно положениям К. Поппера о научности гипотез [64]) сразу же ведет к отказу от причинного предположения, и никакие руководящие принципы или критерии более не нужны [48, 53, 60, 64]. Это “...единственный руководящий принцип Хилла, для которого среди эпидемиологов существует полное согласие” [86]¹¹. К. Rothman и S. Greenland, несмотря на их мнение об отсутствии полезности любого из других критериев (равно как и вообще подобных схем

Хилла и прочих авторов), считали временную зависимость “неоспоримой” (“inarguable” [57, 59]; “unarguable” [58]; “a sine qua non for causality” [58]) [2, 57–59]. Несмотря на, вновь, очевидность данного утверждения, в эпидемиологической практике даже такие требования не всегда являются абсолютными. Так, в основополагающих документах этот критерий стоял только четвертым по списку, что на первый взгляд не поддается никакой логике (некоторые объяснения ниже). Это можно было видеть как в докладе Главного врача США о последствиях курения от 1964 г. [56] (в котором соответствующий раздел был составлен не позднее 1963 г. R.A. Stallones [49]), так и в публикации Hill A.B., 1965 [18] (это упущение Хилла порой критикуется [78]). То же – для десяти универсальных постулатов причинности (инфекционных и неинфекционных патологий) в работах Evans A.S., 1976; 1978 [20, 63]. Вслед за названными авторитетами, масса авторов в статьях и международных документах воспроизводила данный порядок (иногда передвигая “временную зависимость” на третье [33, 34, 66], пятое [31, 70, 74] и даже шестое [60] места) в течение более чем полувека [8, 9, 13, 22–24, 28, 31, 33–35, 37, 42, 51, 66–68, 70–72, 74, 78, 80] (вновь приведены только использованные ранее источники). В том числе в модификации критериев для экологии [8, 9, 67] и в пособиях по эпидемиологии и философии науки (к примеру, в [23, 24, 51, 71]).

Однако M. Susser, разрабатывающий свои критерии причинности, по его словам, независимо [21] от авторов доклада о последствиях курения (1963–1964 гг. [49, 56]) и от A. V. Hill (1965 [18]), на первое место (сразу после самого факта ассоциации) поставил свой “Time order” [21, 48, 64] (возможно, так было с самого начала, в упоминавшейся монографии 1973 г. [19], которая, как сказано, нам недоступна).

И другой ряд авторов (хотя и меньший, чем первый) в своих работах [12, 62, 77] и пособиях по эпидемиологии, а также канцерогенезу [10, 36, 53, 69, 73, 75, 76, 88, 89] поставили “временную зависимость” на первое место по значимости, порой после фразы, что “приводятся критерии Хилла” (т.е. как бы скрыто, без объяснений, поправив Хилла).

Разработавшие методологию взвешивания десяти критериев причинности G. Swaen и L. Van Amelsvoort в своей работе от 2009 г. [90] временной зависимости всегда придавали 100%, в то время как остальным критериям даже при наиболее благоприятной ситуации было присвоено максимум 60–95%.

Но назывался и обратный подход. Так, в Guzelian P.S. et al., 2005 [52] критикуется отрицание некоторыми авторами важности критериев причинности для практики, в частности, при использовании в суде медико-биологических данных. Доходит до того, отмечается в [52], что даже “временная зависимость” не рассматривается как необходимая для всех исследований ассоциации, достаточно, мол, показать порядок времени только в одном из них [12]. Приводится также пример документа European Environment Agency [91], в котором сказано, что вследствие множественной причинности в прошлом стремление определить порядок времени для экологических факторов может привести к ложным заключениям (“Temporality... may not be robust”) [52].

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СУТЬ ВРЕМЕННОГО КРИТЕРИЯ: СОБЛЮДЕНИЕ ЛАТЕНТНОГО ПЕРИОДА

Философское определение критерия “временная зависимость” для применения в практике медико-биологических дисциплин должно быть расширено в плане биологического механизма, чтобы отвечать действительности. А именно: появление патологии (или эффекта) должно регистрироваться спустя определенное время после воздействия, которое соответствует известному инкубационному периоду для инфекционных заболеваний [35], латентному периоду для неинфекционных заболеваний [89], либо периоду индукции эффекта [35, 59] (“incubation, latency, or induction period” [35]).

Последние два термина не совсем взаимозаменяемы. Согласно Rothman K.J. et al., 2008 [59], временной интервал между возникновением необратимого заболевания и его обнаружением был специфично назван самим K.J. Rothman et al. латентным периодом [92], хотя другие авторы используют данный термин взаимозаменяемо с наименованием “период индукции”. Большинство же исследователей под “латентным периодом” подразумевают общее время между причинным воздействием и обнаружением патологии, и это наиболее общепринято [23, 24, 31, 36, 37, 69, 73, 86] (и др.)¹².

В [2, 59] K.J. Rothman и соавт. указали, что термин “период индукции” используется ими для описания промежутка времени от причинного воздействия до необратимого возникновения заболевания, а термин “латентный период” — для обозначения промежутка времени от возникновения патологии до ее обнаружения. Латентный период иногда может быть уменьшен улучшенными методами диагностики. Период индукции, напротив, не может быть сокращен ранним выявлением заболевания, поскольку *появление болезни указывает именно на конец периода ее индукции* (здесь и в последующем абзаце курсив наш, — авт.), т.е. болезнь не выявляется до тех пор, пока период индукции не закончится¹³. Хотя можно зарегистрировать как бы “предболезнь” по биомаркерам (“суррогатная конечная точка” (“Surrogate Endpoint”) [71]) [28, 36, 69, 71, 73, 75].

Более раннее обнаружение заболевания, однако, может сократить *кажущийся* период индукции (т.е. общее время между каузальным воздействием и выявлением болезни, согласно, как сказано, иным авторам), поскольку момент, когда болезнь обнаружена, с практической позиции обычно используется для обозначения времени возникновения заболевания. Такие патологии, как медленно растущие раковые образования, могут иметь длительные периоды индукции вследствие мультипричинности, так как отдельные причины имеют длительные латентные периоды своего действия. Латентный период, в отличие от периода индукции, согласно [2, 59] является характеристикой как заболевания, так и попыток его диагностики, применяемых к индивидууму. Каждый компонент причинного “пирога” (или “торта”) может действовать в период времени, отличный от такового для других компонентов, и иметь собственное время индукции. Для компонента, действующего последним, время индукции равно нулю (заключительный элемент пускового механизма) [2, 59]¹⁴.

Для солидного рака, согласно [89] и BEIR-VII [31], минимальный латентный период (вероятно, “кажущийся” по терминологии K.J. Rothman и соавт., т.е. общепринятый, эмпирический — см.

прим. 12) составляет, по крайней мере, пять лет. Согласно же НКДАР-2000 – 8–10 лет после радиационного воздействия [93], хотя эффект канцерогенов обычно проявляется спустя десятилетия [10, 66, 75]. Для лучевых лейкозов считается достаточным 2 года [31, 66]. Широкая вариабельность и неоднозначность латентного периода привела в начале 1990-х годов к сомнениям в радиогенной обусловленности учащения рака щитовидной железы в Белоруссии вскоре после аварии на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС) [94]¹⁵.

В качестве другого примера можно привести повышение частоты рака легкого после воздействия асбеста; латентный период этого эффекта составляет 15–20 лет. Поэтому, если названный рак появился спустя, скажем, 3 года после асбестовой экспозиции, то связь непричинна [73]. В течение латентного периода в индукцию/развитие патологии могут вмешиваться разнообразные причинные факторы. Вот почему в свое время понадобилась “большая детективная работа” [98], чтобы связать эффект асбеста на верфях с последующим развитием мезотелиомы [98].

Латентный период может охватывать несколько поколений, как это имело место с рассмотренным выше (см. прим. 6) воздействием диэтилстилбестрола на беременных, что приводило к увеличению частоты аденокарциномы влагалища у их дочерей [46, 53].

Фактору временной задержки уделяется много внимания в области экологических критериев причинности [8, 9, 28, 29, 99]. Как пример называлось снижение количества хищных птиц после начала использования ДДТ. Биоаккумуляция этого агента происходила с течением времени, и потому популяции сократились позже, когда остановилось размножение и молодые особи не смогли заменить своих родителей [9]. Важным здесь представляется положение, что высокие дозы токсиканта приводят к более короткому латентному периоду, чем низкие дозы (USEPA-2002 [99]). Для радиационного фактора подобная зависимость не столь однозначна, но показана как в эпидемиологических исследованиях (см. в НКДАР-1977; annex G [100]), так и в экспериментальных работах (см. НКДАР-1977; annex I [101]). Латентный период, протекающий до первой детектируемой опухоли, короче после облучения в более высоких дозах [100] (пример этого был получен для остеосаркомы [102, 103]). То же – в эксперименте и для мощности дозы [101]. Для лейкозов в японской когорте таковая зависимость не была значима согласно НКДАР-1977 [100], но называется существенной в пособии 1995 г. [104] (цитировано по [105]).

Следует отметить, что указанный важный момент перестал обсуждаться в документах НКДАР по радиационному канцерогенезу, а также смеж-

ным вопросам после 1977 г. В сообщениях от 1988–2017 гг. проблема зависимости латентного периода злокачественных новообразований от дозы облучения никак не поднималась, только в НКДАР-2000 [106] имело место однократное цитирование работы [102] (хотя во многих документах имеются данные о зависимости латентного периода от возраста и пола). Нет и намеков на рассмотрения этого вопроса в BEIR-VII [31]. Не обнаружено подобных сведений и в подробной главе по радиационной эпидемиологии из объемного пособия по общей эпидемиологии от 2014 г. [36] (а также в других подобных источниках, включая основные российские пособия по радиационным эффектам). То есть на высшем уровне проблема как бы забыта (либо, возможно, переведена в область вторичных раков после радиотерапии [107]). Это представляется странным, учитывая, что оценка правдоподобного латентного периода патологии после того или иного воздействия – неотъемлемая часть установления причинности первого от второго¹⁶.

Что же касается не стохастических, а детерминированных эффектов облучения (т.е. тканевых реакций), то для них, в отличие от первых, подробно сообщается об обратной связи латентного периода с дозой облучения [110–113].

ТРУДНОСТЬ СОБЛЮДЕНИЯ ВРЕМЕННОГО КРИТЕРИЯ, КОГДА ОБА СОБЫТИЯ – В ПРОШЛОМ

В случае экспериментального подхода, в том числе рандомизированных клинических испытаний, никаких сомнений в соблюдении критерия “временная зависимость”, понятно, быть не может [78]. Иное дело для описательных дисциплин. Методические подходы в эпидемиологии распределяются по нисходящей доказательности следующим образом [10, 24, 36, 71, 73, 88]: когортные исследования (проспективные и ретроспективные), “случай–контроль”, поперечные (это перевод “cross-sectional” из [37], русскоязычный термин общепринят [53, 69, 71, 76])¹⁷ и экологические (корреляционные) исследования. Последние не имеют доказательности, служа только для формирования гипотез [76, 114], в ряде пособий из иерархии вовсе опускаются [10, 71], и мы их не рассматриваем.

Наилучшим образом критерий “временная зависимость” соблюдается для когортных исследований, причем, ясно, проспективных (можно отследить *появление* эффекта во времени) [36, 73]. Наихудшем же – для методологий, когда оба события, предполагаемая причина и ее следствие, или произошли в прошлом (“случай–контроль”), или регистрируются в данный момент одновременно (поперечные, “одномоментные” исследо-

вания), но причинно-следственные события все равно произошли ранее. Точная временная связь с помощью наблюдения здесь не может быть обнаружена [36, 48, 64, 73] (хотя если одно временное направление просто неправдоподобно, то вопрос, конечно, снимается [115]¹⁸).

В свете сказанного несколько проясняется упомянутая выше, философски и логически непонятная, постановка критерия “временная зависимость” не на первое место в 1963–1964 гг. (доклад Главного врача США о вреде курения [49, 56]) и в 1965 г. (А.В. Hill [18]). Оба эти документа рассматривали в основном эпидемиологические доказательства способности курения учащать рак легкого. К этому времени в мире было известно 29 ретроспективных (“случай–контроль”) и только семь проспективных (когортных) исследований [56]. Все первые работы 1939 г. – самого начала 1950-х годов были “случай–контроль”. Предварительные результаты двух пилотных когортных исследований увидели свет только в 1954 г. [17, 116]; к этому году появились данные целых 17 работ “случай–контроль”. Доказательность эффекта оказалась в целом достаточной уже в 1956–1959 гг. (т.е. до эпохального 1964 г. [56]), когда ряд национальных организаций и министерств здравоохранения разных стран, включая Институт рака США, официально объявили, что курение сигарет является причиной рака легкого (историю см. в [32]). К названному периоду были опубликованы данные только трех когортных исследований (см. в [56]).

Таким образом, основной вес эпидемиологических доказательств исходно пришелся на ретроспективные эпидемиологические исследования, которые, как сказано, априори не дают точной картины временного порядка. Это и вызвало, вероятно, практическую целесообразность отодвигания авторитетами-основателями критерия “временная зависимость” с философски обоснованного первого места (что затем бездумно воспроизводилось многими авторами, как сказано, десятками лет). Данная гипотеза – наша; каких-либо объяснений указанному факту нам обнаружить не удалось, а только – критику [78] или удивление [117].

РЕКОНСТРУКЦИИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СОБЫТИЙ ПРОШЛОГО

В экологической эпидемиологии на примерах рассматриваются способы реконструкции временного порядка [29], которые сходны как с детективными расследованиями, так и с попытками проверки гипотез причинности в палеонтологии [118]. Автор [29] выделяет три подхода. Во-первых, иногда можно отследить начало снижения как концентрации предполагаемого агента, так и

заболеваемости, особенно если гипотетическая экологическая причина начала контролироваться. К примеру, снижение концентрации хлороорганических соединений в Великих озерах началось в середине 1970-х годов, и оно сопутствовало прекращению синдрома смертности и аномалий у эмбрионов сельдевой чайки. (Наша заметка: первая стратегия – это “*контрафактический эксперимент*”; иногда, хотя и редко, встречается и в радиационной эпидемиологии; см. в [27].)

Во-вторых, были разработаны стратегии отбора образцов для реконструкции исторических воздействий, типа взятия проб на радиоактивность из кернов со дна Великих озер. Высохшие пуповины, которые были талисманом в ряде японских домов, помогли восстановить историю пренатального загрязнения ртутью в Minamata. Равным образом, путем исследования исторических образцов жира морских млекопитающих из залива Св. Лаврентия и Балтики были реконструированы периоды воздействия хлороорганических соединений [29]. (Наша заметка: вторая стратегия направлена на временную реконструкцию *причинного агента*.)

В-третьих, приводится пример истончения яичной скорлупы в середине 1940-х годов (реконструированное по музейным образцам и частным коллекциям) у различных видов птиц Европы и Северной Америки. В аналогичном исследовании отслеживалась асимметрия сохранившихся черепов балтийских тюленей [29]. (Наша заметка: третья стратегия направлена на временную реконструкцию *эффекта*.)

Сходные методики поиска через временные реконструкции применялись и в эпидемиологии. Можно вспомнить приводившийся в Doll R., 1996 [22] пример из восьмого издания пособия по медицинской статистике Хилла (1966). В результате обследования в 1929–1938 гг. рабочих и пенсионеров завода по очистке никеля были обнаружены 16- и 11-кратные увеличения смертности от рака легкого и носовой полости соответственно. Историческая реконструкция показала, что ранее, в 1923 г., до предположений о какой-либо опасности, на производстве были сделаны некоторые улучшения в очистке (refinery). Оказалось, что после этого года не имелось ни одного случая рака носовой полости и никакой избыточной частоты рака легкого.

НЕАБСОЛЮТНОСТЬ КРИТЕРИЯ “ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ”

Выше была рассмотрена трудность применения временного критерия к ретроспективным исследованиям. В подобных случаях методологический дизайн не позволяет определить порядок времени событий, но этот порядок все же мог

быть реальным. Существуют, однако, такие события, для которых попытки соблюсти критерий “временная зависимость” просто теряют смысл, хотя это и представляется философски невозможным.

К примеру, для генетической эпидемиологии, когда определяются ассоциации эффекта с сотнями тысяч генных вариантов, обычные каузальные принципы не подходят. “Временная зависимость” неактуальна для врожденных генетических факторов как причины (из-за взаимодействия генов и окружающей среды – как здесь выделить причину и следствие?) [77, 119].

В Rothman K.J. et al., 2008 [59] приводится пример врожденной аномалии – расщепления позвоночника (*spina bifida*), которое обусловлено неспособностью нервной трубки полностью закрыться во время беременности (незаращение дужки позвоночника). Авторы отмечают, что нет никакого смысла в определении момента времени, когда произошло расщепление позвоночника. Затруднительно определить “время инцидента” для расщепления позвоночника как некоего периода беременности, при котором обычно происходит полное закрытие нервной трубки. В этом случае модель с достаточным компонентом будет лучше подходить для определения нормы – т.е. полного закрытия нервной трубки в качестве эффекта (без расщепления позвоночника). Далее можно попытаться идентифицировать условия, события и характеристики, которые *предотвращают* эту норму, т.е. причины неблагоприятного состояния, названного *spina bifida* [59].

В случае хронических заболеваний время и характер начальных событий часто неясны, а между причиной и следствием могут существовать длительные скрытые периоды (субклинические фазы – хронический лимфолейкоз [120]) [8, 23, 48]. Когда начался атеросклероз? Когда первая бронхиальная клетка стала раковой? В Сообщении 1 [27] нами рассматривалась известная модель “Сети причинности” или “Сети причинной обусловленности” (“Web of Causation”). В ее состав включаются прямые и косвенные причины. Например, закупорка коронарной артерии является прямой причиной инфаркта миокарда, тогда как социальные и экологические факторы, которые приводят к гиперлипидемии, ожирение, сидячий образ жизни, атеросклероз и коронарный стеноз являются косвенными причинами. При рассмотрении данного заболевания косвенные и прямые причины образуют иерархическую причинную сеть, часто с реципрокными отношениями между факторами. Крайняя комплексность и сложность “Сети причинности” для, например, названного инфаркта миокарда (ее легко найти в англоязычном Интернете) показывает проблематичность выстраивания каких-то однозначно

тракуемых временных зависимостей для множества иерархических причин применительно к конечному эффекту.

Может быть неясным и появление фактора риска. Когда началось повышение артериального давления? Когда диета впервые стала нездоровой? [23]. Детерминанты, или факторы риска, которые являются атрибутивными или предрасполагающими, могут изменяться со временем, что делает проблематичным определение временной зависимости их появления [8, 48]. Среди таких факторов назывались варьирующие в течение времени личные качества, например, семейное положение, психическое состояние, а также взаимодействие между ними [48]. Ассоциации могут быть сложными и образовывать “порочные круги” [23] (феномен обратной причинности рассмотрен ниже).

Конечно, приведенные примеры с философской позиции все же имеют, хоть и скрытые и не поддающиеся определению, но *конкретные* временные зависимости в каждом *конкретном* случае и для каждого *конкретного* звена каузальной сети. Однако попытки их идентификации могут привести к пустой схоластике. В американской монографии Дэниэля Левитина “Путеводитель по лжи. Критическое мышление в эпоху постправды” (оригинал – от 2016 г.) [40] имеется весьма уместный фрагмент: “...тут легко утонуть в трясине пустословия: это дождь вчера вынудил людей надеть дождевики? Или причиной стало желание не намочнуть, появляющееся, когда идет дождь?”

Наиболее же серьезным, часто скрытым, нарушением критерия “Временная зависимость” является “Временное смещение” (“Temporal bias”), которое проявляется часто в обратной причинности, причем в разных ее приложениях (коротко о сути – когда эффект или его предпосылки имели влияние на причину; точные определения ниже). Этому смещению в особенности подвержены ретроспективные исследования типа “случай–контроль” и поперечные (кросс-секционные) исследования [120].

ВРЕМЕННÓЕ СМЕЩЕНИЕ (TEMPORAL BIAS)

Англоязычный термин “Temporal bias” в эпидемиологическом аспекте представляется весьма логичным для суммирующего обозначения систематических ошибок в рамках критерия “Временная зависимость”. Оказывается, однако, что для эпидемиологии и медицины это не так. Поиск в Google показал использование указанного термина для совсем иных дисциплин: для экологии (например [121]), психологии (например [122]), философии (порой в приложении к фантастике) и пр. Поиск через PubMed на точное соче-

тание “Temporal bias” (для такого поиска ставят двойные кавычки) выявил 55 источников, но подавляющее большинство из них не имело отношения к эпидемиологии, соответствуя, вновь, экологии, психологии (психофизиологии, нейрофизиологии), психиатрии, климатологии, палеоантропологии, физиологии, травматологии, молекулярно-клеточной биологии, зоологии, ботанике, эволюционной биологии и инфекционным агентам. Только пять источников (9%), от 1995–2013 г., имели отношение к эпидемиологическим вопросам, причем не всегда однозначное [123–127].

Таким образом, можно утверждать, что в эпидемиологии словосочетание “Temporal bias” практически не распространено. Но в одном из западных пособий по названному предмету, от 2019 г., имеется целый раздел с таким названием, и он посвящен в том числе проблемам в рамках обратной причинности [120]. Авторами пособия (4-е издание; первое – 2000 г.) являются Moyses Szklo и F. Javier Nieto из США. Первый занимает пост главного редактора “American Journal of Epidemiology”.

Поиск показал (“Google-book”), что термин имеется в источнике по крайней мере со второго издания (2004). Однако больше ни в каких западных пособиях по эпидемиологии и канцерогенезу (а мы располагали, как сказано, более чем 40 оригиналами – см. прим. 8) нам названный термин не встретился ни разу. Нет его и в оксфордском словаре по эпидемиологии [37] или в аналогичном словаре на сайте Колумбийского университета [128]. Учитывая также вышеназванный поиск статей в PubMed, который мало что дал, можно сделать следующий вывод. Судя по всему, M. Szklo и F.J. Nieto предложили удачный и логичный термин, но долгие годы использовали его почти только они (подобно M. Susser с его “Time order” – см. выше). Тем не менее мы тоже считаем наименование “Temporal bias”, как уже говорилось, удачным и, главное, обобщающим. Вероятно, его целесообразно внедрить шире. Русскоязычный аналог – “Временное смещение” – нами ни в какой эпидемиологической литературе не обнаружен (хотя есть, понятно, в физиологии чувствительности, просто в литературе, в эзотерике и т.п.), включая основные отечественные пособия [53, 70, 72, 74–76], а также источники по поиску в Google.

В рамки “Временного смещения” входит названная обратная причинность, но она граничит с несколькими понятиями, как взаимозаменяемыми, так и нет. Поэтому правильнее использовать термин во множественном числе – “Временные смещения”, что будет объединять все.

ОБРАТНАЯ ПРИЧИННОСТЬ И ПРОТОПАТИЧЕСКОЕ СМЕЩЕНИЕ

История появления терминов и их сопоставление

Исходный англоязычный термин – “reverse causation” [59, 120, 129–135] или “reverse causality” [36, 85, 115, 120, 130, 133–137]¹⁹. В русскоязычном переводе это практически синонимы, как и, вероятно, в английском языке (но разница оказывается важной при поиске по тексту электронных версий). По нашей базе пособий использование двух вариаций термина разделилось ровно пополам, причем в некоторых источниках, как можно видеть, встречаются сразу обе модификации [120, 133–135].

Из общих соображений представляется, что термин должен был бы использоваться уже очень давно, но это не так. Согласно поиску в PubMed на точные сочетания, “reverse causation” встречается в 618 работах, впервые появляясь в 1989 г., а как исследование эпидемиологического плана – только в 1990 г. [138]. Сочетание “reverse causality” находится в 610 источниках, начиная с 1984 г., но в медицинском и эпидемиологическом аспекте обнаруживается только с 1987 г. [139]. Таким образом, истоки использования термина – конец 1980-х годов.

Оказалось, однако, что, по ряду источников [134, 140–142], для медико-биологических дисциплин и эпидемиологии термин “reverse causation” является синонимом термина “protopathic bias”. Согласно переводу оксфордского словаря по эпидемиологии – это “ошибка протопатическая” [37], а термина “reverse causation” или “reverse causality” (= “обратная причинность”) в словаре вовсе нет, равно как и в словаре Колумбийского университета [128]. “Протопатический” (БСЭ, БМЭ и т.п.) в целом означает более примитивный на ответ, воспринимающий только более сильные воздействия и т.п. Почему такое название термина, аналогичного обратной причинности, сказать трудно. Вероятно, смысл простейший: “до патологии” (proto-pathos).

Исходя из западного пособия по фармакоэпидемиологии [143], впервые термин “Protopathic bias” был введен Alvan R. Feinstein, причем дана ссылка на “Clinical Epidemiology”, Feinstein A.R., 1985 [144]. На деле же (PubMed) этот вид смещения был назван и рассмотрен уже в Horwitz R.I., Feinstein A.R., 1980 [145]. Уяснить, почему использовали слово “protopathic”, из пособия A.R. Feinstein [144] не удается, а работа 1980 г. [145] недоступна (в целом термин “protopathic bias” по сравнению с названием “обратная причинность” используется редко²⁰).

Позже положение усугубилось тем, что понятие “protopathic bias” иногда путали с очень известным в фармакоэпидемиологии и медицине

феноменом “confounding by indication” (“конфаундинг показания”; перевод из словаря [37]; рассмотрено ниже). Причем – до полной синонимизации (“первое – частный случай второго” [143]²¹) [143, 146]. Источник 2000 г. [143] ссылается на редакционную статью Walker A.M., 1996 [146], где приводится определение от A.R. Feinstein [144]. Но в более поздних публикациях мы этого уподобления уже не видим. Хотя по логике термин “confounding by indication” (когда к более больным индивидуумам могут применяться более интенсивные/эффективные воздействия/препараты) лучше совпадает как раз с “протопатическим смещением”, чем последнее – со смыслом обратной причинности.

Равным образом, отдельные исследователи считают “confounding by indication” синонимом “reverse causation” (2015 г. и 2016 г.) [147, 148]²², что неправомерно [149, 150].

Наконец, на сказанное может накладываться отождествление “confounding by indication” с “confounding by severity”, т.е. тяжести патологии [120], и с “confounding by contraindication”, т.е. противопоказаний [140, 143] (об этих понятиях – ниже).

Вся эта путаница в терминологии рассматривалась уже в 1999 г. M. Salas и соавт. [149], причем они попытались определить специфичность каждого термина (не назвав, впрочем, “reverse causation” вовсе). На эту работу часто ссылаются, но прошло два десятилетия, а ситуация, судя по хронологии измененных выше источников с путаницей, изменяется не слишком. В 2014 г. K.S. Joseph и соавт. [140] также попытались упорядочить терминологию (уже с “reverse causality”), но, судя по последним западным пособиям, порой “воз и ныне там” (в российских же на тему ничего не обнаружено вообще).

Далее мы будем оценивать обратную причинность и протопатическое смещение как синонимы. Конечно, первый термин имеет всеобщий характер, затрагивая как нашу жизнь в ее социологических, политических, психологических и прочих аспектах, так и сферу самых разных научных дисциплин. Протопатическое же смещение – прерогатива медицинской и эпидемиологической областей, где, вероятно, и можно говорить о синонимизации.

Определения

В Сообщении 1 [27] мы указывали, что на тот период нам не удалось найти где-либо формальное определение обратной причинности (а только – каждый раз разбор явления на примерах). Поэтому в [27] нами было дано свое определение. Однако за прошедшее время обнаружился ряд источников, в которых авторы все же попытались сформулировать некие понятия. Сводка данных

(в хронологическом порядке) представлена в табл. 2; это все, что удалось найти среди множества западных пособий по эпидемиологии и канцерогенезу (других источников включено мало).

Материал в табл. 2 свидетельствует, что некоторые конструкции, взятые за определения термина “обратная причинность”, достаточно просты [115, 120, 136], некоторые неточны [10, 85, 130], хотя смысл всюду понятен. Возможно, однотипной информации в табл. 2 слишком много, но мы не берем на себя смелость выбрать какое-то конкретное определение, создать некую компиляцию, плодя “дурную бесконечность”, или же настаивать на своей форме. Читателю рекомендуется выбрать себе любую конструкцию по его понятиям (кроме, наверное, [10, 85, 130]). Наше определение, сделанное в [27] как бы “с нуля”, представляется также достаточно полным.

КОНФАУНДИНГИ ПОКАЗАНИЯ, ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ И ТЯЖЕСТИ ПАТОЛОГИИ/ПРОГНОЗА

Эти искажения результатов относят к группе смещений отбора (selection bias) [36, 140, 142, 149, 151].

Предложившие категорию “Temporal bias” M. Szklo и Nieto F.J. [120], включив в соответствующий ей раздел обратную причинность, рассматривают конфаундинги показания и тяжести патологии вне этого раздела (конфаундинг противопоказания не назван). Учитывая, что последние термины, как указано выше, нередко путают и друг с другом, и с обратной причинностью, это не представляется логичным. Действительно, в пособии по фармакоэпидемиологии от 2000 г. [143] конфаундинг показания рассматривается в том числе в разделе о критерии Хилла “Temporality”. Хотя, конечно, суть названных конфаундингов неоднозначно вписывается в искажение “Временной зависимости”.

Понятие “confounding by indication” было введено в 1980–1985 г. Olli S. Miettinen (США): раздел в сборнике 1980 г. [152], статьи 1981 г. [153] и 1983 г. [154] и пособие по эпидемиологии 1985 г. [45]. Обычно ссылаются на 1983 г. и 1985 г. [140, 149], хотя сам O.S. Miettinen [154] называет и самый первый, 1980 г. [152]²³.

В Оксфордском словаре по эпидемиологии [37] приведено следующее определение конфаундинга показания, которое, на деле, может отражать все три вышеназванных понятия и не совсем удачно:

“Это искажение влияния лечения на исход болезни, вызванное наличием симптома, который может быть связан как с лечением, так и с исходом; либо искажение влияния лечения на исход болезни при наличии показания или противопо-

Таблица 2. Определения феномена обратной причинности (= протопатическое смещение)
Table 2. Definitions of the reverse causation (= protopathic bias) phenomenon

Источник	Точная цитата	Смысловой перевод
Обратная причинность		
Blossfeld H.-P., 1999 [129]	Reverse causation means that one process, considered from a theoretical point of view as the dependent one, has (direct or indirect) effects on the independent covariate process(es)	Обратная причинность означает, что один процесс, который рассматривается с теоретической точки зрения как зависимый, имеет (прямо или косвенно) эффекты на независимый, варьирующий совместно, процесс(ы)
Rothman K.J. et al., 2008 [59]	Causal sequence could represent reverse causation if preclinical symptoms of the disease lead to exposure, and then overt disease follows	Причинная последовательность может представлять собой обратную причинность, если доклинические симптомы заболевания приводят к воздействию, а за ним следует патология
Webb P., Bain C., 2011 [130]	“Reverse causality” – does <i>A</i> really cause <i>B</i> or might the reverse be true such that <i>B</i> causes <i>A</i> ?	“Обратная причинность”: действительно ли <i>A</i> вызывает <i>B</i> , или правильное обратное, то есть что <i>B</i> вызывает <i>A</i> ?
НКДАР-2012 [131]; НКДАР-2013 [132]	Reverse causation: i.e. that the cancer, or factors predisposing to cancer, were present at the time of the scan, so that the cancer caused the CT scan rather than the CT scan caused the cancer	Обратная причинность: т.е. ситуация, когда рак, или факторы предрасположенности к нему, уже были во время компьютерной томографии (СТ), так что скорее рак вызвал СТ, а не СТ вызвала рак
Gage S.H. et al., 2016 [133]	Pre-existing symptoms of the outcome that influence the exposure could generate the observed associations	[Обратная причинность] – когда предсуществующие симптомы эффекта, которые влияют на воздействие, могут генерировать наблюдаемые зависимости
“Epidemiology...” Ed. by J. Van den Broeck, J.R. Brestoff, 2013 [136]	Reverse causality, which is when the outcome has a causal effect on the exposure	Обратная причинность заключается в том, что результат имеет причинный эффект на воздействие
Bhopal R.S., 2016 [10]	The possibility that the causal relationship is in the opposite direction	[Обратная причинность] – это возможность, что причинная связь имеет место в обратном направлении
Privitera G.J., 2015 [85]	Reverse causality is a problem that arises when the causality between two factors can be in either direction	Обратная причинность – это проблема, возникающая, когда причинная зависимость между двумя факторами может быть в любом направлении
Szklo M., Nieto F.J., 2019 [120]	An association between exposure and outcome can also occur because the “outcome” causes changes in “exposure” – i.e., reverse causality	Обратная причинность: когда “результат” вызывает изменения в “воздействии”
Kestenbaum B., 2019 [115]	The concept that the outcome of a study may itself influence the exposure is called reverse causality	Концепция, что результат исследования может влиять на воздействие, называется “обратной причинностью”
Котеров А.Н., 2019 [27]	Обратная причинность – когда явление, представляющееся следствием некой причины, на самом деле связано не с ней, а с собственными предшествующими источниками, ту “причину” и обусловившими	–
Протопатическое смещение		
Horwitz R.I., Feinstein A.R., 1980 [145] (Abstract)	Protopathic bias occurs when a pharmaceutical agent is inadvertently prescribed for an early manifestation of a disease that has not yet been diagnostically detected	Протопатическое смещение происходит, когда фармацевтический агент непреднамеренно назначается при раннем проявлении заболевания, которое еще не было диагностически определено

Таблица 2. Окончание

Источник	Точная цитата	Смысловой перевод
Feinstein A.R., 1985 [144] (воспроизведено в [141] как синоним “обратной причинности”)	Protopathic bias... occurs when the outcome event has already taken place but is not adequately recognized before the maneuver is allocated. The maneuver, which is evoked by an early manifestation of the outcome event, is then fallaciously held responsible for causing it. Protopathic bias that can arise if a particular maneuver was started, stopped, or otherwise changed because of a baseline manifestation caused by a disease or other outcome event that is later associated with the altered use of that maneuver. The outcome event may or may not have been formally recognized when the maneuver was altered. The outcome event may or may not have been formally recognized when the maneuver was altered	Протопатическое смещение... происходит, когда исходное событие уже имело место, но не было должным образом распознано до назначения процедуры. Процедура, вызванная ранним проявлением конечного события, ложно считается ответственной за его возникновение. Протопатическое смещение... может возникнуть, если конкретная процедура была начата, остановлена или иным образом изменена из-за базового проявления, вызванного заболеванием или другим исходом события, которое впоследствии связано с измененным использованием этой процедуры. Итоговое событие может или не может быть формально признано, когда процедура была изменена
Salas M. et al., 1999 [149], со ссылкой на Feinstein A.R., 1985 [144]	Protopathic bias: the... term is used if the first symptoms of the outcome of interest are the reasons for use of treatment	Протопатическое смещение: ...термин используется, если первые симптомы интересующего события являются причинами применения терапии
Pharmacoepidemiology. Ed. by B.L. Strom, 2000 [143]	...early symptoms of a disease which is present but not yet recognized lead a patient to be prescribed a drug, which then appears to be the cause of the disease when it is eventually diagnosed. This has been called “protopathic bias” and is a special case of the broader concept of “confounding by indication”	...ранние симптомы заболевания, которое есть, но еще не распознано, приводят к тому, что пациенту назначают лекарство, которое затем становится причиной заболевания, когда это в конечном счете диагностировано. Это явление было названо “протопатическим смещением”, представляя собой частный случай более широкой концепции “конфаундинга показания” [последнее не совсем верно; см. ниже]
A Dictionary of Epidemiology. Ed. by J.M. Last (перевод 2009 г. под ред. В.В. Власова) [37]	Ошибка протопатическая (protopathic bias) – систематическая ошибка, которая может возникнуть в случае, если первые симптомы изучаемого исхода являются одновременно основаниями для применения лечения, представляющего предмет исследования	—
Joseph K.S. et al., 2014 [140]	Protopathic bias (i.e., when treatment for an early symptom of a disease appears to cause the disease)	Протопатическое смещение (т.е. когда лечение раннего симптома заболевания представляется вызывающим заболевание)
Clinical Epidemiology... Ed. by P.S. Parfrey, B.J. Barrett, 2015 [151]	Protopathic bias: when the treatment of early or subclinical disease symptoms erroneously appears to cause the outcome or disease	Протопатическое смещение: когда лечение ранних или субклинических симптомов заболевания, ошибочно представляется видимой причиной исхода или заболевания
Cancer Epidemiology and Prevention. Ed. by M.J. Thun et al., 2018 [134], со ссылкой на [141], где определение иное — из [144]	When use of a drug is influenced by an early sign or symptom of undiagnosed cancer, such reverse causation, also called protopathic bias, can lead to spurious drug–cancer associations	Когда на применение препарата влияет ранний признак или симптом невыявленного рака, такая обратная причинность, также называемая “протопатическим смещением”, может привести к ложным ассоциациям препарат–рак

казания к данному лечению, которое также связано с исходом”.

Феномен чрезвычайно распространен в фармакоэпидемиологии при определении эффектов препаратов на нерандомизированных группах. В литературе можно найти множество примеров; поиск в PubMed на точное сочетание “confounding by indication” выдает 663 ссылки (1980–2019). Есть отдельные примеры и из радиационной области (ниже).

Как отмечено в пособии 2014 г. [36], мировые базы данных по фармакологическим эффектам имеют тот недостаток, что в них нет информации о возможных конфаундингах рассмотренного рода. Поэтому исследователи, использующие для своих обобщающих изысканий только подобные базы, могут приходить к неточным и даже ложным выводам. Этот вопрос, с критикой “компьютеризированных баз” в фармакоэпидемиологии, поднимался еще в 1989 г. S. Shapiro [156].

Хотя три названных конфаундинга и входят в одну группу смещений отбора, между ними имеются существенные отличия.

Конфаундинг показания (“confounding by indication”; встретилось и “confounding-by-indication” [150]) относится к тем ситуациям, в которых *показание к лечению* действует как конфаундер [149]. Он отражает тот факт, что терапия назначается лицам с *определённым заболеванием*, и, поэтому, существует сочетание эффектов терапии и заболевания, по поводу которого она проводится, на изучаемый результат [86, 155]. Конфаундинг показания возникает, когда индивидуумы, которых лечат от их состояния, сравниваются с людьми, у которых нет ни состояния, ни лечения. Общий способ контроля за этим типом конфаундинга, помимо рандомизации [154], заключается в сравнении различных методов лечения для одного и того же состояния [86]. Специфичность термина для данного конфаундинга состоит в том, что показанием к интересующей терапии должно быть *заболевание* как таковое, а не его *степень тяжести* или его *прогноз* [149].

Примеры:

1. Применение антидепрессантов – когнитивный дефицит. Здесь депрессию (т.е. показание к лечению) надо рассматривать как определяющий фактор. Так, употребление антидепрессантов напрямую связано с депрессией – пациентам не дают препарат, если у них нет этого состояния (контроль). И депрессия сама по себе является фактором риска дефицита памяти [86].

2. Увеличение риска рака молочной железы при использовании препаратов для лечения диабета: диабет сам связан с повышенным риском развития этого рака [134].

3. Антигипертензивные препараты применяют при терапии гипертонии, которая является фак-

тором риска инфаркта миокарда. Поэтому может казаться, что антигипертензивные препараты увеличивает риск инфаркта. Но последнее может являться следствием гипертонии, а не препаратов [157].

4. Терапевтические воздействия ^{131}I в больших дозах по поводу незлокачественных патологий щитовидной железы (гипертиреоз, болезнь Грейвса, микседема и пр.) приводят к учащению рака этого органа. В данном случае фактором являются сами указанные патологии, поскольку их наличие *на порядки* увеличивает вероятность рака щитовидной железы [149, 158, 159].

5. У носительниц мутаций BRCA1/2 любое воздействие диагностического излучения в возрасте до 30 лет было связано с повышенным риском рака молочной железы (отношение рисков (hazard ration) составило 1.90), причем имела зависимость от дозы [160]. Поскольку это генетически обусловленное состояние с семейным анамнезом, можно ожидать его сопряженности с более интенсивной диагностикой. На наш взгляд, чем больше матерей, бабушек и тетей у обследуемых имели рак молочной железы, тем чаще могут быть сеансы диагностического облучения, просто из-за беспокойства пациенток. Хотя авторы [160] и отрицают вероятность конфаундинга показания.

Конфаундинг противопоказания (“confounding by contraindication”). Понятие и термин были введены, вновь, судя по всему, Olli S. Miettinen в 1983 г. [153]²⁴. Поиск в PubMed на точное сочетание “confounding by contraindication” приводит к 124 ссылкам (1984–2018).

В русскоязычной литературе отдельный термин нами не обнаружен. Как можно было видеть в цитате выше, он суммарно входит в определение конфаундинга показания в переводе Оксфордского словаря по эпидемиологии [37].

Суть явления состоит в том, что противопоказания в исследуемой группе могут быть прогностическими критериями исхода побочных эффектов. Если известен высокий риск неблагоприятного исхода, который терапия может вызывать как побочный эффект, то это, естественно, послужит противопоказанием для подобной терапии [140, 154].

O.S. Miettinen указывает [154], что, несмотря на аналогию по форме между “confounding by indication” и “confounding by contraindication”, эти две проблемы даже приблизительно не эквивалентны по значимости. Там, где есть показания к терапии, такие показания присутствуют достаточно регулярно и представляя собой серьезную проблему для неэкспериментальных исследований эффективности препаратов/воздействий. Напротив, какое-либо противопоказание выявляется только изредка, поэтому устранить такой

конфаундинг намного легче, просто элиминировав из выборки редкие исключения. В контексте ранее неизвестных побочных эффектов не может быть конфаундинга противопоказания, поскольку основанием для подобной проблемы является знание о самой возможности неблагоприятного эффекта от воздействия [140, 154].

Примеры:

1. Использование аспирина (для обезболивающих и других целей) противопоказано людям с предшествующим желудочно-кишечным кровотечением. Игнорирование данного конфаундинга противопоказания приведет к тому, что контрольная группа лиц, не употребляющих аспирин, может иметь искусственно высокий уровень желудочно-кишечных кровотечений [140, 154].

2. При оценке влияния индукции родов на послеродовое кровотечение может проявляться конфаундинг противопоказания, поскольку послеродовое кровотечение будет непреднамеренным последствием индукции родов. Но данное предубеждение имеет место только если акушеры признают индукцию родов в качестве фактора риска послеродового кровотечения и начнут рассматривать женщин с таким риском (например, с предшествующим послеродовым кровотечением в анамнезе) как имеющих противопоказание для индукции родов [140].

Конфаундинг тяжести патологии/прогноза (“confounding by severity” [86, 143, 149], или “confounding by disease severity” [140], или “confounding by severity/prognosis” [142]). Термин, вероятно, не входит в дескрипторы MeSH Pubmed, поскольку на точное соответствие провести поиск не получается. Истоки понятия также узнать не удастся: первая известная нам публикация датирована 1989 г. [161], а в немногих остальных источниках нашей подборки авторы ссылаются на вышеуказанную работу Salas M., 1999 [149]. В русскоязычных и переводных пособиях термин не обнаружен, поэтому перевод — только наш.

Хотя конфаундинг тяжести патологии относят к типу конфаундингов показания [149], тем не менее, отличия ясны. В данном случае потенциальным фактором является не заболевание/состояние, формирующее показание к воздействию, а его тяжесть (severity), которая служит основанием для иной, более интенсивной терапии и т.п. В результате может сформироваться представление, что более интенсивная и улучшенная терапия приводит и к более тяжелым патологическим последствиям. Важны стадия заболевания, его серьезность и возможность осложнений [149].

Примеры:

1. При исследовании смертности пациентов с ревматоидным артритом, которые лечились солями золота, необходимо учитывать стадию заболевания на начальном этапе. Показано, что соли зо-

лота задерживают развитие ревматоидного артрита, но у пациентов с прогрессирующей стадией заболевания будут худшие прогнозы, и они будут более интенсивно лечиться, преимущественно только этими препаратами [149].

2. Продемонстрирована связь между использованием диуретиков и внезапной смертью пациентов с гипертонической болезнью, однако возможно, что при более тяжелой стадии заболевания пациентам назначалась и более интенсивная терапия, в том числе диуретиками [149].

3. То же самое — между использованием фенотерола (β_2 -адреномиметик) и смертностью от астмы. Пациенты, которым назначался фенотерол при тяжелой астме, имели и более высокий риск смерти от последней [149].

4. Длительная оксигенотерапия связана с повышенными показателями реадмиссии в лечебное учреждение. Аналогично, показатели реадмиссии были выше у пациентов, принимавших антихолинергические препараты, получивших прививку от гриппа или проходящих респираторную реабилитацию. Однако все эти вмешательства чаще всего назначались при наиболее тяжелых степенях ХОБЛ [120].

5. Забегая вперед, вкратце приведем собственный пример из радиационной эпидемиологии. В исследованиях последних лет сообщается, что удалось обнаружить учащение злокачественных новообразований после СТ; в качестве обзоров см. [147, 148, 162], а также далее). Данные работы, однако, могут иметь недостаток, заключающийся в несоблюдении критерия “Временная зависимость” в плане феномена обратной причинности — диагностика должна была интенсивнее проводиться тем, для кого имелись более весомые подозрения на новообразования [147, 162]. Тем не менее имеются данные и о зависимости эффекта от дозы (к примеру, [163–165]). Последнее как раз и может объясняться конфаундингом тяжести патологии (точнее — тяжести прогноза). Возможно, что при больших подозрениях (и, следовательно, более высоком действительном выходе раков) СТ могла проводиться чаще.

СПОСОБЫ КОНТРОЛЯ И УСТРАНЕНИЯ ВРЕМЕННОГО СМЕЩЕНИЯ

Единого перечня методологий нигде не обнаружено, включая изданное Springer пособие по эпидемиологии от 2014 г. объемом около 2500 страниц [36]. В каждой конкретной работе могут использоваться локальные, специфические подходы, обусловленные конкретными условиями и выборками. Ниже представлена компиляция всей информации, которую удалось найти преимущественно в пособиях.

1. Проведение, если это возможно, проспективных исследований, в которых точно устанавливается временная зависимость [120].

2. Проведение, по возможности, рандомизированных исследований. Важное значение придается Менделевской рандомизации (Mendelian Randomization), когда для исследований типа “случай–контроль” в качестве инструментальной переменной для воздействия назначается генетическая детерминанта. Генетические варианты не зависят от времени, они случайным образом формируются при зачатии и, таким образом, не подвержены воздействию потенциальных конфаундеров окружающей среды и влиянию патологического состояния. Это исключает феномен обратной причинности [36, 133, 134].

3. В перекрестных опросных исследованиях можно улучшить информацию о временной последовательности с помощью специальных вопросов. Временная привязка к потенциальным факторам риска, таким как курение, физическая активность и профессиональное облучение, может быть установлена в кросс-секционных выборках с помощью таких пунктов, как: “Когда вы впервые подверглись воздействию того-то?” Для некоторых хронических заболеваний (к примеру, стенокардии) также можно извлечь информацию о дате начала заболевания [120].

4. Замена метода терапии для одного и того же состояния с последующим сравнением эффектов [86].

5. Исходная стратификация выборки, исключая лиц, имеющих до начала исследования интересующие последствия или *их предпосылки*. Так, для устранения возможности обратной причинности между физической активностью и такими патологиями, как сердечно-сосудистые заболевания и рак, необходимо исключить индивидуумов с этими патологиями, диагностированными до или в начале исследования, поскольку подобные участники могут стать физически неактивными из-за проблем со здоровьем [36].

6. Элиминация из выборки тех, у кого смерть зарегистрирована вскоре после постановки диагноза заболевания (например, пациентов с сердечно-сосудистыми патологиями или больных раком, которые умерли в первые годы наблюдения). То есть подход заключается в соблюдении правдоподобия латентного периода [36, 147, 163, 164]. По-видимому, это наиболее используемая методология, если не считать проспективных исследований, которые не всегда возможны.

ОБРАТНАЯ ПРИЧИННОСТЬ В ЖИЗНИ: СОЦИОЛОГИЯ, ПОЛИТОЛОГИЯ И ПСИХОЛОГИЯ

Представленные ниже в табл. 3 феномены (только немногие примеры) могут отражаться на

обыденной жизни, работе, политических воззрениях и на принятии решений²⁵.

ОБРАТНАЯ ПРИЧИННОСТЬ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИНАХ НЕРАДИАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ

Соответствующих источников великое множество (как указано выше, более 600 ссылок в PubMed). То есть при направленном поиске примеров обратной причинности в эпидемиологии, медицине и биологии можно найти много. В нашей подборке, которая собиралась только попутно, имеется более 30 подобных фактов, которые лежат вне областей сердечно-сосудистых и цереброваскулярных патологий, а также злокачественных новообразований (и те, и другие рассмотрены далее). Многие из фактов эффективны своей парадоксальностью:

- Перестал пить алкоголь – “повысил” риск цирроза печени [135].

- Перестал курить – “увеличил” риск “пневмонии-на-ногах” (“walking pneumonia”) [115] (то же – для рака легкого; пример далее).

- Вовсе никогда не пил алкоголь или вдруг перестал – “находишься” в зоне повышенного риска смерти сравнительно с большинством пьющих. Так, показано, что малое, и даже умеренное (moderate) употребление алкоголя приводит к меньшей смертности, чем полный отказ от него [133, 174] (объясняется все вышеприведенное тем, что люди при первых симптомах заболевания отказываются от вредных привычек (попадая, порой, в группу сравнения), но, часто, “уже поздно пить Боржоми”; а кто-то не пил алкоголь исходно в связи с недостаточным состоянием здоровья)²⁶.

- Избыточная масса тела ассоциируется с большей выживаемостью при сердечно-сосудистых патологиях (корректировка на курение, которое, понятно, массу тела снижает, обращает эффект, как оно и должно быть) [175].

- Потребление беременными кофе “приводит” к учащению выкидышей, но кофе тут не причем (меньший уровень токсикоза характерен для менее благоприятно протекающей беременности, а при меньшей тошноте кофе могут пить больше) [36, 53, 157].

- Электромагнитное излучение от мобильных телефонов и других источников приводит к проблемам в поведении и концентрации внимания у подростков. Эффект, однако, был выявлен только в кросс-секционном опросном исследовании и объяснялся обратной причинностью (в проспективном исследовании ничего обнаружено не было) [176].

- Показана отрицательная корреляция между аллергией, респираторными заболеваниями и

Таблица 3. Примеры обратной причинности в социологии, политологии и психологии
Table 3. Examples of reverse causation in sociology, political science and psychology

Источник	Данные
Siegel M. et al., 2004 [166]; Hemenway D., 2017 [167]	Анализ причинности для связи между количеством огнестрельного оружия у населения и частотой убийств из него показал, что по штатам США есть значимая прямая корреляция. Поскольку это поперечное и экологическое исследование, и все различия получены между штатами* (а не внутри штатов проспективно), то имеется возможность обратной причинности. Люди могут с большей вероятностью приобретать огнестрельное оружие, когда они знают о более высоких показателях частоты убийств в своем месте проживания [166, 167]. (“Increased accessibility to guns may lead to more lethal violence, but more lethal violence may also induce more people to acquire guns” [167].) О возможности обратной причинности свидетельствует тот факт, что в регионах с большим распространением огнестрельного оружия регистрируется более высокая частота убийств и без огнестрельного оружия [167]
Bharadwaj P., 2010 [168]	Существует отрицательная корреляция между просмотром телевизионных передач и участием в социальной жизни. Вероятна обратная причинность: некомпетентные сельские жители (incompetent village head) меньше участвуют в социальной жизни, и, следовательно, имеют больше времени смотреть телевизор
Koutmeridis T., 2016 [169] Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science, 2005 [170]	Образование влияет на доход, но и доход влияет на образование Ассоциации между характеристиками родителей и результатами их детей могут объясняться обратной причинностью
Werner S. et al., 2007 [171]	Возможна обратная причинность между заболеваемостью шизофренией и проживанием в районах с низким социальным статусом (а также с самим таким статусом). В разных работах найдена ассоциация в обоих направлениях
Handbook of Epidemiology. Ed. by W. Ahrens, I. Pigeot, 2014 [36]	Более высокие частоты шизофрении отмечены среди не состоящих в браке. Но возможна обратная причинность: индивидуумы, имеющие риск шизофрении, менее вероятно вступают в брак или более вероятно разводятся
Booth H. et al., 2014 [172]	Исследования ассоциации между поддержкой в социальных сетях и самооценкой состояния здоровья. Положительный причинный эффект почти полностью ограничен здоровыми группами. Для болезненных индивидуумов имеет место обратная причинность
Taylor M. et al., 2018 [173]	Непричинная ассоциация между курением и употреблением алкоголя может объясняться конфаундерами и/или обратной причинностью

* Эпидемиологический дизайн здесь – экологические или корреляционные исследования. Они не имеют доказательности в плане причинной обусловленности (см. выше). Отметим, что основные свидетельства о связи между количеством оружия у населения и частотой убийств приходятся как раз на корреляции. При неглубоком поиске нам не удалось найти ни работы с контрафактическим дизайном, ни, напротив, проспективного прослеживания за эффектом при интенсификации гипотетической причины.

астмой у детей и наличием домашних животных (широко представлено в СМИ). Сразу предположили, что имеется обратная причинность: родители не приобретают домашних животных или отказываются от них при первых признаках указанных патологий у их детей (Brunekeerf V. et al., 1992 [177] и пособие 2019 г. [120])²⁷.

А также десятки других, более скучных, но не менее важных фактов (например, про действие витаминов).

Мы, однако, рассматриваем вопросы все же в радиационном аспекте, и потому важными представляются только те заболевания, которые особо значимы в этом аспекте, причем на современном

этапе. В первую очередь это сердечно-сосудистые патологии и раки. Представленные в табл. 4 и 5 обратные зависимости могут мешать выявлению лучевой атрибутивности названных заболеваний (какой конкретно будет в каждом случае конфаундинг, показания, тяжести или протопатического смещения – не столь важно).

ОБРАТНАЯ ПРИЧИННОСТЬ В РАДИАЦИОННОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ

Три примера были приведены выше, но два из них относятся, все же, к несколько иным, хотя и смежным, категориям. А именно: к конфаун-

Таблица 4. Примеры обратной причинности для сердечно-сосудистых патологий
Table 4. Examples of reverse causation for cardiovascular pathologies

Зависимость	Факты или рассуждения авторов	Ссылки
Повышенный уровень холестерина — коронарное поражение	Не ясно, является высокий уровень холестерина причиной или следствием коронарной атаки	[55]
Снижение уровня холестерина — учащение коронарных атак	Беспокойство о высоком риске сердечного приступа из-за семейной истории подобных заболеваний или болей в груди может привести к диете с меньшим уровнем насыщенных жиров и холестерина. Однако вероятность сердечного приступа у таких индивидуумов все равно выше	[135]
Повышенный уровень креатинина — гипертония	Возможно, что гипертония предшествует начинающейся почечной недостаточности	[120]
β-Адреноблокаторы — повышенный риск ишемической болезни сердца	Артериальная гипертония сама является фактором риска ишемической болезни сердца	[143, 180]
Меньшая физическая активность — коронарные поражения, ишемическая болезнь сердца	Возможно, что недиагностированное доклиническое заболевание может вызвать снижение физической активности [36]	[10, 36, 120, 136]
Прекращение курения — учащение сердечных приступов	Возникновение сердечного приступа (но не наличие субклинического атеросклероза) может привести к прекращению курения	[120]
Повышенный уровень гомоцистеина — заболевания периферических артерий	Есть вероятность, что заболевание периферических артерий первично; оно способствует затем вторичным метаболическим реакциям, которые и индуцируют повышение уровня гомоцистеина	[115]
Высокая частота оргазмов — сниженный риск ишемической болезни сердца	Возможно, что люди с ранними симптомами ишемической болезни сердца замедляют и снижают частоту своих энергетических действий, таких как секс	[181]
Обратная связь между кровяным давлением и уровнем кальция в сыворотке крови	Что здесь причина, а что эффект?	[182]
Высокий уровень C-реактивного белка — сердечно-сосудистые патологии	Высокий уровень C-реактивного белка может быть следствием атеросклероза, основного патологического процесса при ишемической болезни сердца	[120]
Мерцательная аритмия — легочная эмболия	Более поздние доказательства и основанная на биологическом правдоподобии гипотеза свидетельствуют об обратной зависимости	[183]
Первичная недостаточность яичников — риск сердечно-сосудистых патологий	Среди других предположений возможно, что факторы риска сердечно-сосудистых патологий определяют возраст менопаузы	[184]

дингу показания (у носительниц мутаций BRCA1/2 воздействие диагностического излучения было связано с дозо-зависимым повышением риска рака молочной железы [160]) и к конфаундингу тяжести/прогноза патологии (зависимость от дозы учащения раков и/или лейкозов после СТ [163–165]). Третий пример, полностью по теме раздела, представляется уместным повторить ниже.

Был проведен поиск в PubMed на сочетание “reverse causation” & radiation (72 ссылки на май

2019 г.), но кроме нескольких исследований эффектов СТ (не всех известных) ничего по теме обнаружено не было (выявились также немногие работы о действии электромагнитного излучения от мобильных телефонов и т.п.; см. выше). Поиск на сочетание “protopathic bias” & radiation не дал ничего, а на “confounding by indication” & radiation — 10 источников, но никаких новых.

Среди массы сообщений НКДАР, посвященных радиационному канцерогенезу и смежным вопросам (1964–2017), обнаружено всего четыре

Таблица 5. Примеры обратной причинности для рака
Table 5. Examples of reverse causation for cancer

Зависимость	Факты или рассуждения авторов	Ссылки
Низкая масса тела — увеличение риска рака	Ранний недиагностированный рак приводит к низкой массе тела, а не наоборот	[10, 134, 185]
Ожирение — уменьшение частоты рака легкого, полости рта и пищевода (“парадокс ожирения”)	Возможна обратная причинность из-за курения	[134]
Низкий уровень холестерина — увеличение риска рака кишечника	Но вызывает ли низкий уровень холестерина рак кишечника, или, напротив, низкий уровень холестерина является ранней стадией рака кишечника?*	[33, 182]
Отказ от курения — увеличение риска рака легкого	Курильщики с ранним, неопределяемым или недиагностированным раком легкого перестают курить из-за чувства дискомфорта	[23, 120, 135, 186]
Прием аспирина — снижение риска рака толстой кишки	Люди могут перестать принимать аспирин из-за крови в их стуле, являющейся первым симптомом опухоли толстой кишки	[143]
Инфекционная причина рака	Обнаружение инфекционного агента в опухоли не предполагает его этиологической роли, поскольку изменение окружающей среды из-за новообразования может способствовать росту микроорганизмов	[36]
Опоясывающий лишай — увеличение риска различных типов рака	Хотя были исключены случаи лишая до 12 мес. перед диагностированием рака, для некоторых типов последнего ассоциация может объясняться обратной причинностью	[187]
Сахарный диабет — увеличение риска рака поджелудочной железы	Возможна и обратная зависимость: рак поджелудочной железы приводит к симптомам диабета	[77]
Высокий уровень глюкозы в крови — защита от глиомы	Возможно и альтернативное объяснение: поскольку опухоль захватывает глюкозу, то это снижает уровень последней	[188, 189]
Прием циметидина (тормозит продукцию желудочной кислоты) — увеличение риска рака желудка	Вероятно присутствие недиагностированных раков желудка во время назначения циметидина	[143, 146]
Заместительная терапия эстрогенами — увеличение риска рака эндометрия	Эстрогены часто назначались для контроля ранних симптомов невыявленного рака эндометрия, таких как кровотечение. Когда эстрогены были назначены после того, как рак начал развиваться, предполагаемая “причина” (эстрогены) была фактически вызвана раком	[23, 59, 120]
Статус витамина D — частота и исход рака молочной железы	Проспективные когортные исследования не показали связи, в отличие от ретроспективных исследований “случай—контроль”, когда возможна обратная причинность: наличие и стадия рака молочной железы влияют на уровень витамина D	[190]
Уровень витамина C — увеличение частоты рака желудка?	Или более низкие уровни витамина C могут быть результатом недиагностированного рака желудка?	[130]
Дефицит репарации ДНК — увеличенный риск рака	Большинство таких исследований имеют дизайн “случай—контроль”, когда определения проводятся после диагностики рака. При таком дизайне нет ответа на вопрос: повлиял ли на вывод сам рак или же его терапия (обратная причинность)**	[191]

* Последующее исследование показало, что верна все же первая зависимость (см. в [33]).

** В работе [191] исследовали повреждения ДНК методом комет до и после терапии рака. Разница обнаружена не была, что указывает на отсутствие обратной причинности.

источника (2000–2013), в которых кратко рассматривается проблема обратной причинности (частота злокачественных новообразований по-

сле СТ) [131, 132] или конфаундинга показания (рак щитовидной железы после воздействия ¹³¹I) [66, 106]. В BEIR-VII данных нет [31], как и в до-

кументах МКРЗ по канцерогенезу после облучения в малых дозах [112, 192].

Несколько примеров, помимо СТ, были обнаружены в концептуальном обзоре John D. Voise Jr. (США) от 2015 г. [147].

Диагностические воздействия ^{131}I на щитовидную железу

J.D. Voise Jr. в своей критической публикации 2015 г. [147] разобрал шведское исследование Dickman P.W. et al., 2003 [193] (в котором сам являлся соавтором). Никаких упоминаний в оригинале этой работы о возможности “reverse causation”, “protopathic bias” или “confound by indication” нет.

В данном исследовании 35000 взрослых индивидуумов подвергались диагностическому сканированию ^{131}I по подозрению на опухоль и/или другие аномалии щитовидной железы. Имелись клинические данные о причинах обследования. Если в оценку включались все пациенты (в том числе с подозрениями на опухоль), то относительный риск (RR) для рака щитовидной железы был значимо выше (1.8), чем для генеральной популяции. Но когда пациентов подразделили на две группы, “с подозрением на опухоль” и “по другим причинам”, то стало ясно, что значимая ассоциация объясняется исключительно первой группой (RR = 3.5). Для пациентов же, которых обследовали по иным причинам, RR = 0.9. Феномен обратной причинности наблюдался в течение более чем 20 лет после исходной диагностики с ^{131}I [193].

Следует отметить, что J.D. Voise Jr. не совсем точно уподобляет здесь обратную причинность конфаундингу показания [147] (см. выше).

Терапевтические воздействия ^{131}I на щитовидную железу

Как уже упоминалось, терапевтические воздействия ^{131}I по поводу незлокачественных патологий щитовидной железы (таких как гипертиреоз, болезнь Грейвса, микседема и пр.) приводят к учащению рака этого органа. Фактором, определяющим обратную причинность, являются сами указанные патологии, поскольку их наличие на порядок увеличивает вероятность рака щитовидной железы [149, 158, 159].

Воздействие Торотраста

Этот пример вновь представлен J.D. Voise Jr. [147].

Радиоактивный Торотраст (коллоид диоксида тория) ранее использовался для контрастного усиления при ангиографии черепа индивидуумов с подозрениями на опухоли мозга [110, 194, 195]. У пациентов из США, которым проводили ангио-

графическое обследование вследствие подозрения на опухоль, был значимо повышен риск рака мозга независимо от того, включала ли процедура радиоактивный Торотраст (стандартный индекс смертности – SMR – был равен 33.6; здесь и далее в разделе: данные из обзора [147] сверены с оригиналами), или же нерадиоактивную контрастную среду (SMR = 15.6). RR для группы Торотраста по сравнению с группой нерадиоактивной среды составил 1.3 (95% CI (доверительные интервалы) находились в диапазоне 0.6–3.7) [194].

Сходным образом, в Португалии риск смерти от патологий ЦНС был выше в подгруппе пациентов с ангиографией, включающей Торотраст, проведенной вследствие подозрений на нарушения в ЦНС (RR = 7.65; 95% CI 1.22–317) [195]. Сделан вывод, что предклинические симптомы рака мозга вызвали клиническое требование к диагностическому сканированию, и что в основном именно эти симптомы определяли появление рака мозга, а не доза облучения от Торотраста [147] (хотя факт накопления указанного α -излучателя в органах и тканях с последующей индукцией различных типов рака доказан достаточно давно [110], да и подтвержден в [194, 195]).

Диагностическое облучение в стоматологии

В исследовании “случай–контроль” частоты менангиом после диагностического стоматологического облучения, проводившегося в том числе много десятилетий назад, было обнаружено увеличение риска (отношение шансов было равно 2.0; 95% CI: 1.4–2.9) [196]. В таких опросных исследованиях сильно влияние смещения воспоминания (recall bias)²⁸, которое, порой, полностью определяет регистрируемый канцерогенный эффект [197]. Кроме того, наивысшие реконструированные дозы были ассоциированы с наименьшим риском [196]. Тем не менее, как указывает J.D. Voise Jr. [147] (в самом оригинале [196] это не обсуждается), весьма вероятным здесь представляется конфаундинг показания (точнее все же – обратная причинность). Поскольку менангиомы способны вызывать боль в орофациальной области, пациенту с подобной болью могли проводить стоматологическую рентгеноскопию в течение курса его терапии. Возможно, что не радиография приводила к менангиомам, но скорее их присутствие триггировало радиографию [147, 198].

Диагностическое облучение при СТ

Нашей целью здесь не является разбор возможных канцерогенных или иных эффектов СТ. Тем не менее вкратце уместно сказать, что опубликованные на данный предмет источники (сотни) можно подразделить на три группы:

1. *Теоретический расчет рисков.* Исходя из постулата о реальности стохастических эффектов

СТ, проведены оценки риска раков и лейкозов после данного обследования в тех или иных дозах (согласно коэффициентам рисков от МКРЗ или НКДАР, рассчитанных по линейной беспороговой модели и исходя из выхода новообразований в японской когорте). Именно таких работ в плане эффектов СТ подавляющее большинство, хотя, согласно PubMed (сочетание “computed tomography induced cancer”), до 2009 г. их было меньше на порядки (отдельные датируются, правда, даже периодом 1990-х годов [199]). Есть и российские расчеты (к примеру [200–203]).

Величина оцененных пожизненных рисков рака после СТ у некоторых авторов достигает высоких значений, вплоть до порядка процента и даже 2–45% [131, 204–206]. Но теоретические оценки рисков в данных случаях все же остаются виртуальными.

2. *Эпидемиологические исследования.* Это единичные (к настоящему времени масштабных насчитывается немногим более десятка) исследования (до сотен тысяч индивидуумов и миллионов томографий [163]; воздействия в детском и юном возрасте) в Англии [164, 207, 208], Австралии [163], на Тайване [209], в Китае [210], США [211], Иране [212], во Франции [213], в Германии [214], Нидерландах [148, 215] и в Финляндии [165] (2012–2019)²⁹. В большинстве работ (кроме [211, 213]) заявлено о доказательствах значимого, нередко зависящего от дозы (=числа томографий) учащения раков и/или лейкозов после СТ. Только данная группа дает прямые свидетельства о возможности эффектов.

3. *Обзорные и экспертные публикации* отдельных авторов, а также национальных и международных ассоциаций, выполненные на основе материала, представленного в двух предыдущих пунктах, с анализом рисков и выводами об опасности облучения при СТ [147, 216–224]. Сюда можно включить также СМИ и инструкции врачам, что говорить пациентам на данную тему (ссылки не приводятся).

Вопросу о вкладе в эффект временных смещений посвящены публикации в рамках двух последних групп.

Проблема возможного канцерогенеза после диагностических воздействий, массовых в последние десятилетия, затрагивает социальные аспекты здравоохранения. Это связано с тем, что для избегания в значительной степени виртуальных рисков раков и лейкозов назначения СТ будут ограничены или заменены на другие методы диагностики, несопоставимые по чувствительности [147, 221]. В упомянутом обзоре J.D. Voice Jr. приводит следующую цитату из “New York Times” (2014) [147]: “...мы должны находить пути для применения СТ без убийства людей при этом процессе”³⁰.

Поэтому вопрос об имитации декларируемых канцерогенных эффектов СТ конфаундерами и смещениями весьма актуален: он связан с выяснением истинной степени причинности и атрибутивности названных эффектов (т.е. облучения в малых дозах [162]).

Начало масштабному эпидемиологическому изучению эффектов СТ было положено в 2012 г., когда M.S. Pearce и соавт. опубликовали результаты когортного исследования выхода лейкозов и рака головного мозга после проведенной в 1985–2002 гг. в Англии СТ лиц, находившихся тогда в детском и молодом (до 22 лет) возрасте. Был обнаружен положительный тренд зависимости от дозы и для лейкозов ($p = 0.0097$), и для рака мозга ($p < 0.0001$), причем имелась четкая линейная зависимость [164]. Работа была раскритикована (в том числе в NCRP-2012 [225], НКДАР-2012 [131] и НКДАР-2013 [132]), помимо прочего, за отсутствие исчерпывающих подходов, способных учесть обратную причинность (не было данных о показании к СТ) [147]. Хотя в Pearce M.S. et al., 2012 [164] и были учтены латентные периоды (2 года для лейкозов и 5 лет для рака головного мозга), однако J.D. Voice Jr. указывает [147], что это «не настолько строго решило проблему короткого латентного периода», и что “латентный период или время после воздействия до появления признаков опухолей были значительно короче, чем показанные в других исследованиях”³¹. Вероятность недоучета обратной причинности в [164] отмечалась и другими авторами [223]³². Позже на основе той же базы данных в Англии было проведено скорректированное исследование (Berrington de Gonzalez A. et al., 2016; 2017 [207, 208]).

Почти все последующие эпидемиологические исследования канцерогенных эффектов СТ также не исключают возможности вмешательства обратной причинности (иной раз отождествляемой авторами с конфаундингом показания [147, 165, 214, 215, 221]). Отмечается, что подобная возможность следует в ряде работ из следующего [222]:

- раннее появление солидных раков после СТ;
- в некоторых работах – отсутствия избытка случаев рака головного мозга (при высокой радиочувствительности этого органа);
- учащения меланом и Неходжкинских лимфом (нерадиационно-обусловленные опухоли).

Следует отметить также, что для японской когорты (LSS) избыточный относительный риск рака головного мозга на 1 Гр, равно как и для когорты облученных по поводу гемангиом, намного ниже, чем соответствующий риск после СТ; это еще раз свидетельствует о возможности обратной причинности в последнем случае [226].

Сводка данных по обратной причинности при СТ представлена в табл. 6 (только известные и крупные исследования).

Таблица 6. Обратная причинность (=“конфаундинг показания”) в масштабных эпидемиологических исследованиях канцерогенных эффектов СТ, назначенной в детском и молодом возрасте
Table 6. Reverse causation (=“confounding by indication”) in large-scale epidemiological studies of the carcinogenic effects of CT in childhood and young age

Исследование	Страна, дизайн, эффекты	Выводы в публикации о возможности обратной причинности	Мнения иных авторов о возможности обратной причинности
Pearce M.S. et al., 2012 [164]	Англия; лейкозы, раки головного мозга	Обсуждения нет. Учтены латентные периоды (2 года для лейкозов, 5 лет для рака мозга)	Возможна [131, 132, 147, 225]; латентные периоды слишком кратки [147]
Berrington de Gonzalez A. et al., 2016–2017 [207, 208]	Англия (развитие исследования [164]); лейкозы, раки головного мозга, Неходжкинская лимфома	Учтены индивидуальные данные. Латентный период 2 года для лейкозов и лимфомы и 5 лет для раков. Последний увеличен и до 10 лет. Несмотря на учет возможных смещений (по сравнению с [164] риск рака головного мозга снизился на 30%), повышенный риск рака остается [207]. Частота Неходжжинской лимфомы не повышена	При учете смещений и пр. риск рака остается [224]
Mathews et al., 2013 [163]	Австралия; лейкозы, лимфомы, раки	Латентный период в основном составлял 1 год, но исследования повторили для периодов в 5 и 10 лет. Нельзя исключить обратную причинность, но она не может объяснить все избыточные раки [163, 227]	Возможна [132, 147] (так, показано учащение рака головного мозга при СТ не головы, а брюшной полости и конечностей) [147]
Huang W.Y. et al., 2014 [209]	Тайвань; СТ головы; ассоциация с доброкачественными опухолями мозга	Обсуждается “bias caused by a screening effect”. Учтен латентный период в 2 года	Возможна [147, 224], но не объясняет все избыточные раки [224]
Journy N. et al., 2015 [213]	Франция; когортное (follow-up 4 года после СТ); лейкозы, лимфомы, раки	Для устранения обратной причинности – корректировка на факторы предрасположенности к злокачественным новообразованиям. Снизила эффекты до статистически незначительных	При корректировке на факторы предрасположенности эффект не показан [147]
Krille L. et al., 2015 [214]	Германия; когортное; лейкозы, лимфомы, раки	Учтены доступные индивидуальные данные. Латентный период 2 года (для некоторых подгрупп – 5 лет). В целом возможен эффект обратной причинности. Для избытка лейкозов вероятно влияние обратной причинности или конфаундинга показания	При корректировке на факторы предрасположенности эффект не показан [147]
Meulepas J.M. et al., 2016–2019 [148, 215]	Нидерланды; когортное, лейкозы, лимфомы, раки	Учтены доступные индивидуальные данные. Увеличена частота рака головного мозга; для лейкозов нет эффекта. Риск лейкозов менее подвержен влиянию обратной причинности и конфаундинга показания	Не обнаружены
Nikkila A. et al., 2018 [165]	Финляндия; “случай–контроль”; лейкозы	Учтена предрасположенность. Латентный период 2 года	Не обнаружены

Таким образом, хотя полностью исключить канцерогенные и лейкозогенные эффекты СТ все же не удастся, тем не менее в количественном плане важно, что таковые эффекты имеют значительный имитирующий вклад временных смеще-

ний. Время, опять же, и новые исследования покажут, насколько атрибутивна именно радиации оставшаяся компонента и насколько на самом деле опасна СТ. Но важность соблюдения основного причинного критерия здесь неоспорима.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном разделе основной массив ссылок не приводится; их можно найти выше.

Для неэкспериментальных дисциплин сформирован целый ряд «руководящих принципов», которые позволяют взвесить имеющиеся свидетельства причинности того или иного явления или эффекта. Комплексы этих принципов, или критериев, могут быть неодинаковыми, специфичными не только для различных направлений (эпидемиологических, фармакологических, экологических, экономических, процессуальных), но и для разных авторов внутри, например, эпидемиологии (R.A. Stallones (доклад Минздрава США о вреде курения от 1964 г.), A.B. Hill, M.W. Susser, A.S. Evans и другие, менее известные исследователи; см. в [32]). Однако во всех списках только одно положение может быть названо истинным критерием или даже постулатом — это временная зависимость (“Temporality”), подтверждающая истинное философское правило (Д. Юм, Дж. Милль и др.), согласно которому следствие должно следовать после причины. Временная зависимость и направление (эффект после воздействия) — это критерий, фальсификация по которому сразу же делает ненужным дальнейший анализ причинности.

Данное положение представляется банальным и очевидным, но, тем не менее, оно, как сказано, присутствует во всех списках руководящих принципов, служащих для определения причинности. Это происходит потому, что не только в сложных научных изысканиях, но даже в обыденной жизни человек нередко не задумывается о том, насколько он не всегда следует этому “банальному” правилу.

В представленном обзоре мы попытались собрать по временному критерию весь возможный материал из сотен источников, включая основные работы ведущих исследователей причинности, а также десятки западных пособий по эпидемиологии, по статистике в экономике, социологии, юриспруденции и психологии. Изложенное выше, возможно, — наиболее охватывающий обзор на тему (с медико-биологической позиции, конечно), отразивший все обнаруженные аспекты критерия “Временная зависимость”: концептуальный, философский, эпидемиологический, проблемный, практический, диапазона научных дисциплин, обыденной жизни, и пр.

Как и методология самих правил причинности (наиболее известных как «критерии Хилла»), временной критерий по значимости выходит за рамки только научных дисциплин; его осознание не просто полезно, но порой и необходимо в жизни. Феномен обратной причинности (иногда называемой в эпидемиологии “протопатическим смещением”; термин введен в 1980 г. A.R. Feinstein;

США), когда эффект или его предпосылки имели влияние на причину, а не наоборот, вездесущ. Это подтверждает ряд представленных нами примеров из социологии, политологии и психологии, которые, возможно, оказались для читателя отчасти нетривиальными (как неоднозначность связи между количеством огнестрельного оружия у населения и частотой убийств из него).

В эпидемиологии, в частности в ее приложениях к фармакологии, а также в нерандомизированных исследованиях в медицине, обратная причинность проявляется вкуче с близкими к ней (для некоторых авторов — до синонимичности) конфаундерами: конфаундингами показания и противопоказания, введенными в эпидемиологию в 1980–1983 гг. O.S. Miettinen, а также тяжести/прогноза патологии. Эти искажения результатов описательных исследований (массово — испытаний препаратов в фармакоэпидемиологии) обусловлены тем, что терапевтическое воздействие/препарат назначается по показанию как самой патологии, так и ее тяжести, также имеющих влияние на конечный эффект.

Названные конфаундинги и обратная причинность логично входят в предложенную для эпидемиологии M. Szklo и F.J. Nieto (США) категорию “Temporal bias” — “Временное смещение” (пособие по эпидемиологии изданий 2000–2019 гг.). Это смещение особенно характерно для ретроспективных исследований типа одномоментных кросс-секционных или “случай—контроль”, когда оба события — и искомая причина, и следствие находятся в прошлом.

Чтобы устранить временное смещение используется ряд подходов, среди которых главные — проведение проспективных и рандомизированных исследований (часто невозможны), а также (наиболее используемый) — соблюдение правдоподобия латентного периода (элиминация из выборки тех, у кого смерть наступила вскоре после постановки диагноза заболевания).

Нами была представлена подборка фактов обратной причинности сначала из эпидемиологии и медицины нерадиационного профиля, причем особенный интерес вызывают те патологии, которые ныне значимы именно в радиационном аспекте (сердечно-сосудистые заболевания и раки). Среди прочих приведенных фактов некоторые весьма неожиданны, как, например, “учащение” цирроза печени у переставших пить, а также пневмонии и рака легкого у переставших курить. К этому можно добавить “повышенную” частоту смертности у непьющих или оставивших данную привычку сравнительно с большинством пьющих (так сказать, “эффект очищения сосудов алкоголем”) и “парадокс ожирения”, когда люди с большей массой тела имеют лучшую выживаемость при сердечно-сосудистых заболеваниях. Всюду

здесь во главу угла встает обратная причинность или названные близкие к ней конфаундинги.

Изложенное, как можно надеяться, позволит читателю более взвешенно и осознанно подходить к той парамедицинской информации, которая озвучивается в СМИ порой даже официальными лицами от здравоохранения.

Однако наиболее важной для нас является, понятно, обратная причинность в радиационной эпидемиологии. Такие примеры имеются, и их целый ряд, но все они лежат в рамках диагностических или терапевтических лучевых воздействий. На первый взгляд кажется, что вне этих рамок названный феномен для радиационной эпидемиологии вряд ли возможен просто по логике. Тем не менее представим себе ситуацию, скажем, с ликвидаторами радиационных аварий или работниками атомной промышленности, когда накопленная доза облучения окажется обусловленной в том числе личностными характеристиками индивидуума, которые и окажутся основными факторами риска той или иной патологии, приписываемой эффекту радиации. К примеру, для японских работников атомной промышленности показана значимая связь между уровнем накопленной дозы, с одной стороны, и курением, а также алкоголизмом — с другой. Оказалось к тому же, что для более высоких дозовых групп частота прохождения рентгенодиагностики пищеварительного тракта и пр. была ниже [228]³³.

В настоящем обзоре в качестве примеров обратной причинности названо и диагностическое воздействие ¹³¹I, которое назначается при подозрениях на рак щитовидной железы и, таким образом, как бы “учащает” эту патологию, и терапевтическое воздействие ¹³¹I при незлокачественных патологиях указанного органа (которые сами по себе на порядки увеличивают риск рака щитовидной железы). Ведущий радиационный эпидемиолог США John C. Voise находил объяснение обратной причинностью и эффектам α -излучателя Торотраста при ангиографии головы. Аналогичный вывод сделан им и иными авторами также для диагностического облучения в стоматологии, которое якобы учащает менангиомы.

Все эти примеры отходят по значимости на второй план от проблемы обратной причинности после СТ в детском и молодом возрасте. По утверждениям, в ряде масштабных (до сотен тысяч индивидуумов и миллионов процедур) эпидемиологических исследований в порядка 10 странах, СТ увеличивает частоту лейкозов и различных раков. С самого начала, после первого такого большого исследования (Pearce M.S. et al., 2012 [164]) появилась критика, в том числе от авторитетных организаций (NCRP [225] и НКДАР [131, 132]), согласно которой эффект объяснялся недоучетом феномена обратной причинности.

За прошедшее время данных об эффектах СТ прибавилось, но почти во всех случаях как сами авторы работ, так и те, кто анализировал их результаты, не могли полностью сбросить со счетов вклад обратной причинности. Какую бы элиминирующую стратификацию выборки ни пытались делать исследователи, соблюдая правдоподобие латентного периода (обычно 2 года для лейкозов и 5, даже 10 лет для раков), все равно вероятность названного феномена сохранялась (в настоящем обзоре мы привели аналитическую сводку подобного рода для наиболее масштабных эпидемиологических исследований эффектов СТ).

Время и новые исследования покажут, насколько атрибутивна именно радиации оставшаяся компонента канцерогенеза и насколько на самом деле опасна СТ, частота которой во всем мире неуклонно растет. Наверное, помимо общежитейских моментов, именно эта проблема заведомо оправдывает создание представленного обзора.

Конфликт интересов и возможность субъективных уклонов

Конфликт интересов отсутствует. Настоящее исследование, выполненное попутно в рамках более широкой бюджетной темы НИР ФМБА России, не поддерживалось никакими иными источниками финансирования. При выполнении работы не имелось временных рамок, официальных требований, ограничений, или же иных внешних объективных либо субъективных вмешивающихся факторов.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Новорожденный не знает, что такое “предмет”, “трехмерное пространство”, скорость, причинность, число и т.п.; эти понятия формируются у ребенка лишь по мере упорядочения его чувственного опыта. В принципе, научный метод — это просто более разработанная и систематизированная форма того процесса, с помощью которого мы приходим к каким-то представлениям и в повседневной жизни [1]. Рудиментарное понимание причины и следствия приобретает большинство людей самостоятельно намного раньше, чем этому их мог кто-то научить. Ребенок еще до того, как научится говорить, уже понимает связь между плачем и появлением матери, а также связь между ней и кормлением [2].

2. Хотя иной раз и отмечается, что “Физика и химия полностью отказались от концепций причины и следствия [с конца 19 в.]” [7]. Такое положение сложилось в связи с введением квантовой теории, что привело к принятию индетерминизма и к отказу от классических понятий причины и следствия [5–7].

3. Наличие статистически значимой ассоциации в эпидемиологии с самого раннего периода [16, 17] рассматривается как необходимая предпосылка перед исследованием причинности эффекта [9, 18–24]. Так, при использовании медико-биологических данных в доказательной судебной практике США руководствуются правилом (2004) [13]: “Если эпидемиологическое исследование не является статистически значимым, оно не может предоставить научно достоверных доказательств связи, не говоря уже о причинно-следственной связи”. (“If an epidemiological study is not statistically significant, it cannot provide scientifically reliable evidence of an association, let alone causation”). Тем не менее в эпидемиологии иной раз даже отсутствие выявляемой ассоциации не отменяет причинность. Теоретический пример этого, приведенный в работе Greenland S., Robins J.M., 1986 [25] (“бивариантный контрафактический” по цитате в [26]), рассматривался нами ранее [27]. Авторы [25] сделали допущение, что половина индивидуумов в популяции чувствительна к некоему воздействию и может умереть от него, а другая половина может умереть именно из-за отсутствия такого воздействия (от себя представим популяцию, где, скажем, половина — тяжелые наркоманы, необходимая доза зелья для которых смертельна для обычного человека). Если экспозиция распределится по популяции случайным образом, то ожидаемый средний причинный эффект будет равен нулю: не обнаружится никакой ассоциации между воздействием и смертностью в бесконечно большой группе. Но наблюдаемый результат для каждого индивидуума окажется причинно обусловлен фактом подвергания или неподвергания воздействию [25, 26]. В других источниках рассуждения на данную тему менее умозрительны. Во-первых, при исследовании эффектов от факторов окружающей среды размер выборки нередко недостаточен для достижения необходимой статистической мощности, поэтому неопределение значимой ассоциации не позволяет делать практический вывод об отсутствии причинности в жизненно важных ситуациях [28, 29]. Во-вторых, нельзя сбрасывать со счетов наличия компонентных причин, так называемого “пирога” (“pie” [2]) причинности Ротмана (K. Rothman; подробнее см. в [27]); хотя точнее будет сказать “нарезанного круглого торта”, как по смыслу модели, так и по американскому сленгу. Это построение включает ряд факторов, влияющих на эффекты друг друга. В обзоре [29] приведен пример синдрома ранней смертности у лососевых рыб в Великих американских озерах и в Прибалтике, когда имелась, как правило, плохая корреляция с загрязняющими агентами. Последние, однако, рассматривались экспертами именно как причина эффекта. В результате предположили мультипричинность воздействия, связанную, в том чис-

ле, с питанием самок и содержанием тиамин в икре, что могло взаимодействовать с влиянием загрязнителей. Сходные закономерности могут иметь место и в радиационной эпидемиологии, когда эффекты лучевого воздействия от окружающей среды модифицируются нелучевыми факторами [30].

4. Согласно переводу оксфордского словаря по эпидемиологии (под редакцией J.M. Last) от 2009 г. [37], термин “bias” транслитерируется то как “смещение”, то как “ошибка” (систематическая). Иногда (редко) в медико-биологической литературе встречается перевод “уклон”.

5. Еще в 1950-е годы основоположником статистики в естественных науках Робертом Фишером (R. Fisher) приводился пример ассоциации между величиной импорта яблок и числом разводов в Великобритании [38]. В Интернете широко представлена корреляция ($r = 0.67$) между числом американцев, утонувших в бассейнах по годам, и числом фильмов, в которых в эти годы сыграл актер Николас Кейдж (N. Cage). Данный курьез приведен и в весомых источниках [39, 40]. Странно выглядит также почти абсолютная обратная ассоциация ($r = -0.985$) между импортом лимонов из Мексики в США и числом в последних автомобильных аварий (четырёхлетний период) [41]. Не менее впечатляет американская же прямая зависимость ($r = 0.997$) между уровнем потребления экологически чистых продуктов и ростом частоты аутизма у детей (1997–2009 гг.) [42]. Можно привести и другие примеры [40].

6. Например, воздействие на беременных диэтилstilбестрола (для предупреждения угрожающего аборта) приводило к увеличению частоты аденокарциномы влагалища у их дочерей. В единственном и маломасштабном исследовании “случай–контроль” от 1971 г. отношение шансов составило бесконечность, поскольку с препаратом эффект достиг 88%, а при его отсутствии ничего обнаружено не было [46]. Понятно, что с этих пор диэтилstilбестрол никто из беременных не принимал, и потому быть твердо уверенным в отсутствии здесь случайности (например, влияния примесей в какой-то партии препарата) с формальных позиций нельзя.

7. Некоторые авторы указывают, что данные положения “названы в честь сэра Остина Бредфорда Хилла” [12], хотя такой вывод ниоткуда не следует (см. в [27, 32, 50, 52]).

8. При подготовке цикла сообщений по критериям причинности [27, 32] (а также третье и четвертое, намеченные в будущем, равно как и два сообщения по критерию “Сила связи” в журнале “Медицинская радиология и радиационная безопасность”: 2019 г., № 4 и № 6) нами были проанализированы сотни источников на тему, с начала 1950-х годов и до настоящего времени, почти

все – в оригиналах, как статьи, так и монографии, пособия и иные документы. Одних западных пособий по эпидемиологии, статистике в медико-биологических дисциплинах, а также по канцерогенезу, на многие сотни и даже тысячи страниц (рекорд – 2498 страниц [36]), изданий “Oxford”, “Cambridge”, “Springer”, “Elsevier”, “CRC Press”, “Jones&Bartlett Learning”, “Taylor& Francis” и т.п. последних лет (многие – 2018 и 2019 гг.) насчитывается более 40 наименований (зачем, к примеру, в США издается столь много однотипных пособий почти одновременно – сказать трудно). Таких же англоязычных пособий по статистике и эпидемиологии [так] в экономике, социологии, юриспруденции и психологии – около 30 изданий (последних могло быть и больше, если бы это имело смысл). 12 пособий по эпидемиологии и доказательной медицине являлись русскоязычными или переводными. Помимо прочего, через PubMed были собраны работы с использованием сочетания “Hill’s criteria” за последние годы (2013–2019). Таким образом, предпринятый нами охват материала на тему весьма масштабный.

9. Несмотря на кажущуюся очевидность необратимости времени, в западных пособиях по эпидемиологии встречается следующая оговорка (2014) [23]: “Хотя некоторые философские традиции считают время циркулярным, западная наука предполагает, что время течет только в одном направлении” (“Although some philosophical traditions consider time as circular, Western science assumes that time runs only one way”). Здесь и далее перевод наш, – авт.). В Сообщении 2, посвященном истории критериев причинности [32], нами были приведены примеры того, что некоторые зарубежные авторы, так сказать, все же смогли пустить время вспять. А именно: исследователям конца 1950-х годов и вплоть до 1964 г. ими было приписано взятие критериев причинности из работы, которую А.В. Hill опубликовал только в 1965 г. [18], причем ранее он ничего на данную тему не писал и, судя по всем источникам, не говорил. В свете этого специальная оговорка в монографии по эпидемиологии [23], что время течет только в одном направлении, выглядит даже уместной.

10. Направленность показывает, однако, что если X предшествовал Y , то только в данном конкретном случае Y не может быть причиной X . Возможно, в другой ситуации именно Y окажется причиной X . Эта оговорка делается, по крайней мере, с 2005 г. в статьях и пособиях по эпидемиологии ведущих специалистов К. Rothman и S. Greenland (иногда с соавт.) [57–59]. Названные исследователи порой стремятся к абсолютизму, пытаясь объять все мыслимые и даже фантастические ситуации (пример этого был приведен выше (см. прим. 3); соответствующие моменты будут рассмотрены и далее). Вслед за К. Rothman и

S. Greenland и другие авторы повторяют названное построение [78]. Цикличность и взаимозаменяемость причины и следствия оказываются актуальными для рассмотренного далее феномена обратной причинности, в том числе при радиационных воздействиях. Но и вне этого феномена простой обмен местами “причины” и “следствия” в медицине вполне реален. Например, тревога может вызывать депрессию, а депрессия – тревогу (либо оба состояния окажутся связанными с некоей “общей чувствительностью, уязвимостью”) [78, 84]. Равным образом, хотя возможна обратная причинность в цепочке “переедание – падение настроения” (стресс) [2, 85], но и здесь оба звена могут являться друг для друга как причиной, так и следствием.

11. Все другие доказательства, кроме временной зависимости, могут только уменьшить вес свидетельств в пользу причинно-следственной связи, но не могут подтвердить, что причинно-следственной связи нет [7]. С другой стороны, только установление временной зависимости, как сказано, не служит доказательством в пользу причинной связи [10, 69, 87].

12. “Поскольку время начала заболевания обычно невозможно определить, индукционный и латентный периоды нередко объединяются в эмпирический латентный период”. (“Because the time of disease onset is usually not possible to determine, the induction and latent periods are typically merged into the empirical latent period.”) [86].

13. Особенность понятий К. J. Rothman и соавт. об индукционном и латентном периодах, выделяющая их среди прочих исследователей, отмечена и в фундаментальном пособии по эпидемиологии от 2014 г. [36].

14. В [2, 59] представлен сложный пример компонентного причинного “пирога”/“торта”. Рассмотрен индивидуум, который ранее получил травму головы, что привело к нарушению его координации, каковое годы спустя вызвало падение на обледеневшей дороге (или лестнице) и перелом бедра. Полученная когда-то травма головы послужила причинной компонентой в этой ситуации, равно как и погодные условия в тот день. Если оба эти фактора сыграли каузальную роль в переломе, то они, очевидно, взаимодействовали друг с другом, чтобы вызвать эффект, хотя их действие и было разделено большим временным промежутком. Травма головы взаимодействовала и с погодными условиями, и с другими компонентными причинами (возможно, с типом обуви, отсутствием поручней и любыми иными моментами, которые были необходимы для причинного механизма падения и перелома бедра). Поскольку компонент в данном причинном механизме действует не одномоментно, существует период времени между эффектом *составляющей* причи-

ны и завершением *достаточной* причины. Единственное исключение — последний компонент, который завершает причинный механизм, и болезнь начинается одновременно с его действием. Для причин, вызванных более ранним воздействием, мы можем определить период индукции как временной интервал, который начинается одновременно с воздействием компонента и заканчивается, когда конечный компонент вызывает эффект и начинается заболевание. Например, для сломанного бедра время индукции между травмой головы, которая привела к нарушению равновесия и позднему перелому, составило много лет. Напротив, для последнего компонента время индукции, как сказано, равно нулю (например, для порыва ветра, окончательно приведшего к падению и перелому бедра). Тем не менее повторим, что построения К. Rothman и соавт. [2, 59] о латентном и индукционном периодах, по всей видимости, индивидуальны.

15. Раннее, в 1990–1991 гг., диагностирование в Белоруссии первых детских раков щитовидной железы после аварии на ЧАЭС [95] привело сначала как к утверждениям об инициации эпидемии таких опухолей (“it was postulated that these thyroid cancers might represent the beginning of an epidemic” [94]), так и к абсолютизации эффекта скрининга и отрицанию лучевой атрибутивности указанных раков вообще (см. в [96]). До этого времени величина латентного периода, показанная в основных исследованиях, имела более высокие значения. Так, опубликованный в 1995 г. pooled-анализ данных семи исследований (суммарный период “отслеживания” (перевод “follow-up” согласно словарю [37]) — 1926–1990 гг. продемонстрировал, что максимум частоты злокачественных новообразований щитовидной железы составлял 15–19 лет после облучения [97].

16. В документе МАГАТЭ от 1996 г. по эффектам профессионального облучения имеется спорное утверждение, которое нам более нигде не встречалось [108]: “Для [конкретного] индивидуума латентный период не должен рассматриваться как четко определенный интервал. Если оценивать [показатель] для достаточно большой группы лиц, которые подвергаются достаточно большой дозе облучения, то можно обнаружить сколь угодно малый латентный период” (“In an individual the latent period should not be regarded as a well-defined interval, in as much as given a sufficiently large group of persons who are exposed to a sufficiently large dose of radiation, an arbitrarily small latent period might be detected”). Это положение, да еще в авторитетном источнике, служит в пользу спекуляций относительно радиационной причинности и атрибутивности. В частности, применительно к Белоруссии можно встретить утверждения об отсутствии латентного периода для раков щитовидной железы после аварии на ЧАЭС

[109], хотя автор ни на какое МАГАТЭ или еще что-нибудь серьезное не ссылается, а только — на J. Gofman (аналог российского А.В. Яблокова).

17. Иногда сначала ставят по рангу поперечные исследования, и только потом “случай–контроль” [24], но это, вероятно, исключение.

18. В пособии [115] приведен пример гипотетического одномоментного кросс-секционного исследования, которое покажет, что в среднем у мужчин частота повышенного артериального давления увеличена сравнительно с женщинами. Таким образом, можно сделать предварительный вывод, что пол влияет на артериальное давление, поскольку обратное предположение (что артериальное давление определяет пол) — неправдоподобно.

19. Представлены почти только пособия, где есть определения феномена. Работ же медико-биологического и эпидемиологического плана, имеющих дело с обратной причинностью и где она названа, сотни (ниже).

20. Поиск в PubMed на точное сочетание “protopathic bias” дал всего 47 ссылок (1980–2019).

21. “Это так называемое “протопатическое смещение”, которое есть особый случай более широкой концепции “конфаундинг показателя” (“This has been called “protopathic bias” and is a special case of the broader concept of ‘confounding by indication’”) [143].

22. “...confounding by indication (also called “reverse causation”)” [147, 148].

23. В PubMed на точное сочетание “confound by indication” обнаруживается работа 1980 г. (Greenland S., Neutra R., 1980) [155], в которой уже есть этот термин. Но авторы ссылаются в тексте на персональное сообщение O.S. Miettinen.

24. В статье O.S. Miettinen от 1981 г. [153] термина нет, в статье 1983 г. [154], когда рассматривается понятие, нет ссылки на раннюю публикацию 1980 г. [152] (как это было в [154] для “confounding by indication”).

25. Методологии оценки каузальности в неэкспериментальных исследованиях, которые мы пытаемся донести в цикле сообщений [27, 32] (см. также прим. 8), далеко выходят за рамки науки, позволяя лучше ориентироваться и в обыденной жизни. Помимо понимания степени доказанности медико-биологических зависимостей в быту (в области медицинской рекламы, шоу в СМИ, да и в рутине поликлинической медицины), знание таких методов развивает правильный подход и к жизненным вопросам, касающимся экономики, социологии, юриспруденции, истории, психологии и т.п. Что на самом деле доказано, а что остается гипотезой, несмотря на то, что это “ученые говорят”? Что научно, а что априори паранаучно, ибо даже исходя из здравого смысла ясно, что нет

возможности придумать реальные доказательные/фальсифицирующие подходы (касается даже отдельных дисциплин)? Рассмотрим пример так называемого “научно-обоснованного” количества воды, которое требуется человеку на день. Можно слышать и читать уверенные утверждения о конкретном числе литров (или миллилитров на килограмм массы тела) и видеть во все времена года на улице и в транспорте молодежь, которая носит с собой бутылочки с водой (явно чтобы “добрать”). Но возможна ли здесь в принципе доказательная методология, если не считать простейших физиологических подходов еще 19-го века, которые почему-то пересматриваются? Кто все это проверил и как? Множество подобных ситуаций бросается в глаза. Сходные мысли, систематически изложенные, есть в упомянутой американской монографии Д. Левитина (перевод 2018 г.) [40].

26. Применительно к пьющим/непьющим можно вспомнить широко известную иную гипотезу – о пользе чистого алкоголя в малых дозах для предупреждения сердечно-сосудистых заболеваний, причем здесь находят и биологические механизмы (“очищение сосудов от холестерина” и устранение стресса; ссылки читатель наверняка знает сам или обильно найдет в Интернете). Оказалось, однако, что при корректировке эффекта на обратную причинность (учет в группе непьющих тех, кто ранее пил, но перестал) и др. конфаундеры, “защитный эффект” для мало- и умеренно пьющих исчезает [174].

27. К примеру, в СМИ: “Домашние животные против аллергии: чем больше кошек и собак было в доме при рождении ребенка, тем меньше вероятность, что в будущем у него появится аллергия” (“Наука и жизнь”. “Новости науки и техники” [178]). В статье есть ссылка на последнюю работу в PlosOne от 2018 г., в которой уже отрицается влияние смещения отбора и обратной причинности, поскольку были проведены и когортное исследование, и опрос родителей об их аллергическом статусе (для устранения влияния наследственного фактора) [179]. Тем не менее ясно, что вопрос все равно остается, поскольку наличие многокомпонентная причинность.

28. Русскоязычные аналоги термина “recall bias” – самые разные. В переводе оксфордского эпидемиологического словаря – “ошибка памяти” [37] (что воспроизведено в переводе руководства по доказательной медицине [71]). В пособии по эпидемиологии В.В. Власова (2006) [53] – “смещение воспоминания”. Можно видеть также “ошибку воспоминания” и “систематическую ошибку воспоминания” (источники не приводятся). Впечатление, что почти каждый автор перевел конструкцию в чем-то по-своему. Однако в англоязычной литературе термин единственный

и специфичный – “recall bias”. Вероятно, и для русскоязычной литературы термин должен быть один. Если использовать перевод из оксфордского словаря [37], то всегда “bias” придется переводить как “ошибка”, что не представляется верным (это скорее “смещение” (тоже есть в словаре), “уклон”). Поэтому мы использовали термин из пособия В.В. Власова [53], представляющийся наиболее точным.

29. Нами и другими авторами в обзорах обычно представляются масштабные исследования. Но было много и более мелких. Сводку данных можно найти в обзоре Oh J.S., Koea J.B., 2014 [216].

30. “...we need to find ways to use them [CT examinations] without killing people in the process” [147].

31. “...but this does not strictly address the issue of a short latency”, “...latency or time from exposure to occurrence was much shorter than observed in other studies” [147].

32. Расчеты в Socol Y., Welsh J.S., 2016 [223] показали, что вероятность получения столь строгих прямых зависимостей “доза–эффект”, которые были опубликованы в Pearce M.S. et al., 2012 [164], при описанных условиях составляет всего 2% (“результаты слишком хороши, чтобы быть правдой”; “the results... appear “too good to be true”). Но это уже иная тема.

33. В монографии Г.М. Румянцевой и соавт. от 2009 г. (“Радиационные инциденты и психическое здоровье населения”) [229] изложены результаты исследования (профессионалы атомной энергетики и население, которое показало, что люди по-разному оценивают радиационную опасность в зависимости от личностных характеристик. Мы можем предположить, вслед за японским исследованием [228], что менее склонные переоценивать радиационные риски (и, потому, чаще соглашавшиеся на более опасные и длительные радиационные работы) имеют такую же философию и в жизни, относительно и других факторов риска. В том числе – факторов риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных патологий, а также злокачественных новообразований (скажем, особенностей диеты и образа жизни).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ичас М.* О природе живого: механизмы и смысл. Пер. с англ. М.: Мир, 1994. 496 с. [*Ycas M.* Meaning and mechanisms. 1994.]
2. *Rothman K.J. Epidemiology. An Introduction.* 2nd ed. Oxford: Oxford University Press Inc., 2012. 268 p.
3. *Hume D. A Treatise of Human Nature.* 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1978. [*Юм Д.* Сочинения в 2-х томах. Т. 1: Пер. с англ. С.И. Церетели и др. 2-е изд., дополн. и испр. М.: Мысль, 1996. 733 с.]
4. *Mill J.S. A System of Logic, Ratiocinative and Inductive.* 1843. [*Милль Д.С.* Система логики силлогисти-

- ческой и индуктивной: Изложение принципов доказательства в связи с методами научного исследования: Пер. с англ. Изд. 5-е, испр. и доп. М.: ЛЕНАНД, 2011. 832 с.]
5. *Causality in the Sciences* / Eds P.M. Illari, F. Russo, J. Williamson. New York: Oxford University Press, 2011. 882 p.
<https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199574131.001.0001>
 6. *Hendry R.F.* Is there downward causation in Chemistry? // *Philosophy of Chemistry* / Eds D. Baird, E. Scerri, L. McIntyre. Dordrecht: Springer, 2006. V. 242. P. 173–189.
https://doi.org/10.1007/1-4020-3261-7_9.
 7. *Kundi M.* Causality and the interpretation of epidemiologic evidence // *Environ. Health Perspect.* 2006. V. 114. № 7. P. 969–974.
<https://doi.org/10.1289/ehp.8297>
 8. *Fox G.A.* Practical causal inference for ecopidemiologists // *J. Toxicol. Environ. Health.* 1991. V. 33. № 4. P. 359–273.
<https://doi.org/10.1080/15287399109531535>
 9. *Ecological Causal Assessment* / Eds S.B. Norton, S.M. Cormier, G.W. Suter II. U.S. Environmental Protection Agency. Cincinnati, OH, USA: CRC Press, 2015. 497 p.
 10. *Bhopal R.S.* *Concepts of Epidemiology: Integrated the Ideas, Theories, Principles and Methods of Epidemiology.* 3rd ed. Oxford: University Press, 2016. 442 p.
 11. *Brady H.E.* Causation and Explanation in Social Science. *The Oxford Handbook of Political Science* / Ed. R.E. Goodin. New York: Oxford University Press, 2011. 64 p.
<https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199604456.013.0049>.
 12. *Egilman D., Kim J., Biklen M.* Proving causation: the use and abuse of medical and scientific evidence inside the courtroom – an epidemiologist’s critique of the judicial interpretation of the Daubert ruling // *Food Drug Law J.* 2003. V. 58. № 2. P. 223–250.
 13. *Hollingsworth J.G., Lasker E.G.* The Case against differential diagnosis: Daubert, medical causation. Testimony, and the scientific method // *J. Health Law.* 2004. V. 37. № 1. P. 85–111.
 14. *Cohen M.F.* Causation in History // *Philosophy.* 1987. V. 62. № 241. P. 341–360.
 15. *Gayon J.* Chance, explanation, and causation in evolutionary theory // *Hist. Philos. Life Sci.* 2005. V. 27. № 3–4. P. 395–405.
 16. *Dorn H.F.* Philosophy of inferences from retrospective studies // *Am. J. Public Health Nat. Health.* 1953. V. 43. № 6. Pt. 1. P. 77–83.
 17. *Hammond E.C., Horn D.* The relationship between human smoking habits and death rates: a follow-up study of 187,766 men // *J. Am. Med. Assoc.* 1954. V. 155. № 15. P. 1316–1328.
<https://doi.org/10.1001/jama.1954.03690330020006>
 18. *Hill B.A.* The environment and disease: association or causation? // *Proc. R. Soc. Med.* 1965. V. 58. № 5. P. 295–300.
<https://doi.org/10.1177/0141076814562718>
 19. *Susser M.* *Causal Thinking in the Health Sciences: Concepts and Strategies of Epidemiology.* New York: Oxford Univ. Press, 1973. 181 p.
 20. *Evans A.S.* Causation and disease: The Henle-Koch postulates revisited // *Yale J. Biol. Med.* 1976. V. 49. № 2. P. 175–195.
 21. *Susser M.* What is a cause and how do we know one? A grammar for pragmatic epidemiology // *Am. J. Epidemiol.* 1991. V. 133. № 7. P. 635–648.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115939>
 22. *Doll R.* Weak associations in epidemiology: importance, detection, and interpretation // *J. Epidemiol.* 1996. V. 6. № 4. Suppl. P. S11–S20.
https://doi.org/10.2188/jea.6.4sup_11
 23. *Katz D.L., Elmore J.G., Wild D.M.G., Lucan S.C.* *Jekel’s Epidemiology, Biostatistics, Preventive Medicine, and Public Health.* 4th ed. Philadelphia: Elsevier Inc., 2014. 453 p.
 24. *Merrill R.M.* *Introduction to Epidemiology.* 7th ed. Burlington: Jones&Bartlett Learning, 2017. 339 p.
 25. *Greenland S., Robins J.M.* Identifiability, exchangeability, and epidemiological confounding // *Int. J. Epidemiol. Perspect. Innov.* 2009. V. 6. № 4.
<https://doi.org/10.1186/1742-5573-6-4>
 26. *Kaufman J.S., Poole C.* Looking back on “causal thinking in the health sciences” // *Annu. Rev. Public Health.* 2000. V. 21. P. 101–119.
<https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.21.1.101>
 27. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 1. Постановка проблемы, понятие о причинах и причинности, ложные ассоциации // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2019. Т. 59. № 1. С. 1–32. [Kotero A.N. Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 1. Problem statement, conception of causes and causation, false associations // *Radiats. Biol. Radioecol. (Radiation biology. Radioecology, Moscow).* 2019. V. 59. № 1. P. 1–32. (In Russian. Engl. abstr.)]
<https://doi.org/10.1134/S0869803119010065>
 28. *Bae S., Kim H.C., Ye B. et al.* Causal inference in environmental epidemiology // *Environ. Health Toxicol.* 2017. V. 32. Art. e2017015.
<https://doi.org/10.5620/ehp.e2017015>
 29. *Gilbertson M.* Advances in forensic toxicology for establishing causality between Great Lakes epizootics and specific persistent toxic chemicals // *Environ. Toxicol. Chem.* 1997. V. 16. № 9. P. 1771–1778.
<https://doi.org/10.1002/etc.5620160902>
 30. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex H. Combined effects of radiation and other agents. New York, 2000. P. 177–295.
 31. BEIR VII Report 2006. Phase 2. Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation. Committee to Assess Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation. National Research Council. <http://www.nap.edu/catalog/11340.html> (address data 19.05.2019).
 32. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 2. Постулаты Генле–Коха и критерии причинности неинфекци-

- онных патологий до Хилла // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 4. С. 341–375. [Kotero A.N. Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 2. Henle–Koch postulates and criteria for causality of non-communicable pathologies before Hill // Radiats. Biol. Radioecol. (Radiation biology. Radioecology, Moscow). 2019. V. 59. № 4. P. 341–375. (In Russian. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.1134/S0869803119040052>
33. Glynn J.R. A question of attribution // *Lancet*. 1993. V. 342. № 8870. P. 530–532.
 34. Schlesselman J.J. “Proof” of cause and effect in epidemiologic studies: criteria for judgment // *Prev. Med.* 1987. V. 16. № 2. P. 195–210. [https://doi.org/10.1016/0091-7435\(87\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0091-7435(87)90083-1)
 35. Laggiou P., Adami H.O., Trichopoulos D. Causality in cancer epidemiology // *Eur. J. Epidemiol.* 2005. V. 20. № 7. P. 565–574.
 36. Handbook of Epidemiology. 2nd ed. / Eds W. Ahrens, I. Pigeot. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer, 2014. 2498 p.
 37. A Dictionary of Epidemiology / Ed. J.M. Last. Oxford: Oxford University Press, 2001. [Эпидемиологический словарь под редакцией Дж. М. Ласта для Международной эпидемиологической ассоциации: Пер. с англ. / Под ред. В.В. Власова (отв. ред.) и др. М.: Открытый институт здоровья в рамках проекта “Глобус”, 2009. 316 с.]
 38. Fisher R. Cigarettes, cancer, and statistics // *Centennial Rev.* 1958. V. 2. P. 151–166.
 39. Albers M.J. Introduction to Quantitative Data Analysis in the Behavioral and Social Sciences. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017. 219 p. Referenced to site <http://www.tylervigen.com/spurious-correlations>, where the source is named: “Centers for Disease Control & Prevention and Internet Movie Database”.
 40. Levitin D.J. Weaponized Lies: How to Think Critically in the Post-Truth Era. Dutton Books, 2017. 320 p. Also with reference to site <http://www.tylervigen.com/spurious-correlations>. [Левитин Д. Путеводитель по лжи. Критическое мышление в эпоху постправды: Пер. с англ. О. Терентьевой / Науч. ред. Н. Шихова. М.: Манн, Иванов и Фербер, 2018. 272 с.]
 41. Johnson S.R. The trouble with QSAR (or how I learned to stop worrying and embrace fallacy) // *J. Chem. Inf. Model.* 2008. V. 48. P. 25–26. Graph <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ci700332k> (address data 19.05.2019).
 42. Is this association causal? Lecture // Boston University School of Public Health. (According to used sources – not early 2014.) http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/MPH-Modules/Quant-Core/PH717_Causality/PH717_Causality_print.html (address data 19.05.2019).
 43. Wasserstein R., Lazar N.A. The ASA’s statement on *p*-values: context, process, and purpose // *Am. Stat.* 2016. V. 70. № 2. P. 129–133. <https://doi.org/10.1080/00031305.2016.1154108>
 44. Рубанович А.В. Пересмотр критического уровня значимости (0.005 вместо 0.05): Байесовский след // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 5. С. 453–462. [Rubanovich A.V. Redefining the critical value of significance level (0.005 instead of 0.05): the Bayes trace // *Radiats. Biol. Radioecol.* (Radiation biology. Radioecology, Moscow). 2018. V. 58. № 5. P. 453–462. (In Russian. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.1134/S0869803118050156>
 45. Miettinen O.S. Theoretical Epidemiology: Principles of Occurrence Research in Medicine. New York: John Wiley&Sons, 1985. 359 p.
 46. Herbst A.L., Ulfelder H., Poskanzer D.C. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women // *N. Engl. J. Med.* 1971. V. 284. № 15. P. 878–881. <https://doi.org/10.1056/NEJM197104222841604>
 47. Sartwell P.E. “On the methodology of investigations of etiologic factors in chronic diseases”. Further Comments // *J. Chronic Dis.* 1960. V. 11. № 1. P. 61–63. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(60\)90140-5](https://doi.org/10.1016/0021-9681(60)90140-5)
 48. Susser M. Rules of inference in epidemiology // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1986. V. 6. № 2. P. 116–128. [https://doi.org/10.1016/0273-2300\(86\)90029-2](https://doi.org/10.1016/0273-2300(86)90029-2)
 49. Stallones R.A. The association between tobacco smoking and coronary heart disease. Draft Report of June 28 to the Surgeon General’s Advisory Committee on Smoking and Health. University of Minnesota Archives, Leonard M. Schuman Papers, Box 52, “Cardiovascular”. 1963. // *Int. J. Epidemiol.* 2015. V. 44. № 3. P. 735–743. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv124>
 50. Blackburn H., Labarthe D. Stories from the evolution of guidelines for causal inference in epidemiologic associations: 1953–1965 // *Am. J. Epidemiol.* 2012. V. 176. № 12. P. 1071–1077. <https://doi.org/10.1093/aje/kws374>
 51. Hofmann B., Holm S., Iversen J.-G. Philosophy of science // *Research methodology in the medical and biological sciences* / Eds. P. Laake, H.B. Benestad, B.R. Olsen. Amstersam etc.: Academic Press, Elsevier, 2007. P. 1–32.
 52. Guzelian P.S., Victoroff M.S., Halmes N.C. et al. Evidence-based toxicology: a comprehensive framework for causation // *Hum. Exp. Toxicol.* 2005. V. 24. № 4. P. 161–201. <https://doi.org/10.1191/0960327105ht5170a>
 53. Власов В.В. Эпидемиология: Учебное пособие. 2-е изд., испр. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 464 с. [Vlasov V.V. Epidemiology. 2nd ed., revised. Moscow: GEOTAR-Media, 2006. 464 p. (In Russian.)]
 54. Lipton R., Odegaard T. Causal thinking and causal language in epidemiology: it’s in the details // *Epidemiol. Perspect. Innov.* 2005. V. 29. № 2. Art.8. <https://doi.org/10.1186/1742-5573-2-8>
 55. Yerushalmy J., Palmer C.E. On the methodology of investigations of etiologic factors in chronic diseases // *J. Chronic Dis.* 1959. V. 10. № 1. P. 27–40.
 56. United States Department of Health, Education and Welfare (USDHEW). Smoking and Health: Report of the Advisory Committee to the Surgeon General of the Public Health Service Publication № 1103. Washington DC: U.S. Department of Health, Education and Welfare. 1964. 387 p. <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/nnbbmq.pdf> (Address data 19.15.2019).

57. Rothman K.J., Greenland S. Causation and causal inference in epidemiology // *Am. J. Public Health*. 2005. V. 95. Suppl. 1. P. S144–S150. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2004.059204>
58. Rothman K., Greenland S. Hill's Criteria for Causality // *Encyclopedia of Biostatistics*, Online. John Wiley&Sons, Ltd., 2005. 4 p. <https://www.rtihs.org/sites/default/files/26902%20Rothman%201998%20The%20encyclopedia%20of%20biostatistics.pdf> (address data 19.05.2019).
59. Rothman K.J., Greenland S., Poole C., Lash T.L. Causation and Causal Inference // *Modern Epidemiology* / Eds. K.J. Rothman, S. Greenland, T.L. Lash. 3rd ed. Philadelphia (PA): Wolters Kluwer, 2008. P. 5–31.
60. Weed D.L., Gorelic L.S. The practice of causal inference in cancer epidemiology // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 1996. V. 5. № 4. P. 303–311.
61. Weed D.L. On the use of causal criteria // *Int. J. Epidemiol*. 1997. V. 26. № 6. P. 1137–1141. <https://doi.org/10.1093/ije/26.6.1137>
62. Weed D.L. Weight of evidence: a review of concept and methods // *Risk Anal*. 2005 Dec. V. 25. № 6. P. 1545–57. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2005.00699.x>
63. Evans A.S. Causation and disease: a chronological journey. The Thomas Parran Lecture // *Am. J. Epidemiol*. 1978. V. 108. № 4. P. 249–258. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112617>
64. Susser M. The logic of Sir Karl Popper and the practice of epidemiology // *Am. J. Epidemiol*. 1986. V. 124. № 5. P. 711–718. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114446>
65. Phillips C.V., Goodman K.J. Causal criteria and counterfactuals; nothing more (or less) than scientific common sense // *Emerging Themes in Epidemiology*. 2006. V. 3. Art. 5. 7 p. <https://doi.org/10.1186/1742-7622-3-5>
66. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Epidemiological studies of radiation and cancer. United Nations. New York, 2008. P. 17–322.
67. USEPA 1998. Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. EPA/630/R-95/002F. Washington, DC: Risk Assessment Forum, 1998. 188 p.
68. “Врачи-Без-Границ”. Памятная записка оценки достоверности причинно-следственной связи. Версия 1.0, 03-июн-2015. <http://www.endtb.org/sites/default/files/2016-06/RUS-SIAN%20-%20PV-TB-D03%20-%20Causality%20assessment%20Aide%20Memoire.pdf> (дата обращения 19.05.2019). [Doctors Without Borders. Memorandum of an estimation for verification of a causal relationship. Version 1.0, 03 June 2015. (In Russian)] <http://www.endtb.org/sites/default/files/2016-06/RUS-SIAN%20-%20PV-TB-D03%20-%20Causality%20assessment%20Aide%20Memoire.pdf> (address data 19.05.2019).
69. Fletcher R.H., Fletcher S.W., Wagner E.H. Clinical Epidemiology: The Essentials. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1996. Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины: Пер. с англ. М.: Медиа Сфера, 1998. 352 с.
70. Хасанова Г.Р., Назарова О.А., Зорина Л.М., Хакимов Н.М. Эпидемиология: учебно-методическое пособие для студентов, обучающихся по направлению деятельности 34.03.01 “Сестринское дело”. Казань: КГМУ, 2017. 73 с. [Khasanova G.R., Nazarova O.A., Zorina L.M., Khakimov N.M. Epidemiology: a teaching study guide for students enrolled in the direction of activity 34.03.01 “Nursing”. Kazan: KSMU, 2017. 73 p. (In Russian)]
71. Greenhalgh T. The Basics of Evidence Based Medicine. 2nd ed. London, UK. BMJ Books, 2001. [Гринхальх Т. Основы доказательной медицины: Пер. с англ. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 240 с.]
72. Брико Н.И. Эпидемиологический подход к изучению болезней человека и основы доказательной медицины: Лекция. Московская Медицинская Академия им. И.М. Сеченова, 2007. <https://studfiles.net/preview/1350459/page:5/> (дата обращения 19.05.2019). [Briko N.I. Epidemiological approach to the study of human diseases and the basis of Evidence-Based Medicine: Lecture. I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, 2007. (In Russian)] <https://studfiles.net/preview/1350459/page:5/> (Address data 19.05.2019).
73. Gordis L. Epidemiology. 5th ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier Inc., 2014. 392 p.
74. Семеновых Г.К., Новиков С.М., Семеновых Л.Н. Анализ случаев заболеваний, обусловленных действием факторов среды обитания. Характеристика опасности для здоровья: Учеб. пособие. Вып. 4. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2011. 88 с. [Semenovykh G.K., Novikov S.M., Semenyukh L.N. Analysis of cases caused by the action of environmental factors. Characteristics of health hazards: Textbook. Allowance. Issue 4. М.: Publishing House Sechenov First Moscow State Medical University, 2011. 88 p. (In Russian)]
75. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. М.: Медицина, 2004. 576 с. [Carcinogenesis / Ed. D.G. Zaridze. М.: Meditsine, 2004. 576 p. (In Russian)]
76. Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 816 с. [Pokrovsky V.I., Pak S.G., Briko N.I., Danilkin B.K. Infectious Diseases and Epidemiology: Textbook for High Schools. 2nd ed. М.: GEOTAR-Media; 2007 (in Russian)]
77. Coughlin S.S. Causal Inference and Scientific Paradigms in Epidemiology. Bentham E-book. 2010. <https://doi.org/10.2174/97816080518161100101>. <https://ebooks.benthamsience.com/book/9781608051816/> (Address data 19.05.2019).
78. Hofler M. The Bradford Hill considerations on causality: a counterfactual perspective // *Emerging Themes in Epidemiology*. 2005. V. 2. №. 11. 9 p. <https://doi.org/10.1186/1742-7622-2-11>
79. Thygesen L.C., Andersen G.S., Andersen H. A philosophical analysis of the Hill criteria // *J. Epidemiol. Commun. Health*. 2005. V. 59. № 6. P. 512–516. <https://doi.org/10.1136/jech.2004.027524>

80. *Gori G.B.* Epidemiologic evidence in public and legal policy: reality or metaphor? *Critical Legal Issues*. Washington: Washington Legal Foundation, Working Paper Series № 124, 2004. 33 p.
81. *Salmon W.* Scientific Explanation and the Causal Structure of the World. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1984. 321 p.
82. *Dowe P.* Process causality and asymmetry // *Erkenntnis*. 1992. V. 37. № 2. P. 179–196. <https://doi.org/10.1007/BF00209321>
83. *Eddington A.S.* The Nature of the Physical World. New York: Macmillan, 1928. 361 p.
84. *Mineka S., Watson D., Clark L.A.* Comorbidity of anxiety and unipolar mood disorders // *Annu. Rev. Psychol.* 1998. V. 49. P. 377–412. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.49.1.377>
85. *Privitera G.J.* Statistics for the Behavioral Sciences. 2nd ed. Los Angeles, London, New Delhi, Singapore, Washington: DC SAGE Publications, 2015. 724 p.
86. *Aschengrau A., Seage G.R., III.* Epidemiology in Public Health. 3rd ed. Burlington: Jones & Bartlett Learning, LLC, 2014. 596 p.
87. *Goodman S.N., Samet J.M.* Cause and Cancer Epidemiology // In: ‘Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention’. 4th ed. / Eds M.J. Thun, M.S. Linet, J.R. Cerhan, C. Haiman, D. Schottenfeld. New York: Oxford University Press. Printed by Sheridan Books, Inc., USA, 2018. P. 97–104.
88. *Bonita R., Beaglehole R., Kjellstrom T.* Basic epidemiology. 2nd ed. World Health Organization, 2006. 212 p.
89. *Jorgensen T.J.* Strange Glow. The Story of Radiation. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2016. 490 p.
90. *Swaen G., van Amelsvoort L.* A weight of evidence approach to causal inference // *J. Clin. Epidemiol.* 2009. V. 62. № 3. P. 270–277. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2008.06.013>
91. European Environment Agency 2003. A framework for evaluating complex scientific evidence on environmental factors in disease causation: a background paper from the European Environment Agency for the EU Environment and Health Strategy, 2003. http://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/18902/Frameworks_for_environmental_assessment_and_in.pdf?sequence=1&isAllowed=y (address data 19.05.2019).
92. *Rothman K.J.* Induction and latent periods // *Am. J. Epidemiol.* 1981. V. 114. № 2. P. 253–259. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113189>
93. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex G. Biological effects at low radiation doses. New York, 2000. P. 73–175.
94. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex J. Exposures and effects of the Chernobyl accident. New York, 2000. P. 451–566.
95. *Prisyazhiuk A., Pjatak O.A., Buzanov V.A. et al.* Cancer in the Ukraine, post-Chernobyl // *Lancet*. 1991. V. 338. № 8778. P. 1334–1335. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:014067369192632C>
96. *Париков Е.М.* Анализ заболеваемости населения раком щитовидной железы // *Лушников Е.Ф., Цыб А.Ф., Ямасита С.* Рак щитовидной железы в России после Чернобыля. М.: ОАО “Изд-во Медицина”, 2006. С. 36–59. [*Parshkov E.M.* Analysis of thyroid cancer morbidity // *Lushnikov E.F., Tsyb A.F., Yamashita S.* Thyroid cancer in Russia after Chernobyl. M.: Meditsina, 2006. P. 36–59. (in Russian with English summary.)]
97. *Ron E., Lubin J.H., Shore R.E. et al.* Thyroid cancer after exposure to external radiation: a pooled analysis of seven studies // *Radiat. Res.* 1995. V. 141. № 3. P. 259–277. <https://doi.org/10.2307/3579003>
98. *Friis R.H., Sellers T.A.* Epidemiology for Public Health Practice. 5th ed. Burlington: Jones & Bartlett Learning, 2014. 804 p.
99. USEPA 2002. A Review of the Reference Dose and Reference Concentration Processes. EPA/630/P-02/002F. Final Report. Washington, DC: Risk Assessment Forum. National Center for Environmental Assessment Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency, 2002. 192 p.
100. UNSCEAR 1977. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex G. Radiation carcinogenesis in man. New York, 1977. P. 361–423.
101. UNSCEAR 1977. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex I. Experimental radiation carcinogenesis. New York, 1977. P. 565–654.
102. *Laskin W.B., Silverman T.A., Enzinger F.M.* Postradiation soft tissue sarcomas: an analysis of 53 cases // *Cancer*. 1988. V. 62. P. 2330–2340. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19881201\)62:11<2330::AID-CNCR2820621113>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19881201)62:11<2330::AID-CNCR2820621113>3.0.CO;2-2)
103. *Raabe O.G., Culbertson M.R., White R.G. et al.* Lifetime radiation effects in beagles injected with ²²⁶Ra as young adults // *Health Effects of Internally Deposited Radionuclides: Emphasis on Radium and Thorium* / Eds G. Van Kaick, A. Karaoglou, A.M. Kellerer. Singapore: World Scientific, 1995. P. 313–318.
104. *Mettler F.A., Upton A.C.* Medical Effects of Ionizing Radiations. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. 430 p.
105. Радиационная медицина / Под общ. ред. акад. РАМН Л.А. Ильина. В четырех томах. Т. I. Теоретические основы радиационной медицины. М.: Изд. АТ. 2004. 992 с. [Radiation Medicine / Ed. L.A. Il'yin. In four volumes. V. 1. Theoretical Foundations of Radiation Medicine. M.: Izd. AT., 2004. 992 p. (In Russian)]
106. UNSCEAR 2000. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex I. Epidemiological evaluation of radiation-induced cancer. United Nations. New York, 2000. P. 297–450.
107. *Paulino A.C., Ahmed I.M., Mai W.Y., Teh B.S.* The influence of pretreatment characteristics and radiotherapy parameters on time interval to development of radiation-associated meningioma // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009. V. 75. P. 1408–1414. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2009.01.052>
108. IAEA 1996. Methods for estimating the probability of cancer from occupational radiation exposure. IAEA-TECDOC-870. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1996. 55 p.
109. *Malko M.M.* Chernobyl radiation-induced thyroid cancers in Belarus. Recent Research Activities about

- the Chernobyl NPP Accident in Belarus, Ukraine and Russia. Research Reactor Institute, Kyoto University, 2002. P. 240–255.
<https://pdfs.semanticscholar.org/d4f9/120330add3ad1dcb31e55a260ba157a4-da6e.pdf> (address data 19.05.2019).
110. *Москалев Ю.И.* Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений. М.: Медицина, 1991. 464 с. [*Moskalev Yu. I.* The Remote Sequelae of Radiation Effect. M.: Meditsina, 1991. 464 p. (In Russian)]
 111. Medical Management of Radiation Accidents. 2nd ed. / Eds I.A. Gusev, A.K. Guskova, F.A. Mettler, Jr. London, New York, Washington, D.C. Boca Raton: CRC Press, 2001. 611 p.
 112. ICRP Publication 103. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Annals of the ICRP / Ed. J. Valentin. Amsterdam–New York: Elsevier, 2007. 329 p.
 113. ICRP Publication 118. ICRP Statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs – threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. Annals of the ICRP / Ed. C.H. Clement. Amsterdam–New York: Elsevier, 2012. 325 p.
 114. *Merrill R.M., Frankenfeld C.L., Freeborne N., Mink M.* Behavioral Epidemiology. Principles and Applications. Burlington: Jones&Bartlett Learning, LLC, 2016. 298 p.
 115. *Kestenbaum B.* Epidemiology and Biostatistics. An Introduction to Clinical Research. 2nd ed. / Eds N.S. Weiss, A. Shoben. Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2019. 277 p.
 116. *Doll R., Hill A.B.* The mortality of doctors in relation to their smoking habits; a preliminary report // *Br. Med. J.* 1954. V. 1. № 4877. P. 1451–1455.
<https://doi.org/10.1136/bmj.1.4877.1451>
 117. *Weed D.L.* Causation: an epidemiologic perspective (in five parts) // *J. Low&Policy.* 2003. V. 12. № 1. P. 43–53.
<http://brooklynworks.brooklaw.edu/jlp/vol12/iss1/3> (address data 19.05.2019).
 118. *Bromham L.* Testing hypotheses in macroevolution // *Stud. Hist. Philos. Sci.* 2016. V. 55. P. 47–59.
<https://doi.org/10.1016/j.shpsa.2015.08.013>
 119. *Ioannidis J.P., Boffetta P., Little J. et al.* Assessment of cumulative evidence on genetic associations: interim guidelines // *Int. J. Epidemiol.* 2008. V. 37. P. 120–132.
<https://doi.org/10.1093/ije/dym159>
 120. *Szklo M., Nieto F.J.* Epidemiology. Beyond the Basics. 4th ed. Burlington: Jones&Bartlett Learning, 2019. 577 p.
 121. *Aragon P., Sanchez-Fernandez D., Abellan P., Varela S.* Effects of temporal bias on the assessment of an ecological perturbation: a case study of the Prestige oil spill // *Environ. Res. Lett.* 2015. V. 10. Article 094006.
 122. *Grobot L., Van Wassenhove V.* Time order as psychological bias // *Psychol. Sci.* 2017. V. 28. № 5. P. 670–678. Epub. 2017 Mar 24.
<https://doi.org/10.1177/0956797616689369>
 123. *Hiwatashi N., Yao T., Watanabe H. et al.* Long-term follow-up study of ulcerative colitis in Japan // *J. Gastroenterol.* 1995. V. 30. Suppl. 8. P. 13–16.
 124. *Van den Bosch C., Lloyd G.* Chikungunya fever as a risk factor for endemic Burkitt’s lymphoma in Malawi // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2000. V. 94. № 6. P. 704–705.
[https://doi.org/10.1016/s0035-9203\(00\)90240-2](https://doi.org/10.1016/s0035-9203(00)90240-2)
 125. *Turaga K.K., Sugimoto J.T., Forse R.A.* A meta-analysis of randomized controlled trials in critically ill patients to evaluate the dose-response effect of erythropoietin // *J. Intensive Care Med.* 2007. V. 22. № 5. P. 270–282.
<https://doi.org/10.1177/0885066607304437>
 126. *Nomura S., Hosoya N., Brumme Z.L. et al.* Significant reductions in Gag-protease-mediated HIV-1 replication capacity during the course of the epidemic in Japan // *J. Virol.* 2013. V. 87. № 3. P. 1465–1476.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02122-12>
 127. *McKillop M., Polubriaginof F., Weng C.* Exploration of Temporal ICD Coding Bias Related to Acute Diabetic Conditions // *AMIA Annu. Symp. Proc.* 2015. V. 2005-14. eCollection 2015.
 128. Epidemiology Glossary. Columbia University Digital Government Research Center. <http://www.cs.columbia.edu/digigov/LEXING/CDCEPI/gloss.html> (address data 19.05.2019).
 129. *Blossfeld H.-P.* Causal inference based on observational studies. An application example of the opportunities and limitations of event history data // *Workshop on Longitudinal Research in Social Science. A Canadian Focus, Windermere Manor, London Ontario, Canada, October 25–27, 1999.* 21 p.
 130. *Webb P., Bain C.* Essential Epidemiology. An Introduction for Students and Health Professionals. 2nd ed. Cambridge etc.: Cambridge University Press, 2011. 445 p.
 131. UNSCEAR 2012. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Attributing health effects to ionizing radiation exposure and inferring risks. New York, 2015. 86 p.
 132. UNSCEAR 2013. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Vol. II. Annex B. Effects of radiation exposure of children. New York, 2013. P. 1–268.
 133. *Gage S.H., Munafò M.R., Davey Smith G.* Causal inference in developmental origins of health and disease (DOHaD) research // *Annu. Rev. Psychol.* 2016. V. 67. P. 567–585.
<https://doi.org/10.1146/annurev-psych-122414-033352>
 134. Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention. 4th ed. / Eds M.J. Thun, M.S. Linet, J.R. Cerhan et al. New York: Oxford University Press. Printed by Sheridan Books, Inc., USA, 2018. 1308 p.
 135. *Kennedy J.* Studies in nutrition, lifestyle, and health often refer to reverse causation. What is reverse causation? // *Pritikin Longevity Center + Spa. Disease Prevention.* 2018. <https://www.pritikin.com/what-is-reverse-causation> (only from West countries; address data 19.05.2019).
 136. Epidemiology: Principles and Practical Guidelines / Eds J. Van den Broeck, J.R. Brestoff. Dordrecht: Springer, 2013. 621 p.
 137. *LaMorte W.W.* Residual Confounding, Confounding by Indication, & Reverse Causality // *Boston University School of Public Health.* 2016.

- http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/MPH-Modules/BS/BS704-EP713_Confounding-EM/BS704-EP713_Confounding-EM4.html (address data 19.05.2019).
138. *Coope J.* Hypertension: the cause of the J-curve // *J. Hum. Hypertens.* 1990. V. 4. № 1. P. 1–4.
 139. *Ernhart C.B., Morrow-Tlucak M., Marler M.R., Wolf A.W.* Low level lead exposure in the prenatal and early pre-school periods: early preschool development // *Neurotoxicol. Teratol.* 1987. V. 9. № 3. P. 259–270. [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(89\)90055-X](https://doi.org/10.1016/0892-0362(89)90055-X)
 140. *Joseph K.S., Mehrabadi A., Lisonkova S.* Confounding by Indication and related concepts // *Curr. Epidemiol. Rep.* 2014. V. 1. № 1. P. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s40471-013-0004-y>
 141. *Faillie J.L.* Indication bias or protopathic bias? // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2015. V. 80. № 4. P. 779–780. <https://doi.org/10.1111/bcp.12705>
 142. *Friis S.* Epidemiology. Bias and confounding. Institut for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse 2011. <http://publicifsv.sund.ku.dk/~pka/epiE11/Bias-conf-SF.pdf> (address data 19.05.2019).
 143. *Pharmacoepidemiology.* 3rd ed. / Ed. B.L. Strom. Baffins Lane, Chichester, West Sussex: John Wiley&Sons Ltd, 2000. 858 p.
 144. *Feinstein A.R.* Clinical epidemiology: The architecture of clinical research. Philadelphia etc., W.B. Saunders Company, 1985. 812 p.
 145. *Horwitz R.I., Feinstein A.R.* The problem of ‘protopathic bias’ in case-control studies // *Am. J. Med.* 1980. V. 68. № 2. P. 255–258.
 146. *Walker A.M.* Confounding by indication // *Epidemiology.* 1996. V. 7. № 4. P. 335–336.
 147. *Boice J.D. Jr.* Radiation epidemiology and recent paediatric computed tomography studies // *Ann. ICRP.* 2015. V. 44. № 1. Suppl. P. 236–248. <https://doi.org/10.1177/0146645315575877>
 148. *Meulepas J.M., Ronckers C.M., Merks J. et al.* Confounding of the association between radiation exposure from CT scans and risk of leukemia and brain tumors by cancer susceptibility syndromes // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2016. V. 25. № 1. P. 114–126. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-0636>
 149. *Salas M., Hofman A., Stricker B.H.* Confounding by indication: an example of variation in the use of epidemiologic terminology // *Am. J. Epidemiol.* 1999. V. 149. № 11. P. 981–983. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009758>
 150. *Kummeling I., Thijs C.* Reverse causation and confounding-by-indication: do they or do they not explain the association between childhood antibiotic treatment and subsequent development of respiratory illness? // *Clin. Exp. Allergy.* 2008. V. 38. № 8. P. 1249–1251. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.03047.x>
 151. *Clinical Epidemiology. Practice and Methods.* 2nd ed. / Eds P.S. Parfrey, B.J. Barrett. New York: Humana Press (brand of Springer), 2015. 533 p.
 152. *Miettinen O.S.* Efficacy of therapeutic practice: will epidemiology provide the answers? // *Drug Therapeutics: Concepts for Physicians* / Ed. K.L. Melmon. New York, Elsevier, North Holland, 1980. P. 201–208.
 153. *Miettinen O.S., Cook E.F.* Confounding: essence and detection // *Am. J. Epidemiol.* 1981. V. 114. № 4. P. 593–603. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113225>
 154. *Miettinen O.S.* The need for randomization in the study of intended effects // *Stat. Med.* 1983. V. 2. № 2. P. 267–271. <https://doi.org/10.1002/sim.4780020222>
 155. *Greenland S., Neutra R.* Control of confounding in the assessment of medical technology // *Int. J. Epidemiol.* 1980. V. 9. № 4. P. 361–367. <https://doi.org/10.1093/ije/9.4.361>
 156. *Shapiro S.* The role of automated record linkage in the postmarketing surveillance of drug safety: a critique // *Clin. Pharmacol. Ther.* 1989. V. 46. № 4. P. 371–386. <https://doi.org/10.1038/clpt.1989.154>
 157. *Teaching Epidemiology. A Guide for Teachers in Epidemiology, Public Health, and Clinical Medicine.* 4th ed. / Eds J. Olsen, N. Greene, R. Saracci, D. Trichopoulos. New York: Oxford University Press, 2015. 555 p.
 158. *Pazaitou-Panayiotou K., Michalakis K., Paschke R.* Thyroid cancer in patients with hyperthyroidism // *Horm. Metab. Res.* 2012. V. 44. № 4. P. 255–262. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299741>
 159. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бирюков А.П.* Внутренняя противоречивость данных об индукции раков щитовидной железы после радиойодной терапии не отменяет предположения об отсутствии радиационной обусловленности // Тез. докл. междунар. конф. “Радиобиологические основы лучевой терапии”. Обнинск: МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ “НМИРЦ” Минздрава России, 2017. С. 29–30. [*Kotero A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P.* The internal inconsistency of data on thyroid cancer induction after radioiodine therapy does not cancel the assumption that there is no radiation causality // *Abstr. of Int. conf. “Radiobiological basis of radiation therapy”*. Obninsk: A. Tsyb Medical Radiological Research Center, 2017. P. 29–30. (In Russian)]
 160. *Pijpe A., Andrieu N., Easton D.F. et al.* Exposure to diagnostic radiation and risk of breast cancer among carriers of BRCA1/2 mutations: retrospective cohort study (GENE-RAD-RISK) // *Br. Med. J.* 2012. V. 345. Art. e5660. <https://doi.org/10.1136/bmj.e5660>
 161. *O'Donnell T.V., Sears M.R., Rea H.H.* Fenoterol and fatal asthma // *Lancet.* 1989. V. 2. № 8653. P. 45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.1994.tb00970.x>
 162. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бирюков А.П., Самойлов А.С.* Вопрос о наступлении “Новой эры” в эпидемиологии малых доз радиации (обзор) // Саратовский науч.-мед. журн. 2016. Т. 12. № 4. С. 654–662. [*Kotero A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P., Samoilov A.S.* The question of a ‘New Era in the Low Dose Radiation Epidemiology’ approach (Review) // *Saratov J. Med. Sci. Res.* 2016. V. 12. № 4. P. 654–662. (In Russian. Engl. abstr.)]
 163. *Mathews J.D., Forsythe A.V., Brady Z. et al.* Cancer risk in 680,000 people exposed to computed tomography scans in childhood or adolescence: data linkage study of 11 million Australians // *Br. Med. J.* 2013. V. 346.

- Art. f2360.
<https://doi.org/10.1136/bmj.f2360>
164. *Pearce M.S., Salotti J.A., Little M.P. et al.* Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study // *Lancet*. 2012. V. 380. № 9840. P. 499–505.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60815-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60815-0)
165. *Nikkila A., Raitanen J., Lohi O., Auvinen A.* Radiation exposure from computerized tomography and risk of childhood leukemia: Finnish register-based case-control study of childhood leukemia (FRECCLE) // *Haematologica*. 2018. V. 103. № 11. P. 1873–1880.
<https://doi.org/10.3324/haematol.2018.187716>
166. *Siegel M., Negussie Y., Vanture S. et al.* The relationship between gun ownership and stranger and nonstranger firearm homicide rates in the United States, 1981–2010 // *Am. J. Public Health*. 2014. V. 104. P. 1912–1919.).
<https://doi.org/10.2105/AJPH.2014.302042>
167. *Hemenway D.* Private Guns. Public Health. University of Michigan Press, 2017. 366 p.
168. *Bharadwaj P.* Causal inference and selection bias // Presentation on “TAF-CEGA Impact evaluation workshop”. University of California, San Diego, March 23rd, 2010.
http://cega.berkeley.edu/assets/cega_learning_materials/71/CausalInference_CausalInference_and_Selection_Bias_Bharadwaj_100323.pdf (address data 19.05.2019).
169. *Koutmeridis T.* Identifying causal effects // Presentation on Interdisciplinary PhD Workshop “Behaviour, Structure & Interventions research network”. University of Glasgow&CREAtE RCUK Centre for Copyright&New Business Models in the Creative Economy21, 2016.
https://www.gla.ac.uk/media/media_453017_en.pdf (address data 19.05.2019).
170. *Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science*. V. 1 / Eds B.S. Everit, D.C. Howell. Chichester: John Wiley&Sons, Ltd, 2005. 2990 p.
171. *Werner S., Malaspina D., Rabinowitz J.* Socioeconomic status at birth is associated with risk of schizophrenia: population-based multilevel study // *Schizophrenia Bulletin*. 2007. V. 33. № 6. P. 1373–1378.
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbm032>
172. *Booth H., Rioseco P., Crawford H.* What can reverse causation tell us about demographic differences in the social network and social support determinants of self-rated health in later life? // *Vienna Yearbook of Population Research*. 2014. V. 12. P. 23–51.
<https://doi.org/10.1553/populationyearbook2014s23>
173. *Taylor M., Rode L., Bjorngaard J. et al.* Is smoking heaviness causally associated with alcohol use? A Mendelian randomization study in four European cohorts // *Int. J. Epidemiol.* 2018. V. 47. № 4. P. 1098–1105.
<https://doi.org/10.1093/ije/dyy027>
174. *Liang W., Chikritzhs T.* Observational research on alcohol use and chronic disease outcome: new approaches to counter biases // *Sci. World J.* 2013. Art. ID 860915. 14 p.
<https://doi.org/10.1155/2013/860915>
175. *Stokes A., Preston S.H.* Smoking and reverse causation create an obesity paradox in cardiovascular disease // *Obesity*. 2015. V. 23. P. 2485–2490.
<https://doi.org/10.1002/oby.21239>
176. *Roser K., Schoeni A., Roosli M.* Mobile phone use, behavioural problems and concentration capacity in adolescents: A prospective study // *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2016. V. 219. № 8. P. 759–769.
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.08.007>
177. *Brunekreef B., Groot B., Hoek G.* Pets, allergy and respiratory symptoms in children // *Int. J. Epidemiol.* 1992. V. 21. № 2. P. 338–342.
<https://doi.org/10.1093/ije/21.2.338>
178. *Стасевич К.* Домашние животные против аллергии // Наука и жизнь. Новости науки и техники. 28.12.2018. <https://www.nkj.ru/news/35231/> (дата обращения 22.05.2019). [*Stasevich K.* Pets against allergies // *Science and Life. News of science and technology*. 28.12.2018. (In Russian)] <https://www.nkj.ru/news/35231/> (address data 22.05.2019).
179. *Hesselmar B., Hicke-Roberts A., Lundell A.C. et al.* Pet-keeping in early life reduces the risk of allergy in a dose-dependent fashion // *PLoS One*. 2018. V. 13. № 12. Article e0208472. DOI: . eCollection 2018.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208472>
180. *Psaty B.M., Koepsell T.D., Lin D. et al.* Assessment and control for confounding by indication in observational studies // *J. Am. Geriatr. Soc.* 1999. V. 47. № 6. P. 749–754.
<https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1999.tb01603.x>
181. *Ward H., Toledano M.B., Shaddick G., Davies B. Elliott P.* Oxford Handbook of Epidemiology for Clinicians. Oxford: Oxford University Press, 2012. 388.
182. *Mandil A.* Causal Inference in Epidemiology. Lecture Presentation // High Institute of Public Health. University of Alexandria (as sources list – not earlier than 2008). <https://ru.scribd.com/doc/306778054/Causal-Inference-in-Epidemiology>; presentation: www.pitt.edu/~super4/33011-34001/33971.ppt (address data 21.05.2019).
183. *Alexander L.K., Lopes B., Ricchetti-Masterson K., Yeatts K.B.* Causality // *Epidemiologic Research and Information Center (ERIC) Notebook*. 2nd ed. UNC Gillings School of Global Public Health, 2015. 5 p.
https://sph.unc.edu/files/2015/07/nciph_ERIC15.pdf (address data 21.05.2019).
184. *Krul I.M., Opstal-van Winden A.W.J., Zijlstra J.M. et al.* Rationale and design of a cohort study on primary ovarian insufficiency in female survivors of Hodgkin’s lymphoma: influence on long-term adverse effects (SOPHIA) // *Br. Med. J. Open*. 2018. V. 8. № 9. Article e018120. 14 p.
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018120>
185. *Flegal K.M., Graubard B.I., Williamson D.F., Cooper R.S.* Reverse causation and illness-related weight loss in observational studies of body weight and mortality // *Am. J. Epidemiol.* 2011. V. 173. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1093/aje/kwq341>
186. *Hammond E.C., Horn D.* Smoking and death rates: report on forty-four months of follow-up of 187,783 men. 2. Death rates by cause // *J. Am. Med. Assoc.*

1958. V. 166. № 10. P. 1294–1308.
<https://doi.org/10.1001/jama.1958.02990110030007>
187. *Mahale P., Yanik E.L., Engels E.A.* Herpes zoster and risk of cancer in the elderly US population // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016. V. 25. № 1. P. 28–35.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-1033>
188. *Schwartzbaum J., Edlinger M., Zigmont V. et al.* Associations between prediagnostic blood glucose levels, diabetes, and glioma // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. Article 1436.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01553-2>
189. *Howell A.E., Zheng J., Haycock P.C. et al.* Use of mendelian randomization for identifying risk factors for brain tumors // *Front Genet.* 2018. V. 9. Article 525. eCollection.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00525>
190. *Chlebowski R.T.* Vitamin D and breast cancer incidence and outcome // *Anticancer Agents Med. Chem.* 2013. V. 13. № 1. P. 98–106.
<https://doi.org/10.2174/1871520611307010098>
191. *Bhatti P., Sigurdson A.J., Thomas C.B. et al.* No evidence for differences in DNA damage assessed before and after a cancer diagnosis // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008. V. 17. № 4. P. 990–994.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-2871>
192. ICRP Publication 99. Low-dose Extrapolation of Radiation-related Cancer Risk. *Annals of the ICRP* / Ed. J. Valentin. Amsterdam–New-York: Elsevier, 2006. 147 p.
193. *Dickman P.W., Holm L.E., Lundell G. et al.* Thyroid cancer risk after thyroid examination with ¹³¹I: a population-based cohort study in Sweden // *Int. J. Cancer.* 2003. V. 106. № 4. P. 580–587.
<https://doi.org/10.1002/ijc.11258>
194. *Travis L.B., Hauptmann M., Gaul L.K. et al.* Site-specific cancer incidence and mortality after cerebral angiography with radioactive Thorotrast // *Radiat. Res.* 2003. V. 160. № 6. P. 691–706.
<https://doi.org/10.1667/RR3095>
195. *Dos Santos Silva I., Malveiro F., Jones M.E. et al.* Mortality after radiological investigation with radioactive Thorotrast: a follow-up study of up to fifty years in Portugal // *Radiat. Res.* 2003. V. 159. № 4. P. 521–534.
[https://doi.org/10.1667/0033-7587\(2003\)159\[0521:MARI-WR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1667/0033-7587(2003)159[0521:MARI-WR]2.0.CO;2)
196. *Claus E.B., Calvocoressi L., Bondy M.L. et al.* Dental x-rays and risk of meningioma // *Cancer* 2012. V. 118. № 18. 4530–4537.
<https://doi.org/10.1002/cncr.26625>
197. *Hallquist A., Jansson P.* Self-reported diagnostic X-ray investigation and data from medical records in case-control studies on thyroid cancer: evidence of recall bias? // *Eur. J. Cancer Prev.* 2005. V. 14. № 3. P. 271–276.
<https://doi.org/10.1097/00008469-200506000-00012>
198. *White S.C., Hildebolt C.F., Lurie A.G.* Dental X-rays and risk of meningioma // *Cancer.* 2013. V. 119. № 2. P. 464.
<https://doi.org/10.1002/cncr.27709>
199. *Seifert H., Blass G., Leetz H.K., Voges M.* The radiation exposure of the patient from stable-xenon computed tomography // *Br. J. Radiol.* 1995. V. 68. № 807. P. 301–305.
<https://doi.org/10.1259/0007-1285-68-807-301>
200. *Balonov M.I., Shrimpton P.C.* Effective dose and risks from medical X-ray procedures // *Ann ICRP.* 2012. V. 41. № 3–4. P. 129–141.
<https://doi.org/10.1016/j.icrp.2012.06.002>
201. *Хоружик С.А., Леусик Е.А.* Повторные компьютернотомографические исследования: Дозы облучения и радиационный риск при злокачественных лимфомах // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014. Т. 54. № 5. С. 466–473. [*Kharuzhyk S.A., Leusik E.A.* Repeated computed tomography examinations: Radiation dose and radiation risk in malignant lymphomas // *Radiats. Biol. Radioecol. (Radiation biology. Radioecology, Moscow).* 2018. V. 58. № 5. P. 453–462. (In Russian. Engl. abstr. PubMed.)]
<https://doi.org/10.7868/S0869803114050075>
202. *Ivanov V.K., Kashcheev V.V., Chekin S.Y. et al.* Estimation of risk from medical radiation exposure based on effective and organ dose: how much difference is there? // *Radiat. Prot. Dosimetry.* 2013. V. 155. № 3. P. 317–328.
<https://doi.org/10.1093/rpd/nct008>
203. *Kashcheev V.V., Pryakhin E.A., Menyaylo A.N.* Comparing risk estimates following diagnostic CT radiation exposures employing different methodological approaches // *Health Phys.* 2014. V. 106. № 6. P. 806–811.
<https://doi.org/10.1097/HP.0000000000000096>
204. *Brenner D.J., Elliston C.D.* Estimated radiation risks potentially associated with full-body CT screening // *Radiology.* 2004. V. 232. P. 735–738.
<https://doi.org/10.1148/radiol.2323031095>
205. *Zondervan R.L.I., Hahn P.F., Sadow C.A.* Body CT scanning in young adults: examination indications, patient outcomes, and risk of radiation-induced cancer // *Radiology.* 2013. V. 267. № 2. P. 460–469.
<https://doi.org/10.1148/radiol.12121324>
206. *Hikino K., Yamamoto L.G.* The benefit of neck computed tomography compared with its harm (risk of cancer) // *J. Trauma Acute Care Surg.* 2015. V. 78. № 1. P. 126–131.
<https://doi.org/10.1097/TA.0000000000000465>
207. *Berrington de Gonzalez A., Salotti J.A., McHugh K. et al.* Relationship between paediatric CT scans and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: assessment of the impact of underlying conditions // *Br. J. Cancer.* 2016. V. 114. № 4. P. 388–394.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2015.415>
208. *Berrington de Gonzalez A., Journy N., Lee C. et al.* No association between radiation dose from pediatric CT scans and risk of subsequent Hodgkin lymphoma // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2017. V. 26. № 5. P. 804–806.
<https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-16-1011>
209. *Huang W.Y., Muo C.H., Lin C.Y. et al.* Paediatric head CT scan and subsequent risk of malignancy and benign brain tumour: a nation-wide population-based cohort study // *Br. J. Cancer.* 2014. V. 110. № 9. P. 2354–2360.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2014.103>
210. *Su Y.P., Niu H.W., Chen J.B. et al.* Radiation dose in the thyroid and the thyroid cancer risk attributable to CT scans for pediatric patients in one general hospital of China // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2014. V. 11. № 3. P. 2793–2803.
<https://doi.org/10.3390/ijerph110302793>

211. *White I.K., Shaikh K.A., Moore R.J. et al.* Risk of radiation-induced malignancies from CT scanning in children who underwent shunt treatment before 6 years of age: a retrospective cohort study with a minimum 10-year follow-up // *J. Neurosurg. Pediatr.* 2014. V. 13. № 5. P. 514–519.
<https://doi.org/10.3171/2014.2.PEDS12508>
212. *Behnampour N., Hajizadeh E., Zayeri F., Semnani S.* Modeling of influential predictors of gastric cancer incidence // *Asian Pacific J. Cancer Prevention.* 2014. V. 15. P. 1111–1117.
213. *Journy N., Rehel J.L., Ducou Le Pointe H. et al.* Are the studies on cancer risk from CT scans biased by indication? Elements of answer from a large-scale cohort study in France // *Br. J. Cancer.* 2015. V. 112. № 1. P. 185–193.
<https://doi.org/10.1038/bjc.2014.526>
214. *Krille L., Dreger S., Schindel R. et al.* Risk of cancer incidence before the age of 15 years after exposure to ionising radiation from computed tomography: results from a German cohort study // *Radiat. Environ. Biophys.* 2015. V. 54. № 1. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1007/s00411-014-0580-3>
215. *Meulepas J.M., Ronckers C.M., Smets A.M.J.B. et al.* Radiation Exposure From Pediatric CT Scans and Subsequent Cancer Risk in the Netherlands // *J. Natl. Cancer Inst.* 2019. V. 111. № 3. P. 256–263.
<https://doi.org/10.1093/jnci/djy104>
216. *Oh J.S., Koea J.B.* Radiation risks associated with serial imaging in colorectal cancer patients: Should we worry? // *World J. Gastroenterol.* 2014. V. 20. № 1. P. 100–109.
<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i1.100>
217. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH). Radiation Emissions from Computed Tomography: A Review of the Risk of Cancer and Guidelines. Rapid response report. 04 June 2014. 25 p.
<https://www.cadth.ca/sites/default/files/pdf/htis/jul-2014/RC0558%20CT%20Radiation%20Emission%20Final.pdf> (address data 27.05.2019).
218. *Storrs C.* Do CT scans cause cancer? // *Sci. Am.* 2013. V. 309. № 1. P. 30–32.
<https://doi.org/10.1038/scientificamerican0713-30>
219. *Albert J.M.* Radiation risk from CT: implications for cancer screening // *AJR Am. J. Roentgenol.* 2013. V. 201. № 1. P. W81–W87.
<https://doi.org/10.2214/AJR.12.9226>
220. *Chen J.X., Kachniarz B., Gilani S., Shin J.J.* Risk of malignancy associated with head and neck CT in children: a systematic review // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2014. V. 151. № 4. P. 554–566.
<https://doi.org/10.1177/0194599814542588>
221. *Walsh L., Shore R., Auvinen A. et al.* Risks from CT scans – what do recent studies tell us? // *J. Radiol. Prot.* 2014. V. 34. № 1. P. E1–E5.
<https://doi.org/10.1088/0952-4746/34/1/E1>
222. *Doss M.* Radiation doses from radiological imaging do not increase the risk of cancer // *Br. J. Radiol.* 2014. V. 87. № 1036. Art. 20140085.
<https://doi.org/10.1259/bjr.20140085>
223. *Socol Y., Welsh J.S.* Regarding the Credibility of Data Showing an Alleged Association of Cancer with Radiation from CT Scans // *Technol. Cancer Res. Treat.* 2016. V. 15. № 1. P. 159–162.
<https://doi.org/10.1177/1533034614566923>
224. *Sheppard J.P., Nguyen T., Alkhalid Y. et al.* Risk of brain tumor induction from pediatric head CT procedures: a systematic literature review // *Brain Tumor Res. Treat.* 2018. V. 6. № 1. P. 1–7.
<https://doi.org/10.14791/btrt.2018.6.e4>
225. NCRP 2012. Uncertainties in the estimation of radiation risks and probability of disease causation. NCRP Report 171. National Council on Radiation Protection and Measurements, Bethesda, MD. 2012.
<https://ncrponline.org/shop/reports/report-no-171-uncertainties-in-the-estimation-of-radiation-risks-and-probability-of-disease-causation/> (address data 27.05.2019).
226. *Smoll N.R., Brady Z., Scurrah K., Mathews J.D.* Exposure to ionizing radiation and brain cancer incidence: The Life Span Study cohort // *Cancer Epidemiol.* 2016. V. 42. P. 60–65.
<https://doi.org/10.1016/j.canep.2016.03.006>
227. *Mathews J.* Cancer risks following diagnostic CT scans are not explained by reverse causation artifact. Presentation // Victorian Centre for Biostatistics. Seminar. 26th March 2015.
<http://www.vicbiostat.org.au/cancer-risks-following-diagnostic-ct-scans-are-not-explained-reverse-causation-artefact> (address data 27.05.2019).
228. *Murata M., Miyake T., Inoue Y. et al.* Life-style and other characteristics of radiation workers at nuclear facilities in Japan: base-line data of a questionnaire survey // *J. Epidemiol.* 2002. V. 12. № 4. P. 310–319.
229. *Румянцева Г.М., Чинкина О.В., Бежина Л.Н.* Радиационные инциденты и психическое здоровье населения. М.: ФГУ “ГНЦССП”, 2009. 288 с. [*Rumyantseva G.M., Chinkina O.V., Bezhina L.N.* Radiation Incidents and Population Mental Health. M.: FGU ‘GNTSSSP’, 2009. 288 p. (In Russian)]

Hill’s Criteria “Temporality”. Reverse Causation and Its Radiation Aspect

A. N. Koterov^{a, #}, L. N. Ushenkova^a, and A. P. Biryukov^a

^aA.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

[#]E-mail: govorilga@inbox.ru

The review considers various aspects of the causality criterion “Temporality” and the corresponding confounders within the framework of temporal bias, including facts for radiation epidemiology. It is noted that this guideline is the only criterion in all sets of rules for assessing causation for non-experimental (descriptive) disciplines, since falsification of it immediately eliminates the likelihood of causality. The exact terminology

of the criterion, its philosophical essence, going back to the works of D. Hume and J. Mill (the cause must be before the effect), the epidemiological meaning (the need to observe a plausible latent period for the pathology under study), as well as the difficulties of establishing time dependence in retrospective studies and its non-absoluteness for individual disciplines and situations in the biomedical field are analyzed. The definitions of the concept “reverse causation” (protopathic bias) from fundamental sources, as well as confounders close to it within the framework of temporal biases (indications, contraindications and severity of pathology/prognosis) are presented. Listed approaches to eliminate these temporal biases. There are numerous examples of reverse causation from both everyday life (sociology, political science and psychology), and from the field of epidemiology and medicine. The facts of reverse causation for carcinogenesis in radiation epidemiology are considered in detail, all of which are within the framework of diagnostic or therapeutic irradiation, often prescribed to patients with pre-existing conditions for malignant neoplasms. The most important example is irradiation of children and young people during computed tomography; the paper briefly reviewed all large-scale epidemiological studies on this theme (2012–2019) in relation to the problem of reverse causation. It is concluded that the review can serve for better orientation in the facts of reverse causation not only in epidemiology and medicine, but also in everyday life.

Keywords: temporal biases, criterion of causality “Temporality”, reverse causation, protopathic bias, confounding by indication, confounding by severity/prognosis, diagnostic exposure, CT scan

МОЛЕКУЛЯРНАЯ
РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК 577.25:591.481:539.125.4:599.323.4:57.084.1:539.1.047

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОТОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
НА ПРОТЕОМ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШИ

© 2020 г. А. В. Литвинчук^{1,3}, Е. С. Зорина², А. Т. Копылов², В. О. Попова¹, О. К. Легина¹,
Н. Л. Ронжина¹, Н. А. Верлов¹, Д. Л. Карлин¹, В. В. Лысенко¹, В. Ф. Ежов^{1,4}, С. Н. Нарыжный^{1,2,*}

¹Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ “Курчатовский институт”,
Ленинградская обл., Гатчина, Россия

²Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

³MUNI, Masaryk University, Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Brno, Czech Republic

⁴Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: snaryzhny@mail.ru

Поступила в редакцию 26.06.2019 г.

Представлены результаты протеомного анализа клеток нервной ткани головного мозга мыши после однократного локального воздействия пучка протонов с энергией 1 ГэВ при поглощенной дозе 3 Гр. В работе использовали электрофоретические методы разделения белков, а также масс-спектрометрические и иммунные методы детектирования. Обнаружено, что на 31-е сутки после облучения количество детектируемых протеоформ и экспрессированных генов увеличилось почти в 2 раза: 7754 протеоформы и 1591 ген после облучения против 3652 протеоформы и 996 генов до облучения. Полученные данные указывают на пластичность ответа нервной ткани на воздействие протонного излучения. Особенно следует отметить изменения таких белков, как 14-3-3, кофилин-1, нейромодулин и гамма-енолаза, участвующих в перестройке цитоскелета и восстановительных процессах.

Ключевые слова: облучение, протоны, головной мозг, протеом, кофилин-1, 14-3-3, цитоскелет

DOI: 10.31857/S0869803120020083

Интерес к изучению воздействия протонов высоких энергий на центральную нервную систему связан с протонной терапией и с исследованиями космоса, так как космическое излучение на 80 процентов состоит из протонов высоких энергий [1]. Исследование воздействия этих частиц очень сильно зависит от материальной базы и не имеет такой большой истории, как исследование радиационных эффектов гамма-излучения. Имеющиеся литературные данные о сравнительном исследовании влияния на нервные клетки облучения протонами или гамма-излучением указывают на более высокое поражающее действие протонов и на то, что для лечения глиобластом применение протонной радиации предпочтительнее, чем облучение гамма-лучами [2]. Для решения проблемы радиационного риска необходимо комплексное изучение поражающего действия заряженных частиц на всех уровнях биологической организации. Наиболее важными здесь будут являться исследования нарушений высших интегративных функций мозга [3–6].

Работы по исследованию возможностей метода облучения протонами высоких энергий (1 ГэВ) напролет были начаты в Ленинградском институте ядерной физики имени Б.П. Константинова

(ныне НИЦ Курчатовский институт – ПИЯФ) совместно с Центральным научно-исследовательским рентгено радиологическим институтом Минздрава СССР (ныне РНЦРХТ Минздрава РФ) в 1971 г. на одном из физических каналов ускорителя. В 1973 г. они были продолжены на специально созданном медицинском протонном комплексе, который включает в себя медицинский протонный тракт и лабораторную пристройку с залом облучения. [7] Синхроциклотрон (ПИЯФ) имеет фиксированную энергию выведенного протонного пучка – 1 ГэВ. Протоны столь высокой энергии легко проходят сквозь облучаемый объект, производя равномерную ионизацию вдоль своего пути. При этом пропадает эффект увеличения ионизации в зоне облучения за счет пика Брэгга. Однако этот недостаток компенсируется малым рассеянием протонов в веществе. Поэтому, если сформировать узкий, с резкими границами пучок протонов на входе облучаемого объекта, то он остается практически таким же узким и в зоне облучения внутри объекта. В результате применения облучения напролет в сочетании с ротационной конвергентной техникой облучения можно обеспечить очень высокое отношение дозы в зоне облучения к дозе на поверх-

ности объекта. Были выполнены исследования относительной биологической эффективности пучка. Для этого проведен ряд экспериментов: тест на выживаемость культуры гаплоидного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и раковых клеток линии *HeLa*, тест по частоте возникновения доминантных летальных мутаций на модельном объекте генетики *Drosophila melanogaster*, проведены тесты по перевиваемости асцитной карциномы Эрлиха и асцитной гепатомы Зайделя. Распространенность биологического действия излучения в стороны от пучка протонов (область высоких и низких изодоз) исследовалась на собаках с облучением головного мозга (тест по гистологическим изменениям), а также на тесте с микрообъемами культуры дрожжевых клеток. Результаты позволили обосновать возможность эффективного клинического применения протонов с энергией 1 ГэВ [8].

С 1975 г. протонный пучок синхротрона ПИЯФ систематически используется для облучения различных участков головного мозга при лечении ряда заболеваний центральной нервной системы и гипофиза (протонная гипофизэктомия). Курс протонной терапии прошли 1394 больных. Было достигнуто соотношение дозы в зоне облучения к дозе на поверхности (200:1), доза в хиазме составляла 1.91 Гр, осложнений не было [8–10]. Учитывая особенности создания высоких доз в зоне облучения, представляет интерес изучение возможных дозовых нагрузок на здоровую ткань с целью оптимизации метода и установления параметров безопасности.

Радиационная терапия является неотъемлемой частью лечения опухолей головного мозга и у пациентов детского возраста, что повышает ее социальную значимость. Недавние публикации посвящены исследованию нейропсихологических эффектов протонной терапии в сравнении с лучевой терапией на основе фотонов. Показано, что лучевая терапия с использованием фотонов приводит к интеллектуальному спаду, дефициту исполнительного функционирования, академическим неполным достижениям / неудачам и снижению качества жизни, связанного со здоровьем. Применение протонного облучения обеспечивает более целенаправленную терапию, сводя к минимуму повреждение развивающегося мозга. Дети, которые прошли протонную терапию, продемонстрировали относительно нетронутые интеллект, академичность и внимание [11–13].

В последнее десятилетие число проводимых исследований в этой области увеличилось в связи с развитием протонной терапии в США и странах Европы, а также появлением новых направлений в изучении космоса. При больших дозах облучения обнаружены повреждения нейрональных клеток в гиппокампе и префронтальной коре и

показаны нарушения функций головного мозга, включая изменения памяти и способности к обучению [14]. Вызывают озабоченность негативные когнитивные изменения после воздействия протонов и тяжелых ионов при лечении рака пучками частиц, а также при воздействии космического излучения на космонавтов. До конца не поняты механизмы, происходящие в клетках головного мозга при воздействии протонов, в частности, не определена биологическая эффективность протонного пучка при пограничных и более высоких поглощенных дозах входящих протонов с высокими энергиями. Необходимы дополнительные исследования, чтобы получить информацию о допустимых дозовых нагрузках на центральную нервную систему и понять суть требуемой коррективки при радиационных поражениях.

В наших исследованиях были проведены эксперименты для изучения клеточного ответа нервной системы на отдаленных сроках при однократном локальном облучении головного мозга (большие полушария) мыши пучком с дозой 3 Гр, которая выше применяемой в Гатчинском методе. В отдаленные сроки возможны как необратимый патогенез, так и адаптивные изменения. Для прояснения механизмов ответа организма на это воздействие был выполнен сравнительный протеомный анализ нервной ткани в контроле и после облучения. Для этого были использованы электрофоретические методы разделения белков, а также масс-спектрометрические и иммунные методы их детектирования [15–17].

Представленные нами исследования протеома клеток нервной системы после облучения ускоренными протонами позволят установить закономерности регуляции функциональной активности белков, процессы, происходящие в клетках в пострadiационный период, и открыть возможные пути для необходимой коррекции. Это может дать основу не только для понимания происходящих процессов в клетке, но и для предсказания последующих. Последнее обстоятельство особенно привлекательно для радиационной медицины при терапии мозга человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Лабораторных мышей (коричневые агути, линия 129/Sv, самцы в возрасте 3 мес) подвергали локальному облучению на установке протонный ускоритель СЦ-1000, ПИЯФ. Энергия протонов – 1 ГэВ. Облучение навывлет головы мыши в области больших полушарий выполнено пучком, диаметр которого был равен 6 мм, мощность дозы составила 0.5 Гр/мин, поглощенная доза – 3 Гр. Мыши во время облучения были зафиксированы в специальных резервуарах на экспериментальном держателе. Забор материала (головной мозг) производили на 3-и, 10-е и 31-е сутки после облу-

чения. Мышей забивали мгновенной декапитацией. Выборка составляла пять опытных мышей и три контрольные мыши на каждую экспериментальную точку. Эксперимент выполнен согласно правилам работы с лабораторными животными (грызунами).

Приготовление экстракта ткани головного мозга и разделение белков методом изоэлектрофокусирования (ИЭФ) с последующей их идентификацией с использованием масс-спектрометра Orbitrap Q-Exactive (Thermo Scientific, США) были выполнены, как описано ранее [8, 10]. Ткань измельчали и экстрагировали лизирующим буфером (7 моль/л мочевины, 2 моль/л тиомочевина, 40 г/л CHAPS (3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate), 10 г/л дитиотреитол, 20 г/л IPG (Immobilized pH gradient) буфер (pH 3–10), коктейль протеазных ингибиторов). На полоски для ИЭФ Immobiline-DryStrip (длина 7 см, pH 5–8, GE Healthcare, США), наносили 300 мкг белка. ИЭФ проводили на приборе 3100 OFFGEL Fractionator (Agilent technologies, США), следуя протоколу производителя. Суммарный вольтаж был 20 кВ·ч, который набирался в течение 14 ч. Полоски (31-й день после облучения и контроль) по окончании ИЭФ были разрезаны на 28 секций (ширина 2.5 мм каждой) и подвергнуты стандартной обработке для масс-спектрометрии. Тандемный MS-анализ с применением количественного параметра emPAI (exponentially modified Protein Abundance Index), который определяет относительное количество белка в пробе на основе покрытия аминокислотной последовательности обнаруженными пептидами и их совпадения с теоретически предсказанными пептидами из базы данных [15, 18]. Данные анализировали программой SearchGui (v.3.3.3) и PeptideShaker (v. 1.16.27) [19, 20]. Белок считался достоверно идентифицированным в случае детектирования как минимум двух протеотипических пептидов, принадлежащих этому белку. Представленные данные получены в результате трех независимых экспериментов.

Для иммуноблоттинга использовали контрольные (необлученные) экстракты головного мозга и полученные через 3, 10 и 31 дни после облучения. Двумерный электрофорез (2DE) белков был выполнен как описано ранее [17]. Полоски ImmobilineDryStrip после ИЭФ (первое направление) помещали сверху на полиакриламидный гель и вели денатурирующий электрофорез во втором направлении. Затем проводили перенос белков из геля на мембрану PVDF (Amersham Hybond-P, GE Healthcare) с последующим иммунодетектированием, следуя протоколу Blue Dry Western [21]. Детектирование белка кофилина-1 проводили, используя кроличьи поликлональные анти-кофилин антитела (ab42824, Abcam) в разведении 1/2000, ослиные антитела против иммуноглобу-

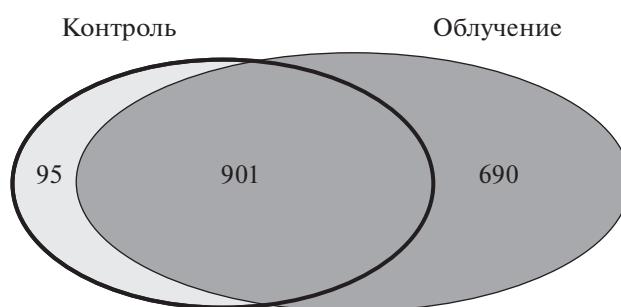


Рис. 1. Распределение генов, белки которых были детектированы в образцах (большие полушария головного мозга), взятых из контрольных и облученных мышей (31-е сутки после облучения).

Fig. 1. Distribution of genes, which proteins were detected in the samples (cerebral hemispheres), taken from the control and irradiated mice (31 days after irradiation).

линов кролика, меченных пероксидазой хрена (NA934-100UL, GE Healthcare) в разведении 1/10000. Реакцию с антителами визуализировали с помощью ECL (Western Lightning Ultra, Perkin-Elmer, США) и рентгеновской пленки (Amersham Hyperfilm ECL) при экспозиции 3 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Используя масс-спектрометрию в сочетании с двумерным электрофорезом и иммунодетекцией, мы получили протеомный профиль клеток ткани головного мозга мыши в норме и после облучения головы животного протонами (доза 3 Гр). Обнаружено, что на 31-е сутки после облучения количество детектируемых протеоформ и экспрессированных генов увеличивается почти в два раза (7754 протеоформы и 1591 ген в норме против 3652 протеоформ и 996 генов в контроле). Причем 901 ген экспрессируется как в контроле, так и после облучения; продуктов 690 генов не было обнаружено до облучения и 95 – после облучения (рис. 1).

Большие отличия в наборах протеоформ, детектированных в контроле и после облучения, были выявлены для белков семейства 14-3-3, кофилина-1 и некоторых других. На рис. 2 представлены белки семейства 14-3-3 в норме и на 31-е сутки после облучения. Наши эксперименты с использованием Вестерн-блоттинга показали, что уже в ранние сроки (спустя сутки) обнаруживаются и далее (на 3-и, 10-е и 31-е сутки) накапливаются новые протеоформы кофилина-1, у которых изоэлектрическая точка сдвинута в кислую область (рис. 3, Б). Данные, полученные на основе масс-спектрометрии, указывают, что эти протеоформы фосфорилированы и ацетилированы (рис. 3, А). Образование кислых протеоформ связано с фосфорилированием остатков серина 23, 24, 119 и 120 и ацетилированием остатка лизина 13.

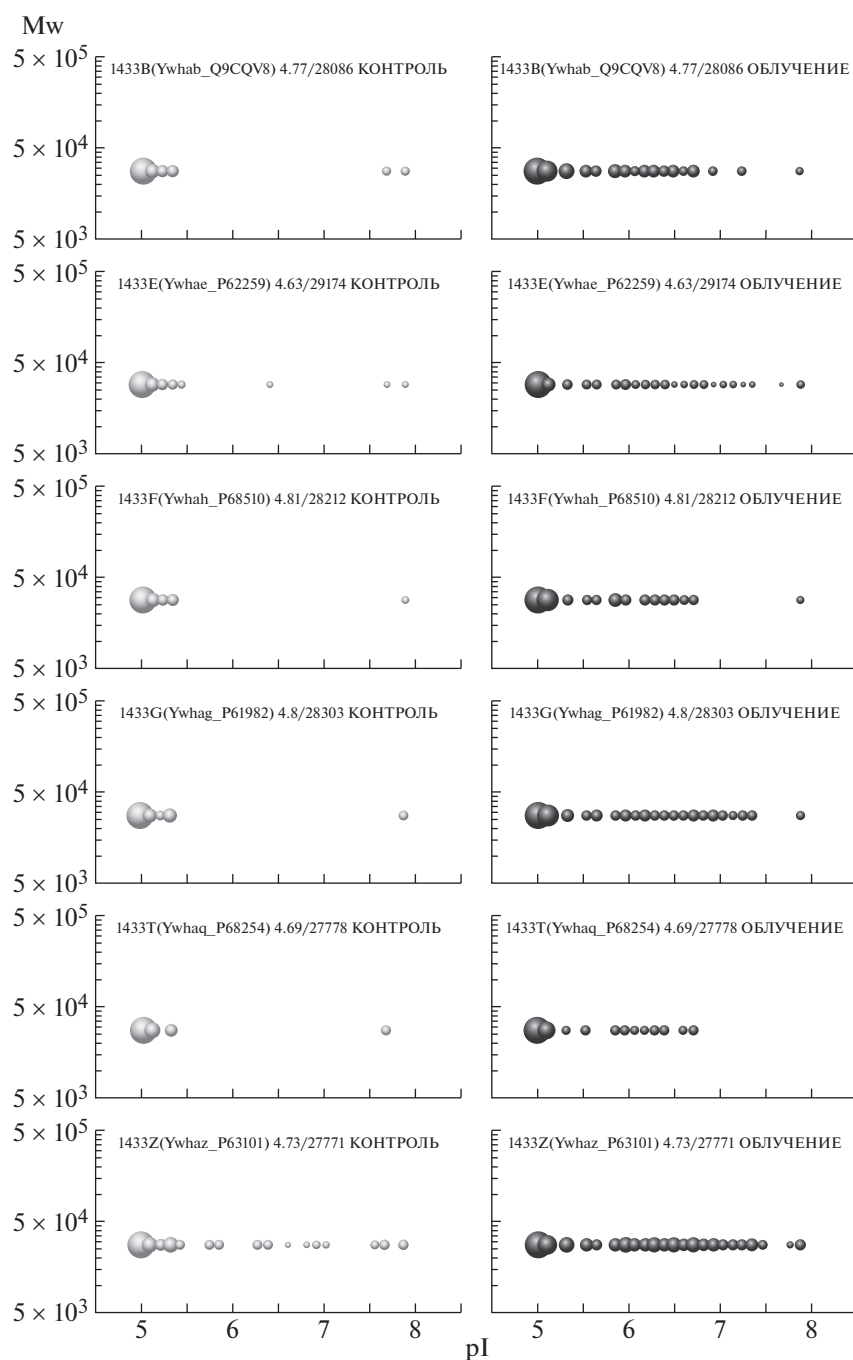


Рис. 2. Профили протеоформ регуляторных белков семейства 14-3-3. Слева – контроль, справа – на 31-е сутки после облучения. Размер каждого шарика пропорционален количеству соответствующей протеоформы, выраженной в единицах mPAI. По оси абсцисс – значения изоточек (pI) протеоформ, по оси ординат – их молекулярный вес (Mw).

Fig. 2. Proteoform profiles of regulatory proteins of the 14-3-3 family. Left – control, right – 31 days after irradiation.

Также проведенный нами протеомный анализ позволяет проследить за судьбой и многих других белков. В частности, увеличивается количество протеоформ и общее содержание нейромодулина на 31-е сутки после облучения (рис. 4). Енолаза γ – это белок, присутствующий в нейронах, но не в клетках глии, он обладает нейропротекторными

свойствами. После облучения у этого белка появляются дополнительные протеоформы, причем представленные на высоком уровне (рис. 5). Белок кальретикулин (CALR) является маркером повреждения нейронов, экспрессия которого в наших экспериментах не изменилась после облучения (рис. 6).

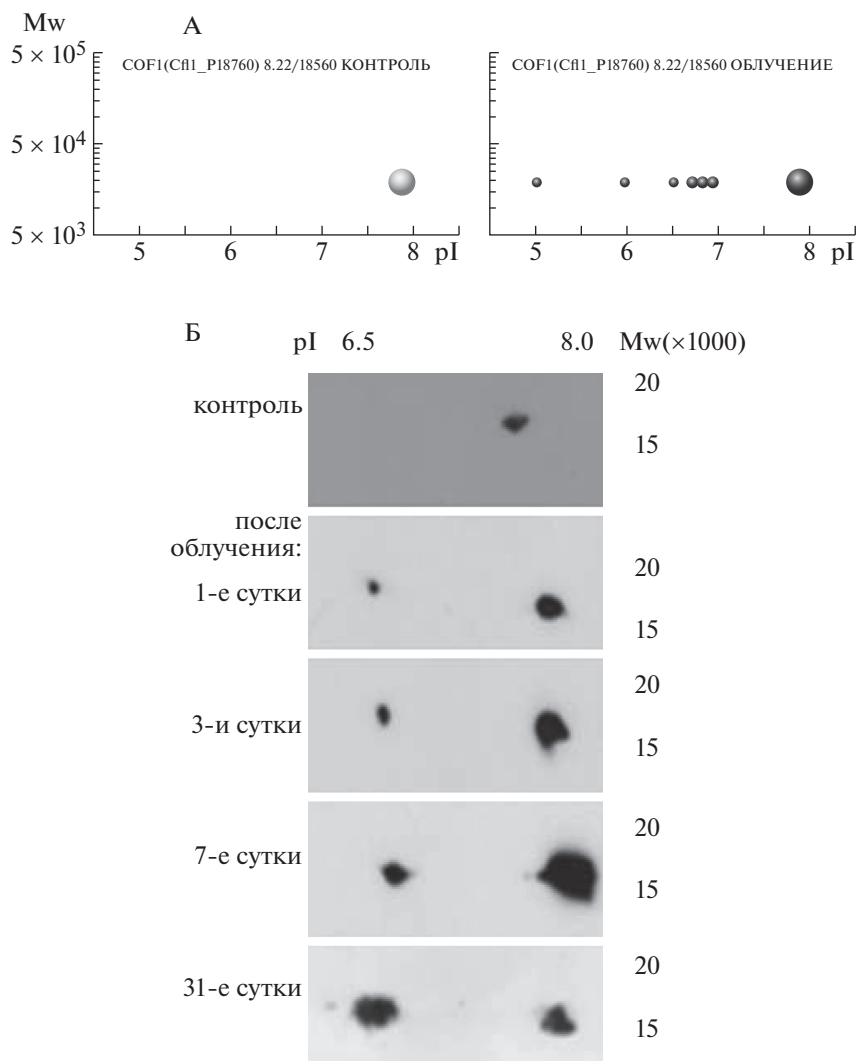


Рис. 3. Профили протеоформ кофилина-1, выявленные масс-спектрометрически (А) или иммуноблоттингом после разделения белков 2DE (Б). По оси абсцисс – значения изоточек (pI) протеоформ, по оси ординат – их молекулярный вес (Mw).

Fig. 3. Profiles of cofilin-1 proteoforms detected by mass spectrometry (A) or immunoblotting after separation of proteins by 2DE (B).

ОБСУЖДЕНИЕ

Белки семейства 14-3-3 были впервые открыты в нервной ткани в 1967 г. Их масса составляет около 1% от общего количества белка в клетке, и поначалу считалось, что их основная функция заключается в регуляции синтеза нейротрансмиттеров, а именно серотонина. Однако последующие работы по изучению белков 14-3-3 показали, что они имеют большое количество партнеров, выполняющих самые разные функции [22–24]. Посттрансляционные модификации, а именно фосфорилирование и дефосфорилирование, определяют степень взаимодействия белков 14-3-3 и их мишеней. За счет этих модификаций белки 14-3-3 способны контролировать важные клеточные процессы: апоптоз, пролиферацию, транскрип-

цию, репликацию, функционирование ионных каналов и организацию цитоскелета клетки. Кроме того, в последнее время белки 14-3-3 рассматриваются еще и как маркеры ряда нейродегенеративных и онкологических заболеваний. Они были обнаружены в ликворе и в спинномозговой жидкости у пациентов с деменциями, энцефалопатиями, злокачественными образованиями центральной нервной системы [25, 26]. Данный факт позволяет предположить, что специфичные протеоформы белков семейства 14-3-3 могут быть биомаркерами пострадиационных процессов и при воздействии ускоренных протонов на нервную ткань. Более того, возможно, что не изменение количества белков семейства 14-3-3, а их посттрансляционные модификации (появление

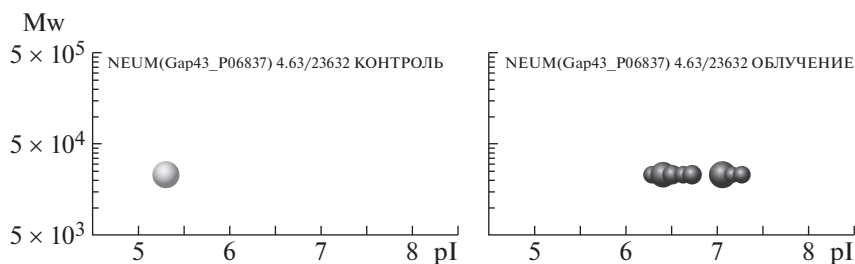


Рис. 4. Профили протеоформ белка нейромодулина. Слева – контроль, справа – на 31-е сутки после облучения. Размер каждого шарика пропорционален количеству соответствующей протеоформы, выраженной в единицах emPAI. По оси абсцисс – значения изоточек (pI) протеоформ, по оси ординат – их молекулярный вес (Mw).

Fig. 4. Proteoform profiles of the protein neuromodulin. Left – control, right – 31 days after irradiation.

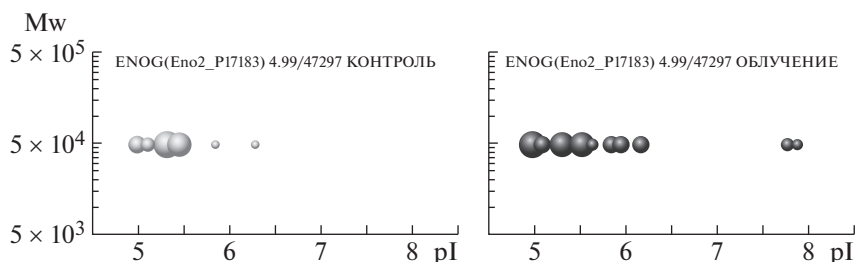


Рис. 5. Профили протеоформ гамма-енолазы. Слева – контроль, справа – на 31-е сутки после облучения. По оси абсцисс отложены значения изоточек (pI) протеоформ, по оси ординат – их молекулярный вес (Mw). Размер каждого шарика пропорционален количеству соответствующей протеоформы, выраженной в единицах emPAI.

Fig. 5. Proteoform profiles of gamma enolase. Left – control, right – 31 days after irradiation.

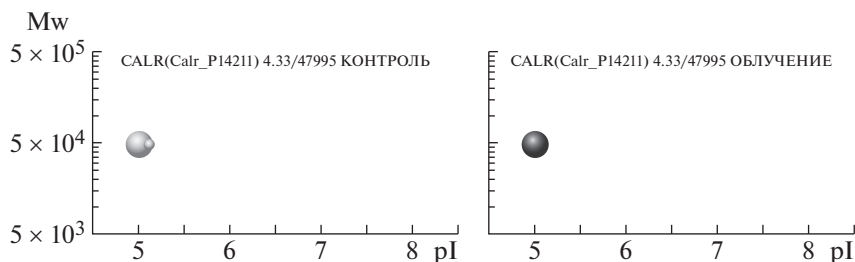


Рис. 6. Профили протеоформ кальретикулина. Слева – контроль, справа – на 31-е сутки после облучения. По оси абсцисс – значения изоточек (pI) протеоформ, по оси ординат – их молекулярный вес (Mw). Размер каждого шарика пропорционален количеству соответствующей протеоформы, выраженной в единицах emPAI.

Fig. 6. Proteoform profiles of calreticulin. On the left – control, on the right – 31 days after irradiation.

протеоформ) в большей степени влияют на подконтрольные им клеточные процессы. Белки 14-3-3В, 14-3-3Е, 14-3-3F, 14-3-3G, 14-3-3Т имеют в норме кислые изоэлектрические точки (pI), в диапазоне 4.5–5.0. После облучения обнаружены также дополнительные протеоформы с pI 5.5–8 (рис. 2). Для 14-3-3Z обнаружены многочисленные протеоформы как в норме, так и в облученном организме. Кроме того, увеличилась их представленность (количество) в тканях после облучения.

Изменение изоэлектрической точки со сдвигом в щелочную область происходит при амидировании С-конца и карбоксильных групп аминокислот,

а также в результате реакции этерификации. Такие процессы возможны при появлении радиационных радикалов, которые рассматриваются как генераторы радикальных процессов в клетке на пострадиационном этапе [27, 28]. Действительно, в нашем случае появление протеоформ с изоточкой, сдвинутой в щелочную область, обнаруживается не только для белков семейства 14-3-3, но и для некоторых других (AMPN, ANXA6, AP1B1, ARF4, BASP1 и др.).

Согласно литературным данным, активность протеинкиназы Raf1 в мозге мышей важна в сигнальном каскаде дифференцировки нейронов,

показана ее важная роль для нормального функционирования ЦНС. Предполагают, что при повреждениях двигательных нейронов белок 14-3-3Z активирует Raf1, который в свою очередь активирует различные подклассы протеинкиназ [29]. В наших экспериментах все протеоформы 14-3-3Z присутствуют как в контроле, так и после облучения, но после облучения их уровень увеличен. Можно предположить, что они опосредуют процессы регенерации нейронов, синаптической трансмиссии и пластичности.

Кофилин-1 – это белок, который совместно с белком декстрином отвечает за деполимеризацию актина [30]. По литературным данным, представленным на PhosphoSitePlus®, кофилин-1 мышцы может быть также фосфорилирован по остаткам серина (3, 8, 41, 156 и 160), треонина (25, 69, 88, 129, 148), тирозина (68, 82, 85, 89, 117, 140) [31]. Обнаруженное в наших экспериментах фосфорилирование серина 23 и ацетилирование лизина 13, ранее не детектированные у мышей, хорошо согласуются с литературными данными, полученными на других объектах. Для клеток базофильной лейкемии крысы (2Н3) по данным масс-спектрометрического анализа фосфорилирование кофилина-1 проходило по остаткам серина-23 и/или серина-24 [32]. В результате такого типа фосфорилирования кофилин-1 становился неактивным, не связывался с филаментами актина и не взаимодействовал с белком 14-3-3Z. Актин оставался в полимерном состоянии и тем самым обеспечивал процесс дегрануляции. Для мыши показано только влияние фосфорилирования остатка серина 3 на реорганизацию цитоскелета и пластичность нейронов [31]. Это фосфорилирование ингибируется фосфатидилинозитол-4,5-дифосфатом и кортактином [30, 33–35]. Гораздо больше данных о влиянии фосфорилирования кофилина-1 на клеточные процессы получено на клетках человека: 1) фосфорилирование остатка серина 3 влияет не только на реорганизацию цитоскелета, но изменяет клеточную адгезию, клеточное движение, ингибирует апоптоз и рост клеток; 2) фосфорилирование остатков серина 23 и 24 и тирозина 68 влияет на реорганизацию цитоскелета [31]. Принимая во внимание то, что фосфорилированный кофилин-1 не способен связываться с полимерным актином, можно предположить, что актин после облучения находится в полимерном состоянии, что обеспечивает сохранность цитоскелета. Белок 14-3-3Z связывает фосфорилированный кофилин и препятствует его дефосфорилированию под действием протеинфосфатаз [22].

Таким образом, фосфорилированный кофилин не связывается с фибриллярным актином и не способен вызывать фрагментацию F-актина после облучения протонами в клетках нервной ткани. Возможно, белок 14-3-3, как главный ре-

гулятор, связывает фосфорилированный кофилин-1 и тем самым усиливает стабилизацию актиновых филаментов. Такой комплекс существенно влияет на перестройку актинового цитоскелета в нервных клетках и играет особую роль в зависимости от цитоскелета кластеризации рецепторов ацетилхолина при формировании синапсов [36].

Морфологический анализ синапсов трансгенных мышей, нокаутированных по генам актин-деполимеризующего фактора (АДФ) и кофилина-1, показал повышенный уровень синаптосомального F-актина и увеличение плотности посадок везикул на пресинаптической мембране. При этом у животных не было обнаружено отклонений в поведении и показано, что способность к обучению сохраняется [37]. Данный факт указывает на компенсаторную функцию нервной системы в случае удаления белков, деполимеризующих актин.

По литературным данным, после облучения рентгеновскими лучами зрелых нейронов наблюдается значительное уменьшение количества актина в шипиках нейронов, боковых выростах дендритов. При этом изменялась форма шипиков, они становились тонкими и удлинненными [38]. В литературе имеются также данные о повреждении нейронов и протонами. Так, морфологический анализ нейронов гиппокампа указал на повреждение нейрональных сетей (дендритных деревьев), причем на 10-е сутки после облучения протонами повреждения еще мало заметны, но становятся значительными только на 30-е сутки [39].

Нейроны имеют длинный отросток, аксон (нейрит), как правило не ветвящийся по его протяжению, но образующий концевые разветвления, которые содержат синаптические пузырьки для проведения импульсов от перикариона. Объем аксона может достигать до 99% суммарного объема нейрона. Экспрессия белка нейромодулина, специфичного для аксона фосфобелка, является признаком начала дифференцировки отростка в аксон или его восстановления после повреждения. Нами обнаружено увеличение количества протеоформ и общего содержания нейромодулина на 31-е сутки после облучения, как показано на (рис. 4), и этот факт косвенно указывает на возможность восстановления аксонов у поврежденных нейронов после облучения. Сначала образуются короткие отростки на нейроне, которые потенциально могут стать либо аксоном, либо дендритами. Отросток, накаливающий нейромодулин, в дальнейшем становится аксоном.

На основе полученной информации о модификациях таких белков, как енолаза γ и кальретикулин, можно полагать, что в нейронах происходят компенсаторные процессы после облучения и они не сдвигают метаболизм клеток в патологическое состояние.

Наши выводы о пластичности нервной системы хорошо согласуются с результатами исследований когнитивных функций организма при воздействии протонов. Опубликованы результаты исследований нейробиологических эффектов воздействия компонента галактического космического излучения — протонов высокой энергии в модельных экспериментах на обезьянах (макаках-резус). Показано, что облучение головы обезьян протонами в дозе 3 Гр не вызывает существенных изменений их когнитивных функций и концентрации моноаминов и их метаболитов в периферической крови. Изучение эффектов воздействия космической радиации на функции центральной нервной системы (ЦНС) приобретает особую актуальность в связи с планированием и подготовкой дальних длительных космических экспедиций (в частности, Марсианской миссии) [3] и при проведении терапии протонами высоких энергий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В наших исследованиях были проведены эксперименты для изучения клеточного ответа нервной системы при однократном облучении больших полушарий головного мозга мыши высокоэнергетическими протонами при поглощенной дозе 3 Гр. В отдаленные сроки возможны как необратимый патогенез, так и адаптивные изменения. Специфичность и пластичность — два основных свойства нервной системы, на которую воздействует протонное излучение, и происходящие изменения требуют объяснения на молекулярном уровне. В основе функциональности нейронов и нейронной сети, как и других клеток, лежит генетическая программа, по которой синтезируются белки. Ранее полагали, что генетическая программа должна быть достаточно гибкой, и в целях необходимой адаптации достаточно пластичной. Наши исследования подтверждают, что в адаптации нервной системы и пластичности нейронов важная роль принадлежит регуляции активности генов, а также указывают на важность различных модификаций белков. Как мы установили, эти модификации сохраняются и в отдаленные сроки после облучения. Повышается уровень и увеличивается количество протеоформ маркерного белка нейронов гамма-енолазы, регуляторных белков семейства 14-3-3, регуляторного белка цитоскелета — кофилина-1. В то же время изменений в экспрессии кальретикулина, маркера повреждения нейронов, обнаружено не было. Полученные нами данные о пострадиационных процессах в ткани головного мозга, а также исследования других авторов когнитивных функций организма после облучения протонами дают основания полагать о достаточно высокой безопасности применения протонов 1 ГэВ при лечении патологий мозга по Гатчинскому методу.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование проведено в рамках выполнения тематического плана ФГБУ “ПИЯФ” на 2018–2020 гг. Масс-спектрометрические работы выполнены с использованием оборудования ЦКП ИБМХ “Протеом человека”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abrosimov N.K., Gavrikov Yu.A., Ivanov E.M. et al.* 1000 MeV proton beam therapy facility at Petersburg Nuclear Physics Institute synchrocyclotron // *J. Phys.: Conf. Ser.* 2006. V. 41. № 1. P. 424–432.
2. *Mitteer R.A.J.r, Wang Y., Shah J. et al.* Proton beam radiation induces DNA damage and cell apoptosis in glioma stem cells through reactive oxygen species // *Sci. Rep.* 2015. V. 5. P. 13961.
3. *Belyaeva A.G., Shtemberg A.S., Nosovskii A.M. et al.* The effects of high-energy protons and carbon ions (12C) on the cognitive function and the content of monoamines and their metabolites in peripheral blood in monkeys // *Neurochem. J.* 2017. V. 11. № 2. P. 168–175.
4. *Kokhan V.S., Matveeva M.I., Mukhametov A. et al.* Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016. V. 71. P. 621–632.
5. *Belov O.V., Belokopytova K.V., Kudrin V.S. et al.* Neurochemical insights into the radiation protection of astronauts: Distinction between low- and moderate-LET radiation components // *Phys. Med.* 2019. V. 7. P. 7–16.
6. *Shtemberg A.S., Bazian A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B. et al.* [Effects of exposure to high-energy protons on rat's behavior and underlying neurochemical mechanisms // *Aviakosm. Ekol. Med.* 2013. V. 47. № 6. P. 54–60. (In Russian)]
7. *Карлин Д.Л., Коннов Б.А., Виноградов Б.В. и др.* Медицинский протонный тракт синхроциклотрона Ленинградского института ядерной физики // *Мед. радиология.* 1975. Т. 20. № 7. С. 13–19. [*Karlin D.L., Konnov B.A., Vinogradov B.V. et al.* Medizinskiy protonnyi tract sinkhroziklotrona leningradskogo instituta yadernoi fiziki // *Med. Radiol.* 1975. V. 20. № 7. P. 13–19. (In Russian)]
8. *Коннов Б.А.* Исследование пучка протонов с энергией 1000 МэВ для лучевой терапии: Дис. ... д-ра мед. наук. Ленинград: ЦНИРПИ Минздрава СССР, 1982. [*Konnov B.A.* Issledovanie puchka protonov s energiei 1000 MeV dlya luchevoi terapii: Diss. ... d-ra med. nauk. Leningrad: CNIRRI Minzdrava SSSR, 1982. (In Russian)]
9. *Гранов А.М., Тютин Л.А., Шалек Р.А., и др.* Сорокалетний опыт клинического применения пучка протонов с энергией 1000 МэВ на базе синхроциклотрона Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова // *Мед. физика.* 2016. Т. 70. № 2. С. 10–17. [*Granov A.M., Tyutin L.A., Shalek R.A. et al.* Sorokaletniy opyt klinicheskogo primeneniya puchka protonov s energiei 1000 MeV na base sinkhroziklotrona leningradskogo instituta yadernoi fiziki im. B.P.Konstantinova // *Med. phisika.* 2016. V. 70. № 2. P. 10–17. (In Russian)]
10. *Коннов Б.А., Гранов А.М., Тютин Л.А. и др.* Способ облучения ионизирующим излучением объемных образований головного мозга и устройство для его

- осуществления: Патент РФ № 2104595, февраль, 1998. [Konnov B.A., Granov A.M., Tyutin L.A. et al. Spособ obлучeniya ioniziruyuschim izlucheniem ob'emnykh obrazovaniy golovnogo mozga I ustroystvo dlya ego osushchestvleniya: Patent RF № 2104595, fevral, 1998. (In Russian)]
11. Pulsifer M.B., Duncanson H., Grieco J. et al. Cognitive and adaptive outcomes after proton radiation for pediatric patients with brain tumors // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2018. V. 102. № 2. P. 391–398.
 12. Ventura L.M., Grieco J.A., Evans C.L. et al. Executive functioning, academic skills, and quality of life in pediatric patients with brain tumors post-proton radiation therapy // J. Neuro-Oncol. 2018. V. 137. № 1. P. 119–126.
 13. Gross J.P., Powell S., Zelko F. et al. Improved neuropsychological outcomes following proton therapy relative to X-ray therapy for pediatric brain tumor patients // J. Neuro-Oncol. 2019. V. 21. № 7. P. 934–943.
 14. Greene-Schloesser D., Robbins M.E., Peiffer A.M. et al. Radiation-induced brain injury: A review // Front. Oncol. 2012. V. 2. P. 73.
 15. Naryzhny S., Zgoda V., Kopylov A. et al. A semi-virtual two-dimensional gel electrophoresis: IF-ESI LC-MS/MS // Methods X. 2017. V. 4. P. 260–264.
 16. Naryzhny S.N., Zgoda V.G., Maynskova M. et al. Combination of virtual and experimental 2DE together with ESI LC-MS/MS gives a clearer view about proteomes of human cells and plasma // Electrophoresis. 2016. V. 37. № 2. P. 302–309.
 17. Нарыжный С.Н., Ронжина Н.Л., Майнскова М.А. и др. Разработка штрих-кода и получение белкового профиля глиобластомы // Биомед. химия. 2014. Т. 60. № 3. С. 308–321. [Naryzhny S.N., Ronzhina N.L., Maynskova M.A. et al. Razrabotka shtrikh koda I polucheniye belkovogo profilya glioblastoma // Biomed. khimiya. 2014. V. 60. № 3. P. 308–321. (In Russian)]
 18. Ishihama Y., Oda Y., Tabata T., et al. Exponentially Modified Protein Abundance Index (emPAI) for Estimation of Absolute Protein Amount in Proteomics by the Number of Sequenced Peptides per Protein // Mol. Cell. Proteomics. 2005. V. 4. № 9. P. 1265–1272.
 19. Vaudel M., Barsnes H., Berven F.S. et al. SearchGUI: An open-source graphical user interface for simultaneous OMSSA and X!Tandem searches // Proteomics. 2011. V. 11. № 5. P. 996–999.
 20. Vaudel M., Burkhart J.M., Zahedi R.P. et al. PeptideShaker enables reanalysis of MS-derived proteomics data sets: To the editor // Nature Biotechnol. 2015. V. 33. P. 22–24.
 21. Naryzhny S. Blue Dry Western: Simple, economic, informative and fast way of immunodetection // Anal. Biochem. 2009. V. 392. № 1. P. 90–95.
 22. Gohla A., Bokoch G.M. 14-3-3 regulates actin dynamics by stabilizing phosphorylated cofilin // Curr. Biol. 2002. V. 12. № 19. P. 1704–1710.
 23. Moore B.W., Perez V.J., Gehring M. Assay and regional distribution of a soluble protein characteristic of the nervous system // J. Neurochem. 1968. V. 15. № 4. P. 265–272.
 24. Zhao J., Meyerkord C.L., Du Y. et al. 14-3-3 proteins as potential therapeutic targets // Seminars Cell Development. Biol. 2011. V. 22. P. 705–712.
 25. Cohan G., Pennington C., Mackenzie J.M. et al. The role of cerebrospinal fluid 14-3-3 and other proteins in the diagnosis of sporadic Creutzfeldt–Jakob disease in the UK: a 10-year review // J. Neurol., Neurosurg., Psychiatry. 2010. V. 81. № 11. P. 1243–1248.
 26. Xiao T., Ying W., Li L. et al. An approach to studying lung cancer-related proteins in human blood // Mol. Cell Proteomics. 2005. V. 4. № 10. P. 1480–1486.
 27. Stratton K. Temperature effects on the formation and reactions of free radicals in gamma-irradiated dry enzymes // Radiat. Res. 1968. V. 35. № 1. P. 182–201.
 28. Иванов В.Е., Карп О.Э., Попова Н.Р. и др. Образование долгоживущих форм белков сыворотки крови под действием тепла // Альманах клин. мед. 2014. Т. 1. № 31. С. 17–20. [Ivanov V.E., Karp O.E., Popova N.R. et al. Obrazovanie dolgozhivuschikh form belkov syvorotki krovi pod deistviem tepla // Almanakh klin. med. 2014. V. 1. № 31. P. 17–20.
 29. Chen D.H., Brkanac Z., Verlinde C.L. et al. Missense mutations in the regulatory domain of PKC γ : a new mechanism for dominant nonepisodic cerebellar ataxia // Am. J. Hum. Genet. 2003. V. 72. № 4. P. 839–949.
 30. Racz B., Weinberg R.J. Spatial organization of cofilin in dendritic spines // Neurosci. 2006. V. 138. № 2. P. 447–456.
 31. Hornbeck P.V., Zhang B., Murray B. et al. PhosphoSitePlus, 2014: mutations, PTMs and recalibrations // Nucl. Acids Res. 2015. V. 43. Database issue. P. D512–D520.
 32. Huang T.Y., DerMardirossian C., Bokoch G.M. Cofilin phosphatases and regulation of actin dynamics // Curr. Opin. Cell Biol. 2006. V. 18. № 1. P. 26–31.
 33. Bernstein B.W., Bamburg J.R. ADF/cofilin: a functional node in cell biology // Trends Cell Biol. 2010. V. 20. № 4. P. 187–195.
 34. Niwa R., Nagata-Ohashi K., Takeichi M. et al. Control of actin reorganization by Slingshot, a family of phosphatases that dephosphorylate ADF/cofilin // Cell. 2002. V. 108. № 2. P. 233–246.
 35. Gorlich A., Wolf M., Zimmermann A.M. et al. N-cofilin can compensate for the loss of adf in excitatory synapses // PLoS One. 2011. V. 6. № 10. e26789.
 36. Lee C.W., Han J., Bamburg J.R. et al. Regulation of acetylcholine receptor clustering by ADF/cofilin-directed vesicular trafficking // Nature Neurosci. 2009. V. 12. № 7. P. 848–856.
 37. Wolf M., Zimmermann A.M., Gorlich A. et al. ADF/cofilin controls synaptic actin dynamics and regulates synaptic vesicle mobilization and exocytosis // Cereb. Cortex. 2015. V. 25. № 9. P. 2863–2875.
 38. Shirai K., Mizui T., Suzuki Y. et al. X irradiation changes dendritic spine morphology and density through reduction of cytoskeletal proteins in mature neurons // Radiat. Res. 2013. V. 179. № 6. P. 630–636.
 39. Parihar V.K., Pasha J., Tran K.K. et al. Persistent changes in neuronal structure and synaptic plasticity caused by proton irradiation // Brain Struct. Funct. 2015. V. 220. № 2. P. 1161–1171.

Research of the Effect of Proton Radiation on the Brain Proteome of Mouse

A. V. Litvinchuk^{a,c}, E. S. Zorina^b, A. T. Kopylov^b, V. O. Popova^a, O. K. Legina^a, N. L. Ronzhina^a,
N. A. Verlov^a, J. L. Karlin^a, V. V. Lysenko^a, V. F. Ezhov^{a,d}, and S. N. Naryzhny^{a,b,#}

^a*B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute, National Research Center "Kurchatov Institute", Gatchina, Russia*

^b*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia*

^c*MUNI, Masaryk University, Department of Experimental Biology, Faculty of Science, Brno, Czech Republic*

^d*Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*

[#]*E-mail: snaryzhny@mail.ru*

This paper presents the results of a proteomics analysis of mouse brain nerve tissue cells after a single local effect of a proton beam with an energy of 1 GeV at an absorbed dose of 3 Gy. Electrophoretic methods of protein separation as well as mass spectrometric and immune detection methods were used in the work. It was found that on day 31 after irradiation, the number of detected proteoforms and expressed genes almost doubled: 7754 proteoforms and 1591 genes after irradiation against 3652 proteoforms and 996 genes before irradiation. The data obtained indicate the plasticity of the nervous tissue response to the action of proton radiation. Especially noteworthy are changes in the profiles of proteoforms of such regulatory proteins as 14-3-3, cofilin-1, neuromodulin and gamma-enolase that are involved in reorganization of the cytoskeleton of nerve cells and regenerative processes.

Keywords: irradiation, protons, brain, proteome, cofilin-1, 14-3-3, cytoskeleton

**ОБЩАЯ
РАДИОБИОЛОГИЯ**

УДК 597.4/.5:57.084:539.1.047

**DANIO RERIO КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ
В РАДИОБИОЛОГИИ**

© 2020 г. А. А. Ливанова^{1,*}, А. В. Завирский¹, В. Ю. Кравцов¹

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

*E-mail: alexandralivanova@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2019 г.

Обзор посвящен анализу литературных данных по использованию пресноводных аквариумных рыб *Danio rerio* в качестве модельных животных для радиобиологических экспериментов. *Danio rerio*, известные в иностранной литературе как *Zebrafish*, уже стали хрестоматийной *in vivo* моделью в биологии развития, молекулярной и клеточной биологии, фундаментальной генетике, а также токсикологии. В настоящее время эти рыбы все чаще используются в радиобиологии как для фундаментальных исследований механизмов радиоспецифического ответа, так и для оценки радиопротекторных и радиосенсибилизирующих свойств различных веществ. Эксперименты в равной мере проводят на эмбрионах и мальках рыб, а также взрослых особях. При этом эмбрионы и мальки обладают крайней радиочувствительностью, что позволяет исследовать эффекты воздействия излучения в малых дозах, в то время как взрослые особи характеризуются крайней радиорезистентностью, что определяет перспективу их использования для оценки активности агентов, потенцирующих мутагенный эффект ионизирующего излучения. Набор методических инструментов для работы с *Danio rerio* достаточно велик, и предпочтение исследователя определяется конкретными задачами и техническим оснащением лаборатории.

Ключевые слова: *Danio rerio*, *Zebrafish*, биоиндикация, радиобиологическая модель, модельный организм

DOI: 10.31857/S0869803120020095

Подбор оптимальных экспериментальных животных лежит в основе радиобиологического исследования и определяет возможность экстраполяции результатов как на организм человека, так и на компоненты дикой природы. В радиобиологии в качестве *in vivo* модели наиболее часто используются млекопитающие [1], однако в последнее время все больше экспериментальных работ выполняется на *Danio rerio*. Пресноводная рыба *Danio rerio*, называемая в иностранной литературе *Zebrafish*, является хрестоматийной моделью для изучения механизмов онтогенеза и канцерогенеза, генетических и эпигенетических процессов [2, 3]; ее значимость для фундаментальных и прикладных исследований сложно переоценить. Регулярно организовывается международная конференция, посвященная биологическим исследованиям, использующим *Danio rerio* [4]. За рубежом издается журнал “*Zebrafish*” с широким кругом освещаемых вопросов, лежащих в сфере научных интересов молекулярных и клеточных биологов. Все эти данные подтверждают неосценимый вклад *Danio rerio* в развитие большого числа областей биологии и медицины. Сегодня в отечественных и зарубежных печатных изданиях появляется все больше сообщений о возможности использова-

ния этих рыб и для радиобиологических исследований [5–8].

Можно выделить следующие преимущества рыб *Danio rerio*, определяющие перспективу их использования в радиобиологии:

1. Высокая степень функциональной гомологии генома с геномом млекопитающих и, в частности, человека [9]. Работа по секвенированию генома *Danio rerio* к настоящему моменту полностью завершена [10, 11]. Показано, что 70% нуклеотидных последовательностей генов являются гомологичными для *Danio rerio* и человека [12], несмотря на дивергентное расхождение эволюционных путей около 450 млн лет назад. При этом особенно высокой гомологией характеризовались гены, вовлеченные в клеточную сигнализацию, регуляцию пролиферативного цикла и клеточную дифференцировку [13–15]. В этой связи изучение последствий воздействия ионизирующего излучения на этих рыб может дать широкое представление о фундаментальных механизмах радиобиологического ответа с возможностью экстраполяции результатов на организм человека.

2. Распространенность в природе, а также легкий уход и поддержание аквакультуры в условиях

лаборатории [16]. Из-за небольшого размера (взрослые особи не превышают 3–6 см в длину) и неприхотливости рыб несложно создать и поддерживать аквакультуру *Danio rerio* в условиях, максимально близких к естественным, что оказывается проблематичным при работе с млекопитающими. С другой стороны, *Danio rerio* широко распространены в дикой природе (характерны для внутренних пресных водоемов Юго-Восточной Азии), что позволяет изымать их прямо из естественных мест обитания с целью оценки радиационного загрязнения водных биоценозов.

3. Зародыши и мальки рыб *Danio rerio* полностью прозрачны, что позволяет применять неинвазивные методы визуализации результатов эксперимента при работе с этими модельными животными [17].

4. Высокая плодовитость. Одна пара взрослых особей *Danio rerio* дает 200–300 потомков по сравнению с 5–10 потомками, получаемыми от пары грызунов [18]. Это облегчает изучение эффектов ионизирующего излучения в ряду поколений, а также позволяет поддерживать популяцию в аквакультуре без значительных финансовых и временных затрат.

5. Быстрое развитие. Большинство органов (глаза, мозг, сердце, печень, мускулатура, скелет, пищеварительная система) *Danio rerio* становятся различимыми спустя 72 ч после оплодотворения. В этой связи степень радиационного воздействия можно адекватно оценить по возникающим нарушениям в ходе гисто- и органогенеза [19]. Кроме того, мальки достигают половой зрелости через полгода после оплодотворения, что также способствует быстрому возобновлению популяции и поддержанию аквакультуры.

6. Высокая чувствительность эмбрионов к генотоксичным агентам. Эмбрионы *Danio rerio* крайне чувствительны даже к незначительному воздействию компонентов среды, имеющих мутагенное воздействие [20], благодаря чему можно исследовать эффекты ионизирующего излучения в малых дозах. Кроме того, показано, что механизмы регенерации тканей и репарации ДНК у рыб сходны с таковыми у млекопитающих, что способствует широкой интерпретации результатов при исследовании молекулярных механизмов радиоспецифического клеточного ответа на модели *Danio rerio* [21]. Стоит, однако, отметить, что, по сравнению с эмбрионами и мальками, радиочувствительность взрослых особей существенно ниже в связи с формированием и стабилизацией у них системы репарации ДНК, иммунной системы и значительным снижением пролиферативной активности подавляющего большинства клеток [5].

7. Наличие широкого ряда трансгенных линий *Danio rerio*. Апробированной техникой является нокаутирование генов с помощью морфолино-

вых олигомеров, комплементарно связывающихся с таргетной ДНК или мРНК, блокируя генную экспрессию в клетках эмбрионов [22, 23]. Такие линии зачастую используются в эксперименте как модели заболеваний человека, однако они также могут стать полезными для фундаментальных исследований молекулярных механизмов радиоспецифического клеточного ответа.

Отдельной причиной для роста интереса к рыбам *Danio rerio* со стороны токсикологов и радиобиологов является интенсивное развитие методик экотоксикологического и радиационно-экологического мониторинга водной среды и возникающая в связи с этим необходимость поиска оптимальной модели. На загрязнение водных экосистем за счет ядерных и химических отходов уже обратили внимание Международная комиссия по радиологической защите (МКРЗ) и Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ), разработавшие проекты в области оценки рисков радиационного загрязнения среди организмов дикой природы [24–26]. С 1982 г., когда Джордж Штрайзингер впервые предложил анализировать мутагенный эффект канцерогенов окружающей среды на рыбах *Danio rerio* [27], они активно используются как *in vivo* тест-система для индикации экотоксикантов в водной среде. В течение трех следующих десятилетий *Danio rerio* успешно применялись для идентификации тератогенов, установления механизмов воздействия токсинов, а также определения тканеспецифического ответа на них [28–32].

Первые работы, выявившие мутагенные эффекты при воздействии рентгеновского излучения на клетки *Danio rerio*, были опубликованы в 1983 г. [33, 34]. Значительное повышение интереса к данному модельному организму в радиобиологии происходит в конце 1990-х – начале 2000-х годов, и с каждым годом количество исследовательских работ увеличивается. В качестве экспериментальной модели используются эмбрионы, мальки, а также взрослые особи *Danio rerio*. Методически подход к работе с разными стадиями отличается, поэтому в данном обзоре исследование эмбрионов и взрослых особей рассматривается отдельно.

ЭМБРИОНЫ *DANIO RERIO* КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Описаны следующие стадии развития эмбриона *Danio rerio* в течение первых трех суток после оплодотворения [19]:

1) зигота (0–45 мин после оплодотворения), совершающая первое митотическое деление;

2) дробление зиготы (45 мин – 2 ч 15 мин после оплодотворения), в ходе которого происходят 2–7-е синхронные митотические деления;

3) бластула (2 ч 45 мин–5 ч 15 мин), клетки которой характеризуются быстрыми метасинхронными митотическими циклами (№ 8–9), с последующими удлинненными асинхронными делениями, начало эпиболии;

4) формирование гастролы (5 ч 15 мин–10 ч), сопровождающееся закладкой эпибласта, гипобласта и эмбриональной оси, окончанием эпиболии;

5) сегментация (10–24 ч после оплодотворения), сопровождающаяся формированием сомитов, первичным органогенезом, формированием хвоста;

6) формирование фарингулы (24–48 ч после оплодотворения) – выпрямление главной оси тела относительно своей первоначальной изогнутости вокруг желточного мешка, запуск циркуляции крови, пигментации, развитие отделов тела;

7) выклев (42–72 ч после оплодотворения) – завершение морфогенеза первичных систем органов, развитие хрящевой ткани в головном и грудном отделе;

8) стадия раннего малька (от 72 ч), характеризующаяся развитием плавательного пузыря и появлением активно передвигающегося в поисках пищи малька.

Основные системы органов полностью формируются у *Danio rerio* к 72 ч после оплодотворения. Биологические эффекты ионизирующего излучения возможно оценивать на любой из вышеперечисленных стадий онтогенеза рыб. Помимо этого, ранние стадии развития *Danio rerio* крайне чувствительны к генотоксическому воздействию в связи с одновременной пролиферацией большого количества клеток [35], полным отсутствием иммунной системы [36, 37] и сниженной активностью систем репарации [37, 38]. Это позволяет визуализировать эффекты воздействия ионизирующего излучения даже в малых дозах. При этом морфологические нарушения в формировании зародышей легко наблюдать в связи с их почти полной прозрачностью. Так, в свете этих преимуществ, руководство Организации экономического сотрудничества и развития (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) рекомендует использование рыб, находящихся на ранних стадиях онтогенеза как экспериментальную модель для определения токсического эффекта любых загрязнителей [39–43]. Данное руководство выделяет следующие критерии оценки токсического воздействия на рыб: смертность эмбрионов, продолжительность стадии выклева, морфология зародыша (длина, масса, наличие разных форм патологии развития). Эти же критерии используются в экспери-

ментальных работах для оценки повреждающего действия разных видов радиации. Детельфсен и соавт. обнаружили, что в результате воздействия ультрафиолетового излучения на икру ершоватки *Limanda limanda* и морской камбалы *Pleuronectes platessa* повышается смертность эмбрионов, снижаются выклев мальков и их плавучесть [44]. Другая группа авторов также обнаружила УФ-индуцированные морфологические и гистологические нарушения в ходе эмбриогенеза африканских сомов *Clarias gariepinus* [45]. Множественные патологии развития были зарегистрированы у пресноводной японской медаки *Oryzias latipes* вследствие острого облучения [46, 47], в то время как при хроническом облучении было обнаружено лишь небольшое количество аномалий [48]. В целом эмбрионы *Oryzias latipes* чаще используются в исследованиях нарушения закладки нервной ткани при воздействии ионизирующего излучения в связи с тем, что морфогенез головного мозга у этих рыб протекает медленнее, чем у *Danio rerio* [49, 50].

Изменения продолжительности фаз эмбриогенеза у *Danio rerio*, вызываемые радиационным воздействием, также использовались в качестве маркера в нескольких радиобиологических работах. Так, Саймон и соавт. [51] показали, что облучение эмбрионов в дозах от 1 до 1000 мГр в течение 20 дней приводит к сокращению стадии выклева, изменению биомассы эмбрионов *Danio rerio* и повышению их смертности. В данном исследовании хроническое воздействие ионизирующего излучения даже в самой малой дозе (1 мГр) приводило к серьезным морфологическим нарушениям развития эмбрионов. При этом, согласно одному из официальных докладов МАГАТЭ, было установлено, что безопасным значением поглощенной дозы для водных организмов является 10 Гр [52]. В работе Миячи и соавт. исследовали особенности воздействия рентгеновского излучения в малой дозе (25 мГр) на разные фазы эмбриогенеза *Danio rerio* и также обнаружили значительное сокращение стадии выклева у облученных эмбрионов [53]. Причем при контакте с радиацией в процессе дробления зиготы или на стадии бластулы время следующей за ними стадии выклева сокращалось примерно на 6 ч, тогда как при воздействии излучения непосредственно на зиготу продолжительность выклева статистически значимо не изменялось [53].

Основным механизмом пагубного воздействия ионизирующего излучения считается внесение двуцепочечных разрывов в структуру ДНК [54]. Для оценки геномоповреждающего воздействия ионизирующего излучения на *Danio rerio* чаще других пользуются методом ДНК-комет [55]. Джарвис и Ноулз [20] использовали этот метод в своей работе для детекции разрывов ДНК в клетках двухдневных мальков *Danio rerio* после

воздействия γ -излучения с мощностью дозы 0.007, 0.02 и 0.12 мГр/мин в течение 1 или 24 ч. Показатели поврежденности ДНК, статистически значимо отличающиеся от контрольных значений, были получены для мощностей 0.02 и 0.12 мГр/мин, причем как для экспозиции в течение 1 ч, так и 24 ч. Таким образом, авторы подтвердили преимущественную роль мощности излучения по сравнению с продолжительностью экспозиции при возникновении радиобиологического ответа у *Danio rerio*, что в целом характерно для всех биомоделей.

В работе Саймона и соавт. [51] эмбрионы *Danio rerio* на стадии бластулы и на стадии сегментации подвергались воздействию γ -излучения в дозах от 1 до 1000 мГр в течение 48 ч. С помощью метода ДНК-комет авторы продемонстрировали значимое повышение степени повреждения ДНК в экспериментальных группах на 40–50% по сравнению с контролем. Помимо нарушения структуры ДНК, при воздействии ионизирующего излучения изменяется также профиль транскрипции, повышается экспрессия генов ростовых факторов, воспалительных белков и цитокинов [56]. В дальнейшем геноповреждающий эффект ионизирующего излучения был обнаружен в клетках эмбрионов *Danio rerio* во многих экспериментальных работах [9, 57–60]. Все эти работы демонстрируют крайнюю радиочувствительность зародышей *Danio rerio* на всех стадиях эмбриогенеза, предшествующих гаструляции (до 5 ч после оплодотворения). Икегами и соавт. полагают, что критическим моментом формирования радиорезистентности является переход к средней бластуле (midblastula transition, МВТ), когда нарушается синхронность дробления, и в слабо дифференцированных клетках эмбрионов запускается экспрессия ключевых генов, вовлеченных в репарацию ДНК [36].

Помимо прямого мутагенного действия, путем внесения двунитевых разрывов, ионизирующее излучение также приводит к индукции эпигенетических эффектов, таких как изменение паттерна метилирования ДНК, модификаций гистонов и профиля микроРНК [61–63]. У рыб ведущая роль в этих процессах отводится свободнорадикальным формам кислорода, индуцирующим эпигенетические эффекты при непрямом механизме действия ионизирующего излучения [64]. Камстра и соавт. впервые показали, что при облучении в клетках *Danio rerio* изменяется рисунок метилирования ДНК, причем этот эпигенетический феномен передается в ряду поколений [65]. Эмбрионы получили спустя 5,5 ч после оплодотворения от взрослых особей, подвергнутых воздействию γ -излучения с мощностью дозы 0.145 мГр/мин в течение 27 сут. В трех последующих поколениях, полученных от особей, подвергшихся радиационному воздействию, эмбрионы

исследовались на предмет распределения сайтов метилирования в геноме. Было обнаружено, что паттерн метилирования действительно изменяется, в частности в областях энхансеров и промоторов, которые регулируют экспрессию генов, вовлеченных в сигнальные пути гисто- и органогенеза, а также апоптоза и канцерогенеза [65].

Другие виды ионизирующего излучения, помимо γ -радиации, также исследуют на предмет последствий их воздействия на эмбриогенез *Danio rerio*. Так, в работе Сзабо и соавт. был рассчитан показатель относительной биологической эффективности (ОБЭ) протонного излучения на основе наблюдения за выживаемостью и появлением морфологических нарушений у эмбрионов *Danio rerio* [66]. Другая группа ученых, исследовавшая эффекты воздействия протонов, использовала эмбрионы *Danio rerio* через 24 ч после оплодотворения [67]. Эмбрионы подвергались воздействию протонов, при этом оценивали нарушения перехода к стадии раннего малька, а также нарушения экспрессии некоторых генов методами ДНК-микрочипов и qRT-PCR (Real Time-Polymerase Chain Reaction, полимеразная цепная реакция в реальном времени). Увеличение количества эмбрионов и мальков с аномальными фенотипами после облучения носило дозозависимый характер. Количество копий митохондрий и частота дыхания экспонированных эмбрионов значительно снизились. С помощью технологии ДНК-микрочипов было продемонстрировано, что сигнальные пути MAPK (mitogen-activated protein kinase, митоген-активируемая-протеинкиназа) и TGF- β (transforming growth factor beta, трансформирующий ростовой фактор бета), а также реакции гликолиза характеризуются изменениями в облученной группе, по сравнению с контрольной. Экспрессия генов матричной металлопептидазы 9 (mmp9) и ингибитора металлопептидазы TIMP 2b (timp2b), а также ферментативная активность MMP9 были значительно повышены в экспонированной группе. Сделаны выводы, что острое воздействие протонов оказывает серьезное влияние на развитие организма и приводит к появлению морфологических нарушений на ранней стадии эмбриогенеза *Danio rerio*, в основе которых лежит митохондриальная и гликолитическая дисфункция. Воздействие α -излучения на эмбрионы *Danio rerio* было также изучено в работе Юм и соавт. [68]. В ней описан метод, позволяющий рассчитывать поглощенную дозу α -излучения клетками эмбрионов *Danio rerio*. Облучение эмбрионов *Danio rerio* проводили через 4 ч после оплодотворения в течение 4 мин в дозах до 2.3 мГр. Были продемонстрированы морфологические нарушения в группах облученных эмбрионов по сравнению с контрольной группой. Последствия воздействия α -излучения стали предметом исследований, результаты которых

изложены в ряде других работ [69–71]. Нейтронным излучением в дозах от 0.6 до 100 мГр воздействовали на эмбрионы *Danio rerio* в работе Нг и соавт. для исследования радиационного гормезиса [72].

Некоторые исследования с *Danio rerio* анализируют механизм запуска апоптоза в результате токсического и радиационного воздействия. Так, в работе Ябу и соавт. показано, что воздействие УФ- и γ -излучения (5–20 Гр) стимулирует апоптоз у эмбрионов [73]. Апоптотические клетки наблюдались на стадии односомитного эмбриона с помощью TUNEL-метода (Transferase mediated dUTP Nick End Labeling). О запуске механизмов апоптоза также свидетельствовало многократное увеличение активности каспазы-3 [73]. В работе Бладен и соавт. [57] эмбрионы на стадии ранней гастрюлы подвергались воздействию γ -излучения в разных дозах (от 0 до 15 Гр). При этом, начиная с 0.5 Гр, при использовании TUNEL-метода количество TUNEL-позитивных апоптотических клеток значительно отличалось от такового в контрольной группе.

Эмбрионы *Danio rerio* также могут использоваться в качестве модели для оценки эффективности радиопротекторов и радиосенсибилизаторов. В работе МакАлера и соавт. [42] оценены эффекты рентгеновского излучения в сочетании с известным радиопротектором (акцептором свободных радикалов амифостином) или радиосенсибилизатором (ингибитором эпидермального ростового фактора AG1478). Воздействие ионизирующего излучения в дозах более 4 Гр приводило к гибели эмбрионов на стадии гастрюлы. При воздействии радиопротектора амифостина до облучения выживаемость эмбрионов повышалась, а количество таковых с морфологическими нарушениями, напротив, снижалось. Присутствие радиосенсибилизатора AG1478 привело к 20%-ному снижению выживаемости эмбрионов *Danio rerio* и повышению степени тератогенного воздействия излучения [42]. Радиопротекторные свойства амифостина в отношении *Danio rerio* были также показаны в работе Дарощи и соавт., опубликованной в 2009 г [74]. В этой же работе продемонстрированы радиосенсибилизирующие свойства ингибитора протеасом PS-341 и радиопротекторные свойства ингибиторов NF- κ B ER и CDDO-TFEA в отношении эмбрионов *Danio rerio*. Эмбрионы *Danio rerio* применялись также для изучения радиосенсибилизирующих свойств флавопиридола в тканях, подвергшихся воздействию γ -излучения или рентгеновского излучения. Выживаемость эмбрионов снизилась вдвое, а степень морфологических нарушений, напротив, повысилась в присутствии флавопиридола [58]. Ранее эта же группа авторов охарактеризовала радиопротекторные свойства наночастиц DF-1 на модели эмбрионов *Danio rerio* [59]. Добавление DF-1 замет-

но ослабляло повреждающий эффект ионизирующего излучения при приеме за 3 ч до и через 15 мин после облучения. Так, при использовании DF-1 увеличивалась выживаемость эмбрионов, снижалось количество аномальных фенотипов с искривленной боковой линией, а также с нарушениями выделительной функции [59]. В работе Конга и соавт. показано, что экзогенное назначение оксида азота (NO) также оказывает радиопротекторный эффект на эмбрионы *Danio rerio* [75].

Данные обзора, представленные выше, позволяют заключить, что эмбрионы *Danio rerio* удобны для изучения широчайшего спектра биологических эффектов ионизирующего излучения. Сегодня радиобиологи могут реализовывать многие исследовательские задачи, стоящие перед ними, с применением данной модели, в особенности оценку эффектов воздействия излучений в малых дозах. Ниже мы рассмотрим особенности применения взрослых особей *Danio rerio* в радиобиологическом эксперименте применимо к их крайней радиорезистентности.

ВЗРОСЛЫЕ ОСОБИ *DANIO RERIO* КАК ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Взрослые особи рыб гораздо более радиорезистентны, чем взрослые млекопитающие. ЛД_{50/30} γ -излучения для *Danio rerio* составляет 20.4 Гр [5], что сопоставимо с этим показателем у других представителей семейства: большого индийского карпа *Catla catla* (22.38 Гр, [26]), обыкновенного карпа *Cyprinus carpio* (21.6 Гр, [5]) и золотой рыбки *Carassius auratus* (23 Гр, [76]). Сходные показатели радиостойкости этих рыб объясняются филогенетическим родством и общими физиологическими, биохимическими и метаболическими особенностями. Необычайно высокие показатели полулетальных и абсолютных летальных доз, характерные для водных организмов в целом, связаны с тем, что у рыб реализуется в основном не прямой механизм действия ионизирующего излучения в связи с водной средой обитания [5]. Считается, что ключевую роль в индуцированном излучением повреждении ДНК у рыб играют гидроксил-радикалы [77].

Одним из основных детерминированных эффектов и непосредственных причин летального исхода у млекопитающих при воздействии больших доз ионизирующего излучения является цитопенический синдром [78]. Гемопозитическую функцию у рыб выполняет не красный костный мозг, а в основном почки, жабры, лимфоидный орган, тимус и другие органы [79]. Воздействие ионизирующего излучения в минимальной летальной дозе (40 Гр) на *Danio rerio* приводит к убыли гемопозитических клеток и всех групп лей-

коцитов в почке и смерти рыб в течение 14 дней. В работе Трэвера и соавт. пересадка части почки привела к 70%-ному повышению выживаемости взрослых особей в течение 30 дней после воздействия ионизирующего излучения в дозе 40 Гр [80]. Полученные авторами данные подтверждают, что холоднокровные животные являются более радиоустойчивыми по сравнению с теплокровными, что в целом согласуется с сильным влиянием температуры на радиочувствительность клеток живых организмов [78].

Степень радиобиологического ответа значительно отличается в клетках разных тканей рыб в связи с выполняемыми ими функциями. Наиболее часто при исследовании геноповреждающих эффектов различных агентов на модели взрослых особей *Danio rerio* используется периферическая кровь, полученная из хвостовой вены. По сравнению с другими соматическими клетками, содержащие ядро и способные к пролиферации эритроциты рыб оказываются более радиочувствительными по причине кислородного эффекта, возникающего в них в связи с выполняемой функцией [36]. Другим объектом, используемым в некоторых работах в области акватоксикологии, являются ткани жабр [81, 82]. В связи с непосредственным контактом с водной средой, а также ролью в газообмене и осморегуляции, жабры подвергаются сильному воздействию акватоксинов и продуктов радиолиза.

Небольшое число фундаментальных радиобиологических исследований уже проведено на модели *Danio rerio*. Показано, что при поступлении радионуклидов через воду излучение оказывает более серьезный эффект на организм по сравнению с другими механизмами. Это было продемонстрировано в работе Рейнарди и соавт. [83], где взрослые особи *Danio rerio* контактировали с радионуклидами разной природы через пищу или через воду. При этом концентрация радионуклидов в тканях рыб статистически значимо отличалась от контроля в обоих случаях, однако при поступлении через воду она была значительно выше. Кроме того, по сравнению с результатами, полученными при исследовании различных морских рыб [84, 85], у *Danio rerio* обнаруживалась более высокая скорость биоаккумуляции радионуклидов. Это может объясняться тем, что пресноводные рыбы более активно принимают из среды ионы для поддержания гомеостаза [86]. Среди пресноводных рыб контакт с радионуклидами в естественной среде имитировали в экспериментах с *Pimephales promelas*. Было также обнаружено, что особенно активно аккумуляция радионуклидов происходит на ранних этапах эмбриогенеза, характеризующихся активной пролиферацией клеток. Взрослые особи характеризовались крайней радиорезистентностью и низкой скоростью биоаккумуляции [87, 88].

Влияние ионизирующего излучения на взрослых особей *Danio rerio* в большинстве опубликованных работ оценивают по изменению физиологических показателей. Нарушение репродуктивной функции взрослых особей после радиационного воздействия было продемонстрировано в исследовании Хурем и соавт. [89]. Взрослых особей подвергали воздействию γ -излучения с мощностью дозы 0.145 и 0.88 мГр/мин в течение 27 сут, после чего наблюдали за изменением репродуктивной функции. Следует отметить, что при действии излучения с мощностью дозы 0.145 мГр/мин продукция эмбрионов значительно снизилась через год после облучения, а через 1.5 года после облучения была обнаружена полная регрессия репродуктивных органов. Снижение фертильности в зависимости от дозы оказалось пропорционально количеству повреждений ДНК, визуализированных методом ДНК-комет в эритроцитах периферической крови [89].

Наследование геноповреждающих эффектов ионизирующего излучения потомками взрослых особей *Danio rerio* становилось предметом исследования в нескольких работах. В работе Лемос и соавт. взрослые особи подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозах 0.1; 0.5 и 1.0 Гр [35]. При этом было получено потомство от каждой группы облученных рыб. Эритроциты периферической крови взрослых особей и клетки эмбрионов первого поколения анализировались с помощью метода ДНК-комет. Количество повреждений ДНК в клетках крови взрослых особей увеличивалось дозозависимо при измерении в первый день после облучения, но впоследствии возвращалось к контрольному. Степень повреждения ДНК у потомков коррелировала со степенью повреждения ДНК родительских особей [35]. Эти результаты подтвердили геноповреждающее действие радиации при однократных облучениях в малых дозах для взрослых особей и их потомков, а также дозозависимость геноповреждающего эффекта ионизирующего излучения на *Danio rerio*.

Степень генотоксического воздействия различных веществ на *Danio rerio* также анализируют по изменению профиля генной экспрессии. При этом измеряют количество мРНК, соответствующей специфичным транскрибируемыми генам. Это позволяет не только охарактеризовать токсикогеномику агента, но и предположить, как можно предотвратить его эффект [54, 90]. В работе Джафаар и соавт. 16-недельные особи *Danio rerio* подвергались воздействию радиации в дозе 0.1 или 1.0 Гр. При этом изменялись профили более чем 2000 транскриптов, среди которых были в основном модуляторы фактора p53, а также факторы каскада NTF-C/EBP (ССААТ/enhancer-binding protein, белок, связывающийся с энхансером ССААТ) [56]. Правенкумар и соавт. [5] в своей работе анализировали у *Danio rerio* экспрессию

некоторых генов, участвующих в остановке жизненного цикла клетки (*p53*), апоптозе (*Bax*) и репарации ДНК (*rad51*). Значительное увеличение экспрессии этих генов было обнаружено в клетках разных тканей взрослых особей *Danio rerio* при воздействии γ -излучения, начиная с 5.0 Гр. Похожие исследования с использованием в качестве модели японской медаки *Oryzias latipes* выявили сходные изменения профиля экспрессии генов, ассоциированных с репарацией ДНК и контролем клеточного цикла [91]. В дальнейшем это послужило толчком для предложения эффективного протокола по анализу изменений протеома *Oryzias latipes* после воздействия ионизирующего излучения, который, очевидно, можно использовать и для *Danio rerio* [92].

Эпигенетические процессы и изменение их протекания в связи с воздействием ионизирующего излучения также исследуют с использованием взрослых особей *Danio rerio*. Так, было установлено, что контакт с радионуклидами меняет паттерн метилирования у особей рыб разного пола [93].

Как и эмбрионы *Danio rerio*, взрослые особи этого организма могут использоваться для исследования эффективности радиопротекторов. В работе Мустафа и соавт. [94] в корм рыб *Danio rerio* в течение 60 сут добавлялись личинки *Chironomus* sp., инкапсулированные с мумие, после чего подвергали воздействию рентгеновского излучения в дозе 1.0 Гр. Через 72 ч после облучения экспериментальные группы сравнивали с контролем для оценки радиопротекторных свойств личинок *Chironomus* sp., инкапсулированных с мумие. При этом использовали различные показатели: от анализа изменения поведения до биохимических методов оценки степени формирования свободных радикалов кислорода (концентрация супероксиддисмутазы, глутатион пероксидазы, глутатионредуктазы). Степень повреждения ДНК оценивали с помощью метода ДНК-комет. Все перечисленные показатели были ниже в группах *Danio rerio*, которым предварительно добавляли в пищу личинки *Chironomus* sp., инкапсулированные с мумие, что доказало радиопротекторные свойства исследуемого агента.

Представленная выше часть нашего обзора, посвященная эмбрионам и взрослым особям *Danio rerio*, указывает на растущую популярность этих экспериментальных моделей для оценки эффектов воздействия ионизирующего излучения. Однако следует отметить, что сегодня в фундаментальных радиобиологических работах эмбрионы *Danio rerio* используются значительно чаще, чем взрослые особи. Приняв к сведению высокую радиорезистентность взрослых рыб, мы предполагаем, что особенно перспективно их использование в качестве животных моделей для скринин-

га экотоксикантов, потенцирующих радиационные факторы. Наиболее быстрым и простым методом биоиндикации, не требующим специфического технического оснащения, является микроядерный тест. Далее мы постараемся оценить перспективу использования взрослых особей в решении практических задач, связанных с биоиндикацией радиоактивных экотоксикантов с помощью эритроцитарного микроядерного экспресс-теста.

Микроядерный тест широко используется в радиобиологии и позволяет оценить геноповреждающий эффект различных агентов по количеству формирующихся в клетке микроядер [95]. Основным механизмом появления микроядер считают появление двуцепочечных разрывов ДНК, вследствие чего ацентрический фрагмент хромосомы не включается в состав основного ядра во время митоза и обособляется в виде микроядра [96, 97]. Кроме того, микроядра могут нести целую хромосому по причине нарушения формирования веретена деления и некорректного распределения хромосом по полюсам [98]. Микроядра у рыб меньших размеров по сравнению с микроядрами млекопитающих (примерно 1/30–1/10 часть диаметра основного клеточного ядра). Количество формирующихся микроядер в конечном счете зависит от степени пролиферации клеток, которая отличается в разных тканях у разных видов рыб. В акватоксикологии микроядерный тест нашел широкое применение. Так, в исследованиях разных лет на *Danio rerio* и других водных организмах эта методика уже использовалась для биоиндикации токсинов в водной среде [99–102]. Статистически значимое увеличение частоты встречаемости микроядер было обнаружено в клетках американских сомоков *Ictalurus punctatus*, обитавших в загрязненных вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС водоемах [103], а также обыкновенных щук *Esox Lucius*, подвергшихся воздействию радиоактивных веществ в результате аварии на Сибирском химическом комбинате [104]. Таким образом, микроядерный тест неоднократно использовался для выявления случаев радиационного поражения водной фауны. Мы предполагаем перспективу применения этой методики с целью радиоэкологического мониторинга на модели *Danio rerio* в связи с ее широкой распространенностью в дикой природе. Кроме того, взрослые особи *Danio rerio* также могут стать релевантной лабораторной тест-системой для оценки радиосенсибилизирующих и радиопротекторных свойств разрабатываемых агентов с применением микроядерного теста в связи с дешевой и удобством поддержания аквакультуры. На сегодняшний день выполнено небольшое количество исследований с использованием микроядерного теста на взрослых особях *Danio rerio*.

В работе Правенкумар и соавт. [5] подсчитывалось количество микроядер в клетках *Danio rerio* при воздействии на взрослых особей γ -излучения в широком диапазоне доз (от 0.2 до 10.0 Гр) в разные интервалы взятия биологического материала (24, 48, 72 ч). Исследовались эритроциты периферической крови, клетки ткани жабр и мышечные клетки. Было обнаружено значительное увеличение частоты встречаемости микроядер во всех исследованных тканях после воздействия ионизирующего излучения. Увеличение количества микроядер при этом носило дозозависимый характер. Наименьшая частота встречаемости микроядер была характерна для 24 ч после облучения, средняя – для 48 ч и самая высокая – для 72 ч. С помощью метода ДНК-комет было установлено, что значительное увеличение повреждений ДНК также происходило при воздействии ионизирующего излучения, при этом степень повреждения снижалась от 24 к 72 ч после облучения. Таким образом, большая часть двуцепочечных разрывов претерпевала репарацию с разной степенью успеха к 72 ч и приводила к формированию микроядер.

В работе Хурем и соавт. эритроцитарный микроядерный тест также использовался в качестве методики для выявления геноповреждающего эффекта радиации на взрослых особей *Danio rerio* [89]. При этом воздействие излучения с обеими исследованными мощностями (0.145 и 0.88 мГр/мин) стимулировало формирование микроядер, отличное от контрольной группы. Данная работа посвящена исследованию воздействия ионизирующего излучения на фертильность рыб и продемонстрировала корреляцию репродуктивных нарушений с геноповреждающим эффектом радиации [89].

Техника микроядерного теста адаптируема даже под полевые условия и применяется в передвижной эколаборатории. Мазки, изготовленные в полевых условиях, могут быть оцифрованы на слайд-сканере и обработаны в референтной лаборатории. Применение микроядерного теста в исследованиях на рыбах может стать потенциальным универсальным методом для биоиндикационной оценки радиационного загрязнения внутренних водоемов. В связи с высокой радиостойчивостью *Danio rerio* микроядерный тест на их модели представляется особенно перспективным для проведения экспресс-скрининга радиосенсибилизирующих свойств различных агентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пресноводные рыбы *Danio rerio* – это общепризнанная экспериментальная модель в медицине и биологии. Сегодня существенна также перспектива использования этих животных в качестве модели для радиобиологических исследо-

ваний. В настоящий момент одновременно ведется большое число новых работ с использованием *Danio rerio*, проливающих свет на фундаментальные механизмы радиобиологического ответа, а также открывающих новые возможности для разработки потенциальных радиопротекторов и радиосенсибилизаторов. Проведение биоиндикационных тестов на *Danio rerio* возможно как в условиях экспериментальной лабораторной аквакультуры, так и на животных, изъятых из естественных местообитаний. Методические подходы к работе с *Danio rerio* разнообразны и предоставляют решение для широкого круга исследовательских задач. В этой связи целью данного обзора было знакомство широкой аудитории специалистов в области радиобиологии и радиоэкологии с различными по своей доступности, простоте исполнения и информативности работами, использующими *Danio rerio* в качестве модельного объекта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Real A., Sundell-Bergman S., Knowles J.F. et al. Effects of ionizing radiation exposure on plants, fish and mammals: relevant data for environmental radiation protection // J. Radiol. Prot. 2004. V. 24. № 4A. P. 123–137.
2. Mudbhary R., Sadler K.S. Epigenetics, development and cancer: Zebrafish make their mark // Birth Defects Res. C Embryo Today. 2011. № 93. P. 194–203.
3. Lieschke G.J., Currie P.D. Animal models of human disease: Zebrafish swim into view // Nat. Rev. Genet. 2007. № 8. P. 353–367.
4. Zhang R., He J., Wang X. et al. Report of the Fifth Zebrafish Research Conference of China // Zebrafish. 2019. V. 16. № 1. P. 128–134.
5. Praveen Kumar M.K. Molecular Cytogenetic Studies on the Toxic Effects of Gamma Radiation in Zebrafish and Common Carp: Дис. ... д-ра биол. наук. India, Goa University, 2017.
6. Kong E., Cheng S., Yu K. Zebrafish as an in vivo model to assess epigenetic effects of ionizing radiation // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. № 12. P. e2108.
7. Lu B., Hwang M., Yong C. et al. Zebrafish as a model system to screen radiation modifiers // Curr. Genomics. 2007. V. 8. № 6. P. 360–369.
8. Корж В., Кондричин І., Віната Ц. Даніо – нова модельна система експериментальної біології // Цитологія і генетика. 2018. Т. 52. № 6. С. 18–29. [Korzh V., Kondrichin I., Vinata Ts. Danio – nova model'na sistema experimental'noyi biologiyi // Citologiya i genetika. 2018. T. 52. № 6. С. 18–29. (In Ukrainian)]
9. Geiger G.A., Parker S.E., Beothy A.P. et al. Zebrafish as a “biosensor”? Effects of ionizing radiation and amifostine on embryonic viability and development // Cancer Res. V. 66. № 16. P. 8172–8181.
10. Sanger Institute. Zebrafish genome project. Available online: http://www.sanger.ac.uk/Projects/D_rerio/
11. E!Ensembl. Available online: http://www.ensembl.org/Danio_rerio?Info?Index

12. *Howe K., Clark M.D., Torroja C.F. et al.* The Zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome // *Nature*. 2013. № 496. P. 498–503.
13. *Trede N.S., Langenau D.M., Traver D. et al.* The use of Zebrafish to understand immunity // *Immunity*. 2004. № 20. P. 367–379.
14. *Zon L.I., Peterson R.T.* In vivo drug discovery in the zebrafish // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2005. № 4. P. 35–44.
15. *Zon L.I.* Zebrafish: a new model for human disease // *Genome Res.* 1999. № 9. P. 99–100.
16. *Avdesh A., Chen M., Martin-Iverson M.T. et al.* Regular care and maintenance of a zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: an introduction // *J. Vis. Exp.* 2012. № 69. P. 1–8.
17. *Peng W.H., Lee Y.C., Chau Y.P. et al.* Short-Term Exposure of Zebrafish Embryos to Arecoline Leads to Retarded Growth, Motor Impairment, and Somite Muscle Fiber Changes // *Zebrafish*. 2015. V. 15. № 1. P. 58–70.
18. *Hoo J.Y., Kumari Y., Shaikh M.F. et al.* Zebrafish: A Versatile Animal Model for Fertility Research // *Biomed. Res. Int.* 2016. V. 2016. P. 1–20.
19. *Kimmel C.B., Ballard W.W., Kimmel S.R. et al.* Stages of embryonic development of the zebrafish // *Dev. Dynam.* 1995. V. 203. P. 253–310.
20. *Jarvis R.B., Knowles J.F.* DNA damage in zebrafish larvae induced by exposure to low-dose rate-radiation: detection by the alkaline comet assay // *Mutat. Res.* 2003. V. 542. № 1–2. P. 63–69.
21. *Klingerman A.D.* Fishes as biological detectors of the effects of genotoxic agents // *Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology* / Ed. J.A. Heddle. New York: Academic Press, 1985. P. 435–453.
22. *Chen E., Ekker S. C.* Zebrafish as a genomics research model // *Curr. Pharmaceut. Biotechnol.* 2004. V. 5. № 5. P. 409–413.
23. *Nasevicius A., Ekker S.C.* The zebrafish as a novel system for functional genomics and therapeutic development applications // *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2001. V. 3. № 3. P. 224–228.
24. The 1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. 1991. Ann. ICRP. V. 21. № 1–3. P. 1–201.
25. The 2007. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. Ann. ICRP. 2007. V. 37. № 2–4. P. 1–332.
26. *Anbumani S., Mohankumar M.N.* Gamma radiation induced micronuclei and erythrocyte cellular abnormalities in the fish *Catla catla* // *Aquat. Toxicol.* 2012. № 122–123. P. 125–132.
27. *Streisinger G.* Extrapolations from species to species and from various cell types in assessing risks from chemical mutagens // *Mutat. Res.* 1983. № 114. P. 93–105.
28. *Gamse J.T., Gorelick D.A.* Mixtures, metabolites, and mechanisms: Understanding toxicology using zebrafish // *Zebrafish*. 2016. V. 13. № 5. P. 377–378.
29. *Carvan M.J. 3rd, Dalton T.P., Stuart G.W. et al.* Transgenic zebrafish as sentinels for aquatic pollution // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2000. № 919. P. 133–147.
30. *Gorelick D.A., Iwanowicz L.R., Hung A.L. et al.* Transgenic zebrafish reveal tissue-specific differences in estrogen signaling in response to environmental water samples // *Environ. Health Perspect.* 2014. V. 122. № 4. P. 356–362.
31. *Gorelick D.A., Pinto C.L., Hao R. et al.* Use of reporter genes to analyze estrogen response: The transgenic zebrafish model // *Meth. Mol. Biol.* 2016. № 1366. P. 315–325.
32. *Lee O., Green J.M., Tyler C.R.* Transgenic fish systems and their application in ecotoxicology // *Crit. Rev. Toxicol.* 2015. V. 45. № 2. P. 124–141.
33. *Chakrabarti S., Streisinger G., Singer F. et al.* Frequency of γ -ray induced specific locus and recessive lethal mutations in mature germ cells of the zebrafish, *Brachydanio rerio* // *Genetics*. 1983. V. 103. № 1. P. 109–123.
34. *Walker C., Streisinger G.* Induction of mutations by γ -rays in pregonial germ cells of zebrafish embryos // *Genetics*. 1983. V. 103. № 1. P. 125–136.
35. *Lemos J., Neuparth T., Trigo M. et al.* Single low-dose ionizing radiation induces genotoxicity in adult zebrafish and its non-irradiated progeny // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2017. V. 98. № 2. P. 190–195.
36. *Ikegami R., Rivera Bennets A.K., Brooker D.L. et al.* Effect of inhibitors of DNA replication on early zebrafish embryos: Evidence for coordinate activation of multiple intrinsic cell-cycle checkpoints at the mid-blastula transition // *Zygote*. 1997. V. 5. № 2. P. 153–175.
37. *Bai T., Seebald J.L., Kim K.E. et al.* Disruption of zebrafish cyclin G-associated kinase (GAK) function impairs the expression of Notch-dependent genes during neurogenesis and causes defects in neuronal development // *BMC Dev. Biol.* 2010. № 10. P. 1–17.
38. *AshaRani P.V., Low Kah M.G., Hande M.P. et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells // *ACS Nano*. 2009. V. 3. № 2. P. 279–290.
39. *Embry M.R., Belanger S.E., Braunbeck T.A. et al.* The fish embryo toxicity test as an animal alternative method in hazard and risk assessment and scientific research // *Aquat. Toxicol.* 2010. V. 97. № 2. P. 79–87.
40. *Bourrachot S., Simon O., Gilbin R.* The effects of waterborne uranium on the hatching success, development and survival of early life stages of zebrafish *Danio rerio* // *Aquat. Toxicol.* 2008. V. 90. № 1. P. 29–36.
41. *Frayse B., Mons R., Garric J.* Development of a zebrafish 4-day embryo-larval bioassay to assess toxicity of chemicals // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2006. V. 63. № 2. P. 253–267.
42. *McAleer M.F., Davidson C., Davidson W.R.* Novel use of zebrafish as a vertebrate model to screen radiation protectors and sensitizers // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005. V. 61. № 1. P. 10–13.
43. *Nguyen L.T., Janssen C.R.* Embryo-larval toxicity tests with the African catfish (*Clarias gariepinus*): Comparative sensitivity of endpoints // *Arch. Environ. Con. Toxicol.* 2002. V. 42. № 2. P. 256–262.
44. *Dethlefsen V., Westernhagen H., Tüg H. et al.* Influence of solar ultraviolet-B on pelagic fish embryos: osmolality, mortality and viable hatch // *Helgoland Marine Res.* 2001. № 55. P. 45–55.

45. *Mahmoud U.M., Mekkawy I.A.A., Sayed A.E.D.H.* Ultraviolet radiation-A (366 nm) induced morphological and histological malformations during embryogenesis of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) // *J. Photochem. & Photobiol. B: Biology*. 2009. № 95. P. 117–128.
46. *Yasuda T., Aoki K., Matsumoto A. et al.* Radiation-induced brain cell death can be observed in living medaka embryos // *J. Radiat. Res.* 2006. № 47. P. 295–303.
47. *Kuhne W.W., Gersey B.B., Wilkins R. et al.* Biological effects of high-energy neutrons measured in vivo using a vertebrate model // *Radiat. Res.* 2009. № 172. P. 473–480.
48. *Hyodo-Taguchi Y., Etoh H.* Vertebral malformations in medaka (teleost fish) after exposure to tritiated water in the embryonic stage // *Radiat. Res.* 1993. № 135. P. 400–404.
49. *Wittbrodt J., Shima A., Schartl M.* Medaka – a model organism from the far East // *Nat. Rev. Genet.* 2002. V. 3. № 1. P. 53–64.
50. *Furutani-Seiki M., Wittbrodt J.* Medaka and zebrafish, an evolutionary twin study // *Mech. Develop.* 2004. V. 121. № 7–8. P. 629–637.
51. *Simon O., Massarin S., Coppin F. et al.* Investigating the embryo/larval toxic and genotoxic effects of γ -irradiation on zebrafish eggs // *J. Environ. Radioact.* 2011. V. 102. № 11. P. 1039–1044.
52. IAEA, 1992. International Atomic Energy Agency. Effects of Ionizing Radiation on Plants and Animals at Levels Implied by Current Radiation Protection Standards. Technical Reports Series # 332. Vienna: IAEA, 1992.
53. *Miyachi Y., Kanao T., Okamoto T.* Marked depression of time interval between fertilization period and hatching period following exposure to low-dose X-rays in zebrafish // *Environ. Res.* 2003. V. 93. № 2. P. 216–219.
54. *Little J.B.* Induction of genetic instability by ionizing radiation // *C.R. Acad. Sci. III*. 1999. № 322. P. 127–134.
55. *Kumaravel T.S., Jha A.N.* Reliable Comet assay measurements for detecting DNA damage induced by ionising radiation and chemicals // *Mutat. Res. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2006. V. 605. № 1–2. P. 7–16.
56. *Jaafar L., Podolsky R.H., Dynan W.S.* Long-term effects of ionizing radiation on gene expression in a zebrafish model // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 7. P. 1–10.
57. *Bladen C.L., Lam W.K., Dynan W.S. et al.* DNA damage response and Ku80 function in the vertebrate embryo // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. № 9. P. 3002–3010.
58. *McAleer M.F., Duffy K.T., Davidson W.R. et al.* Antisense inhibition of cyclin D1 expression is equivalent to flavoperidol for radiosensitization of zebrafish embryos // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006. V. 66. № 2. P. 546–551.
59. *Daroczi B., Kari G., McAleer M.F.* In vivo radioprotection by the fullerene nanoparticle DF-1 as assessed in a zebrafish model // *Clin. Cancer Res.* 2006. V. 12. № 23. P. 7086–7091.
60. *Gagnaire B., Cavalié I., Pereira S. et al.* External gamma irradiation-induced effects in early-life stages of zebrafish, *Danio rerio* // *Aquat. Toxicol.* 2015. V. 169. P. 69–78.
61. *Anderson D., Brinkworth M.H.* Male-mediated Developmental toxicity. Royal Society of chemistry. Cambridge, UK, 2007.
62. *Jirtle R.L., Skinner M.K.* Environmental epigenomics and disease susceptibility // *Nat. Rev. Genet.* 2007. V. 8. № 4. P. 253.
63. *Ilnytskyi Y., Kovalchuk O.* Non-targeted radiation effects – an epigenetic connection // *Mutat. Res.* 2011. V. 714. № 1–2. P. 113–125.
64. *Franco R., Schoneveld O., Georgakilas A.G. et al.* Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis // *Cancer Lett.* 2008. № 266. P. 6–11.
65. *Kamstra J.H., Hurem S., Martin L.M. et al.* Ionizing radiation induces transgenerational effects of DNA methylation in zebrafish // *Sci. Per.* 2018. V. 8. № 1. P. 1–13.
66. *Szabó E.R., Brand M., Hans S. et al.* Radiobiological effects and proton RBE determined by wildtype zebrafish embryos // *PLoS One*. 2018. V. 13. № 11. P. 1–18.
67. *Li X., Zha X., Wang Y. et al.* Toxic effects and foundation of proton radiation on the early-life stage of zebrafish development // *Chemosphere*. 2018. № 200. P. 302–312.
68. *Yum E.H.W., Ng C.K.M., Lin A.C.C. et al.* Experimental setup for studying the effects of alpha particles on zebrafish embryos // *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. Section B. Beam Interact. Mat. Atoms*. 2007. V. 264. № 1. P. 171–176.
69. *Kong E.Y., Choi V.W.Y., Cheng S.H. et al.* Some properties of the signals involved in unirradiated zebrafish embryos rescuing α -particle irradiated zebrafish embryos // *Int. J. Radiat. Biol.* 2014. V. 90. № 12. P. 1133–1142.
70. *Choi V.W.Y., Konishi T., Oikawa M. et al.* Adaptive response in zebrafish embryos induced using microbeam protons as priming dose and X-ray photons as challenging dose // *J. Radiat. Res.* 2010. V. 51. № 6. P. 657–664.
71. *Choi V.W.Y., Konishi T., Oikawa M. et al.* The threshold number of protons to induce an adaptive response in zebrafish embryos // *J. Radiol. Prot.* 2013. V. 33. № 1. P. 91.
72. *Ng C.Y.P., Kong E.Y., Konishi T. et al.* Low-dose neutron dose response of zebrafish embryos obtained from the Neutron exposure Accelerator System for Biological Effect Experiments (NASBEE) facility // *Radiat. Phys. Chem.* 2015. V. 114. P. 12–17.
73. *Yabu T., Todoriki S., Yamashita M.* Stress-induced apoptosis by heat shock, UV and γ -ray irradiation in zebrafish embryos detected by increased caspase activity and whole-mount TUNEL staining // *Fisher. Sci.* 2001. V. 67. № 2. P. 333–340.
74. *Daroczi B., Kari G., Ren Q. et al.* Nuclear factor κ B inhibitors alleviate and the proteasome inhibitor PS-341 exacerbates radiation toxicity in zebrafish embryos // *Mol. Cancer Ther.* 2009. V. 8. № 9. P. 2625–2634.
75. *Kong E.Y., Yeung W.K., Chan T.K. et al.* Exogenous nitric oxide suppresses in vivo X-ray-induced targeted and non-targeted effects in zebrafish embryos // *Int. J. Mol. Sci.* 2016. V. 17. № 8. P. 1321.

76. *Driver C.J.* Ecotoxicity literature review of selected Hanford site contaminants. Richland, WA, USA: Pacific Northwest Lab., 1994.
77. *Morgan W.F., Sowa M.B.* Effects of ionizing radiation in nonirradiated cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. № 40. P. 14127–14128.
78. *Bacq Z.M., Alexander P.* Fundamentals of radiobiology. London: Butterworths Publication Ltd., 1954.
79. *Davidson A.J., Zon L.I.* The “definitive” (and “primitive”) guide to zebrafish hematopoiesis // *Oncogene.* 2004. V. 23. № 43. P. 7233.
80. *Traver D., Herbomel P., Patton E.E. et al.* The zebrafish as a model organism to study development of the immune system // *Adv. Immun.* 2003. № 81. P. 253.
81. *Kaweewat K., Hofer R.* Effect of UV-B radiation on goblet cells in the skin of different fish species // *J. Photochem. Photobiol. B.* 1997. V. 41. № 3. P. 222–226.
82. *Sharma J.G., Chakrabarti R.* Effects of UV-B radiation on the gills of *Catla catla* during early development // *Toxicol. Environ. Chem.* 2006. V. 88. № 2. P. 367–371.
83. *Reinardy H.C., Teyssie J.L., Jeffree R.A. et al.* Uptake, depuration, and radiation dose estimation in zebrafish exposed to radionuclides via aqueous or dietary routes // *Sci. Total Environ.* 2011. V. 409. № 19. P. 3771–3779.
84. *Jeffree R.A., Teyssie J.L.* Is there a chondrichthyan bioaccumulation paradigm // *CYBIUM.* 2006. V. 30. № 4. P. 113–117.
85. *Mathews T., Fisher N.S., Jeffree R.A.* Assimilation and retention of metals in teleost and elasmobranch fishes following dietary exposure // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2008. № 360. P. 1–12.
86. *Sloman K.A., Wilson R.W., Balshine S.* Behavior and physiology of Fish // *Fish Physiol.* 2006. № 24. P. 1–504.
87. *Mothersill C., Larivière D., Smith R. W. et al.* Dosimetric analysis of fathead minnow (*Pimephales promelas*, Rafinesque, 1820) exposed via ingestion to environmentally relevant activities of Ra-226 for two years // *Int. J. Radiat. Biol.* 2013. V. 90. № 2. P. 169–178.
88. *Mothersill C., Smith R., Lariviere D., Seymour C.* Chronic exposure by ingestion of environmentally relevant doses of (226)Ra leads to transient growth perturbations in fathead minnow (*Pimephales promelas*, Rafinesque, 1820) // *Int. J. Radiat. Biol.* 2013. V. 89. № 11. P. 950–964.
89. *Hurem S., Gomes T., Brede D.A. et al.* Gamma irradiation during gametogenesis in young adult zebrafish causes persistent genotoxicity and adverse reproductive effects // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018. № 154. P. 19–26.
90. *Freeman J.L., Weber G.J., Peterson S.M. et al.* Embryonic ionizing radiation exposure results in expression alterations of genes associated with cardiovascular and neurological development, function and disease and modified cardiovascular function in zebrafish // *Front. Genet.* 2014. № 5. P. 268–279.
91. *Smith R.W., Wang J., Mothersill C.E. et al.* Proteomic changes in the gills of wild-type and transgenic radiosensitive medaka following exposure to direct irradiation and to X-ray induced bystander signals // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. V. 1814. P. 290–298.
92. *Pérez-Gélvez Y., Unger S., Gutiérrez-Sánchez G. et al.* An Effective Protocol for Proteome Analysis of Medaka (*Oryzias latipes*) after Acute Exposure to Ionizing Radiation // *Meth. Protocols.* 2019. № 2 (3). Pii: E66.
93. *Gombeau K., Pereira S., Ravanat J.L. et al.* Depleted uranium induces sex- and tissue-specific methylation patterns in adult zebrafish // *J. Environ. Radioact.* 2016. № 154. P. 25–33.
94. *Musthafa M.S., Athaullah A., Andumani S. et al.* Ameliorative efficacy of bioencapsulated Chironomus larvae with Shilajit on Zebrafish (*Danio rerio*) exposed to Ionizing radiation // *Appl. Radiat. Isot.* 2017. № 128. P. 108–113.
95. *Fenech M.* Cytokinesis-block micronucleus cytome assay // *Nat. Protoc.* 2007. № 2. P. 1084–1104.
96. *Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T. et al.* Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells // *Mutagenesis.* 2011. V. 26. № 1. P. 125–132.
97. *Анбумани С., Ливанова А.А., Федорцева Р.Ф.* Ядерные аномалии соматических клеток как универсальные индикаторы воздействия ионизирующего излучения // *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* 2017. № 2. С. 66–75. [*Anbumani S., Livanova A.A., Fedortseva R.F.* Yadernye anomalii somaticheskikh kletok kak universal'nye indicatory vozdeystviya ioniziruyushchego izlucheniya // *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh.* 2017. № 2. P. 66–75. (In Russian)]
98. *Norppa H., Falck G.C.M.* What do human micronuclei contain? // *Mutagenesis.* 2003. V. 18. № 3. P. 221–233.
99. *Krishnaraj C., Harper S.L., Yuna S.I.* In Vivo toxicological assessment of biologically synthesized silver nanoparticles in adult Zebrafish (*Danio rerio*) // *J. Hazard Mater.* 2016. № 301. P. 480–491.
100. *Şişman T.* Early life stage and genetic toxicity of stannous chloride on zebrafish embryos and adults: toxic effects of tin on zebrafish // *Environ. Toxicol.* 2011. V. 26. № 3. P. 240–249.
101. *Oliveira R., Domingues I., Koppe Grisolia C. et al.* Effects of triclosan on zebrafish early-life stages and adults // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2009. V. 16. № 6. P. 679–688.
102. *Kovács R., Csenki Z., Bakos K. et al.* Assessment of toxicity and genotoxicity of low doses of 5-fluorouracil in zebrafish (*Danio rerio*) two-generation study // *Water Res.* 2015. № 77. P. 201–212.
103. *Sugg D.W., Bickham J.W., Brooks J.A. et al.* DNA damage and radiocesium in channel cat fish from Chernobyl // *Environ. Toxicol. Chem.* 1996. № 15. P. 1057–1063.
104. *Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh E.N., Ilyinskikh I.N.* Micronucleated erythrocytes frequency and radiocesium bioconcentration in pikes (*Esox lucius*) caught in the Tom River near the nuclear facilities of the Siberian Chemical Complex (Tomsk-7) // *Fund. Molec. Mechan. Mutagen.* 1998. № 421. P. 197–203.

***Danio rerio* as an Experimental Model in Radiobiology**

A. A. Livanova^{a,#}, A. V. Zavirsky^a, and V. Yu. Kravtsov^a

^a*S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia*

[#]*E-mail: alexandralivanova@mail.ru*

The review is focused on the analysis of published research using *Danio rerio* embryos, larvae or adult fish as an animal model for radiobiological experiments. Freshwater fish *Danio rerio*, known in foreign literature as *Zebrafish*, has already become a world-famous model in developmental biology, molecular and cellular biology, fundamental genetics, and toxicology. Currently, the amount of studies using *Danio rerio* as a model in both fundamental radiobiological experiments or radioecological monitoring of pollution of aquatic ecosystems is increasing dramatically. In the experiment, both embryos or larvae and adult fish are equally used. At the same time, embryos and larvae are extremely radiosensitive, which makes it possible to study the effects of radiation exposure in small doses, and on the other hand, adult fish are characterized by extreme radioreistance, which determines the prospect of their use for assessing the activity of agents that potentiate the mutagenic effect of ionizing radiation. The set of methodological tools for working with *Danio rerio* is quite large, and the preference of the researcher is determined by the specific tasks and technical equipment of the laboratory.

Keywords: *Danio rerio*, zebrafish, radioecological monitoring, bioindication, model organism

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 616-03:615.458:539.1.047

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНГАЛЯЦИОННОЙ ДОСТАВКИ МЕДИЦИНСКИХ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЯХ

© 2020 г. И. М. Иванов¹, А. С. Никифоров¹, М. А. Юдин¹, С. В. Чепур¹,
Ю. А. Прошина^{1,*}, А. М. Свентицкая¹

¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны РФ, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: proshinayulia@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.04.2019 г.

Рассмотрены возможности совершенствования медицинских средств защиты для оказания экстренной помощи в чрезвычайных ситуациях за счет ингаляционного введения лекарственных препаратов (ЛП). Охарактеризованы преимущества этого способа введения, обоснована целесообразность использования портативных ингаляторов сухого порошка в качестве технического средства доставки ЛП. Проведен анализ источников литературы, содержащих информацию об ингаляционном применении лекарственных препаратов из различных фармакологических групп. В качестве МСЗ, наиболее перспективных для ингаляционного применения при воздействии факторов радиационной природы, следует рассматривать радиопротекторы (цистамин, индралин, нафтизин), средства, оказывающее радиозащитное действие при профилактическом применении (эстрадиол), средства профилактики и купирования первичной реакции на облучение (ПРО) (ондансетрон, метоклопрамид, метацин), радиомитигаторы (аналоги гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), гормон роста, беталейкин), а также средства связывания инкорпорированных радионуклидов (пентацин). Это обусловлено наличием эффективных зарегистрированных в РФ и разрешенных для медицинского применения ЛП, а также технологической реализуемостью ингаляционных форм.

Ключевые слова: медицинские средства защиты, радиопротекторы, радиомитигаторы, первичная реакция на облучение, инкорпорированные радионуклиды, ингаляторы сухого порошка

DOI: 10.31857/S0869803120020058

Среди многочисленных факторов, оказывающих неблагоприятное влияние на здоровье и жизнь человека, особое место занимает ионизирующее излучение. Существует риск возникновения аварий, в том числе вследствие диверсионных операций, на объектах ядерно-энергетического комплекса и в хранилищах радиоактивных отходов [1]. Кроме того, в современных условиях сохраняется вероятность применения ядерного оружия при военных конфликтах.

В настоящее время разработан и апробирован широкий перечень лекарственных препаратов (ЛП) с различным механизмом действия, предназначенных для применения в качестве медицинских средств защиты (МСЗ) при осуществлении профилактических и лечебных мероприятий в условиях действия поражающих факторов радиационной природы. Следует отметить, что наряду с поиском и разработкой новых перспективных ЛП, предназначенных для предотвращения возникновения или нивелирования детерминированных эффектов облучения, интенсивно ведутся

работы по оценке возможных направлений совершенствования уже существующих лекарственных средств. Среди таких направлений особое место занимают разработка новых схем применения ЛП и внедрение инновационных способов их доставки в систему медицинской противорадиационной защиты.

Ингаляционный способ введения ЛП различных фармакологических групп может быть перспективной альтернативой пероральным и инъекционным методам введения как при профилактике негативных последствий внешнего облучения, так и при проведении лечебных мероприятий, направленных на купирование первичной реакции на облучение (ПРО), поддержание повышенной радиорезистентности организма и снижение степени инкорпорации радионуклидами при ингаляционном поступлении радиоактивных аэрозолей. Преимущество ингаляционного введения МСЗ заключается в высокой биодоступности лекарственного средства, высокой скорости на-

ступления и степени выраженности терапевтического эффекта [2].

В настоящее время для ингаляционной доставки ЛП широко используют однодозовые дозированные порошковые ингаляторы (ДПИ). К преимуществам ДПИ относят отсутствие необходимости привлечения обученного медицинского персонала из-за простоты и удобства конструкции, высокую скорость подготовки устройства к применению, а также устойчивость к негативным факторам внешней среды. Следовательно, однодозовые ДПИ могут быть перспективными техническими средствами, предназначенными для само- и взаимопомощи при возникновении радиационных инцидентов. В то же время возможность их применения в качестве технических устройств доставки МСЗ при радиационных поражениях определяется рядом медико-технических требований:

- портативность и совместимость с существующими образцами обмундирования, а также с принятыми на снабжение Вооруженных Сил Российской Федерации (ВС РФ) медицинскими наборами и укладками;

- независимость от источников энергии (полностью механические ДПИ);

- универсальная лекарственная форма (ЛФ) для использования фармакологических препаратов разных классов в комплекте с одним ингалятором; необходимость унификации ЛФ продиктована вариативностью сценариев радиационных поражений, которая допускает последовательное применение нескольких ЛС в конкретной оперативной обстановке.

В свою очередь, технические особенности ДПИ определяют критерии, которым должны соответствовать ЛП и их ЛФ для снаряжения и оптимального использования в ингаляторах:

- разовая доза препарата (включая действующие и вспомогательные вещества) не должна быть более 50 мг;

- отсутствие местно-раздражающего действия;

- наличие значимых преимуществ перед пероральным и внутримышечным введением (скорость наступления эффекта, снижение эффективной дозы, наличие выраженного местного эффекта, невозможность создания лекарственной формы в виде раствора для внутримышечного введения);

- применение ЛП показано и возможно при состояниях, когда есть возможность самостоятельного введения и сохранено самостоятельное дыхание;

- пострадавший на момент оказания медицинской помощи находится без средств индивидуальной защиты органов дыхания;

- производство/регистрация ЛП локализовано на территории РФ.

С учетом требований, предъявляемых к ЛФ медицинских средств защиты в составе ДПИ, а также большого разнообразия ЛП из различных фармакологических групп, применяемых в настоящее время для осуществления профилактических и лечебных мероприятий при радиационных поражениях, представляется целесообразным провести анализ основных тенденций в развитии ингаляционных форм препаратов из основных групп МСЗ и сформировать перечень ЛП, наиболее перспективных для применения при воздействии поражающих факторов радиационной этиологии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ РАДИОПРОТЕКТОРОВ

Возможность применения ингаляционных форм МСЗ при угрозе радиационного поражения в основном связана с профилактическим введением радиопротекторов. Предполагаемым преимуществом ингаляционного способа доставки может быть высокая биодоступность ЛП и, следовательно, скорость наступления эффекта.

Наиболее эффективными и быстродействующими являются препараты из группы серосодержащих радиопротекторов (цистамин, амифостин) и из группы биологически активных аминов (индралин, нафазолин, мексамин) [3]. В то же время большинство отечественных и зарубежных радиопротекторов, разрешенных к медицинскому применению, обладают нежелательными побочными свойствами, не в последнюю очередь обусловленными способом приема препарата [4, 5], что актуализирует поиск альтернативных путей введения классических радиопротекторов в организм.

Следует отметить, что еще в отечественных работах конца 1970-х годов была продемонстрирована радиозащитная эффективность серосодержащих радиопротекторов (тиофосфат ацетамида и диэтилфосфат S-этилизотиурония) и адреномиметиков (мезатон) при ингаляционном введении [6].

Ранее при угрозе высокоинтенсивного воздействия γ - или γ -нейтронного излучения, не исключая вероятность облучения в дозах, вызывающих острую лучевую болезнь, отечественная медицинская служба располагала препаратом РС-1 (цистамин) в таблетках по 0.2 г; его разовая доза составляла 1.2 г (6 таблеток), за 30–60 мин до предполагаемого воздействия ионизирующих из-

лучений [4]. Повторный прием препарата был возможен не ранее чем через 4–6 ч.

Следует отметить, что цистамин в радиозащитных дозах может вызывать побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта (диспептические явления в виде дискомфорта, жжения в области эпигастрия, тошнота, иногда рвота и диарея) и со стороны сердечно-сосудистой системы (снижение артериального давления) [7, 8]. Для изучения возможности снижения побочного действия цистамина 10% водный раствор препарата вводили крысам в виде аэрозоля при помощи ингаляционной камеры с ультразвуковым небулайзером [9]. Было установлено, что крысы экспериментальной группы в тесте “плавание с грузом” сохраняли большую физическую выносливость по сравнению с животными, получавшими цистамин в дозе 100 мг/кг “классическим” (внутрибрюшинным) способом. Следовательно, ингаляционное введение цистамина может способствовать менее выраженному проявлению его нежелательных побочных эффектов, что свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения возможности ингаляционного применения препарата и разработки его новых лекарственных форм, совместимых с современными техническими устройствами доставки ЛП. Кроме того, вероятно, что ингаляционное введение цистамина позволит снизить его достаточно высокую эффективную радиозащитную дозу и увеличить скорость наступления эффекта.

В настоящее время табельным средством экстренной помощи для снижения тяжести последствий внешнего радиационного воздействия на территории РФ служит радиопротектор Б-190 (индралин) [10, 11]. Препарат включен в состав индивидуальных аптечек, сумок и войсковых медицинских противорадиационных комплектов, предназначенных для защиты и оказания помощи пораженным [12–15]. Препарат Б-190 принимают по 0.45 г (3 таблетки) за 10–15 мин до предполагаемого облучения, повторный прием возможен через 1 ч, но не более 3 раз в сутки [4]. Эффективная доза Б-190 при инъекционном введении экспериментальным животным (мыши) составляет 1–2 мг [16]. Препарат обладает малой токсичностью, большой терапевтической широтой, сохраняет радиозащитные свойства при совместном применении с другими радиопротекторами и средствами ранней патогенетической терапии, не оказывает влияния на умственную и физическую работоспособность [17–20].

В то же время следует отметить, что прием препарата может сопровождаться повышением артериального давления, урежением пульса до 38–40 ударов в минуту, атриовентрикулярной диссоциацией и атриовентрикулярной блокадой [6].

Изучение фармакологической активности индралина при ингаляционном введении, разработка ЛФ, оптимальной для применения в составе ДПИ, и новых схем введения препарата могут быть перспективны в рамках исследований по обеспечению удобства применения МСЗ в условиях действия поражающих факторов радиационной природы.

Для применения в качестве средства для внутримышечного введения при экстренной профилактике лучевых поражений НИИ военной медицины МО РФ в 1996 г. (патент № 2144357) [21] на основе 2-(α -нафтилметил)-имидазолина 2 нитрата был разработан препарат нафтизин, входящий в перечень лекарственных средств, включенных в нормы снабжения медицинским имуществом соединений, воинских частей и организаций ВС РФ на мирное время [10]. Эффективная доза препарата для человека при в/м введении в объеме 1 мл за 3–5 мин до предполагаемого облучения составляет 1 мг, скорость развития эффекта – 10–15 мин, длительность радиозащитного эффекта – 2 ч. Оптимальная радиозащитная доза нафтизина для крыс при в/б введении составляет 3–5 мг/кг [22]. Следует отметить, что при исследовании профилактической эффективности ингаляционного и интратрахеального введения нафтизина крысам были получены положительные результаты [22], что определяет целесообразность дальнейшего изучения особенностей действия препарата при ингаляционном применении и усовершенствование ЛФ.

В США и странах Западной Европы к числу препаратов, разрешенных к клиническому применению для профилактики радиационных поражений, относят амифостин (WR 2721, этиол). Высокий радиозащитный эффект амифостина обусловлен серосодержащей группой и развивается при профилактическом применении в дозе 1300–1600 мг за 10–20 мин до внешнего γ -облучения 1–10 Гр [23, 24]. Амифостин обладает рядом недостатков, среди которых небольшое “профилактическое окно” (15–30 мин до облучения), необходимость внутривенного введения [25], а также выраженная токсичность (тошнота, рвота, сомноленция, гипотензия), поэтому разработке альтернативных лекарственных форм амифостина придают большое значение [26]. Однако в ходе сравнительных экспериментальных исследований было показано, что WR 2721 при ингаляционном применении не обладал радиозащитным действием, в то время как при внутрибрюшинном введении (в/б) препарата мышам в дозе 400 мг/кг отмечали выраженный радиозащитный эффект [27].

Помимо табельных и разрешенных для клинического использования радиопротекторов, перспективным направлением может стать разработка

ингаляционных форм препарата группы эстрогенов – β -эстрадиола, обладающего противолучевой активностью при профилактическом введении. При оценке радиозащитной эффективности β -эстрадиола в условиях острого облучения было установлено, что при внутримышечном введении мышам в дозах 20 и 40 мг/кг за 5 сут до радиационного воздействия показатель фактора изменения дозы препарата по критерию выживаемости животных составил 1.19 и 1.26 соответственно [28].

За рубежом активно проводят исследования в области разработки ингаляционных форм β -эстрадиола. В опытах на крысах показаны отсутствие у него местно-раздражающего действия при ингаляционном введении и умеренный местный противовоспалительный эффект за счет снижения реактивности бронхов к ацетилхолину [29]. В клинических исследованиях применение эстрадиола в ингаляционной форме способствовало снижению приступов астмы и потребности в глюкокортикоидах [30]. Известны результаты разработки и клинических испытаний интраназальной формы 17- β -эстрадиола S21400 (Aerodiol) в схеме пульс-терапии заболеваний, сопровождающихся эстрогенной недостаточностью [31]. Показан дозозависимый эффект препарата при применении в диапазоне доз 100–900 мкг в течение 12 нед. Установлено, что β -эстрадиол в дозах 200–600 мкг обеспечивал необходимый уровень эстрогена в крови, что свидетельствует о достаточной биодоступности препарата.

Завершены исследования по разработке ингаляционных форм эстрадиола для системной доставки, которые представляют собой частицы с различной пористостью [32]. Интратрахеальное введение препарата в форме больших пористых и малых непористых частиц сопровождалось высокими показателями биодоступности в сравнении с его подкожным введением – 60–86 и 18–38% с продолжительностью поддержания повышенного уровня активного начала в плазме крови в течение 5 и 1 сут соответственно. Следует отметить, что в результате анализа показателей бронхоальвеолярного лаважа местно-раздражающего действия препарата выявлено не было.

Таким образом, изучение эффективности эстрадиола при профилактическом применении в ингаляционной форме в составе ДПИ представляет практический интерес. Кроме того, в области разработки ингаляционных форм этого препарата существует значительный научно-практический задел.

Таким образом, перспективность дальнейшего изучения особенностей действия радиопротекторов при ингаляционном применении, в том числе и в составе ингаляторов, обусловлена современными требованиями к переносимости, удобству применения, а также положительными результатами докли-

нических исследований [6, 9, 22]. В качестве потенциальных ЛП, пригодных для ингаляционного применения в составе ДПИ, следует рассматривать цистамин, индралин, нафтизин и эстрадиол.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ И КУПИРОВАНИЯ ПЕРВИЧНОЙ РЕАКЦИИ НА ОБЛУЧЕНИЕ

ПРО относят к числу наиболее ранних клинических синдромов радиационного поражения и наблюдают при облучении в дозах, близких к абсолютно смертельным (8–10 Гр). Этот синдромокомплекс включает анорексию, тошноту, рвоту, диарею, головокружение, головную боль, быструю утомляемость, слабость, апатию, повышение температуры тела, снижение артериального давления вплоть до развития коллапса. Проявления ПРО особенно опасны при продолжающемся облучении, когда от состояния работоспособности человека зависят скорость завершения работ в зоне чрезвычайной ситуации с фактором радиационной природы и время выхода из нее. В этих условиях профилактика и купирование проявлений ПРО способствуют не только поддержанию трудоспособности человека, но и косвенно – снижению дозы облучения организма.

Для профилактики и купирования основных клинических проявлений ПРО при радиационном поражении, в первую очередь, рвотной реакции и тошноты, в РФ в качестве табельного лекарственного средства в состав аптек, используемых при радиационных авариях военного времени, включен латран (ондансетрон гидрохлорид дигидрат) [12, 33]. Это противорвотный препарат из группы селективных блокаторов 5-НТ3-серотониновых рецепторов центральной и периферической нервной системы. Помимо антиэметического действия, препарат обладает определенной анксиолитической активностью, не вызывает снижения работоспособности, нарушений координации движений и седативного эффекта [11, 34]. Латран выпускают в таблетированной форме и в форме раствора для внутримышечного и внутривенного введения, что позволяет его использование как для профилактики эметической реакции, так и для купирования уже развившейся рвоты [4, 35]. Вместе с тем проявления побочных реакций (головная боль, аллергические реакции) могут оказывать влияние на работоспособность. Следует отметить, что проведенные клинические исследования ондансетрона при ингаляционном введении в дозе 8 мг посредством небулайзера для купирования диспноэ показали его безопасность [36].

Кроме того, в перечень лекарственных средств, включенных в состав комплектов меди-

цинского имущества для войскового звена медицинской службы Вооруженных Сил Российской Федерации на военное время [10, 33] входит метоклопрамид – противорвотный препарат из группы метоксибензамида, специфический блокатор D_2 -дофаминовых рецепторов триггерной зоны рвотного центра [6]. Метоклопрамид выпускают в таблетированной форме (по 10 мг) и в виде 0.5%-ного раствора для инъекций в ампулах по 2 мл. В качестве побочных эффектов следует отметить экспирамидные нарушения по типу проявления паркинсонизма, связанные с блокадой дофаминовых рецепторов мозга, головокружение и сонливость, которые могут нарушать координацию движений и тем самым снижать работоспособность [6]. В доступной литературе отсутствует информация об исследованиях эффективности препарата при ингаляционном применении.

К средствам профилактики и купирования ПРО относят и антидиарейные средства. Из препаратов, зарегистрированных в РФ, к ним относится метацин – избирательно действующий периферический М-холинолитик, который снижает тонус и уменьшает двигательную активность желудочно-кишечного тракта. Метацин выпускается в виде таблеток и ампул с 0.1%-ным инъекционным раствором, что снижает его эффективность при неукротимой рвоте и “боязни иглы” на этапе оказания само- и взаимопомощи при радиационном поражении.

Таким образом, применение ингаляционного способа введения противорвотных и противодиарейных средств с помощью ДПИ при профилактике и купировании ПРО представляется перспективным, особенно с учетом ограничений существующих технологий (невозможность перорального введения при самостоятельном применении из-за быстро развивающегося манифестного эметического синдрома и “боязни иглы” при применении инъекционных форм). Кроме того, среди преимуществ ингаляционной терапии следует указать высокую скорость наступления эффекта и вероятность снижения побочных эффектов препаратов. В качестве препаратов, представляющих интерес для изучения, следует рассматривать ондансетрон, метоклопрамид и метацин.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ РАДИОМИТИГАТОРОВ

В настоящее время в качестве одной из перспективных групп лечебно-профилактических средств, предназначенных для оказания медицинской помощи пострадавшим от воздействия ионизирующих излучений в рамках первой врачебной помощи, рассматривают радиомитигаторы. Эти вещества относятся к различным фармаколо-

гическим группам и представлены биополимерами микробного происхождения, антиоксидантами, стероидами и цитокиновыми факторами роста. Наибольший практический интерес представляют интерлейкин- 1β , гормон роста и колониестимулирующие факторы (эритропоэтин, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ), Г-КСФ), потому что для этих препаратов показаны высокая лечебная эффективность и наличие зарегистрированных в РФ инъекционных лекарственных форм [37]. Однако применение веществ пептидной и белковой структуры имеет ряд ограничений, к числу которых можно отнести гидрофильность, неустойчивость к химическим агентам и протеолитическим ферментам, а также невозможность перорального применения, обусловленную ферментативной и кислотной деградацией в желудочно-кишечном тракте. При в/в введении препараты обладают коротким периодом полураспада, готовые инъекционные формы требуют особых условий хранения, а формы для приготовления *ex tempore* (лиофилизат для приготовления раствора) непрактичны для применения на догоспитальных этапах медицинской помощи.

Эти обстоятельства актуализируют поиск альтернативных путей введения радиомитигаторов. В качестве наиболее вероятного пути поступления пептидных препаратов в организм можно рассматривать ингаляционное введение, которое в случае радиомитигаторов цитокиновой природы будет иметь преимущества перед другими способами. В качестве вероятного недостатка ингаляционного применения радиомитигаторов можно указать невысокую биодоступность белковых препаратов (не более 40–50% для гормона роста и Г-КСФ) [38–40]. В то же время разработаны подходы к повышению биодоступности белковых препаратов, реализованные за счет использования усилителей проницаемости биологических барьеров, применения ингибиторов протеаз или упаковки макромолекул в микрочастицы и липосомы [41].

Возможность ингаляционного введения ГМ-КСФ была продемонстрирована в экспериментальных исследованиях на обезьянах [42]. В исследовании Reed et al. [43] было показано, что биологический эффект ГМ-КСФ при ингаляционном введении мышам превосходит эффективность препарата при в/б введении. В дальнейшем было установлено, что ингаляционное применение ГМ-КСФ в аэрозольной форме при легочном альвеолярном протеинозе у мышей безопасно и эффективно даже при продолжительном введении [44, 45].

Следует отметить, что эффективность ингаляционного применения ГМ-КСФ показана и в клинических исследованиях [46, 48]. Кроме того,

ингаляционное введение ГМ-КСФ в дозе 300 мкг рекомендовано в схеме лечения острой лучевой болезни (ОЛБ) в течение 14–21 сут после внешнего γ -облучения [49].

При анализе данных литературы показана потенциальная возможность ингаляционного применения Г-КСФ. Клинические исследования ингаляционных форм цитокина практически отсутствуют, что, вероятно, обусловлено нестабильностью препарата при ультразвуковой возгонке в небулайзерах [50]. В результате экспериментальных исследований на животных было показано, что Г-КСФ при ингаляционном поступлении адсорбируется в легких и вызывает увеличение количества лейкоцитов в периферической крови [39, 40].

Для повышения биодоступности и эффективности цитокина при ингаляционном применении предложены его пегилированные формы. Показано, что аэрозольное введение пегилированных форм Г-КСФ позволяло повысить абсорбцию по сравнению с интратрахеальной инстилляцией, при этом биологический эффект (увеличение содержания лейкоцитов в крови) для обоих способов введения был сопоставим [51]. При интратрахеальной инстиляции биодоступность Г-КСФ в среднем составила 11.6 и 27.4% по сравнению с в/в и п/к введением соответственно, в то время как при интраназальном введении не превышает 1–2% [52, 53].

Для повышения биодоступности также могут применяться различные усилители абсорбции: сурфактанты (лаурет-9, гликохолат натрия) и ингибиторы протеаз (апротинин, бестатин) [53].

Показано, что биодоступность гормона роста человека при ингаляционном введении составляет 5–45% [38, 54, 55]. Абсорбция гормона роста при ингаляционном введении сопоставима с показателем его всасывания при инсуффляции [30] и значительно выше по сравнению с интратрахеальной инстилляцией [54].

Тем не менее, несмотря на большое число работ, посвященных изучению эффективности и фармакокинетики гормона роста при различных путях введения, разработка альтернативных путей введения препарата, таких как интраназальный или ингаляционный, по-прежнему находится на стадии экспериментов и характеризуется рядом недостатков. В частности, при интраназальном введении рекомбинантного гормона роста человека для достижения достаточной концентрации препарата в плазме крови необходимы усилители абсорбции, что может вызывать раздражение слизистой носа [56]. Кроме того, при ингаляционной терапии возможна агрегация препарата в процессе распыления при помощи небулайзера, что приводит к необходимости поиска подходов к повышению стабильности, на-

пример, путем добавления детергентов или введения препарата в форме сухого аэрозоля [50].

Перспективность и возможность получения ингаляционных форм радиомитигаторов пептидной и белковой структуры подтверждены проведенными за рубежом исследованиями по оценке свойств микрочастиц рекомбинантного человеческого интерлейкина-2 в форме сухого порошка для ингаляций. Микрочастицы, полученные методом двойной эмульсии на основе ПЛГА (полилактид-ко-гликолид)-полимера и микронизированного маннитола, обладали высокими показателями высвобождения действующего вещества (90% от номинальной дозы в капсуле) и размерами частиц, удовлетворяющими требованиям для ингаляционного применения (масс-медианный аэродинамический диаметр менее 5 мкм) [57].

На основании анализа эффективности потенциальных радиомитигаторов цитокиновой природы при их ингаляционном введении как в сравнении с другими способами введения, так и при их использовании в комплексе с усилителями проницаемости, можно заключить, что для увеличения биодоступности необходимо комбинировать макромолекулы с соединениями, повышающими степень проникновения белков через различные гистогематические барьеры. При использовании веществ пептидной природы в качестве потенциальных медицинских средств защиты от последствий радиационного поражения ингаляционный путь введения может быть привлекательной альтернативой инъекционному пути, однако для практической реализации ингаляционного способа доставки необходимо применение усилителей проницаемости, в качестве которых могут быть использованы ингибиторы протеаз и вспомогательные вещества, обладающие поверхностно-активными свойствами. Анализ данных по активности усилителей проницаемости указывает на перспективность применения солей желчных кислот (гликохолевой, таурохолевой), жирных кислот (олеиновая, пальмитиновая, линолевая), неионогенных поверхностно-активных веществ (Твин-80, Спан-85) и циклодекстринов [58]. Однако токсичность усилителем проницаемости при их ингаляционном курсовом введении диктует необходимость проведения дополнительных исследований их безопасности. Известно, что хроническое введение усилителей абсорбции (спирты, желчные кислоты и циклодекстрины) может повреждать альвеолярный эпителий [46, 47].

Наряду с использованием усилителей проницаемости на биодоступность белковых средств, в частности, радиомитигаторов цитокиновой природы, при ингаляционном введении в большинстве случаев оказывают влияние лекарственная

форма и способ введения. При этом выбор ЛФ (раствор для небулайзера, дозированный аэрозольный баллончик, сухой порошок для ингаляций) должен осуществляться на основании исследований стабильности препаратов при хранении в растворах, при воздействии ультразвуком и с учетом сравнительных данных биодоступности.

Таким образом, при достижении требуемой эффективности препаратов, обусловленной, в том числе, высокой биодоступностью за счет использования вспомогательных веществ, ингаляционное применение соединений пептидной и белковой структуры (Г-КСФ, ГМ-КСФ, гормон роста, беталейкин) в комплексе с усилителями проницаемости в качестве противорадиационных МСЗ может быть перспективно. Наиболее востребованным препаратом цитокиновой природы для создания ингаляционной лекарственной формы следует признать Г-КСФ, обладающий высокой биологической активностью и безопасностью, а также хорошей биодоступностью без применения усилителей проницаемости, показанной в многочисленных клинических исследованиях. Однако существующие в настоящее время лекарственные формы препарата (раствор для инъекций во флаконах), а также требования по хранению делают его недоступным для применения на догоспитальных этапах медицинской эвакуации. Появление ингаляционной формы Г-КСФ может существенно повысить качество оказания медицинской помощи при радиационных поражениях.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИНГАЛЯЦИОННОГО ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАТЕЛЕЙ ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ РАДИОНУКЛИДОВ, ИНКОРПОРИРОВАННЫХ В ЛЕГКИЕ

При ингаляционном поражении радиоактивными аэрозолями важным преимуществом ингаляционного применения комплексообразователей является местный эффект в области поражения.

В настоящее время в РФ разработана целая линейка отечественных средств по выведению инкорпорированных в организм радионуклидов: цезия (ферроцин), плутония, америция и других трансплутониевых элементов (пентацин и цинкацин), урана и бериллия (тримефацин), а также полония-210 (оксатиол) [59].

Комплексоны радиоактивных аэрозолей рассматривают за рубежом в качестве перспективных МСЗ для применения в ингаляционной форме. Хелатирующие агенты на основе диэтилентриаминпентауксусной кислоты (ДТПА и ее кальциевая и цинковая соль — Са-ДТПА и Zn-ДТПА соот-

ветственно) при в/в введении служат эффективными средствами связывания радионуклидов и рассматриваются в качестве перспективных антидотов, в первую очередь при ингаляционной инкорпорации радиоактивных материалов [60].

Возможность доставки хелатирующего агента ДТПА непосредственно в альвеолярную область привлекает внимание как отечественных, так и зарубежных исследователей с точки зрения потенциально более высокого местного эффекта (по сравнению с системным введением) и эффективностью декорпорации радионуклидов. При этом ингаляционное введение ДТПА не исключает необходимости его в/в применения в дальнейшей терапии, однако в условиях отсутствия квалифицированного медицинского персонала и возможности в/в доступа ингаляционный путь для оказания само- и взаимопомощи представляется наиболее перспективным. Представления о роли и месте ингаляционных форм комплексонов в системе оказания медицинской помощи при поражении радионуклидами прослеживаются в ряде публикаций [61–63]. Работы в этом направлении актуализированы в связи с необходимостью оказания помощи при массовом поступлении пострадавших. Так, за рубежом помимо существующих форм Са-ДТПА (раствор для ингаляции при помощи небулайзера и для в/в введения), разработаны комплексоны в форме сухого порошка для ингаляции [62], в том числе с применением технологии пористых частиц [63]. Результаты исследований этих форм указывают на высокую эффективность и возможность практического использования в схемах оказания помощи на догоспитальном этапе.

Состав фазово-дисперсного аэрозоля, сформированного полученными методом распылительной сушки пористыми частицами ДТПА с масс-медианным аэродинамическим диаметром частиц 4.5 мкм, в сравнении с традиционными микронизированными порошками был более оптимальным для осаждения в альвеолярном сегменте. В опытах на крысах, ингаляционно контактированных оксидом плутония, введение ДТПА в форме сухого порошка способствовало повышению экскреции плутония с мочой по сравнению с системным введением хелатора [63].

Следует отметить, что в РФ существует научно-практический задел в области создания ингаляционных форм комплексообразователей радиоактивных аэрозолей. В частности, препарат “Пентацин” (кальция тринатриевая соль диэтилентриаминпентауксусной кислоты) в форме раствора для в/в введения и ингаляций производится ФГУП НПЦ “Фармзащита” ФМБА России и может быть использован в качестве эффектив-

Таблица 1. Перечень лекарственных препаратов, перспективных для создания ингаляционной формы в виде порошка для ингаляций**Table 1.** List of promising drugs for the creation of powder inhalation form

Наименование	Эффективная доза	Раздражающее действие при ингаляционном введении	Цель разработки ингаляционной формы	Данные о производителе в РФ
Радиопротекторы				
Цистамин	0.2–0.8 г [4]	отсутствует [9]	↓ дозы, ↑ скорости развития эффекта	В РФ не производится
Индралин	1–2 мг [64]	данные отсутствуют	↓ дозы, ↑ скорости развития эффекта	ФГУП “НПЦ “Фармзащита”
Нафазолин	1–2 мг [65]	отсутствует [22]	↓ дозы, ↑ скорости развития эффекта	ФГУП “Московский эндокринный завод”
Средства, обладающие радиозащитным действием при профилактическом применении				
β-эстрадиол	5–10 мг [32]	отсутствует [32]	↓ дозы, ↑ скорости развития эффекта	В РФ не производится
Средства купирования ПРО				
Ондансетрон	10–15 мг [66]	отсутствует [36]	↑ скорости наступления эффекта, замена пероральных препаратов	ФГУП “НПЦ “Фармзащита”
Метоклопрамид	10 мг [67]	данные отсутствуют		ФГУП “Московский эндокринный завод”
Метоциния йодид	0.5–2 мг [68]	данные отсутствуют		ООО “Фармакор продакшн”
Средства ранней патогенетической терапии лучевых поражений (радиомитигаторы)				
Г-КСФ	до 500–600 мкг/сут [69]	отсутствует [51]	удобство применения, замена инъекционных препаратов	ООО “Нанолек”
Гормон роста	от 3–4 мкг/кг [70]	+/- [56]		АО “Фармстандарт”
Беталейкин	не менее 50 мкг/кг/сут [71]	отсутствует [57]		ФГУП “ГНИИ Особо чистых биопрепаратов”
Комплексообразователи радиоактивных аэрозолей				
Кальция тринатрия пентетат	250–1500 мг [72]	данные отсутствуют	Доставка к месту действия поражающего агента	ФГУП “НПЦ “Фармзащита”

ного средства для ингаляционного введения в условиях ЧС радиационного характера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании экспериментальных и клинических данных об эффективности препаратов, а также исходя из предполагаемых сценариев поражений, развивающихся при ЧС радиационной природы, проведен выбор пер-

спективных средств профилактики и лечения радиационных поражений для ингаляционного применения в качестве МСЗ. Характеристики фармакологических средств, которые соответствуют критериям отбора для оценки возможности их ингаляционного применения в составе ДПИ, представлены в табл. 1.

Несмотря на очевидные преимущества ингаляционной доставки лекарственных средств, позволяющие рассматривать их в качестве перспек-

тивных МСЗ, наличие в арсенале медицинской службы инъекционных (шприц-тюбик) и пероральных форм (таблетки) препаратов требует уточнения тактики применения препаратов в ингаляционных ЛФ на различных этапах медицинской эвакуации.

Не меньшую актуальность приобретает проведение сравнительных исследований эффективности и переносимости препаратов при ингаляционном и парентеральном введении для обоснования необходимости разработки ингаляционных форм. Для реализации этого направления особое внимание следует уделить вопросу применения ингаляционных препаратов при поражениях, которые предполагают применение средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД). Данный аспект требует проведения дополнительных исследований по уточнению порядка применения МСЗ на основе анализа вероятных сценариев поражений лиц, участвующих в ликвидации ЧС радиационного характера при нахождении в СИЗОД.

Ограничения в применении МСЗ в ингаляционной форме могут быть связаны с отсутствием или выраженным угнетением сознания у пострадавшего, выраженными нарушениями дыхания, ранениями и травмами головы и шеи. Возможность применения МСЗ в ингаляционной форме при отсутствии сознания и самостоятельного дыхания, по-видимому, следует рассматривать только на этапах оказания врачебной помощи.

Учитывая эти особенности, наиболее перспективными лекарственными препаратами, которые могут быть применены в ингаляционной форме при радиационных поражениях на этапах медицинской эвакуации, следует считать:

- радиопротекторы (цистамин, индралин, нафтизин) для удобства и простоты применения;

- средства, обладающие радиозащитным действием при профилактическом применении (эстродиол и его аналоги);

- средства профилактики и купирования ПРО (латран, метоклопрамид, метацин), для повышения скорости наступления эффекта;

- Г-КСФ, беталейкин и гормон роста, для наиболее раннего начала применения радиомитигаторов после радиационного поражения с последующим переходом на курсовое подкожное введение цитокина;

- пентацин, для наиболее раннего начала применения средств связывания радионуклидов после радиационного поражения с последующим переходом на ингаляцию небулайзером и в/в введение комплексообразователя.

Окончательное заключение о возможности ингаляционного применения препаратов требует

проведения расширенных исследований, которые позволят:

- экспериментально обосновать эффективность перспективных средств при их ингаляционном введении на модели радиационного воздействия;

- изучить возможность рецептурирования перспективных средств в ЛФ, пригодных для ингаляционного введения;

- провести оценку критических параметров лекарственного аэрозоля, получаемого при использовании перспективных препаратов в комплексе с существующими ингаляторами и перспективными макетными образцами;

- оптимизировать состав ЛФ и характеристики ингалятора для достижения требуемых параметров, обеспечивающих доставку ЛП в эффективных дозах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Халимов Ю.Ш., Гребенюк А.Н., Легеца В.И. и др.* Современное состояние и перспективы совершенствования специализированной помощи при остром костно-мозговом синдроме радиационной этиологии // Воен.-мед. журн. 2013. Т. 334. № 1. С. 25–32. [*Khalimov Y.S., Grebenyuk A.N., Legeza V.I. et al.* Sovremennoe sostoyanie i perspektivy sovershenstvovaniya spetsializirovannoi pomoshchi pri ostrom kostno-mozgovom sindrome radiatsionnoi etiologii // Voen.-med. zhurn. 2013. V. 334. № 1. P. 25–32. (In Russian)]
2. *Weers J.G., Miller D.P.* Formulation design of dry powders for inhalation // J. Pharm. Sci. 2015. V. 104. № 10. P. 3259–3288.
3. *Васин М.В.* Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 5. С. 459–467. [*Vasin M.V.* Klassifikatsiya protivoluchevykh sredstv kak otrazhenie sovremennogo sostoyaniya i perspektivy razvitiya radiatsionnoi farmakologii // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2013. V. 53. № 5. P. 459–467. (In Russian)]
4. *Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Назаров В.Б., Власенко Т.Н.* Современные возможности медикаментозной профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Воен.-мед. журн. 2011. Т. 332. № 2. С. 13–17. [*Grebenyuk A.N., Zatsepin V.V., Nazarov V.B., Vlasenko T.N.* Sovremennye vozmozhnosti medikamentoznoi profilaktiki i rannei terapii radiatsionnykh porazhenii // Voen.-med. zhurn. 2011. V. 332. № 2. P. 13–17. (In Russian)]
5. *Гребенюк А.Н., Легеца В.И.* Перспективы использования радиопротекторов для повышения эффективности медицинской противорадиационной защиты Вооруженных сил // Воен.-мед. журн. 2013.

- Т. 334. № 7. С. 46–50. [*Grebenyuk A.N., Legeza V.I.* Perspektivy ispol'zovaniya radioprotektorov dlya povysheniya effektivnosti meditsinskoj protivoradiatsionnoj zashchity Vooruzhennykh sil // Voен.-med. zhurn. 2013. V. 334. № 7. P. 46–50. (In Russian)]
6. *Жеребченко П.Г.* Эффект радиопротекторов при ингаляционном способе введения // Мед. радиология. 1978. № 2. С. 74–77. [*Zherebchenko P.G.* Effekt radioprotektorov pri ingyalyatsionnom sposobe vvedeniya // Meditsinskaya radiologiya. 1978. № 2. P. 74–77. (In Russ.)]
 7. *Васин М.В.* Средства профилактики и лечения лучевых поражений. М., 2006. 340 с. [*Vasin M.V.* Sredstva profilaktiki i lecheniya luchevykh porazhenii. М., 2006. 340 p. (In Russian)]
 8. *Гребенюк А.Н., Легеца В.И., Зацепин В.В.* Радиационные аварии: опыт медицинской защиты и современная стратегия фармакологического обеспечения // Радиационная гигиена. 2012. Т. 5. № 3. С. 53–57. [*Grebenyuk A.N., Legeza V.I., Zatsypin V.V.* Radiatsionnye аварии: opyt meditsinskoj zashchity i sovremennaya strategiya farmakologicheskogo obespecheniya // Radiatsionnaya gigiena. 2012. V. 5. № 3. P. 53–57. (In Russian)]
 9. *Краев С.Ю., Драчев И.С., Селезнев А.Б.* Изучение возможности снижения побочного действия цистамина при его ингаляционном введении // Проблемы химической защиты и репарации при радиационных воздействиях: Тез. докл. Междунар. конф. Дубна, 2018. С. 81–83. [*Kraev S.Y., Drachev I.S., Seleznev A.B.* The study of possibility to decrease side effects of cystamine in inhalation // Problemy khimicheskoi zashchity i reparatsii pri radiatsionnykh vozdeistviyakh: Conf. proc. Dubna, 2018. P. 81–83. (In Russian)]
 10. *Формуляр лекарственных средств медицинской службы Вооруженных Сил Российской Федерации (пятое издание) / Под ред. А.Я. Фисуна и Ю.В. Мирошниченко.* М.: ГВКГ им. Бурденко, 2014. 178 с. [*Formulyar lekarstvennykh sredstv meditsinskoj sluzhby Vooruzhennykh Sil Rossijskoj Federatsii (pyatoe izdanie) / Pod red. A.Ya. Fisuna i Yu.V. Miroshnichenko.* М.: GVKG im. Burdenko, 2014. 178 p. (In Russian)]
 11. *Гребенюк А.Н., Гладких В.Д.* Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 2. С. 132–149. [*Grebenyuk A.N., Gladkikh V.D.* Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razrabotki lekarstvennykh sredstv dlya profilaktiki i rannei terapii radiatsionnykh porazhenii // Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2019. V. 59. № 2. P. 132–149. (In Russian)]
 12. *Гребенюк А.Н., Легеца В.И., Гладких В.Д. и др.* Практическое руководство по использованию медицинских средств противорадиационной защиты при чрезвычайных ситуациях и обеспечению ими аварийных медико-санитарных формирований и региональных аварийных центров. М.: Комментарий, 2015. 304 с. [*Grebenyuk A.N., Legeza V.I., Gladkikh V.D. et al.* Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu meditsinskikh sredstv protivoradiatsionnoj zashchity pri chrezvychainykh situatsiyakh i obespecheniyu imi aviariynykh mediko-sanitarnykh formirovaniy i regionalnykh aviariynykh tsentrov. М.: Kommentarii, 2015. 304 p. (In Russian)]
 13. *Мирошниченко Ю.В., Бояринцев В.В., Гребенюк А.Н. и др.* Применение современных аптечек и сумок при ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций // Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2013. № 2. С. 176–181. [*Miroshnichenko Y.V., Boyarintsev V.V., Grebenyuk A.N. et al.* Primenenie sovremennykh aptechek i sumok pri likvidatsii posledstviy chrezvychainykh situatsii // Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik. 2013. № 2. P. 176–181. (In Russian)]
 14. *Методические указания по порядку применения медицинских средств противорадиационной защиты.* М.: ГВМУ МО РФ, 2011. 30 с. [*Metodicheskie ukazaniya po poryadku primeneniya meditsinskikh sredstv protivoradiatsionnoj zashchity.* М.: GVMU MO RF, 2011. 30 p. (In Russ.)]
 15. *Земляничников Д.А., Аветисов Г.М.* Вопросы противорадиационной защиты специалистов аварийно-спасательных формирований МО РФ // Медицина катастроф. 2014. № 4 (88). С. 15–17. [*Zemlyanichnikov D.A., Avetisov G.M.* Voprosy protivoradiatsionnoj zashchity spetsialistov aviariino-spatatel'nykh formirovaniy MO RF // Meditsina katastrof. 2014. № 4 (88). P. 15–17. (In Russian)]
 16. *Васин М.В., Антунов В.В., Комарова С.Н. и др.* Противолучевые свойства индралина при совместном применении с цистамином и мексамином // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 2. С. 243–246. [*Vasin M.V., Antipov V.V., Komarova S.N. et al.* Protivoluchevye svoystva indralina pri sovместном primeneniі s tsistaminom i meksaminom // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2011. V. 51. № 2. P. 243–246. (In Russian)]
 17. *Васин М.В., Антунов В.В., Комарова С.Н. и др.* Противолучевые свойства индралина при совместном применении с цистамином и мексамином // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 2. С. 243–246. [*Vasin M.V., Antipov V.V., Komarova S.N. et al.* Protivoluchevye svoystva indralina pri sovместном primeneniі s tsistaminom i meksaminom // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2011. V. 51. № 2. P. 243–246. (In Russian)]
 18. *Гребенюк А.Н., Зацепин В.В., Аксенова Н.В. и др.* Влияние последовательного применения препарата В-190 и интерлейкина-1β на выживаемость и костномозговое кроветворение облученных мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2010. Т. 50. № 4. С. 475–480. [*Grebenyuk A.N., Zatsypin V.V., Aksenova N.V. et al.* Vliyanie posledovatel'nogo primeneniya preparata В-190 i interleikina-1β na vyzhivaemost' авариальных медико-санитарных формирований и региональных аварийных центров. М.: Комментарий, 2015. 304 с. (In Russian)]

- i kostnomozgovoje krovotvorenie obluchennykh myshei // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2010. V. 50. № 4. P. 475–480. (In Russian)]
19. Гребенюк А.Н., Аксенова Н.В., Зацепин В.В. и др. Влияние последовательного применения препарата В-190 и интерлейкина-1 β на динамику количества клеток периферической крови и функциональный статус нейтрофилов облученных мышей // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 3. С. 290–295. [Grebennyuk A.N., Aksenova N.V., Zatsepin V.V. et al. Vliyanie posledovatel'nogo primeneniya preparata В-190 i interleikina-1 β na dinamiku kolichestva kletok perifericheskoi krovi i funktsional'nyi status neutrofilov obluchennykh myshei // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2013. V. 53. № 3. P. 290–295. (In Russian)]
 20. Васин М.В., Ушаков И.Б., Ковтун В.Ю. и др. Влияние сочетанного применения кверцетина и индралина на процессы пострadiационного восстановления системы кроветворения при острой лучевой болезни // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 2. С. 247–251. [Vasin M.V., Ushakov I.B., Kovtun V.Y. et al. Vliyanie sochetannogo primeneniya kvvertsetina i indralina na protsessy postradiatsionnogo vosstanovleniya sistemy krovotvoreniya pri ostroi luchevoi bolezni // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2011. V. 51. № 2. P. 247–251. (In Russian)]
 21. Евдокимов В.И. Поиск и анализ изобретений по профилактике и лечению радиационных поражений (1994–2010 гг.). СПб.: Всерос. центр экстрен. и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, 2012. 196 с. [Evdokimov V.I. Poisk i analiz izobretenii po profilaktike i lecheniyu radiatsionnykh porazhenii (1994–2010 gg.). SPb.: Vseros. tsentr ekstren. i radiats. meditsiny im. A.M. Nikiforova MChS Rossii, 2012. 196 p. (In Russian)]
 22. Драчев И.С., Турлаков Ю.С., Быков В.Н. и др. Профилактическая радиозащитная эффективность нафтизина при его ингаляционном и интратрахеальном введении // Клиническая больница. 2014. Т. 2. № 8. С. 25–30. [Drachev I.S., Turlakov Y.S., Bykov V.N. et al. Profilakticheskaya radiozashchitnaya effektivnost' naftizina pri ego ingalyatsionnom i intratrakheal'nom vvedenii // Klinicheskaya bol'nitsa. 2014. V. 2. № 8. P. 25–30. (In Russian)]
 23. Kuna P., Dostál M., Neruda O. et al. Acute toxicity and radioprotective effects of amifostine (WR-2721) or cystamine in single whole body fission neutrons irradiated rats // J. Appl. Biomed. 2004. V. 2. № 1. P. 43–49.
 24. Blumberg A.L., Nelson D.F., Gramkowski M. et al. Clinical trials of WR-2721 with radiation therapy // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1982. V. 8. P. 561–563.
 25. Koukourakis M.I., Panteliadou M., Abatzoglou I.M. et al. Postmastectomy hypofractionated and accelerated radiation therapy with (and without) subcutaneous amifostine cytoprotection // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2013. V. 85. № 1. P. 7–13.
 26. Praetorius N.P., Mandal T.K. Alternate delivery route for amifostine as a radio/chemo-protecting agent // J. Pharm. Pharmacol. 2008. V. 60. № 7. P. 809–815.
 27. Lockhart S.P. Inhaled thiol and phosphorothiol radioprotectors fail to protect the mouse lung // Radiother. Oncol. 1990. V. 19. № 2. P. 187–191.
 28. Гребенюк А.Н., Быков В.Н., Мясников В.А. и др. Экспериментальная оценка противолучевой эффективности β -эстрадиола по показателям выживаемости и костномозгового кроветворения мышей, подвергнутых воздействию рентгеновского излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 2. С. 175–180. [Grebennyuk A.N., Bykov V.N., Myasnikov V.A. et al. Eksperimentalnaya otsenka protivoluchevoi effektivnosti β -estradiola po pokazatelyam vyzhivaemosti i kostnomozgovogo krovotvoreniya myshei, podvergnutykh vozdeistviyu rentgenovskogo izlucheniya // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2012. V. 52. № 2. P. 175–180. (In Russian)]
 29. Degano B., Prévost M.C., Berger P. et al. Estradiol decreases the acetylcholine-elicited airway reactivity in ovariectomized rats through an increase in epithelial acetylcholinesterase activity // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001. V. 164. № 10. P. 1849–1854.
 30. Myers J.R., Sherman C.B. Should supplemental estrogens be used as steroid-sparing agents in asthmatic women? // Chest. 1994. V. 106. № 1. P. 318–319.
 31. Pelissier C., de Kervasdoue A., Chuong V.T. et al. Clinical evaluation, dose-finding and acceptability of AERODIOL, the pulsed estrogen therapy for treatment of climacteric symptoms // Maturitas. 2001. V. 37. № 3. P. 181–189.
 32. Wang J., Ben-Jebria A., Edwards D.A. Inhalation of estradiol for sustained systemic delivery // J. Aerosol Med. 1999. V. 12. № 1. P. 27–36.
 33. Приказ начальника главного военно-медицинского управления Министерства обороны Российской Федерации от 12 июля 2011 г. № 77 “Об утверждении сборника описей комплектов медицинского имущества для войскового звена медицинской службы ВС РФ на военное время”. [Prikaz nachal'nika glavnogo voenno-meditsinskogo upravleniya Ministerstva oborony Rossiiskoi Federatsii ot 12 iyulya 2011 g. №77 “Ob utverzhenii sbornika opisei komplektov meditsinskogo imushchestva dlya voiskovogo zvena meditsinskoi sluzhby VS RF na voennoe vremya”. (In Russian)]
 34. Леgezа В.И., Селезнев А.Б., Драчев И.С. Экспериментальная оценка эффективности селективных антагонистов серотониновых 5HT $_3$ -рецепторов как средств профилактики симптомокомплекса первичной реакции на облучение при радиационных авариях // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2011. № 2. С. 93–97. [Legezа V.I., Seleznev A.B., Drachev I.S. Eksperimental'naya otsenka effektivnosti selektivnykh antagonistov serotoninovykh 5HT $_3$ -retseptorov kak sredstv profilaktiki simptomokompleksa pervichnoi reaktsii na obluchenie pri radiatsionnykh avariyakh // Med.-biol. i

- sots.-psikhol. probl. bezopasnosti v chrezv. situatsiyakh. 2011. № 2. P. 93–97. (In Russian)]
35. Халимов Ю.Ш., Гребенюк А.Н., Карамуллин М.А. и др. Современные возможности оказания терапевтической помощи при возникновении массовых санитарных потерь радиационного профиля // Воен.-мед. журн. 2012. Т. 333. № 2. С. 24–31. [Khalimov Y.S., Grebenyuk A.N., Karamullin M.A. et al. Sovremennye vozmozhnosti okazaniya terapevticheskoy pomoshchi pri vozniknovenii massovykh sanitarnykh poter' radiatsionnogo profilya // Voen.-med. zhurn. 2012. V. 333. № 2. P. 24–31. (In Russian)]
 36. Inhaled ondansetron and dyspnea: clinical trials. 2013. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01851993>. Accessed September 5, 2019.
 37. Гребенюк А.Н., Легеца В.И., Тарумов Р.А. Радиомитигаторы: перспективы использования в системе медицинской противорадиационной защиты // Воен.-мед. журн. 2014. Т. 335. № 6. С. 39–43. [Grebenyuk A.N., Legeza V.I., Tarumov R.A. Radiomitigatory: perspektivy ispol'zovaniya v sisteme meditsinskoj protivoradiatsionnoy zashchity // Voen.-med. zhurn. 2014. V. 335. № 6. P. 39–43. (In Russian)]
 38. Bosquillon C., Preat V., Vanbever R. Pulmonary delivery of growth hormone using dry powders and visualization of its local fate in rats // J. Control. Release. 2004. V. 96. № 1. P. 233–244.
 39. Niven R.W., Lott F.D., Cribbs J.M. Pulmonary absorption of recombinant methionyl human granulocyte colony stimulating factor (r-huG-CSF) after intratracheal instillation to the hamster // Pharm. Res. 1993. V. 1. № 3. P. 1604–1610.
 40. Niven R.W., Lott F.D., Ip A.Y. et al. Pulmonary delivery of powders and solutions containing recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) to the rabbit // Pharm. Res. 1994. V. 11. P. 1101–1109.
 41. Yu J., Chien Y.W. Pulmonary drug delivery: physiologic and mechanistic aspects // Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1997. V. 14. P. 395–453.
 42. Rose R.M., Kobzik L., Dushay K. et al. The effect of aerosolized recombinant human granulocyte macrophage colony-stimulating factor on lung leukocytes in nonhuman primates // Am. Rev. Respir. Dis. 1992. V. 146. P. 1279–1286.
 43. Reed J.A., Ikegami M., Cianciolo E.R. et al. Aerosolized GM-CSF ameliorates pulmonary alveolar proteinosis in GM-CSF-deficient mice // Am. J. Physiol. 1999. V. 276. № 1. P. 556–563.
 44. Wylam M.E., Ten R., Prakash U.B.S. et al. Aerosol granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for pulmonary alveolar proteinosis // Eur. Respir. J. 2006. V. 27. № 2. P. 585–593.
 45. Yamamoto H.A., Yamaguchi E., Agata H. et al. Combination therapy of whole lung lavage and GM-CSF inhalation in pulmonary alveolar proteinosis // Pediatr. Pulmonol. 2008. V. 43. P. 828–830.
 46. Arai T., Hamano E., Inoue Y. et al. Serum neutralizing capacity of GM-CSF reflects disease severity in a patient with pulmonary alveolar proteinosis successfully treated with inhaled GM-CSF // Respir. Med. 2004. V. 98. P. 1227–1230.
 47. Быкова А.Ф., Иванов И.М., Гребенюк А.Н. Проблемы и перспективы ингаляционного применения веществ пептидной и белковой структуры в качестве потенциальных медицинских средств противорадиационной защиты // Мед.-биол. и соц.-психол. проблемы безопасности в чрезв. ситуациях. 2018. № 2. С. 60–69. [Bykova A.F., Ivanov I.M., Grebenyuk A.N. Problemy i perspektivy ingyalyatsionnogo primeneniya veshchestv peptidnoi i belkovoii struktury v kachestve potentsial'nykh meditsinskikh sredstv protivoradiatsionnoi zashchity // Med.-biol. i sots.-psikhol. problemy bezopasnosti v chrezv. situatsiyakh. 2018. № 2. P. 60–69. (In Russian)]
 48. Tazawa R., Nakata K., Inoue Y. et al. Granulocytemacrophage colony-stimulating factor inhalation therapy for patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis: a pilot study, and long-term treatment with aerosolized granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: a case report // Respirology. 2006. V. 11. № 1. P. 61–64.
 49. Heslet L., Bay C., Nepper-Christensen S. Acute radiation syndrome (ARS) – treatment of the reduced host defense // Int. J. of General Med. 2012. № 5. P. 105–115.
 50. Thippawong J. Inhaled cytokines and cytokine antagonists // Adv. Drug Deliv. Rev. 2006. V. 58. P. 1089–1105.
 51. Niven R.W. Delivery of biotherapeutics by inhalation aerosol // Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1995. V. 12. P. 151–231.
 52. Machida M., Hayashi M., Awazu S. Pulmonary absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) after intratracheal administration to rats // Biol. Pharm. Bull. 1996. V. 19. P. 259–262.
 53. Machida M., Hayashi M., Awazu S. The effects of absorption enhancers on the pulmonary absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) in rats // Biol. Pharm. Bull. 2000. V. 23. P. 84–86.
 54. Colthorpe P., Farr S.J., Smith I.J. et al. The influence of regional deposition on the pharmacokinetics of pulmonary-delivered human growth hormone in rabbits // Pharm. Res. 1995. V. 12. P. 356–359.
 55. Folkesson H.G., Hedin L., Westrom B.R. Lung to blood passage of human growth hormone after intratracheal instillation: stimulation of growth in hypophysectomized rats // J. Endocrinol. 1992. V. 134. P. 197–203.
 56. Türker S., Onur E., Ozer Y. Nasal route and drug delivery systems // Pharm. World Sci. 2004. V. 26. P. 137–142.

57. *Devrim B., Bozkir A., Canefe K.* Preparation and evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles as a carrier for pulmonary delivery of recombinant human interleukin-2: II. In vitro studies on aerodynamic properties of dry powder inhaler formulations // *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2011. V. 37. № 11. P. 1376–1386.
58. *Иванов И.М., Никифоров А.С., Трофимова В.С. и др.* Сравнительное исследование влияния усилителей проницаемости на эффективность модельного белка (инсулина) при ингаляционном введении // *Мед.-биол. и соц.-психол. проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях.* 2018. № 4. С. 76–83. [*Ivanov I.M., Nikiforov A.S., Trofimova V.S. et al.* Sravnitel'noe issledovanie vliyaniya usilitelei pronitsaemosti na effektivnost' model'nogo belka (insulina) pri ingalyatsionnom vvedenii // *Med.-biol. i sots.-psikhol. problemy bezopasnosti v chrezvychainykh situatsiyakh.* 2018. № 4. P. 76–83. (In Russian)]
59. *Рождественский Л.М.* Прошлое и будущее радиобиологии противолучевых средств в Институте биофизики Минздрава СССР – ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России // *Сборник статей, посвященных 70-летию Федерального государственного бюджетного учреждения “Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна” (1946–2016 гг.) / Под общ. ред. Л.А. Ильина, В.В. Уйба, А.С. Самойлова. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2016. С. 80–89. [Rozhdestvenskii L.M. Proshloe i budushchee radiobiologii protivoluchevykh sredstv v Institute biofiziki Minzdrava SSSR – FGBU GNTs FMBTs im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii. Sbornik statei, posvyashchennykh 70-letiyu Federal'nogo gosudarstvennogo byudzhethnogo uchrezhdeniya “Gosudarstvennyi nauchnyi tsentr Rossiiskoi Federatsii – Federal'nyi meditsinskii biofizicheskii tsentr imeni A.I. Burnazyana” (1946–2016 gg.) / Pod obshch. red. L.A. Il'ina, V.V. Uiba, A.S. Samoilova. M.: FGBU GNTs FMBTs im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii, 2016. P. 80–89.]*
60. *Peron N., Le Guen P., Andrieu V. et al.* Inhalation therapy: inhaled generics, inhaled antidotes, the future of anti-infectives and the indications of inhaled pentamidine // *Rev. Mal. Respir.* 2013. V. 30. № 10. P. 832–842.
61. *Koizumi A., Fukuda S., Yamada Y. et al.* Dosage of DTPA Administration by Inhalation. International Congress of the International Radiation Protection Association, Hiroshima, Japan, 2000. Available at: <http://www.irpa.net/irpa10/cdrom/00302.pdf>
62. *Grémy O., Tsapis N., Chau Q. et al.* Preferential decorporation of americium by pulmonary administration of DTPA dry powder after inhalation of aged PuO(2) containing americium in rats // *Radiat. Res.* 2010. V. 174. № 5. P. 637–644.
63. *Gervelas C., Serandour A.L., Geiger S. et al.* Direct lung delivery of a dry powder formulation of DTPA with improved aerosolization properties: effect on lung and systemic decorporation of plutonium // *J. Control Release.* 2007. V. 118. №1. P. 78–86.
64. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Б-190 (PN002437/02-230813). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya B-190 (PN002437/02-230813). (In Russian)]
65. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Нафтизин (ЛП 000807-160317). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Naftizin (LP 000807-160317). (In Russian)]
66. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Латран (ЛП 001889-260813). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Latran (LP 001889-260813). (In Russian)]
67. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Метоклопрамид (PN002081/01-270110). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Metoklopramid (PN002081/01-270110). (In Russian)]
68. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Метацин (ЛСР-008566/10-230810). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Metatsin (LSR-008566/10-230810). (In Russian)]
69. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Филграстим (ЛСР-002698/10-310310). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Filgrastim (LSR-002698/10-310310). (In Russian)]
70. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Растан (ЛС-001603-040411). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Rastan (LS-001603-040411). (In Russian)]
71. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Беталейкин (PN000222/01-201207). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Betaleikin (PN000222/01-201207). (In Russian)]
72. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения Пентацин (ЛП00051-272016). [Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata dlya meditsinskogo primeneniya Pentatsin (LP00051-272016). (In Russian)]

Prospects for Inhalation Delivery of Medical Protectors in Radiation Damage

I. M. Ivanov^a, A. S. Nikiforov^a, M. A. Yudin^a, S. V. Chepur^a, Y. A. Proshina^{a,#}, and A. M. Sventitskaya^a

^aState Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

[#]E-mail: proshinayulia@yandex.ru

The possibilities of improving medical protectors for urgent assistance in emergency situations due to inhalational administration of medical preparations are discussed in the article. The advantages of this method of administration have been characterized, the feasibility of using portable dry powder inhalers as a technical means of drug delivery is substantiated. The analysis of literature sources containing information on the inhalation use of drugs from various pharmacological groups has been carried out. Radioprotective agents (cystamine, indraline, naphthyzine), radioprotective agents for prophylactic use (estradiol) means of preventing and arresting the primary reaction to irradiation (ondansetron, metoclopramide, metacin), radio mitigators (analogues of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), growth hormone, betaleukin), as well as incorporated binding agents radionuclides (pentacin) should be considered as the most promising medical preparations for inhalation when exposed to radiation factors. It is stipulated for the presence of effective drugs registered in the Russian Federation and approved for medical use, as well as the technological feasibility of inhalational forms.

Keywords: medical protective equipment, radioprotectors, radiomitigators, primary reaction to radiation, incorporated radionuclides, dry powder inhalers

УДК 539.163:574.64:581.5

ИЗМЕНЧИВОСТЬ В ПОПУЛЯЦИЯХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОРГАНИЗМОВ ПРИ БИОИНДИКАЦИИ ВОДОЕМОВ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ТЯЖЕЛЫХ ЕСТЕСТВЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ, ХИМИЧЕСКИМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ И НЕДОСТАТКОМ БИОГЕНОВ

© 2020 г. И. С. Боднар^{1,*}, Е. В. Чебан¹, Н. Г. Рачкова¹¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Россия

*E-mail: bodnar-irina@mail.ru

Поступила в редакцию 30.01.2019 г.

Проведена оценка токсичности природных вод подвергнутого в 2015 г. консервации хранилища отходов, а также других радиоактивно загрязненных территорий района расположения бывшего радиового промысла (пос. Водный, Республика Коми) с использованием в качестве тест-объекта ряски малой (*Lemna minor* L.). В воде с импактных участков обнаружены повышенные концентрации ^{226}Ra , ^{238}U , ионов Ba^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Cl^- . При биотестировании воды в первый год после консервации хранилища эффективность его реабилитации подтвердилась. В дальнейшем, в период с 2016 по 2018 гг., при культивировании на водах из р. Ухта в зоне влияния объекта консервации и из его дренажных колодцев морфометрические и биохимические параметры ряски ухудшились: снизилась удельная скорость роста, уровень содержания хлорофилла, увеличилась доля растений с хлорозами и некрозами. У растений, выращенных на речных импактных водах отбора 2017–2018 гг., содержание малонового диальдегида (МДА) было достоверно выше ($p \leq 0.05$) по сравнению с фоновым. Морфометрические параметры лабораторной культуры зависели от концентрации в воде ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Ba^{2+} , Na^+ , Sr^{2+} , уровень МДА – от Ba^{2+} , Sr^{2+} , содержание хлорофилла а – от Ca^{2+} , Na^+ , Sr^{2+} , хлорофилла b и каротиноидов – от Sr^{2+} ($p \leq 0.05$).

Ключевые слова: ряска малая, радий, уран, барий, фитотоксичность, биоиндикация водоемов

DOI: 10.31857/S0869803120020034

Природные воды являются наиболее уязвимым к антропогенному воздействию звеном природной среды [1]. Поступление в водотоки таких компонентов как тяжелые естественные радионуклиды представляет серьезную опасность для экосистем и населения. Несмотря на значительное количество мероприятий, направленных на улучшение экологической обстановки в загрязненных районах, проблема минимизации миграции радионуклидов природного происхождения при утилизации производственных отходов и дезактивации территорий до сих пор актуальна для России. Так, в окрестностях пос. Водный Республики Коми (Северо-Западный ФО) с 1931 по 1957 гг. располагалось производство по добыче радия из пластовых вод и отходов урановой промышленности. Производственные объекты промысла были рассредоточены на территории около 3000 км² [2]. Отходы предприятия складировались в приповерхностном хранилище в десятке метров от р. Ухта и на долгие годы стали источником радиоактивного и химического загрязнения окружаю-

щей среды. Основным загрязняющим радионуклидом был ^{226}Ra , в меньших количествах в отходах присутствовал ^{238}U . Главной магистралью для переноса на большие расстояния водорастворенных и взвешенных форм нахождения радионуклидов и содержащихся в радиоактивных отходах тяжелых металлов стала р. Ухта, являющаяся левым притоком р. Ижмы Печорского бассейна. Ниже от объектов радиового промысла по ее течению располагаются промышленные города Ухта и Сосногорск с совокупным населением около 130 тыс. чел.

В начале шестидесятых годов (1962 г.) на территориях нескольких радиовых заводов и хранилища радиоактивных отходов (РАО) была проведена дезактивация насыпным методом, но ее положительный эффект, проявившийся в ослаблении радиационного фона, снижении миграционной способности радионуклидов, ограничении их негативного воздействия на живые организмы, продлился лишь несколько лет. Со временем значительно интенсифицировался процесс поступле-

ния радионуклидов в наземную растительность и их вынос в дезактивирующий слой [3, 4]. В 2015 г. применительно к хранилищу РАО была использована технология консервации с сооружением геохимических и физических барьеров, препятствующих проникновению радионуклидов и тяжелых металлов за пределы очага загрязнения. С территории вывезены старые металлические конструкции и радиоактивно загрязненные древесные отходы, выполнены работы по сооружению противодиффузионной завесы из бентонита “стена в грунте”, системы лучевого дренажа, гидронаблюдательных скважин и верхнего защитного экрана [5]. Однако, несмотря на усилия по реабилитации территорий бывшего радиевого промысла, в районе его расположения до настоящего времени остаются опасные для биоты и населения локальные участки с повышенным радиационным фоном, где рекультивация никогда не проводилась.

В биоиндикации природных вод широко используется ряска малая (*Lemna minor* L.), водное покрытосеменное растение семейства рясковые (*Lemnaceae*). К преимуществам ряски малой в качестве тест-объекта относят быстрые темпы роста, небольшие размеры, легкость культивирования, высокую степень однородности клонов, чувствительность к широкому спектру загрязняющих веществ [6].

Цель данной работы – с использованием в качестве тест-объекта ряски малой (*Lemna minor* L.) оценить токсичность природных вод с территории зоны влияния радиевого промысла с последующим анализом эффективности консервации хранилища РАО.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Район исследования

Отбор проб воды проводили в сентябре 2016 г., в июне и сентябре 2017 г., марте, июне, июле 2018 г. на прибрежной территории и в акватории р. Ухта вблизи от двух производственных объектов бывшего радиевого промысла – объекта консервации хранилища РАО и нерекультивированного участка радиохимического завода № 3 (63°31′ с. ш., 53°26′ в. д.).

Предварительно с помощью дозиметра “Арбитр” измеряли мощность экспозиционной дозы на обследуемой территории, затем ранжировали ее и примыкающую к ней акваторию по критериям, отраженным в работе В.В. Бадяева и соавт. [7]. Таким образом, выбор пунктов отбора проб соответствовал трем зонам: фоновой, буферной и импактной. Фоновые участки: 1) р. Ухта на участке русла выше по течению от хранилища РАО на 26 км (Ф1); 2) скважина, вскрывающая грунт на глубину 12 м вблизи от хранилища РАО, расположена выше от него в ландшафте, выбрана в каче-

стве фоновой для грунтовых вод (Ф2). Буферный участок: р. Ухта, участок в 100 м выше по течению от хранилища РАО (Б3). Импактные участки: 1) р. Ухта на участке русла, примыкающем к хранилищу РАО (ХР1); 2) сток из дренажных колодцев объекта консервации хранилища РАО (ДК); 3) р. Ухта, 100 м ниже хранилища РАО (ХР2); 4) р. Ухта на участке русла ниже по течению от хранилища РАО, вблизи загрязненной радиометом нерекультивированной территории радиохимического завода № 3 (Р3); 5) скважина за пределами объекта консервации хранилища РАО, ниже его по уровню в ландшафте, вскрывает грунт до уровня речного дна (СКВ).

Химический анализ природных вод

Содержание ^{238}U , ^{226}Ra и природных изотопов тория в тестируемых водных образцах определяли в лаборатории миграции радионуклидов и радиохимии, катионно-анионный состав вод – в лаборатории “Экоаналит” Института биологии Коми НЦ УрО РАН.

Растительный материал

В данной работе использовали лабораторную культуру ряски малой Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Рясковые обладают высокой скоростью роста, хорошо культивируются, размножаются преимущественно вегетативно, что позволяет получить генетически однородную популяцию [8]. Ряска малая (*Lemna minor* L.) широко используется в качестве тест-объекта в оценке токсичности вод при химическом загрязнении, в том числе и радионуклидами. Культивирование проводили на питательной среде Штейнберга [9]. Растения выращивали в климатической камере KBWF 240 (“Binder”, Германия) при стандартных условиях: 70%-ная влажность, температура $24 \pm 0.1^\circ\text{C}$, фотопериодичность “свет/темнота” 16 ч: 8 ч. Освещение осуществляли холодно-белым светом люминесцентных ламп с интенсивностью 8000 люкс.

Морфометрические параметры

При подготовке эксперимента из материнской культуры отбирали колонии, состоящие из 2–4 фрондов, и переносили их в тестовые емкости с 100%-ной природной водой. Воду предварительно отфильтровали. Каждая экспериментальная емкость содержала 9–12 пластинок. В качестве отрицательного контроля использовали растения, выращенные на питательной среде Штейнберга. Время экспозиции составляло 7 сут, по истечении которых анализировали следующие морфометрические характеристики растений: удельная скорость роста, площадь листовидной поверхности, уровень и характер повреждения фрондов, изменение их окраски [10].

Среднюю удельную скорость роста принимали как логарифметрическое увеличение темпа роста – количества фрондов:

$$\mu_{i-j} = (\ln(N_j) - \ln(N_i))/t;$$

где μ_{i-j} – средняя удельная скорость роста от времени i до времени j ; N_j – переменная теста в опыте во время j ; N_i – переменная теста в контроле во время i ; t – период времени от i до j .

Для определения времени удвоения (T_d) числа фрондов с целью проверки данных на соответствие критерию достоверности (удвоение в контроле менее чем за 60 ч) использовали следующую формулу: $T_d = \ln 2/\mu$. Расчет площади фронда проводили по фотографиям. Изображения были проанализированы с помощью программного обеспечения Image J (NIH, США).

Определение уровня малонового диальдегида

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран при окислительном стрессе оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА). Предварительно ряску культивировали в экспериментальном растворе 4 дня [11]. Для определения МДА 50 мг растительного материала гомогенизировали в 1.5 мл 20%-ного водного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ) с кварцевым песком, затем центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин. К аликвоте супернатанта объемом 0.3 мл добавили 1.2 мл 0.5%-ного раствора тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в 20%-ном водном растворе ТХУ. Реакционную смесь инкубировали 30 мин при 95°C, быстро охладили для остановки реакции, после центрифугировали 15 мин при 10000 об./мин. Оптическую плотность супернатанта определяли при 532 и 600 нм. В качестве контроля использовали 0.5%-ный раствор ТБК в 20%-ном водном растворе ТХУ. Содержание МДА определяли по формуле:

$$C_x = (E_{532} - E_{600})V_e/km_sV_a,$$

где C_x – содержание МДА, нмоль/л сырой массы; E – оптическая плотность раствора; V_e – объем экстракта, взятый для анализа, мл; k – коэффициент молярной экстинкции МДА, равный 156 ммоль/л см⁻¹; m_s – масса образца для экстракции [12].

Определение уровня фотосинтетических пигментов

Концентрацию фотоассимилирующих пигментов у ряски определяли в июне, июле 2018 г., на 4-е сутки после начала воздействия. Для определения содержания пигментов фотосинтетического аппарата навеску свежего растительного материала (50 мг) растирали с добавлением небольшого количества кварцевого песка (для лучшего измельчения растений), карбоната кальция

(для нейтрализации эндогенных кислот) и 0.7 мг 96%-ного водного раствора этанола, выдерживали 30 мин при температуре 4°C. Полученный гомогенат центрифугировали 10 мин при 13000 об./мин. Экстракт сливали в чистую пробирку. К осадку добавляли раствор этанола и снова центрифугировали. Добавление новой порции растворителя и центрифугирование повторяли до серой окраски осадка. Оптическую плотность проб определяли на спектрофотометре “КФК-2” при требуемых длинах волн. Концентрацию пигментов рассчитывали по формуле, приведенной в работе [13].

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программного пакета STATISTICA 6.0. Достоверность различий между параметрами в опыте и контроле определяли с помощью критерия Стьюдента, Манна–Уитни, одностороннего дисперсионного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Радиационный фон территории и удельная активность радионуклидов в природных водах

Согласно полученным нами данным, в 2016 г. после консервации хранилища РАО удельная активность ²²⁶Ra в воде из импактной зоны речной акватории варьировала в диапазоне 0.01–0.04 Бк/л. В годовой динамике содержание радия в воде р. Ухта вблизи от объекта могло повышаться до 0.12 Бк/л [14]. Удельная активность радия в стоке из колодца лучевого дренажа в сентябре 2016 г. составила 0.086 Бк/л, что в 2 раза больше, чем в реке [15]. Приведенные данные заметно контрастируют с результатами наших исследований, характеризующими радиоэкологическую ситуацию в районе в период, предшествующий консервации. В частности, это касается содержания радионуклидов в воде мелких непересыхающих водоемов с прямым стоком в реку, имевшихся на территории хранилища РАО до реабилитации. Удельная активность радионуклидов в их водах превышала фоновую для региона, но соответствовала нормам радиационной безопасности (НРБ-99/2009): ²²⁸Th – до 0.4 мБк/л, ²³⁰Th – до 5 мБк/л, ²³²Th – до 0.2 мБк/л, ²²⁶Ra – до 0.15 Бк/л [16]. В годовой многолетней динамике для радия она могла достигать 0.49 Бк/л, что в сравнении с показателями от 1963 г. указывало на активизацию гидрогенной миграции радионуклида [3, 14]. Верхний предел градиента удельной активности урана, напротив, снизился от 2.5 до 0.25 Бк/л.

Мощность экспозиционной дозы на территории хранилища РАО в преддверии консервации варьировала от 40 до 3500 мкР/ч. После реабилитации в 2016 г. она снизилась до 60 мкР/ч. На некультивированной территории радиохимического завода № 3, загрязненной радием, фиксировали уровень γ -излучения до 1000 мкР/ч.

Катионно-анионный состав воды

Состав природных вод для неукорененных плейстофитов, к которым относится ряска малая, имеет исключительное значение. Ведь все необходимые для жизнедеятельности минеральные соли растения получают только из водной среды. Это особенно важно отметить, поскольку характерной особенностью поверхностных вод в таежных северных экосистемах России является слабая минерализованность. Так, по полученным нами ранее данным [16], особенностью анионно-катионного состава исследуемых природных вод являлось низкое содержание нитратов (до 0.044 мг/л), калия (5–15 мг/л), фосфатов (до 1 мг/л) при несколько большем по сравнению с фоновым значением содержании гидрокарбонатов (400–420 мг/л). Для мелких водоемов хранилища РАО отмечали повышенное содержание катионов бария (0.3 мг/л, 3 ПДК), а также избыток ионов хлора (160 мг/л). Это объяснялось использованием хлоридов бария и кальция в технологическом процессе осаждения радия [2]. Высокая минерализованность поверхностных и почвенно-грунтовых вод территории хранилища ионами щелочных и щелочноземельных элементов статистически значимо ($n = 21$, $r = 0.47-0.61$, $p \leq 0.05$) стимулировала образование сосредоточенных в РАО соединений радионуклидов [17].

В природных водах, тестируемых в настоящей работе, содержание макроэлементов имело сезонную динамику (табл. 1), что также находит подтверждение в ранее полученных данных [17]. Наиболее низкие концентрации биогенов наблюдались в случае речных вод, отобранных вблизи загрязненной радием нерекультивированной территории радиохимического завода № 3 (РЗ), а самые высокие – в воде из дренажного колодца (ДК) объекта консервации хранилища РАО. Содержание калия в речной воде исследуемого района характеризовалось значениями до 0.8 мг/л. Концентрация бария в речной воде рядом с хранилищем РАО не превосходила соответствующие фоновые показатели (до 24 мкг/л). В то же время в воде из дренажной системы объекта консервации определялось существенное содержание этого компонента, превышающее предельно допустимые концентрации. Его уровень в случае дренажных стоков варьировал от 46 до 190 мкг/л.

Удельная скорость роста

Поскольку анионно-катионный состав природных вод в районе исследования характеризовался сезонной динамикой, то скорость роста ряски малой при ее культивировании на воде фоновых участков также варьировала в разные периоды отбора (рис. 1). Наиболее низкие темпы роста на речной воде с участка Ф1 были выявлены

для образцов, отобранных в октябре 2017 г., высокие – в марте и июле 2018 г.

Для речных вод импактного участка русла динамика роста ряски отличалась от сезонной. В первый год после консервации в 2016 г. удельная скорость роста ряски на речных водах, отобранных вблизи хранилища, была больше, чем на буферном и фоновом участках ($p \leq 0.05$). При этом на воде ХР1 она снижалась на 20% по сравнению с контролем (среда Штейнберга). В 2016 г. наиболее высокие темпы роста у ряски наблюдались на воде с участка речного русла, примыкающего к нерекультивированной территории радиохимического завода № 3 (РЗ), наименьшие – на водных образцах из буферной зоны. Удельная скорость роста ряски, культивируемой на импактных водах (ХР1, ХР2, РЗ), снижалась от отбора к отбору. Так, через год после окончания инженерных работ по изоляции РАО летом и осенью 2017 г., а также в отборах 2018 г. скорость роста ряски на импактных водах не отличалась или была ниже (в случае образца ХР2), чем на фоновых.

Воды системы лучевого дренажа объекта консервации представляли собой грунтовую воду, непосредственно контактировавшую с захороненными радиоактивными отходами, поэтому по химическому составу она значительно отличалась от речных водных образцов. Темпы роста культивируемой на дренажной воде ряски в период наблюдения с 2016 по 2018 гг. постепенно снижались. В сентябре 2017 г. скорость роста культуры на этих образцах была выше, чем на воде Ф2 из скважины за пределами хранилища РАО. В июне 2018 г. показатель, измеренный для воды с дренажных колодцев, уже не отличался от соответствующего фоновым пробам Ф1 и Ф2. Наконец, в июле 2018 г. была установлена наиболее низкая за весь период наблюдения скорость роста ряски на этой воде. Показатель оказался на 18% меньше, чем в октябре 2016 г.

Изоляция РАО нашла отражение в изменении скорости роста ряски на воде РЗ, отобранной ниже по течению р. Ухта от объекта консервации. Для этой группы образцов в период исследований наблюдалась динамика, аналогичная для проб ХР1 и ХР2 с участков вблизи территории хранилища: в первый год после консервации темпы роста ряски были высокие, затем они постепенно снижались до уровня, соответствующего воде из буферной зоны. В сентябре 2017 г. удельная скорость роста ряски, выращенной на воде ХР1 и ХР2, уменьшилась на 47%, ниже по течению – на 53%, на участке в районе радиохимического завода № 3 – на 31% по сравнению с аналогичным периодом 2016 г. С октября 2017 г. по июль 2018 г. удельная скорость роста на участке РЗ оставалась постоянной.

Таблица 1. Информация о содержании в природной воде некоторых значимых ионов
Table 1. Information on the content of some significant ions in natural water

Место отбора проб	Дата отбора проб	Содержание, мг/дм ³				
		Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Ba ²⁺	Na ⁺
Ф1	Июнь 2016	80 ± 13	12.3 ± 1.8	0.59 ± 0.14	24 ± 6	3.5 ± 0.5
	Сентябрь 2016	51 ± 8	11.7 ± 1.8	0.67 ± 0.16	11 ± 2.1	3.7 ± 0.6
	Июнь 2017	50 ± 8	7.4 ± 1.1	0.41 ± 0.11	12 ± 3	2.0 ± 0.3
	Окт 2017	38 ± 6	6.5 ± 1	0.51 ± 0.12	9.1 ± 2.4	1.82 ± 0.27
	Июль 2018	84 ± 13	14.4 ± 2.2	0.72 ± 0.17	20 ± 5	4.4 ± 0.7
БЗ	Июнь 2016	77 ± 12	11.8 ± 1.8	0.69 ± 0.11	14 ± 4	4.1 ± 0.6
	Сентябрь 2016	62 ± 10	11.5 ± 1.7	0.78 ± 0.19	13 ± 3	3.9 ± 0.6
	Июнь 2017	48 ± 8	7.1 ± 1.1	0.47 ± 0.11	14 ± 4	2.6 ± 0.4
	Окт 2017	34 ± 6	5.8 ± 0.9	0.49 ± 0.12	9.9 ± 2.6	2.4 ± 0.4
	Июль 2018	84 ± 13	14.4 ± 2.2	0.94 ± 0.23	21 ± 5	5.7 ± 0.9
ХР1	Июнь 2016	78 ± 13	12.0 ± 1.8	0.78 ± 0.12	15 ± 4	4.6 ± 0.7
	Сентябрь 2016	43 ± 7	10.6 ± 1.6	0.67 ± 0.16	11 ± 3	3.4 ± 0.5
	Июнь 2017	48 ± 8	7.2 ± 1.1	0.46 ± 0.11	21 ± 5	2.4 ± 0.4
	Окт 2017	35 ± 6	5.9 ± 0.9	0.74 ± 0.11	10 ± 2.6	2.2 ± 0.3
	Июль 2018	30 ± 5	14.6 ± 2.2	1.16 ± 0.19	30 ± 8	6.7 ± 1.0
ДК	Июнь 2016	—	—	—	—	—
	Сентябрь 2016	53 ± 9	20 ± 3	10.9 ± 1.7	46 ± 12	58 ± 9
	Июнь 2017	169 ± 27	23 ± 3	10 ± 1.6	190 ± 40	82 ± 12
	Окт 2017	129 ± 21	26 ± 4	10.8 ± 1.7	138 ± 28	76 ± 11
	Июль 2018	146 ± 23	23 ± 3	8.2 ± 1.3	250 ± 50	79 ± 12
ХР2	Июнь 2016	77 ± 12	11.8 ± 1.8	0.69 ± 0.11	14 ± 4	4.5 ± 0.7
	Сентябрь 2016	50 ± 8	11.5 ± 1.7	0.7 ± 0.17	11.2 ± 2.9	3.8 ± 0.6
	Июнь 2017	48 ± 8	7.2 ± 1.1	0.45 ± 0.11	12 ± 3	2.4 ± 0.4
	Окт 2017	35 ± 6	6.1 ± 0.9	0.52 ± 0.13	10.1 ± 2.6	2.6 ± 0.4
	Июль 2018	84 ± 3	14.7 ± 2.2	0.85 ± 0.2	22 ± 6	5.9 ± 0.9
РЗ	Июнь 2016	41 ± 7	5.3 ± 0.8	0.56 ± 0.13	8 ± 2	5.1 ± 0.8
	Сентябрь 2016	65 ± 10	11.8 ± 1.8	0.69 ± 0.16	14 ± 4	3.8 ± 0.6
	Июнь 2017	16.2 ± 2.6	2.0 ± 0.3	0.29 ± 0.07	7.3 ± 1.9	1.63 ± 0.24
	Окт 2017	14.4 ± 2.3	1.62 ± 0.24	0.35 ± 0.08	8.3 ± 2.2	1.51 ± 0.23
	Июль 2018	44 ± 7	5.2 ± 0.8	0.68 ± 0.16	17 ± 4	5.8 ± 0.9
Ф2	Июль 2018	24 ± 4	6.5 ± 1	1.9 ± 0.3	24 ± 6	3.2 ± 0.5
СКВ	Июль 2018	41 ± 7	105 ± 16	8.7 ± 1.4	60 ± 12	138 ± 21

В марте 2018 г. во всех тестируемых природных водах, приуроченных к разным участкам отбора, скорость роста ряски была одинакова (вода с дренажных колодцев и из реки вблизи участка радиохимического завода № 3 не анализировалась в этот период), по-видимому, из-за отсутствия интенсивного поверхностного стока с загрязненной территории. Летом 2018 г. удельная скорость роста у ряски, выращенной на воде с импактных речных участков ХР1, ХР2, РЗ, была наименьшей,

наибольшая наблюдалась для образца грунтовых вод СКВ.

Результаты статистической обработки данных, приуроченных к разным пробоотборам, свидетельствовали, что на темпы роста тестовых растений, культивируемых на природной воде, значительное влияние оказывал недостаток биогеонов: магния, калия, нитратов, а также избыток бария и стронция. Так, удельная скорость роста ряски в 2016 г. зависела от концентрации ионов

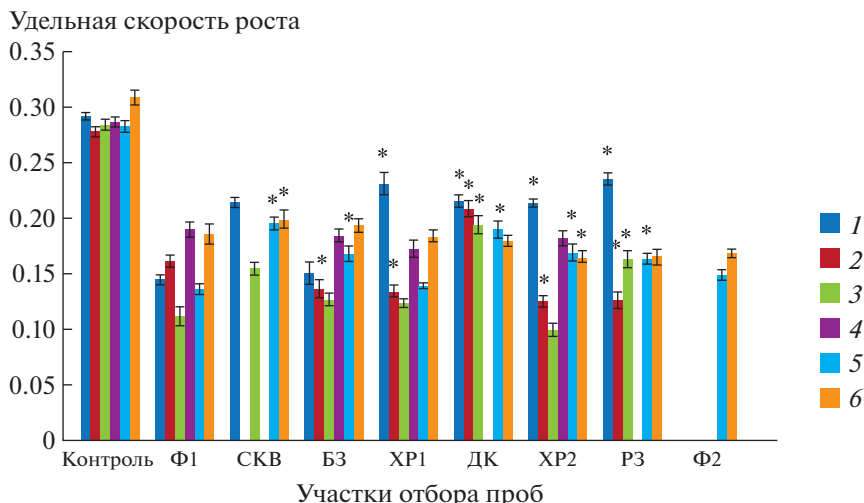


Рис. 1. Изменение удельной скорости роста ряски малой. Даты отборов проб: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018. Здесь и далее участки отбора проб: Ф1 и Ф2 – фоновые участки для речной и грунтовой воды. БЗ – буферный участок р. Ухта. Импактные участки: ХР1 – р. Ухта на участке русла, примыкающем к хранилищу РАО, ДК – сток из дренажных колодцев объекта консервации хранилища РАО, ХР2 – р. Ухта, 100 м ниже хранилища РАО, РЗ – р. Ухта на участке русла ниже по течению от хранилища РАО, вблизи загрязненной радием нерекультивированной территории радиохимического завода № 3, СКВ – скважина за пределами объекта консервации хранилища РАО, ниже его по уровню в ландшафте, вскрывает грунт до уровня речного дна.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Стьюдента.

Fig. 1. Relative growth rate of plant *Lemna minor*. Dates of sampling: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018. Hereinafter sampling plots: Ф1 and Ф2 are the background plots for river and groundwater. БЗ – buffer section of the river Ukhta. Impact sites: ХР1 – р. Ukhta in the section of the channel adjacent to the RW storage facility, DC – runoff from the drainage wells of the RW storage facility conservation facility, ХР2 – р. Ukhta, 100 m below the radioactive waste storage facility; Ukhta in the channel section downstream of the radioactive waste storage facility, near the non-regulated territory of radiochemical plant № 3 contaminated with radiation, СКВ is a well outside the conservation object of the radioactive waste storage facility, below it in the landscape, it opens the soil to the level of the river bottom.

* Differences are significant in comparison with background indicators ($p \leq 0.05$), Student's test.

кальция ($F = 43$, $p \leq 0.05$) и бария ($F = 5.58$, $p \leq 0.05$). В 2017 г. на темпы роста растений наибольшее влияние оказывало содержание ионов кальция ($F_{июнь} = 3.57$, $F_{сент} = 11$, $p \leq 0.05$), магния ($F_{июнь} = 27.2$, $F_{сент} = 33$, $p \leq 0.05$), калия ($F_{июнь} = 50$, $F_{сент} = 14.8$, $p \leq 0.05$), бария ($F_{июнь} = 12.8$, $F_{сент} = 15$, $p \leq 0.05$), натрия ($F_{июнь} = 27$, $F_{сент} = 29$, $p \leq 0.05$). В июле 2018 г. величина рассматриваемого параметра была тесно связана с концентрацией ионов кальция ($F = 2.73$, $p \leq 0.05$), магния ($F = 3.5$, $p \leq 0.05$), бария ($F = 4.3$, $p \leq 0.05$) и стронция ($F = 4.5$, $p \leq 0.05$).

Площадь фрондов

Анализ полученных данных показал, что в 2016 г. площадь листовидной поверхности (фрондов) ряски, культивированной на импактных образцах ХР2 и РЗ, а в июне 2017 г. – на воде РЗ, была выше, чем на Ф1. В сентябре 2017 г. при культивировании на воде из дренажных колодцев площадь фрондов растения оказалась больше, чем на воде из Ф2 (рис. 2). В июне 2018 г. в случае образцов из импактных участков ХР2, РЗ, СКВ показатель стал ниже фонового. Площадь фрондов в июне 2017 г. зависела от концентрации ионов бария

($F = 4.1$, $p \leq 0.05$) и натрия ($F = 4$, $p \leq 0.05$), в октябре 2017 г. – содержания ионов магния ($F = 3.3$, $p \leq 0.05$) и калия ($F = 4.3$, $p \leq 0.05$) в тестируемых водах.

Повреждения фрондов

При действии неблагоприятных факторов появляются повреждения в виде некрозов и хлорозов. В 2016 г. наиболее низкий уровень повреждений, до 20% от общего числа растений в колонии, наблюдали на воде с участков импактной зоны (ХР1, ХР2 и ДК) (рис. 3). В случае культивирования на образце РЗ число поврежденных фрондов ряски достигало 5% от общего их количества, т.е. было не выше, чем в контроле на среде Штейнберга. Позже в июле 2017 г. доля выращенных на различных водах растений, имеющих некрозы и хлорозы, значительно возросла, затем в сентябре 2017 г. она вновь снизилась и сохранила невысокий уровень (18–24%) в марте 2018 г. Летом 2018 г. доля поврежденных растений, культивированных на образцах РЗ (июнь) и ДК (июль), была выше по сравнению с фоновыми пробами Ф1 и Ф2 ($p \leq 0.05$). Таким образом, изначально после консервации объекта уровень повреждений фрондов

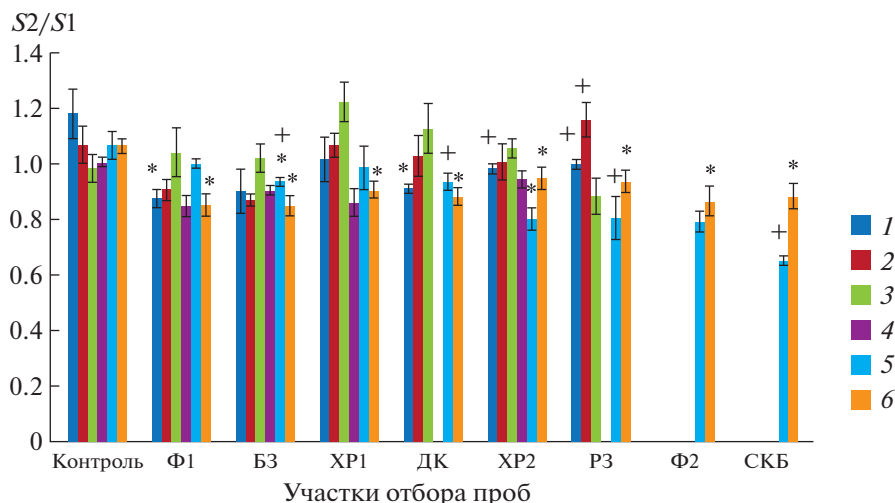


Рис. 2. Изменение площади листовидной поверхности ряски ($S2/S1$, где $S1$ – первоначальная площадь, $S2$ – площадь по окончании семидневного эксперимента). Даты отборов проб: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с положительным контролем (среда Штейнберга), + отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Стьюдента).

Fig. 2. Change in the area of the fronds of duckweed ($S2/S1$, where $S1$ is the initial area, $S2$ is the area at the end of the seven-day experiment). Dates of sampling: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018.

* Differences are significant in comparison with the positive control (Steinberg medium), + differences are significant in comparison with the background indicators ($p \leq 0.05$), Student’s test.

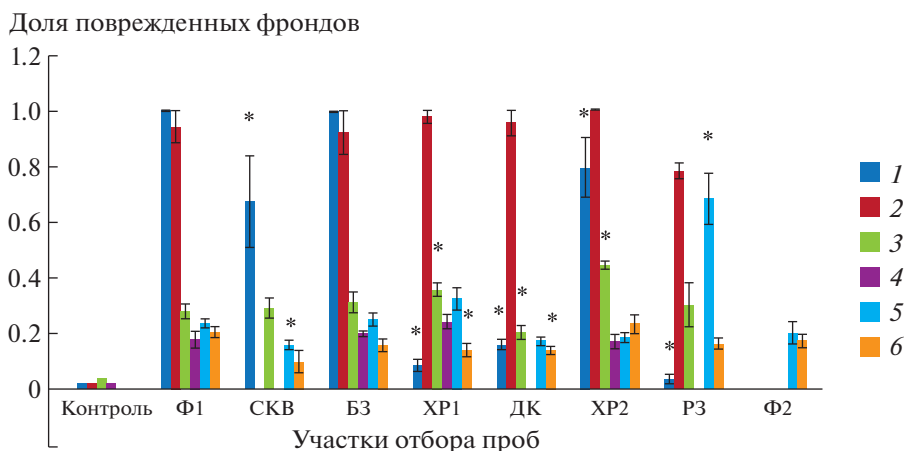


Рис. 3. Изменение доли поврежденных фронтов. Даты отборов проб: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Манна–Уитни.

Fig. 3. Change in the proportion of damaged fronts. Dates of sampling: 1 – 09.2016, 2 – 06.2017, 3 – 09.2017, 4 – 03.2018, 5 – 06.2018, 6 – 07.2018.

* Differences are significant in comparison with background indicators ($p \leq 0.05$), Mann–Whitney’s test.

оставался низким, в отборы 2017 г. и в марте 2018 г. он уже совпадал с фоновым показателем, а в июле 2018 г. в случае импактных вод – достоверно его превысил ($p \leq 0.05$). Согласно результатам дисперсионного анализа, уровень повреждений во фрондах ряски зависел от концентрации кальция, магния, калия, бария, натрия, стронция ($p \leq 0.05$). С учетом этого высокий уровень поврежденных

растений при их культивировании на водах фонового участка (до 100%) можно объяснить недостатком макроэлементов.

Уровень фотоассимилирующих пигментов

Цвет растений зависел от типа повреждений фрондов. Желтая окраска свидетельствовала о

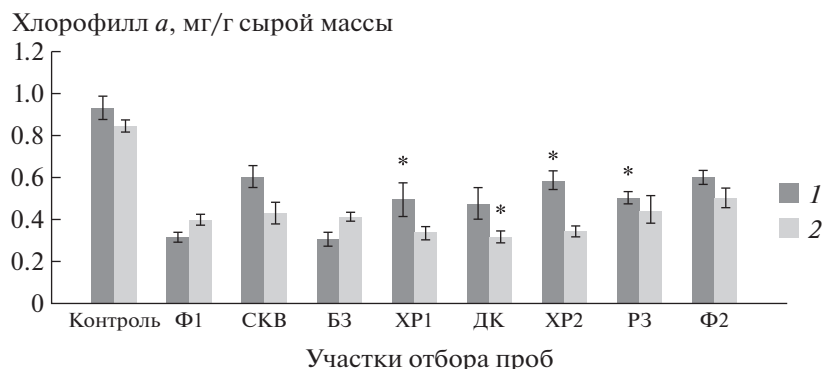


Рис. 4. Изменение уровня хлорофилла *a* у ряски малой. Даты отборов проб: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Стьюдента.

Fig. 4. Changes in the level of chlorophyll *a*. Dates of sampling: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Differences are significant compared with background values ($p \leq 0.05$), Student's test.

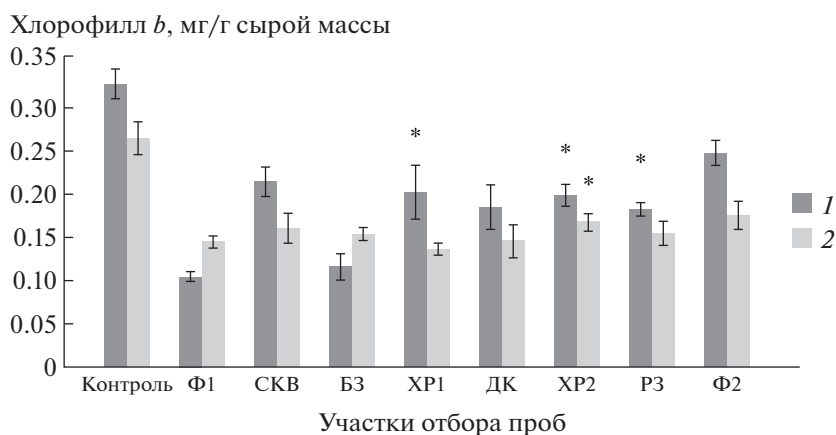


Рис. 5. Изменение уровня хлорофилла *b* у ряски малой. Даты отборов проб: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Стьюдента.

Fig. 5. Changes in the level of chlorophyll *b*. Dates of sampling: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Differences are significant compared to background values ($p \leq 0.05$), Student's test.

развитии хлорозов, бурая – некрозов, белая – о наличии отмерших старых растений. До появления видимых повреждений фрондов у растений снизился уровень хлорофиллов и каротиноидов.

Так, культивирование ряски на тестируемых водах отбора 2018 г. показало снижение содержания хлорофилла *a* в растениях (рис. 4). У растений на образцах с фоновой и буферной зоны содержание хлорофилла *a* составляло 30–50% от контроля. Содержание хлорофилла *a* в культурах на воде фоновой и буферной территорий в июле повысилось по сравнению с июнем с 31 до 47% и с 32.3 до 48.8% от контроля соответственно. На образцах с импактных территорий, наоборот, оно понизилось: ХР1 – с 54 до 41%, ДК – с 52 до 38%, ХР2 – с 62 до 41.3%, СКВ с 75.5 до 58.4% от контроля. В культурах, выращенных на импактных водах

июньского отбора ХР1, ХР2, РЗ, содержание хлорофилла *a* выше, чем на фоновом участке. Оно зависело от концентрации кальция ($F = 3.1$, $p \leq 0.05$), натрия ($F = 3.3$, $p \leq 0.05$) и стронция ($F = 3.3$, $p \leq 0.05$) в воде. В июле ухудшилось качество воды ДК из дренажных колодцев, что регистрировалось при культивировании на ней растений по уменьшению до уровней ниже фоновых содержаний хлорофилла *a* ($p \leq 0.05$).

Концентрация хлорофилла *b* у ряски в июне на водах из импактных территорий стала выше, чем на фоновых, а в июле эти показатели сохранились только на участках ХР2, СКВ (рис. 5). На фоновой воде Ф1 содержание хлорофилла *b* у растений в июле повысилось по сравнению с предыдущим месяцем с 31 до 55%, на воде БЗ из буферной зоны – с 35 до 58% от контроля и, по данным дисперси-

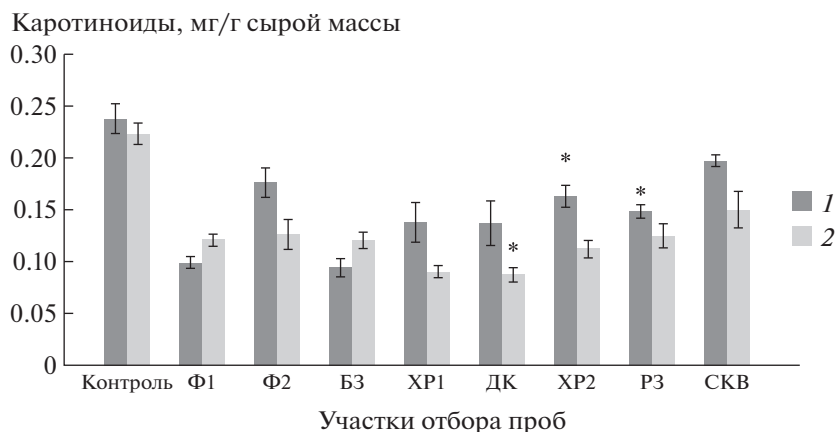


Рис. 6. Изменение уровня каротиноидов у ряски малой. Даты отборов проб: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Стьюдента.

Fig. 6. Change in the level of carotenoids. Dates of sampling: 1 – 06.2018, 2 – 07.2018.

* Differences are significant compared to baseline values ($p \leq 0.05$), Student’s test.

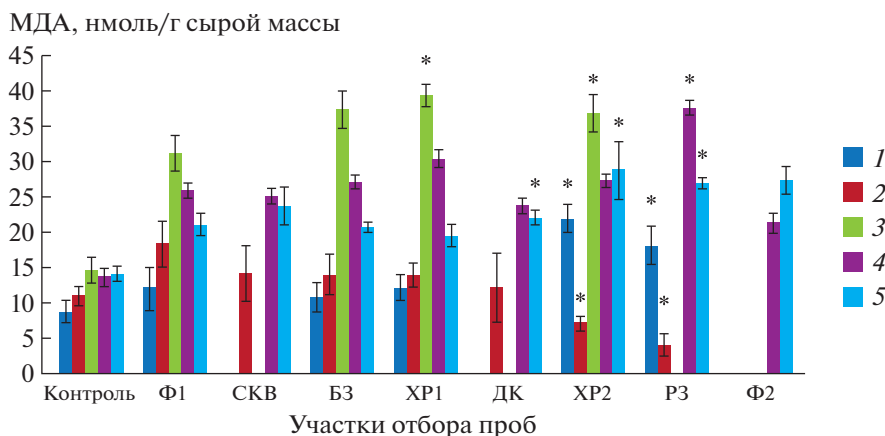


Рис. 7. Изменение содержания малонового диальдегида. Даты отбора проб: 1 – 07.2017, 2 – 09.2017, 3 – 03.2018, 4 – 06.2018, 5 – 07.2018.

* Отличия достоверны по сравнению с фоновыми показателями ($p \leq 0.05$), критерий Манна–Уитни.

Fig. 7. Change in the content of malondialdehyde. Dates of sampling: 1 – 07.2017, 2 – 09.2017, 3 – 03.2018, 4 – 06.2018, 5 – 07.2018.

* Differences are significant compared to the background values ($p \leq 0.05$), Mann–Whitney’s test.

онного анализа, зависело от концентрации стронция ($F = 3, p \leq 0.05$).

Наиболее высокое содержание каротиноидов было установлено у ряски, культивированной на грунтовой воде СКВ из скважины на прибрежной территории вблизи от объекта консервации (рис. 6). На воде с фонового и буферного участков уровень каротиноидов у ряски в июле возрос с 40 до 55% от контроля. В то же время при выращивании на импактных водах он снизился в случае ХР, ДК – с 58 до 40%, ХР2 – с 68 до 51%, РЗ – с 62.5 до 56%, СКВ – с 75.5 до 58.4%. Величина показателя была тесно связана с концентрацией ионов стронция ($F = 3.3, p \leq 0.05$) в воде.

Содержание малонового диальдегида (МДА) в растениях

Измерение содержания малонового диальдегида (МДА) в растительном материале позволяет оценить уровень окислительного стресса в конкретных условиях его выращивания. Уровень МДА у растений, культивированных на природной воде исследуемого района, был выше по сравнению с контролем (рис. 7). Показано, что летом 2017 и 2018 гг. его содержание у растений, выращенных на воде с импактных участков ХР2, РЗ, превосходило соответствующий показатель у ряски, культивированной на воде с фоновой территории ($p \leq 0.05$). Судя по величине исследу-

емого параметра, в марте 2018 г. наиболее сильный окислительный стресс испытывали растения, выращенные на воде ХР1. Проведенный дисперсионный анализ подтвердил тесную связь в июне 2017 г. содержания малонового диальдегида и магния ($F = 15.5, p \leq 0.05$), в октябре – кальция ($F = 5.4, p \leq 0.05$) и бария ($F = 5.3, p \leq 0.05$). Для выборки данных, приуроченной к отборам 2018 г., подобная зависимость была обнаружена между концентрацией МДА и содержанием в воде ионов бария ($F = 3.3, p \leq 0.05$) и стронция ($F = 3.8, p \leq 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют, что при оценке степени воздействия на окружающую среду локального радиоактивного загрязнения обязательно изучение реакции растений. Растения, будучи основными продуцентами органических соединений из солнечной энергии и начальным звеном трофических цепей, являются важным структурно-образующим компонентом биоценоза [18]. В качестве такого объекта для изучения реакции растений на загрязнение водных объектов нами была выбрана ряска малая (*Lemna minor* L.). Она чутко реагирует на присутствие в воде ионов разных химических элементов, изменения в ее росте и морфометрических параметрах происходят при низких концентрациях большинства распространенных токсикантов. Ранее рясковые успешно использовались нами при оценке токсичности природных вод, загрязненных радионуклидами [16].

При функционировании производств, подобных промышленной добыче радия из нескольких сырьевых источников, чаще всего происходит комплексное нарушение окружающей среды, в том числе поликомпонентное загрязнение природных вод. Их токсичность для водных организмов в последующем зависит от целого ряда факторов, в первую очередь, от концентрации радионуклидов и химических поллютантов. Основными загрязнителями вод импактной зоны вышеуказанного радиевого промысла до консервации его хранилища РАО являлись водорастворенные и взвешенные формы нахождения радия и урана. Помимо этого, в воде в избыточном количестве присутствовали ионы бария, соли которого использовались в производственном технологическом процессе выделения радия. После консервации хранилища радиоактивных отходов в декабре 2015 г. активность воды отвечала нормам радиационной безопасности, уровень γ -излучения снизился до 60 мкР/ч.

Сочетание факторов радиационной и нерадиационной природы, в том числе и климато-географических оказывает разнонаправленное действие на физиологические и биохимические про-

цессы, поэтому реакция растений на него неоднозначна [19]. Оценку эффективности консервации хранилища радиоактивных отходов следует проводить на основе результатов, полученных в динамике за несколько лет. В этом нас убеждают не только представленные в настоящей работе собственные наблюдения, но и данные литературы. Так, в последнее время стало известно, что в рамках федеральной программы законсервировано несколько крупных радиоактивно загрязненных объектов. Одним из них является оз. Карачай. Несмотря на обнадеживающие прогнозы, среди исследователей нет однозначного мнения относительно последствий консервации этого объекта, так же как и далекого будущего экологического состояния территории всего Теченского каскада водоемов. По некоторым расчетам [20], уже примерно с середины 2030 г. поступление стронция-90 из водоносного горизонта в р. Теча может составить от 20 до 200 Ки/год. Вынос урана к 2080 г. способен возрасти до 10 тыс. Ки/год.

Результаты проведенного нами биотестирования импактных природных вод из района проведения консервации радиоактивных отходов радиевого промысла в Республике Коми наглядно демонстрируют, что для объективной оценки эффективности мероприятий реабилитации необходима такая организация исследований, которая отражала бы протекание процессов восстановления и самоочищения территории загрязнения в годовой и многолетней динамике. На текущий период времени радиохимический анализ воды на импактных участках вблизи пос. Водный Республики Коми выявил в природных водах повышенные по сравнению с фоновым уровнем концентрации ^{226}Ra , ^{238}U , а также Ba^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , хлоридов. Хлорид бария хорошо растворим и обладает высокой токсичностью для растений, его негативные эффекты усиливаются при недостатке калия [16]. Как показал проведенный дисперсионный анализ, содержание ионов бария влияло не только на темпы роста ряски, но и на уровень поврежденности фрондов растения и степень испытываемого им окислительного стресса. В таком случае опасным для биоты фактором могут оказаться не только повышенное содержание радионуклидов, но и высокие концентрации нерадиоактивных компонентов загрязнения.

Кроме того, полученные нами данные выявляют большое значение геохимических особенностей природных вод для развития водных растений. Как показал катионно-анионный анализ, речная вода на изучаемой таежной территории слабо минерализована, для нее характерен недостаток калия, магния, нитратов. Однако отличия в содержании макроэлементов между разными водными образцами все же регистрируются. Тестируемая вода в районе хранилища РАО и на

фоновом участке имела низкие концентрации калия, слабощелочную реакцию. Речная вода, отобранная в непосредственной близости от не-рекультивированной территории радиохимического завода № 3, была наименее минерализованная, с недостатком калия, магния, кальция. Вода из дренажных колодцев – сильно минерализованная, с повышенным содержанием кальция, натрия, в ней в избытке содержался барий. В наших экспериментах слабая минерализованность вод провоцировала недостаток биогенных элементов у живущих в водной среде растений и сказывалась на морфометрических параметрах ряски, в результате чего удельная скорость роста, уровень поврежденных растений, площадь листовидной поверхности зависели от концентрации в воде магния, кальция, калия, натрия, стронция. Тот факт, что дисбаланс элементов может повысить чувствительность организмов к воздействию токсикантов и привести к снижению устойчивости экосистем, хорошо известен. Особое значение имели сезонные колебания химического состава воды фоновой и буферной зон влияния, что было отчетливо заметно по динамике показателей удельной скорости роста, доли поврежденных растений, культивируемых на этих образцах.

Как показал анализ данных, в первый год после консервации скорость роста, площадь поверхности фрондов у ряски, культивируемой на воде с импактной зоны, были выше фоновых ($p \leq 0.05$), а уровень повреждений листовидной пластины в виде хлорозов и некрозов был ниже. Судя по вышеприведенному факту, эффективность консервации в первый год после завершения работ не вызывает сомнений. В 2017 г. ростовые показатели в случае выращивания на водах импактных участков ХР1, ХР2 и Р3 снизились до уровня фоновых. Высокие показатели роста остались только у растений, культивируемых на воде из стока дренажных колодцев хранилища. По сравнению с фоновым образцом вода из зоны влияния хранилища была более токсична летом. Одной из причин этого может быть воздействие радионуклидов, миграция которых усиливается при повышении концентрации щелочноземельных металлов в воде. Токсичность повышается в летнее время, когда увеличивается удельная электропроводность, концентрация щелочных и щелочноземельных элементов, а значит, и поступление ^{226}Ra в импактные речные воды [3]. Концентрация ^{226}Ra контролируется ключевыми факторами водной геохимии, зависит от содержания отдельных щелочноземельных элементов (Mg, Ca, Sr, Ba), Mn [21]. Летом 2018 г. качество воды из колодцев лучше дренажа для ряски ухудшилось, удельная скорость роста и концентрация хлорофилла были меньше по сравнению с фоновыми показателями, повысился уровень повреждений

фрондов. Площадь листовидной поверхности в июне-июле 2018 г. в случае выращивания ряски на водах импактных участков ХР2, Р3, СКВ уменьшилась до значений ниже фоновых ($p \leq 0.05$).

Содержание хлорофилла при культивировании на природной воде было также снижено и составляло 31–75% от контроля. Концентрация пигментов у водных растений напрямую зависела от минерализованности среды. Доказано, что исключение макроэлементов (азота, фосфора, калия) приводит к существенному снижению содержания хлорофилла *a*, снижение хлорофилла *b* наблюдается при исключении азота [22]. Низкое содержание хлорофилла было выявлено нами при культивировании растений на воде из фоновой и буферной зоны, что также могло быть вызвано недостатком минерального питания. Ранее в наших экспериментах было показано, что при недостатке калия снижается площадь фрондов ряски, усиливается ее чувствительность к ионам бария [16]. Собственно, это и приводит к сокращению удельной скорости роста и увеличению доли поврежденных растений. В настоящей работе наиболее высокий уровень хлорофилла *a* наблюдали при культивировании ряски на грунтовых водах из СКВ и Ф2, а низкий – на речной воде, отобранной вблизи бывшего хранилища РАО. В естественных условиях обитания содержание фотосинтетических пигментов у рясковых тоже изменяется в течение вегетационного периода, их высокие концентрации обычно обнаруживаются в июле и августе [1]. При культивировании ряски на воде с буферных и фоновых участков концентрация хлорофиллов *a* и *b*, также как и каротиноидов, в июле повысилась по сравнению с июнем, на импактных водах – снизилась. По имеющимся данным, снижение концентрации хлорофиллов и каротиноидов в растениях объясняется подавлением синтеза хлорофиллов, усилением процесса их дегградации, нарушением ультраструктуры хлоропластов [23–25]. Поскольку у ряски функцию фотоассимиляции выполняют в том числе и корни, то при нарушении минерального питания, воздействии тяжелых металлов и радиации корни белеют, а общее содержание хлорофилла уменьшается.

Полученные в настоящей работе данные подтверждают, что комплексное загрязнение окружающей среды вызывает стресс у растений, изменяя баланс между прооксидантами и антиоксидантами [26]. Известно, что избыток металлов и малые дозы радиации приводят к увеличению перекисного окисления липидов мембран [27, 28]. При совместном действии этих факторов возможно появление синергических и антагонистических эффектов [19]. В настоящей работе показано, что окислительный стресс, регистрируемый по уровню МДА, в 2017–2018 гг. был выше у растений, культивируемых на речной воде с им-

пактных участков. Его усиление согласуется с подавлением роста растений. Согласно результатам статистического анализа, уровень МДА зависит от концентрации ионов кальция, бария, калия, натрия и стронция.

Подытоживая полученные данные, отметим, что химическое и радиоактивное загрязнение поверхностных вод приводит к трансформации биоценозов. В модельных условиях эксперимента нами было показано, что эффекты могут быть связаны не только с токсическим воздействием в виде снижения удельной скорости роста, повышения уровня поврежденности и сокращения площади листовой поверхности, с биохимическими изменениями (повышение содержания малонового диальдегида, снижение концентрации фотоассимилирующих пигментов), но и с увеличением ростовых параметров при низкоинтенсивных воздействиях. Оба эти исхода в природных условиях сказываются на состоянии окружающей природной среды, приводя к изменению видового разнообразия исходных экосистем, снижению продуктивности биоценоза, чрезмерному разрастанию водных растений и эвтрофикации водоемов, накоплению токсических продуктов и исчезновению фито- и зоопланктона, ценных видов рыб.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИБ Коми НЦ УрО РАН № ГР АААА-А18-11801190102-7 "Механизмы биогенной миграции радионуклидов и закономерности возникновения отдаленных последствий индуцированных у растений и животных в условиях хронического радиационного и химического воздействия".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лукина Л.Ф., Смирнова Н.Н. Физиология высших водных растений. Киев: Наук. думка, 1988. 188 с. [Lukina LF, Smirnova NN. Fiziologiya vysshih vodnyh rastenij. Kiev: Nauk. Dumka, 1988. 188 p. (In Russian)]
2. Таскаев А.И., Кичигин А.И. "Водный промысел": производство радия в Республике Коми. Сыктывкар, 2002. 30 с. [Taskaev A.I., Kichigin A.I. "Vodnyj promysel": proizvodstvo radiya v Respublike Komi. Syktyvkar, 2002. 30 p. (In Russian)]
3. Рачкова Н.Г., Шапошникова Л.М. Аккумуляция урана и радия-226 водными и наземными мхами в зоне влияния бывших объектов по добыче радия // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 3. С. 146. [Rachkova N.G., Shaposhnikova L.M. Uranium and radium-226 accumulation by aquatic and terrestrial mosses in impact zone of the former radium production objects // Modern problems of science and education. 2017. № 3. P. 146. (In Russian)]
4. Шапошникова Л.М., Шуктомова И.И. Последствия применения насыпного метода дезактивации на примере радиевого промысла [Consequences of the bulk method of decontamination on the example of radium craft] // Экология. 2015. № 3. С. 237–240. [Shaposhnikova L.M., Shuktomova I.I. Consequences of radioactive decontamination by earthfill method in a former radium production site // Russian Journal of Ecology. 2015. V. 46. № 3. P. 299–302. (In Russian)] <https://doi.org/10.7868/S0367059715030105>
5. Собко А.А. Проект по реабилитации территории: заводы № 1, № 7 и хранилище отходов (Республика Коми, пгт. Водный) // Мат. конф. по ВЭ ЯРОО и реабилитации объектов ядерного "наследия" "Выход 2012". Доступно по: <http://www.atomeco.org> > mediafiles > files > Present12 > Sobko. Ссылка активна на 19.12.2019.
6. Basiglini E., Pintore M., Forni C. Effects of treated wastewaters and temperatures on growth and enzymatic activities of duckweed (*Lemna minor* L.) // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2018. V. 153. P. 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.053>
7. Бадяев В.В., Егоров Ю.А., Казаков С.В. Охрана окружающей среды при эксплуатации АЭС. М.: Энергоатомиздат, 1990. 222 с. [Badyaev V.V., Egorov Yu.A., Kazakov S.V. Ohrana okruzhayushchej sredy pri ekspluatatsii AES. M.: Energoatomizdat, 1990. 222 p. (In Russian)]
8. Тахтаджян А.Л. Жизнь растений. Т. 6. М.: Просвещение, 1982. С. 493–500. [Tahtadzhyan A.L. Zhizn' rastenij. T. 6. M.: Prosveshchenie, 1982. P. 493–500. (In Russian)]
9. Steinberg R. Mineral requirement of *Lemna minor* L. // Plant Physiol. 1946. V. 21. P. 42–48. <https://doi.org/10.1104/pp.21.1.42>
10. OECD Guidelines for the testing chemicals. Lemna sp. Growth Inhibition Test. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development, 2006.
11. Uruç Parlac K., Demirezen Yilmaz D. Response of antioxidant defences to Zn stress in three duckweed species // Ecotoxicol. Environ. Safety. 2012. № 85. P. 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.08.023>
12. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / Под ред. Вл.В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. М.: БИНОМ, 2011. С. 348–349. [Molekulyarno-geneticheskie i biokhimicheskie metody v sovremennoj biologii rastenij / Pod red. V.V. Kuznecova, V.V. Kuznecova, G.A. Romanova. M.: BINOM; 2011. P. 348–349. (In Russian)]
13. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Meth. Enzymol. 1987. № 148. P. 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
14. Шапошникова Л.М., Рачкова Н.Г. Анализ эффективности реабилитации территории хранилища отходов радиевого производства в Республике Коми // Геоэкология. Инженерная экология. Гидрогеология. Геокриология. 2018. № 2. С. 75–84. [Shaposhnikova L.M., Rachkova N.G. Analysis of effectiveness of rehabilitation of the territory of the radium production waste storage in the Republic of Komi // Geoecology. Engineering ecology. Hydrogeology. Geocryology. 2018. № 2. P. 75–84. (In Russian)]

- tivity of rehabilitation of the radium production waste storage territory in the Komi Republic // Environ. Geosci. 2018. № 2. P. 75–84. (In Russian) <https://doi.org/10.7868/S0869780318020072>
15. Рачкова Н.Г., Шапошникова Л.М., Шуктомова И.И. Экологические аспекты фитопоглощения поллюантов в водных и наземных экосистемах территорий техногенного радиоактивного загрязнения // XV Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием “Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем”. Киров: ФГБОУ ВО “Вятский государственный университет”. 2017. С. 75–79. [Rachkova N.G., Shaposhnikova L.M., Shuktomova I.I. Ekologicheskie aspekty fitopogloshcheniya pollyuantov v vodnyh i nazemnyh ekosistemah territorij tekhnogennoho radioaktivnogo zagryazneniya // XV Vserossijskaya nauchno-prakticheskaya konferenciya s mezhdunarodnym uchastiem “Biodiagnostika sostoyaniya prirodnyh i prirodno-tekhnogennyh sistem”. Kirov: FGBOU VO “Vyatskij gosudarstvennyj universitet”. 2017. P. 75–79. (In Russian)]
 16. Боднар И.С., Чебан Е.В., Зайнуллин В.Г. Экоотоксикологическая оценка поверхностных вод с территории хранилища радиоактивных отходов (пос. Водный, Республика Коми) с использованием ряски малой (*Lemna minor* L.) // Изв. Коми научного центра Уральского отделения РАН. 2017. № 3. С. 34–39. [Bodnar I.S., Cheban E.V., Zainullin V.G. Ecotoxicological assessment of surface waters from the territory of radioactive waste storage (Vodny, Komi Republic) using duckweed (*Lemna minor* L.) // Bulletin of the Komi Science Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. 2017. V. 31. № 3. P. 34–39. (In Russian)]
 17. Рачкова Н.Г., Шуктомова И.И., Карманов А.П. Фазовое распределение радия-226 в поверхностных водах района расположения бывшего радийдобывающего предприятия [Phase distribution of radium-226 in the surface waters of the area of the former radium mining enterprise] // Бултеровские сообщения. 2016. Т. 45. № 3. С. 60–67. [Rachkova N.G., Shuktomova I.I., Karmanov A.P. Phase distribution of radium in surface waters in the area of former radium production // Butlerov communications. 2016. V. 45. № 3. P. 60–67. (In Russian)]
 18. Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Карпаева Е.В. и др. Современное состояние наземных экосистем Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты. Екатеринбург: Изд-во “Гошицкий”, 2008. 204 с. [Pozolotina V.N., Molchanova I.V., Karpaeva E.V. i dr. Sovremennoe sostoyanie nazemnyh ekosistem Vostochno-Ural'skogo radioaktivnogo sleda: urovni zagryazneniya, biologicheskie efekty. Ekaterinburg: Izd-vo “Goshchickij”, 2008. 204 p. (In Russian)]
 19. Евсеева Т.И., Гераськин С.А. Сочетанное действие факторов радиационной и нерадиационной природы на традесканцию. Екатеринбург: УрО РАН, 2001. 155 с. [Evseeva T.I., Geras'kin S.A. Sochetannoe dejstvie faktorov radiacionnoj i neradiacionnoj prirody na tradeskanciyu. Ekaterinburg: UrO RAN, 2001. 155 p. (In Russian)]
 20. Серебряков Б.Е. Об опасности озера Карачай для будущих поколений [The dangers of Karachay Lake for future generations]. Интернет-издание Проатом. 27.06.2018. Доступно по: <http://www.proatom.ru/modules.php?name=News&file=article&sid=8103>. Ссылка активна на 19.12.2019.
 21. Lagace F., Foucher D., Surette C., Clarisse OI. Radium geochemical monitoring in well waters at regional and local scales: an environmental impact indicator-based approach. Chemosphere. doi:2018;205:627–634. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.098>
 22. Мережко А.И. Роль высших водных растений в самоочищении водоемов // Гидробиол. журн. 1973. № 4. С. 118–125. [Merezhko A.I. Rol' vysshih vodnyh rastenij v samoochishchenii vodoemov // Gidrobiologicheskij zhurnal. 1973. № 4. P. 118–125. (In Russian)]
 23. Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карельский НЦ РАН, 2014. 194 с. [Titov A.F., Kaznina N.M., Talanova V.V. Heavy metals and plants. Petrozavodsk: Karel'skij nauchnyj centr RAN, 2014. 194 p. (In Russian)]
 24. Molas J. Changes in morphological and anatomical structure of cabbage (*Brassica oleracea* L.) outer leaves and in ultrastructure of their chloroplasts caused by an in vitro excess of nickel. // Photosynthetica. 1997. V. 34. № 4. P. 513–522. <https://doi.org/10.1023/A:1006805327340>
 25. Sheoran I.S., Singal H.R., Singh R. Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) // Photosynthesis Res. 1990. № 23. P. 345–351.
 26. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends Plant Science. 2002. № 7. P. 405–410. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9)
 27. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. М.: Энергоатомиздат, 1990. 160 с. [Polivoda B.I., Konev V.V., Popov G.A. Biofizicheskie aspekty radiacionnogo porazheniya biomembran. M.: Energoatomizdat, 1990. 160 p. (In Russian)]
 28. Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л., Гусев М.В. Устойчивость цианобактерий и микроводорослей к действию тяжелых металлов: роль металлсвязывающих белков // Вестн. МГУ. Сер. 16. Биология. 1998. № 2. С. 42–49. [Lebedeva A.F., Savanina Ya.V., Barskij E.L., Gusev M.V. Ustojchivost' cianobakterij i mikrovodoroslej k dejstviyu tyazhelyh metallov: rol' metallsvyazyvayushchih belkov. Vestnik MGU. Ser. 16. Biologiya. 1998; 2. P. 42–49. (In Russian)]

Variability in Populations of Plant Test-organisms in Water Bioindications with an Increased Content of Heavy Natural Radionuclides, Chemical Pollution and Insufficient of Biogenes

I. S. Bodnar^{a,#}, E. V. Cheban^a, and N. G. Rachkova^a

^a Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Russia

[#]E-mail: bodnar-irina@mail.ru

The assessment of the toxicity of natural waters subjected to the conservation of the waste storage in 2015, as well as other radioactively contaminated areas of the area of the former radium workings (the settlement of the Water Republic of Komi) was conducted using *Lemna minor* L. as a test object. Increased concentrations of ²²⁶Ra, ²³⁸U, ions of Ba²⁺, Ca²⁺, Sr²⁺, Cl⁻ were found in the water from the impacted areas. Water biotesting of the first year after the storage confirmed the effectiveness of its rehabilitation. Later, in the period from 2016 to 2018, when cultivated on the waters of the river. Ukhta in the zone of influence of the conservation object and from its drainage wells morphometric and biochemical parameters of the duckweed deteriorated: the relative growth rate decreased, the level of chlorophyll increased, the proportion of plants with chlorosis and necrosis increased. In plants grown on the river waters of the selection of 2017–2018, the content of malondialdehyde (MDA) was significantly higher ($p \leq 0.05$) compared with the background. The morphometric parameters of the laboratory culture of duckweed depended on the concentration of Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Ba²⁺, Na⁺, Sr²⁺ ions in water, the level of MDA from Ba²⁺, Sr²⁺, chlorophyll *a* content from Ca²⁺, Na⁺, Sr²⁺, chlorophyll *b*, and carotenoids from Sr²⁺ ($p \leq 0.05$).

Keywords: duckweed (*Lemna minor* L.), radium, uranium, barium, phytotoxicity, bioindication of water bodies

УДК 539.163:574.4:631.4

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РАДИОНУКЛИДОВ В СИСТЕМЕ “НАДЗЕМНАЯ ФИТОМАССА РАСТЕНИЙ–ПОВЕРХНОСТЬ ПОЧВЫ” ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ РАДИОАКТИВНЫХ ВЫПАДЕНИЯХ В ЛЕСНОМ БИОГЕОЦЕНОЗЕ

© 2020 г. Т. В. Переволоцкая^{1,*}, А. Н. Переволоцкий¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Российская Федерация

*E-mail: forest_rad@mail.ru

Поступила в редакцию 20.02.2018 г.

В статье проанализированы особенности распределения радионуклидов при хронических радиоактивных выпадениях в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” лесных биогеоценозов. Показано, что динамика распределения радионуклидов между компонентами исследуемой системы может быть описана системой линейных дифференциальных уравнений порядка I. Рассмотрены решения системы дифференциальных уравнений методом исключения и конечно-разностных уравнений. Установлено, что оба решения системы позволяют получить сопоставимые результаты по динамике распределения ¹³⁷Cs в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” в течение вегетационного периода. Приведены примеры расчета динамики активности радионуклидов с различными периодами полураспада в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” для лесных биогеоценозов, отличающихся периодами полураспада надземной фитомассы и коэффициентами первоначального задерживания.

Ключевые слова: хронические радиоактивные выпадения, радионуклиды, постоянная распада, постоянная очищения, плотность выпадений, радиоактивность, поверхность надземной фитомассы, поверхностный слой почвы

DOI: 10.31857/S0869803120020101

При изучении поступления и последующего распределения хронических радиоактивных выпадений в биогеоценозах научный и практический интерес представляет оценка динамики активности радионуклидов в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы”. Полученные данные, как правило, являются исходными для последующего изучения загрязненности радионуклидами хозяйственно-ценных частей растений, используемых человеком, что является важнейшей основой для оценки доз облучения и планирования мероприятий по обеспечению радиационной защиты населения, проживающего в зонах радиоактивных выбросов. Вторым, не менее важным аспектом изучения динамики активности радионуклидов в исследуемых компонентах системы является определение дозовых показателей облучения растений для оценок радиационного воздействия штатных радиоактивных выбросов предприятий ядерного топливного цикла [1, 2] на этапе обоснования их инвестирования или модернизации.

При хронических радиоактивных выпадениях характер распределения радионуклидов в системе

“поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” в различных биогеоценозах и в лесных, в частности, достаточно сложен. Он обусловлен совокупностью одновременно протекающих процессов осаждения радионуклидов из атмосферы на поверхность растений и почвы, очищения фитомассы в результате удаления частиц с ее поверхности и радиоактивного распада, а также накопления радионуклидов на поверхности почвы при непосредственном поступлении частиц выпадений из атмосферы и удаляемых с поверхности растений. Радиоактивное загрязнение надземной фитомассы растений находится в прямой зависимости от ее биомассы, произрастающей на единице поверхности почвы, а в обратной – от дисперсности частиц выпадений [3–5], при этом с увеличением размеров частиц интенсивность очищения надземной фитомассы, как правило, возрастает [6].

Важно отметить, что к настоящему времени разработано большое количество моделей миграции радионуклидов в лесных биогеоценозах, обзор которых приведен в [7, 8], однако большинство из них рассматривают сценарий аварийного

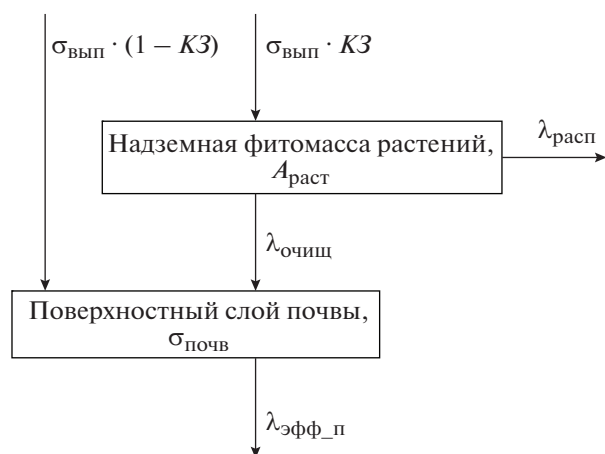


Рис. 1. Схема поступления и перераспределения радионуклидов в биогеоценозе при хронических радиоактивных выпадениях.

Fig. 1. Scheme of the receipt and redistribution of radionuclides in the biogeocenosis in chronic radioactive fallout.

поступления радионуклидов в лесной биогеоценоз с последующим моделированием долговременного распределения радиоактивных веществ в исследуемой экосистеме. Как правило, в описании большинства моделей приводятся основные формулы, обычно в виде системы линейных дифференциальных уравнений, отражающие динамику распределения радионуклидов между компонентами биогеоценоза и непосредственно результаты расчетов с верификацией для натуральных условий, однако само решение систем уравнений с набором параметров, достаточных для проведения расчетов динамики, практически не приводится.

Целью настоящей работы являлось решение системы дифференциальных уравнений, описывающих динамику распределения радионуклидов в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” при хронических радиоактивных выпадениях в лесном биогеоценозе на протяжении вегетационного периода, для последующего применения в радиационно-экологических исследованиях.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований является растительная и почвенная компоненты системы “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” в лесном биогеоценозе.

Предмет исследований – закономерности распределения радионуклидов между поверхностью надземной фитомассы растений и поверхностным слоем почвы в лесном биогеоценозе при хро-

нических радиоактивных выпадениях в течение вегетационного периода.

Принятые допущения:

– лесной биогеоценоз, в котором прогнозируется перераспределение радионуклидов хронических радиоактивных выпадений, может быть представлен в виде блок-схемы (рис. 1) с выделением растительной и почвенной компонент;

– под растительной компонентой понимается поверхность надземной фитомассы растений, формирующей преобладающую долю биомассы в исследуемом биогеоценозе. Предполагается, что состав растительности представлен одним видом – сосной обыкновенной, характеризующейся относительно стабильными биометрическими характеристиками надземной фитомассы в течение вегетационного периода;

– под почвенной компонентой подразумевается поверхностный слой почвы, толщиной 0.5 г/см^2 [9]. На поверхность почвы происходит поступление частиц радиоактивных выпадений из атмосферы и с поверхности надземной фитомассы растений в течение времени прогнозирования;

– в течение времени хронических радиоактивных выпадений биометрические показатели надземной фитомассы древесных растений лесного биогеоценоза (высота над поверхностью почвы и биомасса на единице площади земной поверхности) остаются условно постоянными, и частицы выпадений равномерно распределяются по высоте растений;

– в течение вегетационного сезона происходит поступление, с постоянной интенсивностью $\sigma_{\text{вып}}$ (Бк/сут) радионуклида из атмосферы в лесной биогеоценоз на 1 м^2 земной поверхности, при этом некоторая часть радионуклида задерживается поверхностью надземной фитомассы, а остаток поступает на поверхностный слой почвы;

– радионуклид, поступивший на поверхность надземной фитомассы растений, удаляется с ее поверхности за счет процессов поверхностного очищения с интенсивностью $\lambda_{\text{очищ}}$ (сут^{-1}) и радиоактивного распада со скоростью $\lambda_{\text{расп}}$ (сут^{-1});

– на поверхностный слой почвы происходит постоянное поступление радионуклида как непосредственно из атмосферы, так и с поверхности надземной фитомассы растений, удаление радионуклида из данной компоненты происходит за счет радиоактивного распада и миграции в более глубокие почвенные слои.

Таким образом, в соответствии с принятыми допущениями динамика распределения активности радионуклида между поверхностью надземной фитомассы растений и поверхностным слоем почвы при постоянной величине осадения $\sigma_{\text{вып}}$

может быть описана системой линейных дифференциальных уравнений I порядка:

$$\begin{cases} \frac{dA_{\text{раст}}}{dt} = \sigma_{\text{вып}} K_3 - A_{\text{раст}} \lambda_{\text{эфф}_p} \\ \frac{d\sigma_{\text{почв}}}{dt} = \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) + A_{\text{раст}} \lambda_{\text{очищ}} - \sigma_{\text{почв}} \lambda_{\text{эфф}_p} \end{cases}, (1)$$

где $A_{\text{раст}}$ – активность в наземной фитомассе растений, произрастающих на 1 м² поверхности почвы, Бк; $\sigma_{\text{почв}}$ – активность радионуклида в поверхностном слое почвы на 1 м² ее поверхности, Бк; $\sigma_{\text{вып}}$ – величина активности выпадений радионуклида из приземного слоя атмосферы на 1 м² земной поверхности, Бк/сут; K_3 – коэффициент первоначального задерживания радионуклида поверхностью наземной фитомассы растений от величины $\sigma_{\text{вып}}$, отн. ед.; $\lambda_{\text{расп}}$ – постоянная распада, сут⁻¹; $\lambda_{\text{эфф}_p}$ – эффективная постоянная удаления радионуклида из поверхностного слоя почвы $\lambda_{\text{эфф}_p} = \lambda_{\text{расп}} + \lambda_{\text{мигр}}$, сут⁻¹; $\lambda_{\text{эфф}_p}$ – эффективная постоянная удаления радионуклида с поверхности наземной фитомассы растений $\lambda_{\text{эфф}_p} = \lambda_{\text{расп}} + \lambda_{\text{очищ}}$, сут⁻¹; t – время, сут.

Постоянные распада радионуклида или очищения компоненты системы связаны с соответствующими периодами полураспада или полураспада следующим соотношением:

$$T_{1/2\text{расп(очищ)}} = \frac{\ln(2)}{\lambda_{\text{расп(очищ)}}}. (2)$$

$$k_{(1,2)} = \frac{-(\lambda_{\text{эфф}_p} + \lambda_{\text{эфф}_p}) \mp \sqrt{(\lambda_{\text{эфф}_p} + \lambda_{\text{эфф}_p})^2 - 4\lambda_{\text{эфф}_p} \lambda_{\text{эфф}_p}}}{2}. (5)$$

Коэффициенты C_1 и C_2 рассчитываются по следующим формулам:

$$C_2 = \frac{1}{k_2 - k_1} \left(\sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) + \frac{k_1 (\sigma_{\text{вып}} K_3 \lambda_{\text{очищ}} + \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) \lambda_{\text{эфф}_p})}{\lambda_{\text{эфф}_p} \lambda_{\text{эфф}_p}} \right), (6)$$

$$C_1 = -C_2 - \frac{\sigma_{\text{вып}} K_3 \lambda_{\text{очищ}} + \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) \lambda_{\text{эфф}_p}}{\lambda_{\text{эфф}_p} \lambda_{\text{эфф}_p}}. (7)$$

II. Решение системы линейных дифференциальных уравнений осуществлено путем замены дифференциалов на конечно-разностные аналоги с шагом дифференцирования $\Delta t = 1$ сут.

$$\frac{dA}{dt} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta A}{\Delta t} \approx \frac{A_{t+\Delta t} - A_t}{\Delta t} \Big|_{\text{при } \Delta t=1} = A_{t+1} - A_t. (8)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Решение системы линейных уравнений порядка I было выполнено двумя методами: исключения и конечно-разностных уравнений. В качестве начальных условий принято, что при $t = 0$ радионуклиды в составе хронических радиоактивных выпадений не поступают в исследуемый биогеоценоз, соответственно, $A_{\text{раст}}(0) = 0$ и $\sigma_{\text{почв}}(0) = 0$.

I. Решение системы линейных дифференциальных уравнений порядка I (1) методом исключения найдено в следующем виде:

– динамика активности радионуклида на поверхности наземной фитомассы растений, произрастающих на 1 м² поверхности почвы, может быть выражена в виде функции (Бк):

$$A_{\text{раст}}(t) = \frac{1}{\lambda_{\text{очищ}}} \left[(k_1 C_1 e^{k_1 t} + k_2 C_2 e^{k_2 t}) - \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) + \lambda_{\text{эфф}_p} \left(C_1 e^{k_1 t} + C_2 e^{k_2 t} + \frac{\sigma_{\text{вып}} K_3 \lambda_{\text{очищ}} + \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) \lambda_{\text{эфф}_p}}{\lambda_{\text{эфф}_p} \lambda_{\text{эфф}_p}} \right) \right]; (3)$$

– динамика активности радионуклида в поверхностном слое почвы (Бк):

$$\sigma_{\text{почв}}(t) = C_1 e^{k_1 t} + C_2 e^{k_2 t} + \frac{\sigma_{\text{вып}} K_3 \lambda_{\text{очищ}} + \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) \lambda_{\text{эфф}_p}}{\lambda_{\text{эфф}_p} \lambda_{\text{эфф}_p}}. (4)$$

Коэффициенты k_1 и k_2 – корни характеристического уравнения, выраженные формулой:

После подстановки конечно-разностных аналогов в каждое из уравнений системы (1) и соответствующих преобразований система уравнений имеет вид:

$$\begin{cases} A_{\text{раст},t+1} = \sigma_{\text{вып}} K_3 + A_{\text{раст},t} (1 - \lambda_{\text{эфф}_p}) \\ \sigma_{\text{почв},t+1} = \sigma_{\text{вып}} (1 - K_3) + \\ + \sigma_{\text{почв},t} (1 - \lambda_{\text{эфф}_p}) + A_{\text{раст},t} \lambda_{\text{очищ}} \end{cases}. (9)$$

Расчет динамики активности радионуклида на поверхности наземной фитомассы растений ($A_{\text{раст}}$) и поверхностном слое почвы ($\sigma_{\text{почв}}$) производился с помощью рекуррентных соотношений. Заданы начальные значения на момент начала хронических радиоактивных выпадений $t = 0$, при этом предполагалось отсутствие радиоактивного загрязнения почвы и растений: $\sigma_{\text{почв},t} = 0$ и $A_{\text{раст},t} = 0$ при интенсивности хронических радио-

Таблица 1. Расчетная активность ^{137}Cs в компонентах системы “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” на 1 м^2 земной поверхности при интенсивности выпадений 1 Бк/сут
Table 1. Calculation of ^{137}Cs activity in the components of the system “surface of above-ground phytomass plant–surface soil layer” on 1 м^2 of the earth’s surface at the intensity of fallout 1 Bq/day

Время с момента радиоактивных выпадений, сут	Расчетная активность радионуклида в компоненте, Бк			
	“поверхность надземной фитомассы растений” $A_{\text{раст}}$		“поверхностный слой почвы” $\sigma_{\text{почв}}$	
	по формуле (3)	по формуле (9)	по формуле (4)	по формуле (9)
1	0.7	0.7	0.3	0.3
5	3.5	3.4	1.6	1.6
10	6.8	6.7	3.2	3.3
15	10.0	9.9	5.1	5.1
20	13.0	13.0	7.0	7.0
25	16.0	15.9	9.0	9.1
30	18.8	18.7	11.2	11.2
40	24.2	24.1	15.8	15.9
60	33.7	33.6	26.2	26.3
80	41.8	41.7	38.0	38.1
100	48.8	48.7	50.9	51.0
150	62.2	62.0	87.1	87.3
200	71.2	71.1	127.6	127.7

активных выпадений $\sigma_{\text{вып}} = 1 \text{ Бк/сут}$ и рассчитаны активности для момента времени $t = 1$. Для расчета активности компонент в момент времени $t = 2$, данные, полученные для момента времени $t = 1$, были приняты за исходные и т.д.

Использование результатов решения системы линейных дифференциальных уравнений в соответствии с рассмотренными методами для моделирования распределения радионуклидов в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” проиллюстрируем на примере соснового биогеоценоза с $K_3 = 0/7$, $T_{\text{очищ}} = 90$ сут (постоянная очищения надземной фитомассы $\lambda_{\text{очищ}} = 7.7 \times 10^{-3} \text{ сут}^{-1}$) и ^{137}Cs (постоянная распада $\lambda_{\text{расп}} = 6.3 \times 10^{-5} \text{ сут}^{-1}$) (миграцией за пределы поверхностного слоя почвы в течение моделируемого времени пренебрегали и $\lambda_{\text{мигр}} = 0$) (табл. 1). Как следует из представленных в табл. 1 данных, различия в величинах активности на поверхности надземной фитомассы растений и в поверхностном слое почвы, полученные двумя различными методами решения системы линейных дифференциальных уравнений порядка I (1), не превышают десятых долей процента. Это позволяет констатировать о применимости обоих методов при прогнозировании радиоактивного загрязнения поверхностного слоя почвы и поверхности надземной фитомассы растений в случае хронических радиоактивных выпадений.

С помощью полученного решения системы линейных дифференциальных уравнений также были исследованы особенности динамики активности радионуклида в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” соснового биогеоценоза в зависимости от различных факторов: 1) периода полураспада радионуклида, поступившего с выпадениями (^{137}Cs , ^{95}Zr , ^{131}I); 2) коэффициента первоначального задерживания частиц выпадений поверхностью надземной фитомассы (0.5, 0.7, 0.9), 3) периода ее полуочищения (40, 90, 180 сут). Расчеты выполнены при различных градациях одного из факторов, но при фиксированных значениях двух остальных (результаты приведены на рис. 2–4).

1. Зависимость динамики активности радионуклидов (^{137}Cs , ^{95}Zr , ^{131}I) в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” от их периода полураспада при постоянных величинах коэффициента задерживания ($K_3 = 0.7$) и периода полуочищения поверхности надземной фитомассы ($T_{\text{очищ}} = 90$ сут) приведена на рис. 2. Согласно полученным данным, активность исследованных радионуклидов на поверхности надземной фитомассы, произрастающей на 1 м^2 земной поверхности, в течение первых 7–10 сут возрастает до 4–5 Бк практически независимо от периода полураспада (рис. 2, а). Аналогичная картина в изменении активности радионуклидов наблюдается и на поверхностном слое

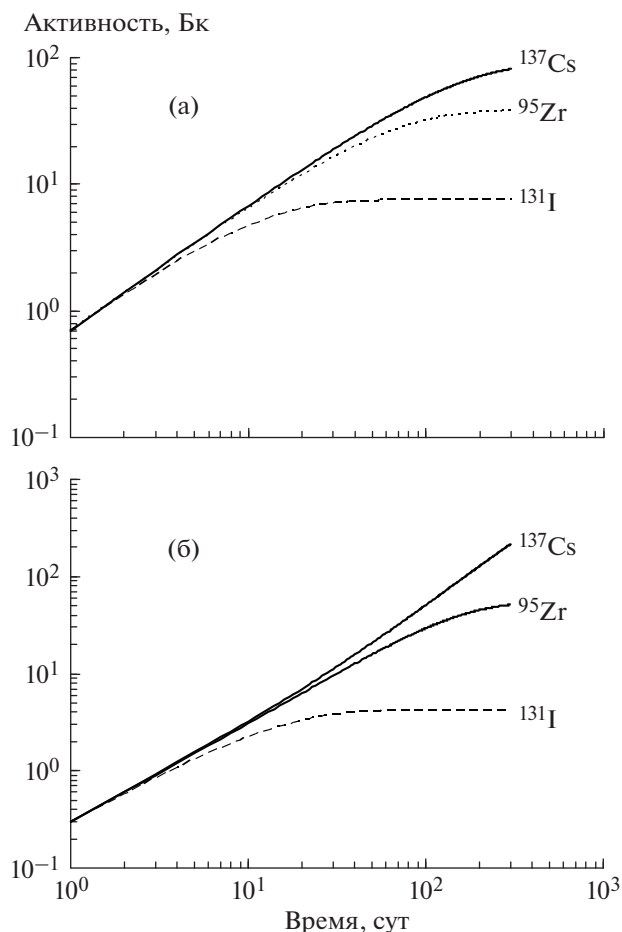


Рис. 2. Динамика активности радионуклидов в компонентах системы при хронических радиоактивных выпадениях интенсивностью 1 Бк/сут при $K_3 = 0.7$ и $T_{\text{эфф}} = 90$ сут: а – поверхность надземной фитомассы растений; б – поверхностный слой почвы.

Fig. 2. The dynamics of the activity of radionuclides in the components of the system in case of chronic radioactive fallouts with an intensity of 1 Bq/day at $K_3 = 0.7$ and $T_{\text{эфф}} = 90$ days: а – surface of above-ground phytomass; б – surface soil layer.

почвы (рис. 2, б). Однако при долгосрочной оценке загрязнения исследованных компонент системы различия становятся тем существеннее, чем больше разница между величинами периода полураспада надземной фитомассы и периода полураспада конкретного радиоактивного изотопа. Так, например, активность ^{131}I на поверхности надземной фитомассы стабилизируется на уровне ~ 7 Бк и поверхности почвы ~ 4 Бк спустя примерно 40 сут с момента начала выпадений. Для ^{95}Zr активность на поверхности надземной фитомассы становится близка к постоянной по истечении ~ 300 сут с момента поступления радионуклидов в биогеоценоз, а по ^{137}Cs равновесие между поступлением—выведением в течение моделируемого времени не устанавливается.

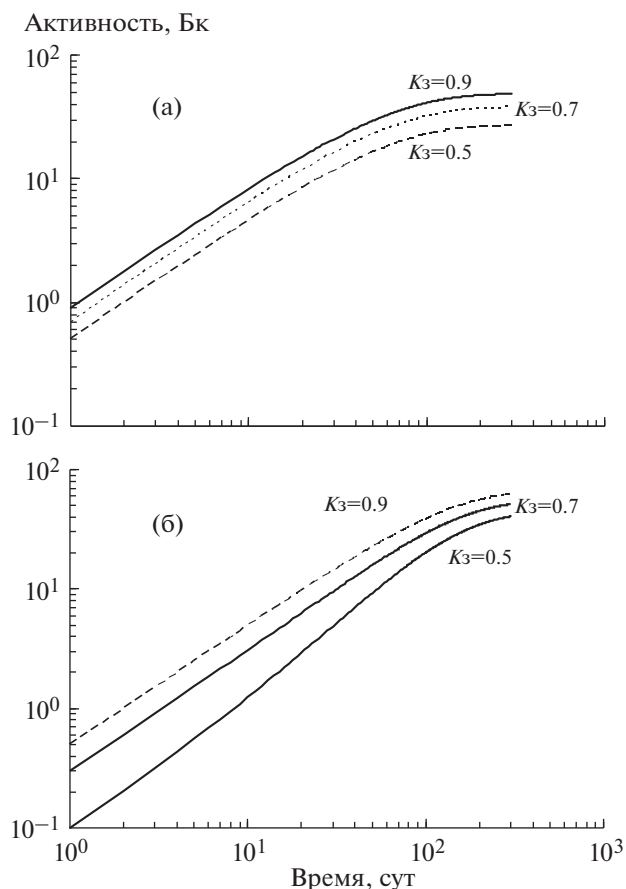


Рис. 3. Динамика активности ^{95}Zr в компонентах системы при хронических радиоактивных выпадениях интенсивностью $1 \text{ Бк}\cdot\text{сут}^{-1}$ при различной величине коэффициента первоначального задерживания и $T_{\text{эфф}} = 90$ сут: а – поверхность надземной фитомассы растений; б – поверхностный слой почвы.

Fig. 3. The dynamics of the activity of ^{95}Zr in the components of the system in chronic radioactive fallouts with an intensity of $1 \text{ Bq}\cdot\text{day}^{-1}$ at different values of the initial retention coefficient and $T_{\text{эфф}} = 90$ days: а – surface of above-ground phytomass; б – surface soil layer.

2. На рис. 3 приведена зависимость динамики активности ^{95}Zr на поверхности надземной фитомассы растений и в поверхностном слое почвы от величины коэффициента первоначального задерживания (K_3 0.5, 0.7, 0.9) при постоянном периоде полураспада поверхности надземной фитомассы ($T_{\text{очищ}} = 90$ сут). Активность радионуклида на поверхности надземной фитомассы пропорциональна коэффициенту первоначального задерживания, а для поверхностного слоя почвы – находится в обратной зависимости от этого параметра. С течением времени активность ^{95}Zr в обеих компонентах системы возрастает, причем наиболее интенсивно в течение первого месяца с момента начала радиоактивных выпадений, а в последующем, по мере приближения к моменту

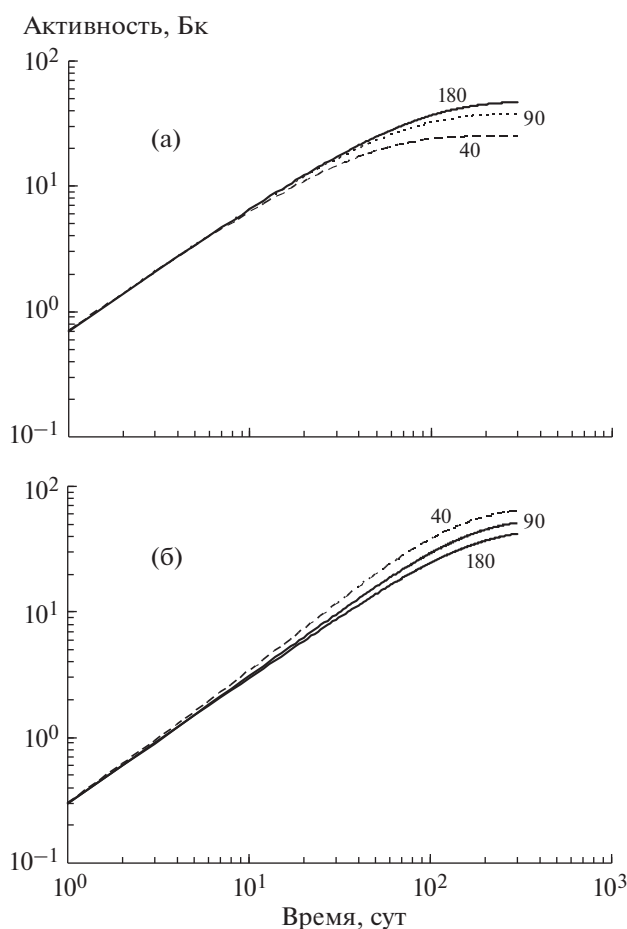


Рис. 4. Динамика активности ^{95}Zr в компонентах системы при хронических радиоактивных выпадениях интенсивностью $1 \text{ Бк}\cdot\text{сут}^{-1}$ для различного периода полуочищения надземной фитомассы и $K_3 = 0.7$: а – поверхность надземной фитомассы растений; б – поверхностный слой почвы.

Fig. 4. Dynamics of ^{95}Zr activity in the system components during chronic radioactive fallouts with an intensity of $1 \text{ Bq}\cdot\text{day}^{-1}$ for a different half-life of the aboveground phytomass and $K_3 = 0.7$: а – surface of above-ground phytomass; б – surface soil layer.

установления динамического равновесия, практически стабилизируется для поверхности надземной фитомассы и продолжает повышаться в поверхностном слое почвы. Максимальная величина активности ^{95}Zr в первой из компонент системы может достигнуть $\sim 30 \text{ Бк}$ при $K_3 = 0.5$ и $\sim 50 \text{ Бк}$ при $K_3 = 0.9$, а в поверхностном слое почвы – ~ 60 и $\sim 40 \text{ Бк}$ соответственно.

3. Изменение активности ^{95}Zr в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхностный слой почвы” при постоянной величине коэффициента задерживания ($K_3 = 0.7$) в зависимости от периода полуочищения поверхности надземной фитомассы ($T_{\text{очист}} 40, 90$ и 180 сут) приведено на рис. 4. Как следует из представленных данных,

период полуочищения поверхности надземной фитомассы в течение первых $10\text{--}20$ сут с начала хронических радиоактивных выпадений практически не влияет на величину активности ^{95}Zr (рис. 4). В последующем, для поверхности надземной фитомассы растений динамическое равновесие между поступлением и выведением радионуклида устанавливается тем быстрее, чем меньше период полуочищения данной компоненты системы. Так, при величине данного показателя равной 40 сут активность ^{95}Zr на поверхности надземной фитомассы практически стабилизируется по истечении примерно 4 мес. на уровне $\sim 25 \text{ Бк}$, а при периоде полуочищения 180 сут достигает 50 Бк и продолжает возрастать. Активность радионуклида в поверхностном слое почвы возрастает обратно пропорционально периоду полуочищения поверхности надземной фитомассы растений (рис. 4б): чем меньше величина периода полураспада, тем больше активность ^{95}Zr в поверхностном слое почвы для одного и того же момента времени.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе предлагается решение системы линейных дифференциальных уравнений порядка I, моделирующих распределения радионуклидов в системе “поверхность надземной фитомассы растений–поверхность почвы” при хронических радиоактивных выпадениях двумя методами: исключения и конечно-разностных уравнений.

Функциональные зависимости активности радионуклидов в исследуемых компонентах системы, полученные на основе решения методом исключения (I), позволяют получить исследуемые величины в произвольный момент времени от начала хронических радиоактивных выпадений. Однако данное решение применимо только для случая неизменных во времени параметров, характеризующих поступление и очищение компонент биогеоценоза от радиоактивных выпадений: плотности выпадений радионуклида на земную поверхность ($\sigma_{\text{вып}}$), коэффициента первоначального задерживания (K_3), постоянной очищения надземной фитомассы ($\lambda_{\text{очист}}$). В случае, если любой из параметров зависит от времени, найденное в работе решение системы требует введения соответствующих поправок.

В то же время решение системы линейных дифференциальных уравнений методом конечно-разностных аналогов (II) позволяет каждый из вышеупомянутых параметров ($\sigma_{\text{вып}}$, K_3 , $\lambda_{\text{очист}}$) изменить в любой из моментов времени. В частности, рассчитать динамику активности поверхности надземной фитомассы и поверхностного слоя почвы при радиоактивных выпадениях раз-

личной интенсивности или изменяющемся коэффициенте первоначального задерживания, обусловленного приростом биомассы, которые можно задать в аналитической или табличной формах. Недостаток применения данного метода заключается в необходимости последовательного расчета динамики активности на все время радиоактивных выпадений, например, если необходимо рассчитать активность в компонентах на 120-е сутки, то для этого обязателен расчет для каждого предыдущих суток, т.е. нужно просчитать 119 итераций.

Коэффициент первоначального задерживания (K_3) определяет пропорциональное увеличение активности на поверхности наземной фитомассы растений и обратно пропорциональное – в поверхностном слое почвы при прочих равных условиях (поступление одного и того же радионуклида при одинаковой величине периода полуочистки поверхности наземной фитомассы растений). Вполне очевидно, что определяя пропорциональное увеличение активности на поверхности наземной фитомассы при постоянной интенсивности хронических радиоактивных выпадений, на динамику содержания радионуклида в исследуемых компонентах системы биогеоценоза данный показатель не влияет.

Длительность установления динамического равновесия между поступлением радионуклида в рассматриваемую компоненту системы и выведением из нее определяется величиной эффективного периода полуочистки, который в свою очередь определяется наименьшей величиной из периодов полураспада радионуклида выпадений и полуочистки соответствующей компоненты (рис. 2 и рис. 4, а). При равных величинах коэффициента первоначального задерживания и периода полуочистки в случае хронических выпадений ^{131}I активность на поверхности наземной фитомассы стабилизируется наиболее быстро, а для ^{137}Cs – равновесие между его поступлением и выведением не устанавливается в течение моделируемого времени (рис. 2). Аналогичная ситуация прослеживается и при поступлении ^{95}Zr на поверхность наземной фитомассы при различных периодах полуочистки: при величине исследуемого показателя, равной 40 сут, равновесие устанавливается намного раньше, чем при 180 (рис. 4, б). Соответственно, чем меньше период полураспада радионуклида в составе выпадений или период полуочистки исследуемой компоненты системы, тем быстрее устанавливается равновесие между поступлением и выведением радионуклида из нее.

Таким образом, предлагаемые решения системы линейных дифференциальных уравнений, описывающие динамику распределения радионуклидов хронических выпадений в системе “по-

верхность наземной фитомассы растений – поверхностный слой почвы”, могут быть применены при прогнозировании активности в компонентах данной системы в зависимости от имеющегося набора исходных данных и задач исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Практические рекомендации по вопросам оценки радиационного воздействия на человека и биоту / Под общ. ред. И.И. Линге и И.И. Крышева. М., 2015. 265 с. [Prakticheskiye rekomendatsii po voprosam otsenki radiatsionnogo vozdeystviya na cheloveka i biotu / Pod obshchey redaktsiyey I.I. Linge i I.I. Krysheva. M., 2015. 265 s. (In Russian)]
2. Защита окружающей среды при эксплуатации и выводе из эксплуатации радиационно опасных объектов / Под ред. И.П. Коренкова, К.В. Котенко. М.: БИНОМ, 2014. 440 с. [Zashchita okruzhayushchey sredy pri ekspluatatsii i vyvode iz ekspluatatsii radiatsionno opasnykh obyektov / Pod red. I.P. Korenkova, K.V. Kotenko. M.: BINOM, 2014. 440 s. (In Russian)]
3. Гусев Н.Г., Беляев В.А. Радиоактивные выбросы в биосфере: Справочник. М.: Энергоатомиздат, 1991. 256 с. [Gusev N.G., Belyayev V.A. Radioaktivnyye vybrosy v biosfere: Spravochnik. M.: Energoatomizdat, 1991. 256 s. (In Russian)]
4. Романов Г.Н. Ликвидация последствий радиационных аварий: Справочное руководство. М.: ИздАТ, 1993. 336 с. [Romanov G.N. Likvidatsiya posledstviy radiatsionnykh avariyy: Spravochnoye rukovodstvo. M.: Izdat, 1993. 336 s. (In Russian)]
5. The Transfer of Radionuclides in Natural and Semi-Natural Environments / Proceedings of the Workshop / Eds G. Desmet, P. Nassimbeni, M. Belli. Passariano (Udine), Italy, 11–15 September 1989. London and New York: Elsevier Applied Science, 1989. 720 p.
6. Тихомиров Ф.А. Действие ионизирующих излучений на экологические системы. М.: Атомиздат, 1972. 176 с. [Tikhomirov F.A. Deystviye ioniziruyushchikh izlucheniyy na ekologicheskiye sistemy. M.: Atomizdat, 1972. 176 s. (In Russian)]
7. Modeling the migration and accumulation of radionuclides in forest ecosystems. A literature review: Report of the Forest Working Group of the Biosphere Modelling and Assessment (BIOMASS) Programme. Vienna: IAEA, 2002. 127 p.
8. Переволоцкий А.Н., Гончаров Е.А., Переволоцкая Т.В. К вопросу о моделировании распределения радионуклидов в лесных биогеоценозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 6. С. 655–663. [Perevolotskiy A.N., Goncharov E.A., Perevolotskaya T.V. K voprosu o modelirovaniy raspredeleniya radionuklidov v lesnykh biogeotsenozakh // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2016. V. 56. № 6. S. 655–663. (In Russian)]
9. Защита окружающей среды: концепция и использование референтных животных и растений. Публикация МКРЗ 108 / Пер. с англ. М.: Академ-Принт, 2013. 216 с. [Zashchita okruzhayushchey sredy: kontseptsiya i ispolzovaniye referentnykh zhivotnykh i rasteniy. Publikatsiya MKRZ 108 / Per. s angl. M.: Akadem-Print, 2013. 216 s. (In Russian)]

Mathematical Model of Radionuclide Distribution in the System “Aboveground Plant Phytomass–Soil Surface” for Chronic Radioactive Fallout in the Forest Biogeocenosis

T. V. Perevolotskaya^{a,#} and A. N. Perevolotsky^a

^a*Russian Research Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia*

[#]*E-mail: forest_rad@mail.ru*

The article analyses of the distribution of radionuclides in chronic radioactive fallout in the system “the surface of the overground phytomass of plants—the surface soil layer” of forest biogeocenoses. The authors have shown that the dynamics of the distribution of radionuclides between the components of the system under study can be described by a system of linear differential equations of the first order. The article considers the solution of a system of differential equations by the elimination method and the finite-difference equations. The authors found that both solutions of the system make it possible to obtain comparable results on the distribution dynamics of ¹³⁷Cs in the system “surface of the overground phytomass of plants—the surface layer of soil” during the vegetative period. The article gives examples of calculation of the dynamics of activity of radionuclides with different half-lives in the system “surface of plant overground plant phytomass—surface layer of soil” for forest biogeocenoses differing in periods of semi-purification of the overground phytomass and coefficients of initial retention.

Keywords: Chronical radioactive fallout, radionuclides, decay constant, constant cleansing, density of the deposition, activity, surface of above-ground phytomass, surface soil layer

УДК 539.163:574.64

СОВРЕМЕННЫЕ УРОВНИ ДОЛГОЖИВУЩИХ РАДИОИЗОТОПОВ ПЛУТОНИЯ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ СОЛЕННЫХ ОЗЕР КРЫМА

© 2020 г. Н. Н. Терещенко^{1,*}, А. В. Трапезников², А. А. Параскив¹,
В. Ю. Проскурнин¹, А. П. Платаев²

¹Федеральный исследовательский центр “Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН”,
Севастополь, Россия

²Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург, Россия

*E-mail: ntereshchenko@yandex.ru

Поступила в редакцию 09.09.2019 г.

Приведены данные об уровнях содержания α -излучающих радиоизотопов плутония в поверхностных донных отложениях десяти соленых озер Крыма из разных географических групп. Получены профили вертикального распределения радиоизотопов в кернах донных садков до глубины 25–30 см в озерах из этих групп бальнеогрязевых ресурсов крымских озер. Самые высокие значения были отмечены в слое 10–15 см в оз. Сасык-Сиваш (2 Бк/кг). Удельная активность радиоизотопов плутония $^{239,240}\text{Pu}$ в воде этих водоемов составляла 6.6–16.5 мБк/м³. На примере двух озер показано, что донные отложения характеризуются высокой аккумуляционной способностью в отношении радиоизотопов плутония. Коэффициенты накопления осадками $^{239,240}\text{Pu}$ достигали величин порядка $n \times 10^4$ кг/кг. Основное количество плутония в донных отложениях исследованных озер представлено радиоизотопами плутония глобального происхождения.

Ключевые слова: соленые озера Крыма, радиоизотопы $^{238,239,240}\text{Pu}$, донные отложения, вода, коэффициенты накопления, авария на Чернобыльской АЭС, радиоактивные глобальные выпадения

DOI: 10.31857/S0869803120020113

За период использования человечеством ядерной энергии в мирных и военных целях в регионе, где располагается полуостров Крым, основными источниками поступления антропогенных искусственных радионуклидов были глобальные радиоактивные выпадения после испытаний ядерного оружия в открытых средах и радиоактивные выпадения после аварии на Чернобыльской АЭС [1, 2]. Так как основной вклад в дозовые нагрузки дают короткоживущие радионуклиды с коротким периодом полураспада ($T_{1/2}$) (например, $^{131}\text{I} - T_{1/2} = 8.04$ сут; $^{133}\text{Xe} - T_{1/2} = 5.2$ сут и др.) и основные дозобразующие радионуклиды со средними периодами полураспада, к которым относятся ^{137}Cs и ^{90}Sr с $T_{1/2} = 30.2$ и 29.1 года соответственно, то изначально им уделялось большое внимание при изучении радиоэкологической ситуации в экосистемах. По истечении десятилетий эти радионуклиды частично распались, а также были подвержены миграции [3], в результате чего уровни их содержания снизились и продолжают снижаться. Уровни же долгоживущих радиоизотопов, таких как ^{239}Pu и ^{240}Pu ($T_{1/2} - 29\,400$ и 6400 лет соответственно), за этот период значимо не снизились за счет радиоактивного распада, и их количество в

экосистемах от инцидента к инциденту увеличивается. Изотопы $^{239,240}\text{Pu}$ нарабатываются при использовании ядерных технологий, и они нашли широкое применение в разных областях антропогенной деятельности, их количество возрастает [4], что увеличивает вероятность новых поступлений этих радиоизотопов в окружающую среду. Радиоизотопы $^{239,240}\text{Pu}$ являются α -излучателями и поэтому характеризуются высокой радиотоксичностью, так как коэффициент качества для α -излучения с энергией частиц порядка 5 Мэв равен 20.

Водные экосистемы, в частности озера, выступают в роли накопителей радиоактивного и химического загрязнения, особенно бессточные водоемы, куда после первичного загрязнения от радиоактивных атмосферных выпадений поступает, как правило, вторичное загрязнение по природным или техногенным водотокам, со стоком с поверхностей ландшафтов, со сточными водами естественного и антропогенного происхождения. Как известно, основным депо плутония в водных экосистемах как солоноводных, так и пресноводных водоемов, служат донные отложения. Особенно высокие уровни его накопления отмечаются в иловых донных осадках [3, 5–7]. На Крымском полуострове расположено большое количество



Рис. 1. Карта-схема расположения исследуемых соленых озер Крыма. Штриховой линией и римскими цифрами обозначены географические группы бальнеогрязевых ресурсов крымских озер, черными кружочками и арабскими цифрами – исследуемые озера: I – Евпаторийская группа озер: 1 – Кызыл-Яр, 2 – Сасык-Сиваш; II – Тарханкутская группа: 3 – Джарылгач, 4 – Бакальское; III – Перекопская группа: 5 – Красное, 6 – Киятское, 7 – Кирлеутское; IV – Керченская группа: 8 – Акташское, 9 – Чокракское, 10 – Тобечикское.

Fig. 1. Map of the studied Crimean salt lakes location. Dashed line and Roman numerals denote the geographic groups of mud-balneous resources of the Crimean lakes, black circles and Arabic numerals indicate the investigated lakes: I – Yevpatoriya group of lakes: 1 – Kyzyl-Yar, 2 – Sasyk-Sivash; II – Tarkhankut group: 3 – Dzharylgach, 4 – Bakal; III – Perekop group: 5 – Krasnoye, 6 – Kiyat, 7 – Kirlaut; IV – Kerch group: 8 – Aktash, 9 – Chokrak, 10 – Tobechik.

соленых озер, часть из которых используется или как сырьевая база химических веществ и биологических ресурсов, или как оздоровительно-рекреационные объекты [8–10]. В современный период существует целый ряд проблем по сохранению, восстановлению и дальнейшему экологически приемлемому использованию соленых озер Крыма как уникальных природных экологических систем и комплексного ценного ресурса для человека [9, 11]. Одним из используемых полезных ресурсов озер являются их донные отложения – лечебные грязи, кроме того, широко используется рапа озер. Поэтому важно знать уровни загрязнения разных компонент озерных экосистем, особенности их миграции в водоемах, критические компоненты экосистем, где больше всего накапливаются загрязнители. Важна также величина аккумуляционной способности разных компонент водоема в отношении данного загрязнителя, особенно для веществ, которые сохраняют свои токсические свойства на протяжении многих десятков и сотен лет, к которым относятся долгоживущие радиоизотопы плутония.

Целью работы было изучение уровней концентрации активности $^{238,239,240}\text{Pu}$ в донных отложениях и воде, их вертикальное распределение в

толще осадка озер из разных групп бальнеогрязевых ресурсов крымских озер, оценка аккумуляционной способности озерных донных отложений в отношении радиоизотопов плутония.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования послужили 10 крымских озер четырех географических групп из семи групп соленых озер, выделяемых в Крыму [12] (рис. 1). Они были выбраны в связи с тем, что выделенные четыре группы бальнеогрязевых ресурсов Крыма [9] совпадают с одноименными географическими группами озер. Перечень и локализация исследуемых водоемов представлены на рис. 1. Для исследований были выбраны водоемы, различающиеся по уровню антропогенной нагрузки, солёности вод, по происхождению, расположенные на побережье как Черного, так и Азовского морей.

Пробы в озерах отбирали в ходе прибрежных сухопутных экспедиций в апреле–ноябре 2016–2017 гг. В десяти озерах (рис. 1) были отобраны пробы донных осадков поверхностного слоя 0–5 см, а вертикальные керны – в четырех озерах (по одному озеру от каждой группы бальнеогрязевых ресурсов Крыма). Отбор поверхностных проб производили широкой грунтовой акриловой трубкой, диаметром 120 мм, а керны донных отложений высотой до 25–30 см были взяты при помощи трубчатого пробоотборника диаметром 58 мм с вакуумным затвором. Для исследования вертикального профиля распределения $^{239+240}\text{Pu}$ и ^{238}Pu керны осадка нарезали на пробы-слои с шагом 5 см, используя винтовой экструдер с фиксируемым шагом спирали 0.5 см.

Для определения радиоизотопов плутония в природных образцах использовали известные методы, включая рекомендованные МАГАТЭ [3, 13, 14]. Пробы воды объемом несколько сот литров отбирали с помощью насосов в озерах Кызыл-Яр и Джарылгач в пластиковые канистры. На следующие сутки в условиях стационарной лаборатории вносили радиоактивный трассер плутония в пробу воды и проводили концентрирование плутония вместе с трансурановыми элементами в пробе путем поочередного 2-кратного соосаждения с диоксидом марганца, а затем с гидроксидом железа(III), чередуя их с процедурами фильтрации и центрифугирования. Полученный осадок растворяли в кислоте и готовили раствор для нанесения на хроматографические колонки. Последующую очистку и выделение радиоизотопов плутония проводили посредством ионообменной хроматографии, согласно методике, применяемой для обработки проб донных отложений, схема которой представлена на рис. 2.

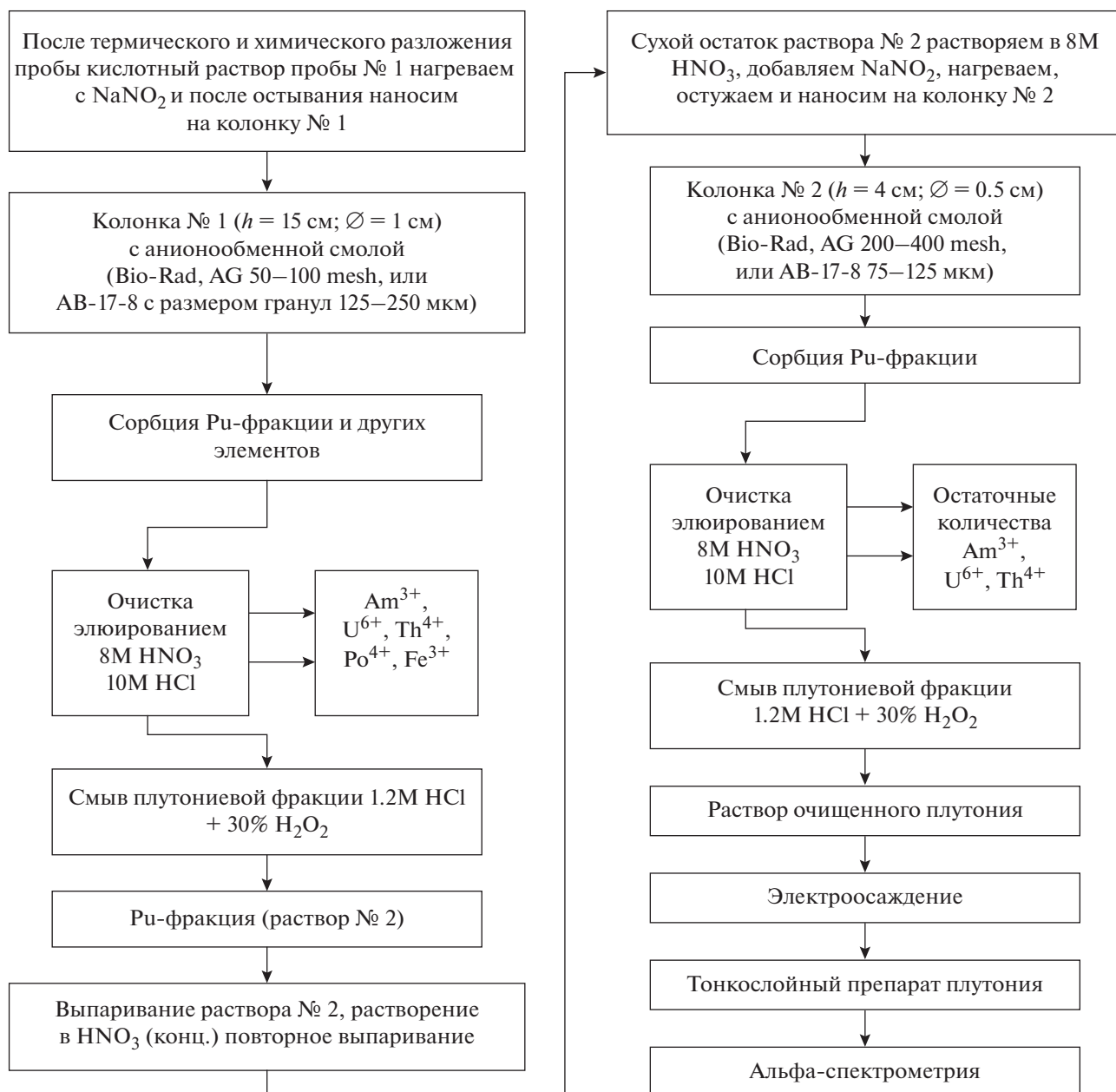


Рис. 2. Схема очистки, выделения и электроосаждения плутония для α -спектрометрических измерений радионуклидов плутония в пробах.

Fig. 2. Scheme of the plutonium purification, extraction and electrodeposition for α -spectrometric measurements of the plutonium radioisotopes in samples.

Для определения концентрации активности радионуклидов плутония в пробах донных отложений осадок высушивали на воздухе. Затем сушили пробы до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 80°C . Сухие донные осадки гомогенизировали, измельчали, просеивали через сито и озоляли при температуре 550°C в муфельной печи. Для анализа отбирали навеску золы не более 20 г. В озоленные пробы вносили радиоактивную метку – изотоп ^{242}Pu для отслежи-

вания химического выхода плутония. Далее проводили выщелачивание с последующей очисткой и выделением плутония с использованием ионообменных смол (рис. 2). Из полученного очищенного раствора плутония готовили тонкослойные счетные образцы на стальных шлифованных дисках методом электроосаждения, которые использовали для определения активности α -излучающих радионуклидов плутония на α -спектрометрическом комплексе “EG&G ORTEC OСТЕТЕ PC”

Таблица 1. Удельная активность радиоизотопов плутония в донных отложениях озер Крыма в поверхностном слое 0–5 см (период отбора проб 2016–2017 гг.)**Table 1.** The $^{239+240}\text{Pu}$ and ^{238}Pu activity concentration in the bottom sediments of the Crimea salt lakes in the surface layer 0–5cm (sampling period 2016–2017)

Номер озера*	Название озера	Удельная активность донных отложений, Бк/кг		$^{238}\text{Pu}/(^{239+240}\text{Pu})$	S, ‰
		$^{239+240}\text{Pu}$	^{238}Pu рассчитано на 1986 г.	рассчитано на 1986 г.	2016 г.
1	Кызыл-Яр	0.419 ± 0.027	0.014 ± 0.005	0.034 ± 0.011	3.5 ± 0.1
2	Сасык-Сиваш	0.516 ± 0.006	0.006 ± 0.002	0.011 ± 0.011	280 ± 0.6
3	Джарылгач	0.443 ± 0.024	0.031 ± 0.006	0.069 ± 0.013	115 ± 0.2
4	Бакальское	0.049 ± 0.006	0.002 ± 0.002	0.032 ± 0.038	46.5 ± 0.1
5	Красное	0.096 ± 0.042	<0.001	< 0.010 ± 0.010	330 ± 0.6
6	Киятское	0.024 ± 0.020	<0.001	< 0.041 ± 0.041	200 ± 0.4
7	Кирлеутское	0.086 ± 0.006	0.002 ± 0.002	0.049 ± 0.040	235 ± 0.5
8	Акташское	0.096 ± 0.010	0.008 ± 0.003	0.078 ± 0.035	88.5 ± 0.2
9	Чокракское	0.276 ± 0.017	0.005 ± 0.003	0.019 ± 0.011	226 ± 0.5
10	Тобечикское	0.232 ± 0.010	0.081 ± 0.071	0.348 ± 0.346	176 ± 0.4

Примечание. * – Номер озера в соответствии с картой (рис. 1); S – соленость вод озера.

фирмы ORTEC (США) в вакуумированных камерах с низкофоновыми полупроводниковыми детекторами. Измерения проводили в ФИЦ “Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН” в отделе радиационной и химической биологии и в отделе континентальной радиоэкологии в Институте экологии растений и животных Уральского отделения РАН. Обработку полученных спектров проводили автоматически с помощью программы “MAESTRO™ II, модель Ф64-В1”, поставляемой фирмой-производителем прибора. В связи с тем, что α -спектры радиоизотопов $^{239,240}\text{Pu}$ перекрываются, измеряли их суммарную активность ($^{239+240}\text{Pu}$) и индивидуальную активность радиоизотопов ^{238}Pu и ^{242}Pu . Ошибка определения активности $^{239+240}\text{Pu}$ в пробах окружающей среды для донных отложений не превышала 13%, для воды – 20%. Для ^{238}Pu , активность которого в пробах была значительно ниже, ошибка определения возрастала с уменьшением активности проб. Результаты измерений проходили стандартную статистическую обработку [3]. Данные по определению удельной активности донных отложений в отношении радиоизотопов плутония представлены в виде: среднее значение $\pm 1\sigma$. Удельную активность донных отложений и воды в отношении $^{238,239,240}\text{Pu}$ выражали для донных отложений в Бк/кг сухой массы осадка, доведенной до постоянного веса, для воды – в мБк/м³.

Был использован общепринятый метод радиоизотопной геохронологической датировки поступления радиоизотопов плутония в донные

осадки [3]. Датировку вертикального профиля радиоизотопов плутония проводили по идентификации принадлежности максимумов $^{239+240}\text{Pu}$ и ^{238}Pu к глобальным выпадениям или выпадениям после аварии на ЧАЭС. Определение происхождения радиоизотопов плутония к этим двум источникам выполнено с помощью величины отношения удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ [3, 15].

Как известно, в среднем в северном полушарии отношение удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239,240}\text{Pu}$ составляло в глобальных выпадениях около 0.03 [1], а в чернобыльских выпадениях – 0.47 [16]. Таким образом, оно отличалось в радиоактивных выпадениях от этих двух источников более чем на порядок, что позволяет оценивать вклад каждого из них в суммарное загрязнение радиоизотопами плутония донных отложений.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам исследования удельная активность донных отложений в отношении радиоизотопов плутония в поверхностном 0–5 см слое донных отложений соленых озер в разных водоемах отличалась в разных озерах более чем на порядок величины (табл. 1). Уровни удельной активности донных отложений в отношении $^{239+240}\text{Pu}$ изменялись в пределах от 0.024 до 0.516 Бк/кг (табл. 1) [17, 18]. Среднее значение удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в слое 0–5 см в донных осадках озер было равно 0.22 Бк/кг.

Низкие уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях были отмечены в озерах Перекоп-

ской группы, и среди них самые низкие значения измерены в пробах из оз. Киятское. Самые высокие значения удельной активности радионуклидов плутония в поверхностном слое донных осадков отмечены в озерах Евпаторийской группы и оз. Джарылгач из Тарханкутской группы (табл. 1).

Для исследования вертикального распределения $^{239+240}\text{Pu}$ и ^{238}Pu в кернах донных отложений были выбраны озера с высокой соленостью (>100‰) в каждой из исследованных четырех географических групп крымских озер и со сравнительно более высоким содержанием радионуклидов в поверхностном слое (0–5 см) донных отложений (табл. 1): Евпаторийская группа – оз. Сасык-Сиваш, Тарханкутская группа – оз. Джарылгач, Перекопская группа – оз. Кирлеутское, Керченская группа – оз. Чокрак.

Результаты исследования вертикального распределения $^{239+240}\text{Pu}$ и ^{238}Pu в кернах донных осадков с четырех соленых озер Крыма представлены на рис. 3 и 4. В оз. Сасык-Сиваш (Евпаторийская группа) (рис. 3, а–в) радионуклиды плутония чернобыльского происхождения сосредоточены в верхнем 0–7.5 см слое, где отношение $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ было выше характерного для глобальных выпадений. В этом слое $^{239+240}\text{Pu}$ составлял в осадке 0.5 Бк/кг. Максимальные значения приурочены к слою 10–15 см. Здесь удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях была равна 2.05 Бк/кг, и плутоний в этом слое имеет глобальное происхождение (отношение $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu} \leq 0.03$). Следовательно, плотность выпадений радиоактивных изотопов плутония глобального происхождения была значительно выше, чем таковая чернобыльского происхождения [3, 15, 19]. В слое 20–25 см концентрация активности $^{239+240}\text{Pu}$ составляла 0.02, а в слое 25–27 см осадка была ниже 0.01 Бк/кг. Следовательно, слой донных отложений, содержащий антропогенные α -излучающие радионуклиды плутония, ограничен в озере слоем 0–27 см. При этом максимальной удельной активностью донных отложений в отношении радионуклидов $^{239+240}\text{Pu}$ характеризовался слой – 10–15 см.

В оз. Джарылгач (Тарханкутская группа) (рис. 3, г–е) максимальный уровень чернобыльского загрязнения в исследованном керне донных отложений приурочен к слою 0–5 см, а в слое 5–12 см наблюдали максимум радионуклидов плутония глобального происхождения. В целом, по полученным данным, толщина осадка, содержащего достоверно определяемые количества $^{239+240}\text{Pu}$, ограничена слоем 0–15 см.

В оз. Кирлеутское (Перекопская группа) вертикальные профили распределения $^{239+240}\text{Pu}$, ^{238}Pu и отношения $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ достаточно структурированы и характеризуются явно выра-

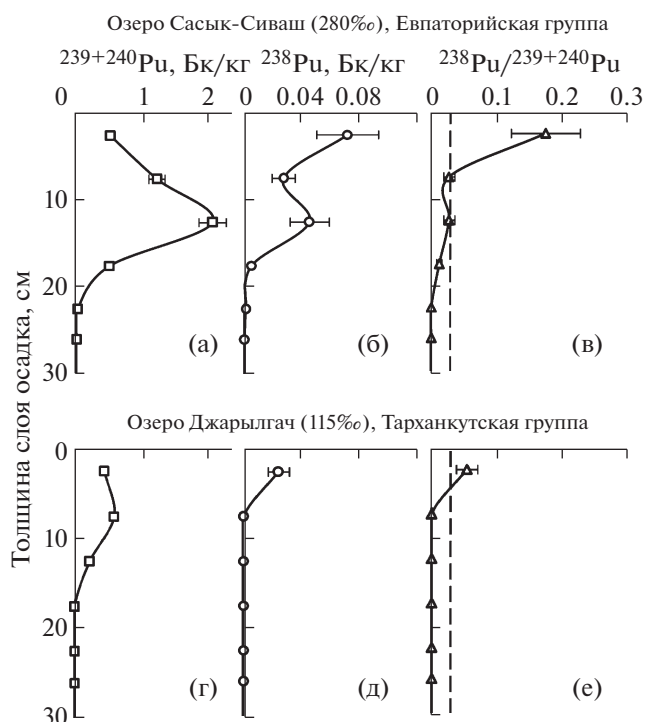


Рис. 3. Вертикальные профили удельной активности радионуклидов плутония в донных отложениях: (а, г) – $^{239+240}\text{Pu}$, (б, д) – ^{238}Pu (Бк/кг) и отношения удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ – (в, е) в донных отложениях оз. Сасык-Сиваш и Джарылгач. Вертикальная штриховая линия обозначает средний уровень отношения удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ в глобальных выпадениях.

Fig. 3. Vertical activity concentration profiles of lakes bottom sediments of plutonium radioisotopes: (а, г) – $^{239+240}\text{Pu}$, (б, д) – ^{238}Pu (Bq/kg) and activity concentration ratio profiles of $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ – (в, е) in the lakes Sasyk-Sivash and Dzharlylgach. Vertical dashed line indicates the average activity ratio of $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ in global fallouts.

женным пиком удельной активности донных отложений в отношении радионуклидов плутония $^{239+240}\text{Pu}$, ^{238}Pu в слое 20–25 см (рис. 4, а–в). Этот пик приурочен к периоду максимальных глобальных выпадений. Четкий максимум отношения $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ в слое 5–10 см – индикатор поступления плутония чернобыльского происхождения (рис. 4, в). Следовательно, максимум чернобыльских выпадений приурочен к этому слою (0.054 Бк/кг). На профиле абсолютных значений удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$, ^{238}Pu в донных отложениях, с учетом ошибки ее определения, а также более низкой плотности чернобыльских радиоактивных выпадений, не представляется возможным отследить период чернобыльских выпадений (рис. 4, а, б). И только анализ профиля отношения удельных активностей радионукли-

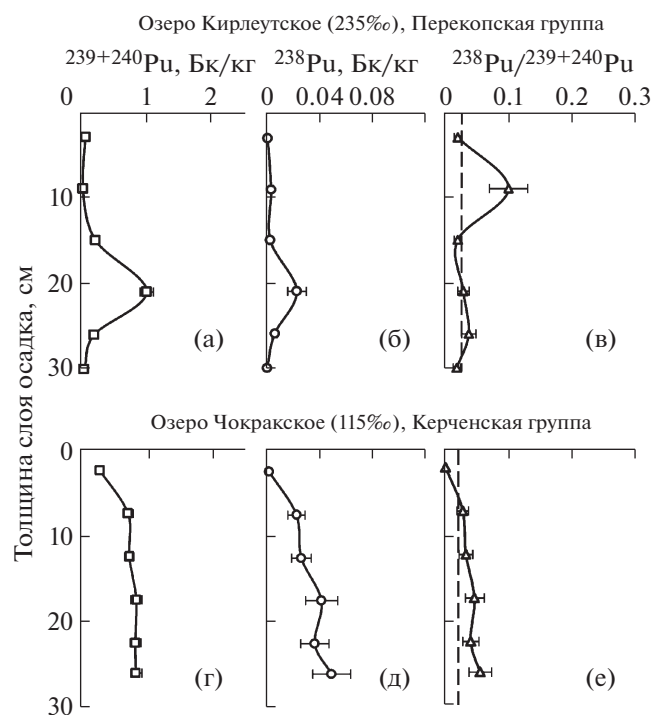


Рис. 4. Вертикальные профили удельной активности радиоизотопов плутония в донных отложениях: (а, г) — $^{239+240}\text{Pu}$, (б, д) — ^{238}Pu (Бк/кг) и отношения удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ — (в, е) в донных отложениях оз. Кирлеутское и Чокракское. Вертикальная штриховая линия обозначает средний уровень отношения удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ в глобальных выпадениях.

Fig. 4. Vertical activity concentration profiles of lakes bottom sediments of plutonium radioisotopes: (а, г) — $^{239+240}\text{Pu}$, (б, д) — ^{238}Pu (Bq/kg) and activity concentration ratio $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ — (в, е) in the lakes Kirleut and Chokrak. Vertical dashed line indicates the average level of activity ratio $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ in global fallout.

пов позволяет выделить период поступления плутония чернобыльского происхождения. Самые высокие значения $^{239+240}\text{Pu}$ (1.01 Бк/кг) относятся к слою 20–25 см и имеют глобальное происхождение (рис. 4, а). Следовательно, максимальные выпадения плутония чернобыльского происхождения не превышали 10% от глобальных выпадений, что характерно для этого региона [19]. В слое 28–32 см уровень удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях снизился до 0.07 Бк/кг. Следовательно, $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках озера содержится в слое 0–35 см.

В оз. Чокрак (Керченская группа) след чернобыльского загрязнения в осадках озера прослеживается до глубины 27 см, хотя не исключено влияние фактора перемешивания, на что указывает размытый вид профиля (рис. 4, г–е). Максимальные величины $^{239+240}\text{Pu}$ в керне донных отло-

жений составляли порядка 0.800 Бк/кг. В современный период удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в осадке снизилась и в поверхностном слое составляет 0.275 Бк/кг. Пики чернобыльских и глобальных выпадений не удалось идентифицировать по полученным данным (рис. 4, г–е), возможно они находятся глубже, возможно размыты и поэтому, чтобы оценить полную глубину слоя загрязнения $^{239+240}\text{Pu}$ донных осадков этого озера, необходимы дальнейшие исследования более глубоких кернов.

Изменение удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях озер из разных географических групп с возрастанием солёности не имело однонаправленной тенденции (табл. 1): в озерах с достаточно близкой солёностью наблюдали разные уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках.

В пределах же каждой географической группы солёных озер наблюдали возрастание удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках озер с возрастанием солёности вод.

Определение удельной активности плутония в воде солёных озер было выполнено в двух исследуемых группах, а именно в оз. Кызыл-Яр из Евпаторийской группы и оз. Джарылгач из Тарханкутской группы крымских озер, где уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в поверхностных донных осадках были близки и относительно высоки, 0.419 и 0.443 Бк/кг соответственно (табл. 1). Установлено, что удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в воде в современный период составляла в оз. Джарылгач 6.6 мБк/м³ и в озере Кызыл-Яр — 16.5 мБк/м³.

Полученные данные позволили оценить величину аккумуляционной способности озерных донных отложений в отношении радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$. Ее количественным показателем служат коэффициенты накопления ($K_n^{239+240}\text{Pu}$), показывающие, во сколько раз больше радиоизотопов содержится в донных осадках по сравнению с их содержанием в воде [20]. Результаты расчета свидетельствуют, что $K_n^{239+240}\text{Pu}$ варьировал в пределах от 25 500 кг/кг до 76 400 кг/кг. В среднем $K_n^{239+240}\text{Pu}$ донными отложениями озер был равен 5×10^4 кг/кг и характеризовал достаточно высокую аккумуляционную способность иловых донных осадков озер в отношении радиоизотопов плутония.

ОБСУЖДЕНИЕ

Озера играют барьерную роль в миграции радионуклидов, в частности тех, которые в основном накапливаются донными отложениями и, особенно, в случае, если водоемы бессточные. С одной стороны, озера широко используются человеком, а с другой стороны, они служат накопителями радионуклидов. Поэтому исследования α -излучающих радиоизотопов плутония в дон-

ных отложениях и воде (часто вместе с другими техногенными и природными радионуклидами) выполнялись во многих озерах в разных частях мира [18]. Уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в озерных осадках различались на порядки величин, что связано, прежде всего, с географическим положением озер, пятнистостью радиоактивных выпадений и удаленностью от источника загрязнения. Если не рассматривать озера, расположенные непосредственно у источника загрязнения, например, озера в 30-километровой зоне ЧАЭС или оз. Карачай, то плотность загрязнения $^{239+240}\text{Pu}$ донных осадков озер в разных странах Европы и Азии составляла от 16 до 460 Бк/м². Согласно нашим данным, крымские соленые озера занимают среднее положение по плотности загрязнения донных осадков $^{239+240}\text{Pu}$, которая в десяти исследованных соленых озерах Крыма варьировала от 87 до 196 Бк/м² [21].

Удельная активность донных отложений в отношении радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$ в поверхностном слое осадков соленых озер варьировала в пределах от 0.024 до 0.516 Бк/кг (табл. 1). Она была ниже таковой в прибрежных черноморских районах (0.3–1.8 Бк/кг) [15] и значительно ниже, чем в черноморских осадках из глубоководной области Черного моря, которая составляла 6.3 Бк/кг. Вероятно, это связано с наличием стока больших рек, впадающих в Черное море, и большой площадью водосборного бассейна моря (2.3 млн км²), а также пятнистостью радиоактивных выпадений.

По результатам изучения вертикального распределения $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях соленых озер в кернах (рис. 3, 4) было установлено, что в пиках плутония глобального происхождения максимальные значения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ были равны около 2 Бк/кг. Исследование вертикального распределения $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках позволило выявить, что преобладающая доля плутония в осадках озер сформирована плутонием глобальных радиоактивных выпадений. Эти данные согласуются как с литературными данными по другим озерам в странах Европы и Азии [18], так и с ранее полученными нами результатами в черноморском регионе, которые показали, что плотность $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях глобального происхождения значительно выше, чем $^{239+240}\text{Pu}$ чернобыльского происхождения [15]. При этом озера характеризуются не только разными уровнями содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в осадках, но и разной глубиной залегания максимумов плутония (рис. 3, 4).

Относительно высокие уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в осадках оз. Сасык-Сиваш могут быть связаны с рядом особенностей этого водоема [22]. Это, прежде всего, наличие связи с Черным мо-

рем, большая площадь водосбора, большое количество балок (шесть) и сухоречий, доставляющих талую воду, поверхностные воды в осенне-зимний сезон дождей или летние ливневые воды в озеро. Кроме того, влияние может оказывать также интенсивное развитие планктонных водорослей, которые имеют высокую аккумуляционную способность в отношении плутония, и после отмирания седиментируют в донные отложения, самоосаждение солей, пересыхание части акватории в летний период и другие биогеохимические процессы в водоеме.

Менее глубокое положение в донных отложениях максимума плутония глобального происхождения в оз. Джарылгач по сравнению с оз. Сасык-Сиваш, вполне объяснимо более низкой скоростью осадконакопления, по сравнению с оз. Сасык-Сиваш. Это может быть связано с малым количеством балок, по которым в озеро поступают воды поверхностного стока (2), большой ролью пресных подземных источников и морских фильтрационных вод в питании озера [22], что требует дальнейших исследований.

Наблюдавшаяся размытость вертикального профиля и заглубленность $^{239+240}\text{Pu}$ чернобыльского происхождения в оз. Чокрак может быть связана с относительно более высокой скоростью осадконакопления в озере. Причиной этого может быть также то, что в озеро впадает две реки, и в период снеготаяния, осенне-зимний сезон обильных осадков и во время летних ливней поступают поверхностные воды по нескольким балкам [22]. Эти воды способствуют поступлению алохтонного взвешенного вещества в озеро. Существенное влияние имеет то, что озеро мелководное, богато лечебными грязями и подвержено обильному стихийному туризму. Стихийное использование грязей ведет к механическому перемешиванию осадков, что приводит к нарушению естественной исходной структуры профиля.

Изучение уровней содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в воде озер на примере озер Джарылгач и Кызыл-Яр позволило установить, что удельная активность радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$ в воде озер превышала таковую в черноморских прибрежных акваториях в 14–35 раз. В черноморских водах в прибрежных районах Крыма в этот период концентрация активности плутония составляла 0.41–0.53 мБк/м³ [15]. В оз. Джарылгач удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в воде в 2.5 раза ниже, чем в оз. Кызыл-Яр. Это может быть связано как с более высокой соленостью воды оз. Джарылгач, так и с его водным питанием, значительную часть которого составляют подземные пресные источники, фильтрационные морские воды, а также и с другими особенностями водосборных бассейнов этих озер, что требует дальнейших исследований.

Сравнение аккумуляционной способности донных отложений исследованных крымских озер и осадков Черного моря свидетельствует, что их K_n ($^{239+240}\text{Pu}$) более чем на порядок величин ниже, по сравнению с K_n ($^{239+240}\text{Pu}$) прибрежных черноморских донных отложений. У крымских берегов K_n ($^{239+240}\text{Pu}$) = 2×10^6 кг/кг [15, 23]. Следовательно, при достаточно высокой способности донных отложений озер накапливать плутоний, биогеохимические условия в крымских озерах способствуют более низким уровням его накопления, чем в Черном море. В результате совокупности условий в озерах, в конечном счете, сформировались абсолютные значения концентрации активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных осадках озер существенно более низкие, чем в черноморских донных осадках.

Согласно полученным результатам исследований, современные уровни удельной активности радиоизотопов плутония в воде озер составляли 6.6–16.5 мБк/м³, а удельная активность $^{239+240}\text{Pu}$ в поверхностных донных отложениях крымских соленых озер составляла 0.024–0.516 Бк/кг (табл. 1, рис. 3, 4). По существующим санитарно-гигиеническим нормам [24] уровень вмешательства для питьевой воды составляет 550 Бк/м³, что на 4–5 порядков величин выше уровня содержания плутония в воде озер. Если оценить количество радиоизотопов плутония в 1 кг добываемой соли при условии 100% соосаждения плутония в соль при садке соли или при выпаривании воды, то килограмм соли будет содержать от 20 до 363 мкБк $^{239+240}\text{Pu}$, в зависимости от уровня содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в воде и уровня солености водоема. Сравнивая полученные величины с критерием ограничения потребления продуктов питания по уровню А, равному для $^{239,240}\text{Pu}$ 10 Бк/кг (ограничение потребления продукта не требуется) [24], можно сказать, что ожидаемая удельная активность добываемой соли в отношении $^{239+240}\text{Pu}$ будет на 6–7 порядков величин ниже санитарно-гигиенического критерия. Для донных отложений уровни вмешательства не указаны в нормативных документах, но сравнение существующих уровней содержания радиоизотопов плутония в лечебных грязях с вышеуказанным критерием свидетельствует, что уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в озерных грязях почти в 20 раз ниже этого критерия. Согласно литературным данным, проявление медицинских последствий поступления в организм взрослого человека радиоизотопов плутония (возможное учащение онкологических заболеваний по сравнению с фоновым уровнем) может наблюдаться при поступлении 300–600 Бк/организм [25]. Если допустить, что весь плутоний из иловых грязей через кожу поступает в организм человека (что заведомо является преувеличением) и за курс лечения человек прини-

мает 10 процедур грязевых аппликаций по 3 кг, то количество поступивших радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$ не превысит 16 Бк/организм. Это в 19–37 раз ниже уровня, способного вызвать возможные негативные последствия для здоровья человека. Исходя из данных оценки радиационного риска для человека от поступления ^{239}Pu через поврежденные кожные покровы, следует, что одноразовое поступление 2 кБк ^{239}Pu через поврежденную кожу не увеличивает риск выше допустимого уровня в течение 25 последующих лет, согласно предложенной модели расчета риска [26]. Это указывает на безопасное применение грязей, даже если лечебные курсы грязевых аппликаций будут проводиться не один год. Следовательно, в исследованных соленых озерах уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в воде и донных осадках не превышают безопасные уровни и озера могут использоваться в качестве терапевтического или сырьевого ресурса. При этом следует отметить, что в современной радиоэкологической ситуации для уровней радиоизотопов плутония в донных отложениях отличие от допустимых санитарно-гигиенических критериев на 3–4 порядка величин меньше, чем для таковых в воде озер.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в исследованных соленых озерах Крыма уровень содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в воде составлял 6.6–16.5 мБк/м³. При этом в оз. Джарылгач удельная активность радиоизотопов плутония $^{239+240}\text{Pu}$ в воде в 2.5 раза ниже, чем в оз. Кызыл-Яр. Уровень удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в воде исследованных соленых озер Крыма в современный период превышает таковой в черноморских прибрежных акваториях в 14–35 раз.
2. Определено, что уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в поверхностном слое 0–5 см донных отложений соленых озер Крыма сильно варьировали и изменялись в пределах 0.024–0.516 Бк/кг и были ниже, чем в черноморских донных отложениях.
3. В исследованных озерах уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в воде не превышают установленные санитарно-гигиенические нормы, а уровни содержания $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях значительно ниже уровней, которые согласно оценкам риска могут вызвать негативные последствия в организме человека, поэтому озерная вода и осадки могут использоваться в качестве терапевтического или сырьевого ресурса.
4. В донных отложениях озер из разных географических групп с возрастанием солености изменение удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ не имело односторонней тенденции. В пределах же каждой географической группы соленых озер с

возрастанием солености вод наблюдали возрастание удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях.

5. Проведена количественная оценка аккумуляционной способности донных осадков озер в отношении плутония. Для донных осадков озер коэффициенты накопления K_n ($^{239+240}\text{Pu}$) равнялись $n \times 10^4$ кг/кг, но были ниже, чем коэффициенты накопления Pu черноморскими донными осадками (K_n ($^{239+240}\text{Pu}$) = $n \times 10^6$ кг/кг) [15]. При достаточно высокой способности донных отложений накапливать $^{239+240}\text{Pu}$ биогеохимические условия в озерах приводят к более низким уровням накопления плутония в донных отложениях озер, чем в Черном море.

6. Показано, что при изучении вертикального распределения удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в кернах осадков озер, там, где были обнаружены максимумы радиоизотопов плутония глобального и чернобыльского происхождения, большая доля $^{239+240}\text{Pu}$ представлена плутонием глобального происхождения. Данные по вертикальному распределению $^{239+240}\text{Pu}$, ^{238}Pu и отношению удельных активностей $^{238}\text{Pu}/^{239+240}\text{Pu}$ свидетельствуют о наличии индивидуальной истории и интенсивности поступления радиоизотопов плутония в разных озерах.

7. Установлено, что уровни удельной активности $^{239+240}\text{Pu}$ в донных отложениях озер отличаются как между четырьмя ресурсными группами крымских озер, так и внутри групп. Глубина залегания слоя донных отложений с антропогенными радиоизотопами плутония в разных озерах ограничивалась 15–35 см осадка. В оз. Чокрак этот слой простирался глубже 30 см. Разные условия в озерах и их водосборных бассейнах оказывают влияние на формирование уровней и глубины залегания радиоизотопов плутония в осадках озер. Это приводит к индивидуальным количественным показателям уровней и перераспределению радиоизотопов плутония в каждом озере и в каждой группе бальнеогрязевых ресурсов крымских озер, что указывает на необходимость дальнейших исследований радиоэкологии соленых озер Крыма.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования в соленых озерах Крыма выполнены при поддержке гранта РФФИ проект № 16-05-00134 “Биогеохимические процессы, определяющие радиохемозоологическое и экотоксикологическое состояние соленых озер Крыма и возможности использования их биоресурсов”. Работы в Черном море выполнены по теме государственного задания ФГБУН ИМБИ “Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем”, номер гос. регистрации АААА-А18-118020890090-2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трансурановые элементы в окружающей среде / Под ред. Р.М. Алексахина. М.: Энергоатомиздат, 1985. 344 с. [Transuranovye elementi v okruzhayushchei srede / Ed. R.M. Aleksakhin. M.: Energoatomizdat, 1985. 344 p. (in Russian)]
2. Чернобыльская катастрофа / Под ред. И.Г. Барьяхтара. Киев: Наук. думка, 1995. 473 с. [Chernoyil'skaya katastrofa / Pod red. V.G. Baryahrtara. Kiev: Naukova dumka, 1995, 473 p. (in Russian)]
3. Поликарпов Г.Г., Егоров В.Н., Гулин С.Б. и др. Радиоэкологический отклик Черного моря на чернобыльскую аварию / Под ред. Г.Г. Поликарпова и В.Н. Егорова. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика, 2008. 667 с. [Polikarpov G.G., Egorov V.N., Gulin S.B. i dr. Radioekologicheskij otklik Chernogo morja na chernobyl'skuyu aviariyu / Eds G.G. Polikarpov, V.N. Egorov. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2008, 667 p. (in Russian)]
4. Плутоний. Фундаментальные проблемы. Т. 1, 2: Пер. с англ. / Под ред. Б.А. Надытко, Л.Ф. Тимофеевой. Саров: ФГУП “РФЯЦ-ВНИИЭФ”, 2003. 498 с. [Plutoniy. Fundamentalnyye problemy. V. 1, 2: Per. s angl. / Pod red. B.A. Nadytko., L.F. Timofeevoy. Sarov: FGUP “RFYaTs-VNIIEF”, 2003, 498 p. (in Russian)]
5. Пути миграции искусственных радионуклидов в окружающей среде. Радиоэкология после Чернобыля / Под ред. Ф. Уорнера, Р.М. Харрисона. М.: Мир, 1999. 511 с. [Puty migratsii iskustvennikh radionuklidov v okruzhayushchei srede. Radioekologiya posle Chernobylya / Eds. F. Warner, R.M. Harrison. M.: Mir, 1999, 511 p. (in Russian)]
6. Трапезников А.В. ^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs и $^{239,240}\text{Pu}$ в пресноводных экосистемах. Екатеринбург: АкадемНаука, 2010. 510 с. [Trapeznikov A.V. ^{60}Co , ^{90}Sr , ^{137}Cs i $^{239,240}\text{Pu}$ v presnovodnykh ekosystemakh. Ekaterinburg: AkademNauka, 2010, 510 p. (in Russian)]
7. Терещенко Н.Н. Ведущая роль донных отложений в перераспределении плутония в черноморских экосистемах // Наукові праці: науково-методичний журнал. Техногенна безпека. 2011. Т. 169. Вип. 157. С. 63–70. [Tereshchenko N.N. Vedushchaya rol donnykh otlozhenij v pereraspredelenii plutoniya v chernomorskoy ekosystemakh // Naukovi prazi: naukovometodichiy zhurnal. Tekhnogenna bezpeka, 2011. V. 169. Iss. 157. P. 63–70. (in Russian)]
8. Понизовский А.М. Соляные ресурсы Крыма. Киев: Крым, 1965. 164 с. [Ponizovskiy A.M. Solyanyie resursyi Krima. Kiev: Krim, 1965, 164 p. (in Russian)]
9. Пасынков А.А., Соцкова Л.М., Чабан В.В. Экологические проблемы сохранения и использования бальнеологических ресурсов соленых озер Крыма // Ученые записки ТНУ им. В.И. Вернадского. Сер. “География”. 2014. Т. 27 (66). № 3. С. 96–116. [Pasinikov A.A., Sozkova L.M., Chaban V.V. Ekologicheskie problem sokhraneniya i ispolzovaniya balneologicheskikh resursov solenikh ozer Krima // Uchenie zapiski TNU im. V.I. Vernadskogo. Ser. “Geografiya”. 2014. V. 27 (66). № 3. P. 96–116. (in Russian)]
10. Шадрин Н.В., Сергеева Н.Г., Латушкин А.А. и др. Трансформация залива Сиваш (Азовское море) в условиях роста солености: изменения мейобентоса

- и других компонент экосистемы (2013–2015 гг.) // Журн. Сибирского федерального университета. Серия “Биология”. 2016. Т. 9. № 4. С. 452–466. [Shadrin N.V., Sergeeva N.G., Latushkin A.A. et al. Transformaziya zaliva Sivash (Azovskoe more) v usloviyach rosta solenosti: izmeneniya mejobentosa I drugikh component ekosystemi (2013–2015) // Zhurnal Sibirskogo federalnogo universiteta. Seriya “Biologiya”, 2016. V. 9. № 4. P. 452–466. (in Russian)]
11. Соцкова Л.М., Смирнов В.О., Окара И.В., Малищук И.О. Сохранение бальнеологических ресурсов грязевых соленых озер западного Крыма // Современные научные исследования и инновации. 2015. № 7 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://web.snauka.ru/issues/2015/07/56691> [дата обращения: 29.07.2018]. [Sotskova L.M., Smirnov V.O., Okara I.V., Malishchuk I.O. Sokhranenie balneologicheskikh resursov gryazevyikh solenykh ozer zapadnogo Krima // Sovremennyye nauchnyye issledovaniya i innovatsii. 2015. № 7. [Electronic resource]. Available at: <http://web.snauka.ru/issues/2015/07/56691> [accessed 29.07.2018]. (in Russian)]
 12. Олиферов А.Н., Тимченко З.В. Реки и озера Крыма. Симферополь: Доля, 2005. 216 с. [Olipherov A.N., Timchenko Z.V. Reky i ozera Krima. Simferopol: Dolya, 2005, 216 p. (in Russian)]
 13. IAEA. Measurement of Radionuclides in Food and the Environment. Technical Report Series No. 295. Viena: IAEA, 1989. 182 p.
 14. Wong K.M., Jokela T.A., Noshkin V.E. Radiochemical procedures for analysis of Pu, Am, Cs and Sr in water, soil, sediments and biota samples. Lawrence, Livermore: National Laboratory Livermore. 1994. 19 p.
 15. Tereshchenko N.N., Gulin S.B., Proskurnin V.Yu. Distribution and migration of $^{239+240}\text{Pu}$ in abiotic components of the Black Sea ecosystems during the post-Chernobyl period // J. Environ. Radioact. 2018. V. 188. P. 67–78.
 16. Aarkrog A. The radiological impact of the Chernobyl debris compared with that from nuclear weapons fallout // J. Environ. Radioact. 1988. V. 6. P. 151–162.
 17. Терещенко Н.Н., Проскурнин В.Ю., Параскив А.А., Чузжикова-Проскурнина О.Д. Источники и уровни загрязнения соленых озер Крыма антропогенными долгоживущими радионуклидами плутония в постчернобыльский период // Сб. статей по материалам науч.-практ. конф. с междунар. участием “Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность—2017” (11–15 сентября 2017 г.) / Под ред. Ю.А. Омельчук, Н.В. Ляминой, Г.В. Кучерик. Севастополь: СевГУ, 2017. С. 1331–1337. [Tereshchenko N.N., Proskurnin V. Yu., Paraskiv A.A., Chuzhikova-Proskurnina O.D. Istochniki i urovni zagryazneniya solenykh ozer Krima antropogennymi dolgozhivushchimi radioizotopami plutoniya v postchernobyl'skij period // Sb. statei po materialam nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem “Ekologicheskaya, promishlennaya i energeticheskaya bezopasnost – 2017” (11–15 sentyabrya 2017) / Eds Yu.A. Omelchuk, N.V. Lyamina, G.V. Kucherik. Sevastopol: SevGU, 2017. P. 1331–1337. (in Russian)]
 18. Tereshchenko N.N., Proskurnin V.Yu., Paraskiv A.A., Chuzhikova-Proskurnina O.D. The man-made plutonium radioisotopes in the salt lakes of the Crimean peninsula // J. Oceanol. a Limnol. 2018. V. 36. № 6. P. 1917–1929.
 19. Sanchez Arthur L., Gastaud J., Noshkin V. et al. Plutonium oxidation states in the southwestern Black Sea: evidence regarding the origin of the cold intermediate layer // Deep Sea Res. 1991. V. 38. Suppl. 2. P. S845–S853.
 20. Лисовский А.А., Новик В.А., Тимченко З.В., Мустафаева З.Р. Поверхностные водные объекты Крыма (справочник). Симферополь: Рескомводхоз АРК, 2004. 114 с. [Lisovskij A.A., Novik V.A., Timchenko Z.V., Mustafaeva Z.R. Poverkhnostnie vodnie ob'ekti Krima (spravochnik). Simferopol: Reskomvodkhov ARK, 2004. 114 p. (in Russian)]
 21. Поликарпов Г.Г. Радиоэкология морских организмов / Под ред. В.П. Шведова. М.: Атомиздат, 1964. 295 с. [Polikarpov G.G. Radioekologiya morskikh organizmov / Ed. V.P. Shvedov. M.: Atomizdat, 1964. 295 p. (in Russian)]
 22. Tereshchenko N.N., Trapeznikov A.V., Paraskiv A.A. et al. Features of the Plutonium Radionuclides Distribution in the Salt Lakes of the Crimean Peninsula // INSINUME 2019: 8th Int. Symp. of In Situ Nuclear Metrology as a tool for radioecology, 23–26 April 2019, Richmond Ephesus Resort, Kusadasi-Turkey: Full Text Book. [Kusadasi], Turkey, 2019. P. 98–101.
 23. Терещенко Н.Н., Проскурнин В.Ю., Гулин С.Б., Крылова Т.А. Радиоэкологический мониторинг плутония в донных отложениях севавтопольских бухт // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа. Севастополь: ЭКОСИ–Гидрофизика, 2013. Вып. 27. С. 289–293. [Tereshchenko N.N., Proskurnin V.Yu., Gulin S.B., Krilova T.A. Radioekologicheskij monitoring plutoniya v donnikh otlozheniyakh sevastopolskikh buhht // Ekologicheskaya bezopasnost pribrezhnoj i shelfovoj zon i kompleksnoe ispolzovanie resursov shelfa. Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2013. Iss. 27. P. 289–293. (in Russian)]
 24. Нормы радиационной безопасности (НРБ-99/2009): Санитарные правила и нормативы СанПиН 2.6.1.2523-09. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009. 100 с. [Normi radiatsionnoi bezopasnosti (NRB-99/2009): Sanitarnie pravila i normativi SanPiN 2/6/1/2523-09. M.: Federal'nii tsentr gigieni i epidemiologii Rospotrebнадзора, 2009. 100 p. (in Russian)]
 25. Василенко И.Я., Василенко О.И. Плутоний. // Энергия: экономика, техника, экология. 2004. № 1. С. 60–63. [Vasilenko I.Ya., Vasilenko O.I. Plutonii // Energiya: ekonomika, tekhnika, ekologiya. 2004. № 1. P. 60–63. (in Russian)].
 26. Сокольников М.Э., Василенко Е.К., Юркин А.М. и др. Нормирование радиационного воздействия ^{239}Pu при поступлении через поврежденные кожные покровы // Радиация и риск. 2016. Т. 25. № 2. С. 109–119. [Sokolnikov M.E., Vasilenko E.K., Yurkin A.M. et al. Normirovanie radiatsionnogo vozdeistviya ^{239}Pu pri postuplenii cherez povrezhdenne kozhnie pokrovi // Radiatsiya i risk. 2016. V. 25. № 2. P. 109–119. (in Russian)]

Modern Levels of Long-lived Radioisotopes of Plutonium in Bottom Sediments of Salt Lakes of the Crimea

N. N. Tereshchenko^{a,#}, A. V. Trapeznikov^b, A. A. Paraskiv^a, V. Yu. Proskurnin^a, and A. P. Plataev^b

^a*Federal Research Center "A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas of RAS", Sevastopol, Russia*

^b*Institute of Plant and Animal Ecology of RAS, Ekaterinburg, Russia*

[#]*E-mail: ntereshchenko@yandex.ru*

Data on the plutonium alpha-emitting radioisotopes levels in the surface bottom sediments of ten salt lakes of the Crimea from different geographical groups are presented. Profiles of the vertical distribution of these radioisotopes in the cores of bottom sediments to a depth of 25–30 cm in lakes from these groups of balneary mud resources of the Crimean lakes were obtained. The highest values were noted in the 10–15 cm layer in the Lake Sasyk-Sivash (2 Bq/kg). The plutonium radioisotopes ^{239,240}Pu activity concentration in the water of these reservoirs was 6.6–16.5 mBq/m³. On the example of two lakes, it is shown that bottom sediments are characterized by high accumulative ability for plutonium radioisotopes. The ^{239,240}Pu concentration factor of bottom sediment reached values of the order of $n \times 10^4$ kg/kg. The main amount of plutonium in the bottom sediments of the investigated lakes was represented by plutonium radioisotopes of global origin.

Keywords: salt lakes of Crimea, plutonium radioisotopes — ^{238,239,240}Pu, bottom sediments, water, concentration factor, accident on the Chernobyl NPP, radioactive global fallout

РЕЦЕНЗИИ

**Gudkov I.M., Vinichuk M.M. RADIOBIOLOGY & RADIOECOLOGY.
Киев–Херсон: Oldi-Plus, 2019. 416 с. (in English)**

DOI: 10.31857/S0869803120020046

За последние четверть века было опубликовано немало учебников и учебных пособий по радиобиологии, радиэкологии, радиационной безопасности. Мощным стимулом этому послужили аварии на Чернобыльской и Фукусимской АЭС, после которых курсы названных дисциплин были введены во многих высших учебных заведениях. Поэтому следует приветствовать издание фундаментального учебного пособия по радиобиологии и радиэкологии для студентов биологических и экологических факультетов, авторами которого являются украинские специалисты, имеющие большой опыт в области радиобиологии и радиэкологии. Учебник издан на английском языке, что резко расширяет круг его потенциальных читателей, владеющих английским, но не знающих украинского языка.

Академик Национальной академии аграрных наук Украины И.Н. Гудков хорошо известен своими исследованиями в области общей радиобиологии, радиационной защиты и пострadiационного восстановления растений, защиты объектов окружающей среды от радионуклидного загрязнения, и как автор многочисленных учебников, изданных на украинском, русском и английском языках. Опытный преподаватель и педагог, он в течение 30 лет возглавлял первую в СНГ кафедру радиобиологии и радиэкологии одного из крупнейших университетов Украины – Национального университета биоресурсов и природопользования (бывшая Украинская сельскохозяйственная академия). Его соавтором является М.М. Виничук – профессор кафедры экологии Житомирского политехнического университета.

Учебник состоит из 13 глав, которые охватывают все основные проблемы радиобиологии и радиэкологии. Разделы учебника логически связаны, показывая, что радиэкология является частью радиобиологии, возникшей на стыке с экологией. Именно это обосновывается в первой главе, посвященной истории развития радиобиологии и радиэкологии, в которой авторы последовательно рассматривают этапы развития науки с 1895 г. – открытия рентгеновских лучей и до наших дней.

Во второй главе представлены сведения о физических основах радиобиологии. Описаны основные виды ионизирующих излучений, даны их характеристики и изложены методы дозиметрии. Эта глава написана простым языком без избытка формул и сложных математических выкладок, что вполне естественно, так как книга в первую очередь рассчитана на студентов-биологов. В третьей главе представлена информация о естественных и искусственных источниках ионизирующей радиации в окружающей среде.

В главах 4–8 рассмотрены биологические эффекты – реакции живых организмов на действие ионизирующей радиации, молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в их основе, критические ткани и органы, особенности поражения клеток и тканей под влиянием инкорпорированных радионуклидов. Весьма интересны параллели, проведенные авторами между реакцией на действие ионизирующей радиации клеток и тканей растений и животных. Они свидетельствуют о том, что не только молекулярно-клеточные механизмы развития радиационного поражения являются общими для растений и животных, но и клеточно-популяционные и даже тканевые, если под таковыми рассматривать постоянно обновляющиеся ткани, например, меристемы растений и эпителий кишечника, опухоли. Такая точка зрения на уровне учебного пособия высказывается впервые, и она авторами вполне обоснована.

В главе 6 подробно рассмотрена радиочувствительность организмов, принадлежащих к разным царствам живого, детально анализируются причины ее широкого варьирования, обсуждаются факторы, определяющие это свойство.

Седьмая глава посвящена проблемам модификации радиационного поражения факторами разной природы. Авторы обсуждают проблемы противолучевой защиты и радиосенсибилизации, средства профилактики и терапии радиационного поражения. Особое внимание уделено радиопротекторам. Рассматриваются различные типы пострadiационного восстановления облученного организма.

Отдельная, восьмая глава, посвящена биологическим эффектам инкорпорированных радионуклидов. Подробно изложены вопросы поступления радионуклидов в организм животных и растений, биологические эффекты внутреннего облучения. Отдельно рассмотрены вопросы дозиметрии инкорпорированных радионуклидов и особенности формирования биологических эффектов “горячих” частиц.

Следующая, девятая глава, посвященная изложению закономерностей миграции радионуклидов в природных средах, логично перетекает в главу десятую, посвященную подробному изложению методов ведения сельского хозяйства и получения чистой продукции на загрязненных радионуклидами территориях.

Совершенно по-новому излагаются в главе 11 принципы защиты различных объектов окружающей среды – почвы, водоемов, растений, животных, человека от ионизирующей радиации, от загрязнения радионуклидами. Здесь ярко прослеживается современный экоцентрический подход к защите человека: за-

щищая окружающую среду, мы защищаем и его, а не наоборот, как утверждает антропоцентрическая концепция.

Прикладной радиобиологии посвящены весьма обстоятельные, в отличие от других учебных пособий такого рода, главы 16 и 17. В этих главах широко представлены материалы по применению ионизирующих излучений и радиоактивных изотопов в медицине, сельском хозяйстве, пищевой промышленности, научных исследованиях, подробно описаны направления использования методов изотопных индикаторов в биологии и экологии. Приятно, что пособие заканчивается на позитивной ноте мирного использования атомной энергии.

В целом учебное пособие охватывает все разделы типовых программ по радиобиологии и радиоэколо-

гии, предназначенных для высших учебных заведений. И на каждый поставленный вопрос в пределах учебной программы студент биологического или экологического факультетов, как классического университета, так и специализированного, найдет в нем ответ. Для облегчения поиска ответов на такие вопросы книга снабжена авторским и детальным предметным указателями.

Дополнительным приятным бонусом является возможность приобрести бесплатно электронный вариант учебника. Для этого достаточно обратиться к авторам по e-mail: ingudkov@ukr.net.

С. А. Гераськин

ВЛАДИСЛАВУ ГЕОРГИЕВИЧУ ПЕТИНУ – 80 ЛЕТ



29 декабря 2019 года исполнилось 80 лет крупному российскому ученому, профессору Владиславу Георгиевичу Петину, признанному специалисту в области радиационной биофизики. Вся научная деятельность В.Г. Петина связана с Медицинским радиологическим научным центром им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ “НМИЦ радиологии” Минздрава России (г. Обнинск).

Владислав Георгиевич родился в Казахстане, закончил Физический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, проходил стажировку в Институте Макса Планка во Франкфурте-на-Майне. В 1984 г. В.Г. Петин защитил докторскую диссертацию. Владислав Георгиевич Петин – талантливый ученый, обладающий необыкновенным педагогическим талантом, взрастивший плеяду российских ученых-радиобиологов. Его научные интересы лежат в области радиобиологии и биофизики. В.Г. Петин доказал роль пострadiационного восстановления в относительной биологической эффективности плотно ионизирующих излучений. Обосновал участие процессов пострadiационного восстановления в механизме действия радио-

протекторов и радиосенсибилизаторов. Совместно с Ю.Г. Капутьцевичем разработал вероятностную модель радиационного действия; модель является синтезом принципа попаданий и теории мишени с биологической стохастикой. В.Г. Петин разработал математическую модель синергического взаимодействия различных факторов окружающей среды, позволяющую оптимизировать и прогнозировать синергические эффекты. Впервые в мире модель прогнозирует не только максимальный синергический эффект и условие, при котором он достигается, но и предсказывает объем пострadiационного восстановления после комбинированных воздействий, а также зависимость синергизма от мощности дозы, что позволило сформулировать общие закономерности проявления антагонистических и синергических взаимодействий факторов окружающей среды.

За годы научной деятельности им опубликовано более 500 научных работ, в том числе десять монографий и шесть авторских свидетельств на изобретения. Под его руководством защищены две докторские и 12 кандидатских диссертаций.

Выдающиеся научные результаты, полученные В.Г. Петиним, были оценены научным сообществом. В.Г. Петин является лауреатом премий им. Н.В. Тимофеева-Ресовского (2005 г.) и А.Л. Чижевского (2012 г.), лауреатом IV Международного конкурса научных работ в области радиэкологии им. В.М. Ключковского (2017 г.). За разработку концептуальных основ проблемы синергетики и термодинамики в биосфере награжден почетными медалями им. Н.В. Тимофеева-Ресовского (1998 г.) и Г.А. Зедгенидзе (2012 г.).

В.Г. Петин входит в состав редколлегии журнала “Радиация и риск”, много лет был членом редколлегии журнала “Радиационная биология. Радиоэкология”.

Друзья, коллеги и благодарные ученики искренне поздравляют Владислава Георгиевича с замечательным юбилеем, желают ему крепкого здоровья, отличного настроения, дальнейших научных открытий и долгих лет плодотворной научной жизни.